

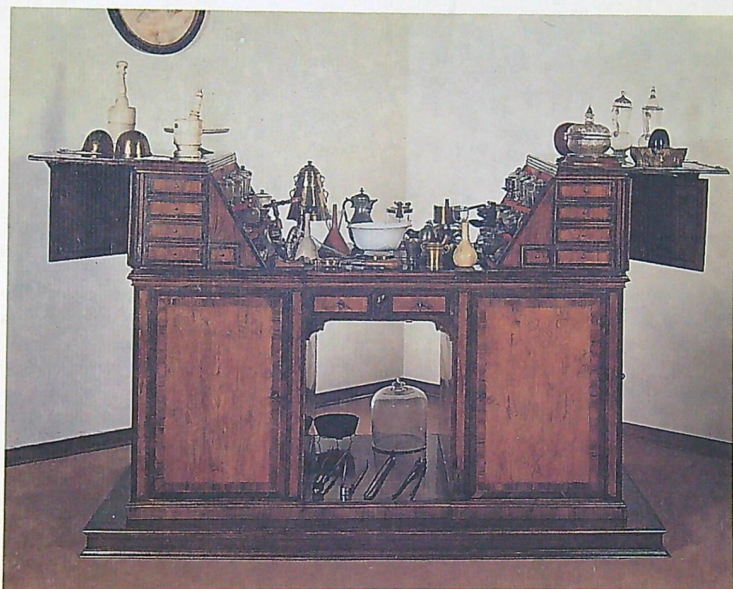


Società Chimica Italiana
Divisione di Chimica Analitica

Università degli Studi di Firenze
Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologica
e Chimica Analitica Ambientale
Sez. Chimica Analitica



XII CONGRESSO NAZIONALE DI CHIMICA ANALITICA



Riassunti

**IL RUOLO DELLA CHIMICA ANALITICA
PER LA SALUTE E L'AMBIENTE**

Università degli Studi di Firenze
20 - 22 Settembre 1995



Società Chimica Italiana
Divisione di Chimica Analitica

Università degli Studi di Firenze
Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologica
e Chimica Analitica Ambientale
Sez. Chimica Analitica



XII CONGRESSO NAZIONALE DI CHIMICA ANALITICA

Riassunti

IL RUOLO DELLA CHIMICA ANALITICA PER LA SALUTE E L'AMBIENTE

Università degli Studi di Firenze
Via G. Capponi, 9 - Firenze

20 - 22 Settembre 1995

SCI-DCA

... ..

... ..

... ..

... ..

Si ringraziano:

- CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE**
- UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE**
- ALLTECH ITALIA**
- AMEL**
- DIONEX**
- PERKIN ELMER**
- SIGMA-ALDRICH**

Pravik, G. M., & ...	181-187
Wassenaar, ...	188-194
...	195
...	196-197
...	198
...	199
...	200
...	201
...	202
...	203
...	204
...	205
...	206
...	207
...	208
...	209
...	210
...	211
...	212
...	213
...	214
...	215
...	216
...	217
...	218
...	219
...	220
...	221
...	222
...	223
...	224
...	225
...	226
...	227
...	228
...	229
...	230
...	231
...	232
...	233
...	234
...	235
...	236
...	237
...	238
...	239
...	240
...	241
...	242
...	243
...	244
...	245
...	246
...	247
...	248
...	249
...	250
...	251
...	252
...	253
...	254
...	255
...	256
...	257
...	258
...	259
...	260
...	261
...	262
...	263
...	264
...	265
...	266
...	267
...	268
...	269
...	270
...	271
...	272
...	273
...	274
...	275
...	276
...	277
...	278
...	279
...	280
...	281
...	282
...	283
...	284
...	285
...	286
...	287
...	288
...	289
...	290
...	291
...	292
...	293
...	294
...	295
...	296
...	297
...	298
...	299
...	300

Sommario

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

0000000000002

SCI-DCA

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

Conferenze plenarie(PL1-5)

Tavola rotonda(TR1-5)

SESSIONI:

Sensori e Biosensori(A1-5)

Cromatografia/MS(B1-5)

Chemimetria(A6-7)

Spettroscopia(A8-10)

Chimica Analitica Ambientale(A11-18)

Cromatografia(B6-13)

Elettroanalitica(14-18)

Prima Sessione Poster(P1-53)

Seconda Sessione Poster(P54- 107)

COMPTON'S LAW OF SHORTENING

1

1. The Compton effect is the scattering of a photon by a free electron. The wavelength of the scattered photon is longer than that of the incident photon, and the difference between the two wavelengths is given by the Compton shift equation:

$$\Delta\lambda = \frac{h}{m_e c} (1 - \cos\theta)$$

where $\Delta\lambda$ is the change in wavelength, h is Planck's constant, m_e is the mass of the electron, c is the speed of light, and θ is the scattering angle.

2. The Compton effect is a direct consequence of the conservation of energy and momentum in the interaction between the photon and the electron.

3. The Compton effect is observed in a variety of experiments, including the Compton scattering experiment and the Compton effect experiment.

4. The Compton effect is a key piece of evidence for the particle nature of light and the quantization of energy.

5. The Compton effect is also used in a variety of applications, including X-ray diffraction and Compton scattering spectroscopy.

6. The Compton effect is a fundamental phenomenon in quantum electrodynamics and is a key component of the Standard Model of particle physics.

7. The Compton effect is a direct consequence of the relativistic energy-momentum relation for a photon and an electron.

8. The Compton effect is a key piece of evidence for the existence of the electron and the quantization of energy.

9. The Compton effect is a key component of the theory of quantum electrodynamics and is a key piece of evidence for the particle nature of light.

Programma

AULA MAGNA, piazza S. Marco, 4.

- ore 10.00-10.30 Apertura XII Congresso Nazionale Chimica Analitica:
Saluto delle Autorità
Presiede: M. Mascini
- ore 10.30-11.15 Conferenza Plenaria
A. Roda, P. Pasini, M. Baraldini, S. Girotti e A. M. Gioacchini
"I biosensori nella diagnostica medica e nell'analisi ambientale: realtà e prospettive"
- ore 11.15-11.45 Pausa caffè
- ore 11.45-12.30 Conferenza Plenaria
M. Forina
"Il Ruolo della Chemiometria nella Chimica Analitica"
- ore 12.30-13.15 Conferenza Plenaria
C. Amatore
Ecole Normale Supérieure - Parigi
"Applicazioni Biologiche di Ultramicroelettrodi"
- ore 13.15-15.00 Intervallo

SESSIONE: SENSORIE E BIOSENSORI

AULA Ugo SCHIFF, via G. Capponi, 9.

- Presiede: G. Palleschi
- ore 15.00-15.20 A1: **R. Rella**, D. Ferrara, G. Barison, L. Doretta e L. Lora
"Biosensore a microrganismi termofili per il monitoraggio di fenoli"
- ore 15.20-15.40 A2: **M. Adami**, L. Piras, M. Sartore, S. Fenu, D. Nardelli,
A. Sardi, M. Zunino e C. Nicolini
"Realizzazione di un immunosensore potenziometrico per pesticidi basato sulla misura di potenziali redox"
- ore 15.40-16.00 A3: **G. E. De Benedetto**
"Costruzione "one-step" di un sensore bienzimatico mediante immobilizzazione elettrochimica con film di polipirrolo"
- ore 16.00-16.20 Pausa caffè
Presiede: F. Palmisano
- ore 16.20-16.40 A4: **L. M. Moretto**, P. Ugo, C. R. Martin, G. A. Mazzocchin e P. Guerriero
"Ultrathin-film composite membrane sensor for nitrate electroanalysis"

- ore 16.40-17.00 A5: **A. Amine, C. Cremisini, G. Palleschi**
"Biosensore elettrochimico basato sugli enzimi invertasi e glucosio ossidasi per la determinazione del mercurio, metilmercurio ed etilmercurio"
- ore 17.00-18.30 *Visione Posters P1-P53*

SESSIONE: CROMATOGRAFIA / MS

AUDITORIUM, via G. Giusti, 23.

Presiede: P. G. Desideri

- ore 15.00-15.20 B1: **C. G. Zambonin**
"Isolamento ed identificazione mediante GC-MS di un nuovo metabolita della antinumorale 5'-deossi-5-fluorouridina nel siero di pazienti in trattamento chemioterapico"
- ore 15.20-15.40 B2: **M. Vincenti, C. Minero, V. Maurino, E. Pelizzetti e E. Dalcaneal**
"Chimica host-guest all'interfaccia gas-solido. Assorbimento e desorbimento selettivo di composti organici all'interno di un dispositivo di purge & trap"
- ore 15.40-16.00 B3: **A. Cappiello, G. Famigliani e F. Bruner**
"Recenti sviluppi nell'interfacciamento cromatografia liquida-spettrometria di massa di tipo particle beam"
- ore 16.00-16.20 *Pausa caffè*
- Presiede: M. C. Gennaro
- ore 16.20-16.40 B4: **A. Raffaelli, S. Pucci, R. Lazzaroni e P. Salvadori**
"Sviluppo di una metodica per la determinazione rapida di tiourea in acque reflue mediante FIA-APCI-SRM-MS-MS"
- ore 16.40-17.00 B5: **A. Di Corcia, C. Crescenzi e R. Samperi**
"Determinazione specifica di pesticidi e loro metaboliti in acque ambientali: estrazione in fase solida per mezzo di una cartuccia di GCB seguita da LC/MS con interfaccia elettrospray"
- ore 17.00-18.30 *Visione Posters P1-P53*

Giovedì 21 Settembre 1995

AUDITORIUM, via G. Giusti, 23.

Presiede: P. G. Zambonin

- ore 9.00-9.45 Conferenza plenaria
L. Sabbatini
"Ruolo strategico delle spettroscopie di superficie nello studio di materiali di interesse biomedico"

SESSIONE: CHEMIOMETRIA

AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.

Presiede: S. Sammartano

- ore 10.00-10.20 A6: **M. Forina, G. Drava e C. Casolino**
"Numero critico di campioni nel trasferimento degli spettri in NIRS mediante PLS-2"
- ore 10.20-10.40 A7: **S. Pinzauti, P. Gratteri e S. Furlanetto**
"Disegno sperimentale in elettroanalisi e sue applicazioni in campo farmaceutico"

SESSIONE: SPETTROSCOPIA

AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.

Presiede: F. Magno

- ore 10.40-11.00 A8: **P. Benetti, G. Cecchet, S. Nidasio e P. Trincerini**
"Determinazione di U e Th a livelli di ultratracce mediante spettrometria ICP-MS-HR"
- ore 11.00-11.20 Pausa caffè
- ore 11.20-11.40 A9: **O. Senofonte, S. Caimi e S. Caroli**
"Principi e possibilità delle scariche a bassa pressione in spettroscopia di emissione atomica: alcuni esempi applicativi"
- ore 11.40-12.00 A10: **I. Losito**
"Caratterizzazione analitica mediante metodologie XPS-derivattizzazione chimica di film di poli(o-fenilendiammina) elettrosintetizzati"

SESSIONE: CHIMICA ANALITICA AMBIENTALE

AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.

Presiede: F. Pantani

- ore 12.00-12.20 A11: **G. Scarponi, C. Barbante, C. Turetta e P. Cescon**
"Determinazione di ultratracce di piombo nella neve antartica mediante voltammetria di ridissoluzione anodica"
- ore 12.20-12.40 A12: **D. Desideri, M. A. Meli, C. Roselli e C. Testa**
"Messa a punto di un sistema di campionamento, preconcentrazione e determinazione radiometrica del P-32 cosmogenico in campioni marini"
- ore 12.40-13.00 A13: **C. De Stefano, A. De Robertis, C. Foti, A. Gianguzza, F. Marrone, M. Martino e S. Sammartano**
"Tossicità e speciazione di composti organometallici in acqua di mare"
- ore 13.00-15.00 Intervallo

SESSIONE: CROMATOGRAFIA

AUDITORIUM, via G. Giusti, 23.

Presiede: F. Bruner

- ore 10.00-10.20 B6: **C. Bocchi, M. Careri, F. Groppi, A. Mangia, P. Manini e G. Mori**
"Sviluppo di metodi cromatografici con diversi sistemi di rivelazione per l'analisi di acidi fenolici"
- ore 10.20-10.40 B7: **M. C. Gennaro e D. Giacosa**
"Separazione e determinazione di sostanze psicotrope mediante RP-HPLC con reagente ad interazione ionica in basidiomiceti del genere Amanita e in angiosperme dei generi Lophophora e Trichocereus"
- ore 10.40-11.00 B8: **S. Ferraro, M. Mozzoni, P. Passamonti e F. Pucciarelli**
"Determinazione analitica di ormoni vegetali in acqua di mare"
- ore 11.00-11.20 Pausa caffè
- Presiede: G. Piccardi
- ore 11.20-11.40 B9: **V. Fogacci, R. Seeber e D. Tonelli**
"Determinazione della distribuzione di masse molecolari di polielettroliti mediante cromatografia di esclusione sterica. Il caso degli acidi umici"
- ore 11.40-12.00 B10: **F. Bachechi, M. Flieger, A. Messina, A. L. Segre e M. Sinibaldi**
"Enantioseparazione di acidi carbossilici mediante fasi stazionarie chirali funzionalizzate con derivati di ergot alcaloidi"
- ore 12.00-12.20 B11: **C. Baggiani, F. Trotta, G. Giraudi, A. Vanni e G. Moraglio**
"Polimeri biomimetici a stampo molecolare: comportamento cromatografico di un polimero legante la teofillina"
- ore 12.20-12.40 B12: **P. Reschiglian, D. Melucci, R. Valtancoli e G. Torsi**
"Una tecnica analitica separativa per la caratterizzazione di particolato in dispersione: frazionamento in campo gravitazionale-flusso (GFFF) per l'analisi dimensionale di fasi stazionarie HPLC"
- ore 12.40-13.00 B13: **S. Raccanelli, M. Favotto, F. Messineo e B. Pavoni**
"Campionamento ed analisi con GC-MS di ammine aromatiche a livello di ultratracce in acque naturali e di rifiuto"
- ore 13.00-15.00 Intervallo

SESSIONE: CHIMICA ANALITICA AMBIENTALE

AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.

Presiede: P. Cescon

- ore 15.00-15.20 A14: **P. Rivaro e R. Frache**
"Studio delle variazioni stagionali dell'accumulo e della speciazione di composti organostannici in organismi marini mediante HPLC-generazione di idruri-ICPAES"

- ore 15.20-15.40 A15: V. Zelano, M. Ginepro, D. Gastaldi, S. Rizzi e G. Ostacoli
"Determinazione di sostanze organiche volatili in acque potabili e fluviali mediante GLC"
- ore 15.40-16.00 A16: M. Grotti, F. Contegno e R. Leardi
"Studio dei meccanismi di atomizzazione in presenza o meno di modificatori di matrice, nella determinazione ETA-AAS di tellurio in campioni ambientali"
- ore 16.00-16.30 Pausa caffè
- ore 16.30-16.50 A17: M. Pesavento, E. Baldini, A. Daconi, C. Riolo, T. Soldi e A. Profumo
"Determinazione di contaminanti in campioni alimentari e ambientali per via immunoenzimatica: aflatossina B1 e atrazina"
- ore 16.50-17.10 A18: M. P. Colombini, R. Fuoco, B. Muscatello e F. Marra
"Impiego di materiali di riferimento nell'identificazione di leganti proteici in manufatti pittorici antichi"
- ore 17.30-18.30 *Visione Posters P54-P107*
- AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.
- ore 19.00-21.00 Assemblée dei Soci della Divisione di Chimica Analitica

SESSIONE: ELETTROANALITICA

AUDITORIUM, via G. Giusti, 23.

Presiede: G. A. Mazzocchin

- ore 15.00-15.20 B14: Q. Abollino, M. Aceto, E. Mentasti e C. Sarzanini
"Complessi metallo-legante in voltammetria di stripping catodico adsorbitivo: determinazione di metalli in traccia"
- ore 15.20-15.40 B15: T. R. I. Cataldi, D. Centonze, I. G. Casella, M. Martuscelli e V. Forastiero
"Rivelazione amperometrica in cromatografia liquida di alditoli e carboidrati con un elettrodo modificato a base di rame(I) ossido disperso in una matrice di grafite e polietilene"
- ore 15.40-16.00 B16: C. Macca
"La determinazione della selettività potenziometrica: un nuovo indice di selettività"
- ore 16.00-16.30 Pausa caffè
- Presiede: R. Guidelli
- ore 16.30-16.50 B17: P. Pastore, F. Magno, M. M. Collinson e R. M. Wightman
"Simulazione di processi di elettrochemiluminescenza prodotti da onde quadre ad alta frequenza su ultramicroelettrodi. Effetti della caduta ohmica e della costante di tempo di cella su potenziale, corrente faradica, capacitiva e luce"

- ore 16.50-17.10 B18: M. A. Baldo, S. Daniele e G. A. Mazzocchin
"Impiego di microelettrodi solidi nell'analisi di piombo e rame in campioni reali"
- ore 17.30-19.00 Visione Posters P54-P107

AULA UGO SCHIFF, via G. Capponi, 9.

- ore 19.00-21.00 Assemblea dei Soci della Divisione di Chimica Analitica

Venerdì 22 Settembre 1995

AUDITORIUM, via G. Giusti, 23.

Presiede: E. Scarano

- ore 9.00-9.45 Conferenza Plenaria
A. Mangia
"Tecniche analitiche combinate in campo alimentare"

- ore 9.45-10.05 Pausa caffè

Presiede: A. Liberti

- ore 10.30-13.00 Tavola Rotonda:
*"L'insegnamento della Chimica Analitica in armonia
con le indicazioni WPAC (Working Party of Analytical Chemistry)"*

F. Dondi
"La chemiometria nell'insegnamento della Chimica Analitica"

G. P. Cartoni
"Tecniche analitiche moderne combinate nei nuovi programmi dei Corsi di Laurea"

R. Fuoco
"L'insegnamento della Chimica Analitica in campo ambientale"

L. Campanella
"Certificazione, materiali di riferimento, sensori"

E. Desimoni
"Il ruolo della Chimica Analitica nei Corsi di Laurea del settore agroalimentare"

- ore 13.00 Chiusura Congresso

- P1** R. Antiochia, A.D. Magrì, G. Palleschi
Amperometric determination of glucose, ethanol, lactate and b-hydroxybutyrate using a new purified diaphorase co-immobilised with dehydrogenases on platinum electrode
- P2** C. Armanino, S. Lanteri, L. Alberotanza
Unfolding PCA per lo studio delle determinazioni analitiche nelle acque della laguna veneta
- P3** C. Baggiani, P. Coletto, G. Giraudi, A. Vanni
Sviluppo di un metodo immunoenzimatico in fase solida per la determinazione del pesticida fenoxycarb
- P4** E. Barbolani, M. Ferretti, R. Udisti
Variazioni del contenuto di alcuni nutrienti ed elementi in traccia nelle cerchie annuali di Pinus pinea L. in aree mediterranee
- P5** V. Bartocci, R. Giovannetti, L. Alfei, M. Gusteri
Determinazione spettrofotometrica di microquantità di Hg(II) mediante complessamento con coproporfirina-I
- P6** S. Becagli, R. Udisti, G. Piccardi
Datazione chimica di carote di neve campionate in Antartide
- P7** S. Bellandi, C. Oppo, F. Pantani
Deposizioni atmosferiche a Vallombrosa nel biennio 1993/94 in relazione alle acque di nube
- P8** C. Bocchi, M. Careri, A. Casnati, G. Mori, A. Raineri, R. Ungaro
Elettrodi ionoselettivi con ionofori calix[4]arene-triamidi
- P9** L. Campanella, L. Aiello, C. Colapicchioni, M. Tomassetti
Determinazione di tensioattivi cationici mediante nuovi sensori (ISE ed ISFET): applicazioni in campo ambientale e farmaceutico
- P10** L. Campanella, G. Crescentini, S. Militerno
Risanamento mediante fotodegradazione di terreni inquinati da idrocarburi
- P11** L. Campanella, G. Crescentini, M.P. Sammartino, Y. Su, M. Tomassetti
Un nuovo sensore a stato solido (ISFET) per la determinazione dell'acido salicilico ed acetil-salicilico. Applicazioni in campo farmaceutico
- P12** L. Campanella, G. Favero, M.P. Sammartino, M. Tomassetti
Biosensori enzimatici per la determinazione di polifenoli e di solfito nei vini
- P13** G.P. Cartoni, F. Coccioli, R. Jasionowska, D. Ramires
Trattamento dei capillari per l'analisi elettroforetica delle proteine

- P14** L. Ciavatta, M. Iuliano, R. Porto
Determinazione simultanea di aspirina, paracetamolo e caffeina in compresse di analgesico mediante spettrofotometria UV
- P15** A. Curulli, I. Carelli, O. Trischitta, G. Palleschi
Sensori amperometrici per enzimi deidrogenasi ottenuti per elettropolimerizzazione di monomeri organici e PQQ su elettrodi di platino, oro e carbone
- P16** G.E. De Benedetto, A. Tenore, F. Palmisano
Film polimerici elettrosintetizzati come efficienti barriere anti-interferenziali in biosensori basati su enzimi immobilizzati in un gel BSA/Glutaraldeide
- P17** M. Del Carlo, M. Mascini
Sviluppo di un saggio immunoenzimatico elettrochimico per Aroclor 1248
- P18** G. Favaro, M. Fiorani
Determinazione di tioli d'interesse biologico-farmaceutico con elettrodo modificato con cobalto-ftalocianina
- P19** M. Forina, S. Lanteri, C. de le Pezuela, A. Ruis
Automatic selection of variables in PLS, AVS-PLS
- P20** R. Fuoco, M.P. Colombini
Il controllo di qualità dei dati analitici nella determinazione dei policlorobifenili (PCB) in campioni ambientali
- P21** M. Grotti, R. Pantani, R. Leardi
Applicazione di metodi chemiometrici alla ricerca dello standard interno ottimale per la determinazione di metalli pesanti nei sedimenti, mediante ICP-AES
- P22** C. Ianni, F. Baffi
Studio di una estrazione chimica selettiva di metalli in tracce legati a carbonati nel particolato marino, mediante analisi SEM-EDX, ETA-AAS e ICP-AES
- P23** C. Locatelli, G. Torsi, P. Reschiglian, F. Fagioli, D. Melucci, N. Rossi
Nuova metodica per la determinazione del piombo nel particolato atmosferico in ambiente urbano
- P24** S. Lorusso, M. Genova, R. Mazzeo
Monitoraggio ambientale in musei e biblioteche
- P25** M. Lucarini, G. Di Lullo, E. Carnovale
Alcune considerazioni sulla determinazione del calcio ionico nel latte
- P26** L. Maggi, M.T. Valentini Ganzerli
Studio sulla possibilità di impiego del rodizonato di piombo per la preconcentrazione ed analisi del radio in matrici ambientali
- P27** C. Malitesta, F. Palmisano, P.G. Zambonin, D. Centonze
Caratterizzazione di un biosensore amperometrico della terza generazione ottenuto per immobilizzazione elettrochimica della glucosio ossidasi su sali organici conduttori

- P28 S. Mannino, M.S. Cosio**
Determinazione di carboidrati in prodotti alimentari mediante campionamento con microdialisi ed HPLC con rivelatore amperometrico
- P29 G. Marrazza, M. Mascini**
Determinazione dell'acido ascorbico nel siero con un reattore enzimatico
- P30 F. Masi, L. Lepri, P.G. Desideri**
Trasporto di composti organici all'interfaccia acqua di mare-atmosfera durante i processi di aerosolizzazione
- P31 F. Mazzei, F. Botrè, G. Lorenti, E. Polise, F. Porcelli**
Amperometric biosensor for determination of GABA
- P32 M. Minunni, P. Skladal, T. Giersch, G. Guilbault, M. Mascini, B. Hock**
Characterization of monoclonal antibodies: a comparison between ELISA method and the biosensor technology
- P33 L. Morselli, P. Olivieri, E. Grandi**
I metalli pesanti nelle deposizioni atmosferiche dry
- P34 D. Moscone, L. Scarciglia, J. Korf**
Dispositivo di campionamento sottocutaneo per la valutazione del "profilo" di metaboliti durante 24 ore
- P35 S. Palanti, G. Marrazza, M. Mascini**
Realizzazione di un sensore per DNA voltammetrico basato su composti intercalanti elettroattivi
- P36 I. Palchetti, A. Cagnini, M. Del Carlo, C. Coppi, M. Mascini**
Determinazione di pesticidi inibenti l'attività acetilcolinesterasica mediante biosensori realizzati con elettrodi stampati. Analisi di campioni reali
- P37 G. Papeschi, M. Del Carlo, N. Pratesi**
Silver(I) and copper(II) ion-selective electrodes based on electrolytically plated chalcogenide coatings from HSeO₃; solutions
- P38 P. Passamonti, F. Costantini, S. Ferraro, F. Pucciarelli**
Caratterizzazione del comportamento elettrochimico del catione trifenilstagno su HMDE
- P39 G. Pezzatini, G. Loglio, S. Becagli**
Titolazioni potenziometriche di sistemi diprotici
- P40 M.C. Pietrogrande, A. Felinger, F. Dondi**
Valutazione dell'efficienza di separazioni HRGC mediante un metodo semplificato basato sull'analisi di Fourier
- P41 B.M. Poli, G. Volpe, M. Mascini, G. Geri, M. Mecatti, P. Guidotti**
*Modificazione nel tempo di due indici di freschezza nella trota iridea (*Oncorhynchus Mykiss*) mantenuta a diversa temperatura di conservazione*
- P42 E. Reisenhofer, G. Adami, P. Barbieri**
Caratterizzazione chemiometrica di un sistema idrografico ipogeo del Carso triestino

- P43** E. Reisenhofer, G. Adami, P. Barbieri, D. Rivetti, S. Predonzani
Indagini sulla qualità delle acque nell'alto Adriatico
- P44** S. Ruggeri, M. Cappelloni, E. Carnovale
Mobilità del calcio e solubilizzazione della fibra alimentare in semi di Phaseolus vulgaris
- P45** V. Ruvolo, G. Cuffari, D. Puleo, N. Tirone
Effetti sull'ambiente conseguenti al dilavamento di pali in legno trattati con sali a base di Cu, Cr, As (CCA)
- P46** G. Sanna, G. Minghetti, R. Seeber, F. Laschi
Studio elettrochimico e spettroelettrochimico di composti organometallici di Pt(II) con 2,2'-bipiridine 6-aril e 6-arilalchilsostituite
- P47** E. Sassi, E. Russo, F. Achilli, A. Fava, L. Barazzoni, S. Calissardi, M. De Crema, A. Ponticelli
Il controllo dei microinquinanti organici nelle acque destinate al consumo umano secondo il D.P.R. n° 236/88: il modello organizzativo del P.M.P. dell 'A. U.S.L. di Piacenza
- P48** R. Udisti, E. Barbolani, S. Becagli, G. Piccardi
Studio dei fenomeni correlati al global change da carote di nevato campionate in Antartide
- P49** D. Uncini, E. Barbolani, R. Udisti, G. Piccardi
Campionamento sequenziale ad alta risoluzione di singoli eventi piovosi. Applicazione a piogge raccolte a Firenze
- P50** S. Vezzani
Identificazione della fonte di provenienza in caso di inquinamento marino da idrocarburi
- P51** A. Viola, A. M. Polcaro, S. Palmas
Procedura analitica HPLC in fase inversa per la determinazione degli intermedi nella reazione di demolizione elettrochimica di fenolo e suoi derivati clorurati
- P52** G. Volpe, M. Mascini, B.M. Poli, G. Geri, M. Mecatti
Realizzazione di un biosensore per la determinazione della freschezza del pesce
- P53** V. Zelano, M. Gulmini, P.G. Daniele, A. Torazzo, G. Ostacoli
Proprietà leganti di un sedimento fluviale

SECONDA SESSIONE POSTER***GIOVEDÌ 21 SETTEMBRE***

- P54 P. Abis, M. Caselli, L. Curri, A. Traini**
Uso della cromatografia su strato sottile ad alta pressione per la determinazione dei policlorobifenili
- P55 F. Adani**
Messa a punto di un procedimento analitico per l'ottenimento e la purificazione della frazione "umina" da substrati organici e suoli
- P56 D. Atzei, D. De Filippo, G. De Filippo, A. Rossi**
Caratterizzazione analitica di alcuni oli utilizzati quali lubrificanti di trafilatura
- P57 D. Atzei, D. De Filippo, B. Elsener, A. Rossi**
Analisi XPS di leghe antimonio zinco
- P58 M. Bao, K. Barbieri, D. Burrini, O. Griffini, F. Pantani**
Determinazione di composti odorosi in tracce nelle acque mediante microestrazione e gascromatografia/spettrometria di massa a trappola ionica
- P59 A. Berloni, P. Palma, F. Bruner**
Paragone tra il metodo gascromatografico EPA 515.1 modificato e quello per cromatografia liquida nell'analisi di pesticidi acidi in acqua
- P60 M. Berrettoni, S. Zamponi, S. Sconocchia, R. Marassi**
Sviluppo di una apparecchiatura per misure di fluorescenza X in regime di riflessione totale basata su un anodo rotante di 18 kW di potenza
- P61 G.G. Bombi, A. Tapparo**
*Carbossilati di alluminio in soluzione acquosa.
Studio del sistema Al(III)/N-2-idrossietiliminodiacetato/H₂O
mediante tecniche potenziometriche e spettroscopiche*
- P62 F. Bruner, L. Lattanzi, P. Borghesi**
Applicazioni di colonne capillari del tipo GLOT (Graphite Layer Open Tubular) all'analisi ambientale
- P63 F. Bruner, A.R. Mastrogiacomo, E. Pierini, L. Sampaolo**
Valutazione comparativa di Tenax e Carbone grafitato per il campionamento di sostanze organiche volatili in ambienti di lavoro
- P64 F. Bruner, A.R. Mastrogiacomo**
Valutazione di un nuovo tipo di nero di carbone grafitato per il campionamento di composti organici basso-bollenti
- P65 F. Bruner, M. Maione e F. Mangani**
Una semplice metodologia di campionamento e analisi di CFC nell'atmosfera di zone remote. Dati recenti relativi a campioni provenienti da Baia Terra Nova (Antartide)

- P66** M.C. Bruzzoniti, E. Mentasti, G. Sacchero, C. Sarzanini
Elaborazione di un modello di ritenzione per analiti a diversa carica in cromatografia di interazione ionica
- P67** L. Campanella, C. Maggi, B.M. Petronio, A. Pupella
Elettroforesi in ambiente stabilizzato per lo studio di metalli in matrici solide
- P68** S. Canepari, V. Carunchio, A.M. Girelli, A. Messina
Nuovo metodo per la determinazione dell'attività enzimatica dell'argininosuccinato liasi mediante HPLC
- P69** M. Careri, M. Dieci, A. Mangia, P. Manini, A. Raffaelli
Impiego della tecnica HPLC-MS con interfacce particle beam ed ionspray nell'analisi di fosfolipidi
- P70** M. Careri, R. Cilloni, A. Mangia, P. Manini, A. Raffaelli
Impiego di sistemi di ionizzazione in fase liquida e gassosa nell'analisi di vitamine idrosolubili mediante HPLC-MS
- P71** G. Carlucci, P. Mazzeo
Analysis of drugs in human plasma by high-performance liquid chromatography: a comparison of disc to cartridge solid-phase extraction
- P72** M.A. Carsol, I. Pouliquen-Sonaglia, G. Lesgards, M. Mascini
Enzymatic determination of glutathione using electrochemical sensor based on cobalt phthalocyanine screen-printed electrodes
- P73** G. Castello, G. Testini
Determinazione degli indici di ritenzione dei policlorodifenili mediante serie di riferimento rivelabili con ECD
- P74** G. Castello, S. Vezzani
Separazione ed identificazione mediante rapporti strutturalritenzione su colonne capillari a diversa polarità di composti aromatici variamente sostituiti
- P75** S. Chiavarini, C. Ubaldi, A.M. Caricchia, R. Morabito
GC/MS determination of planar PCBs in mussels
- P76** C. Contado, G. Blo, F. Fagioli, F. Dondi, R. Beckett
Caratterizzazione di particelle sospese in acque naturali mediante SdFFF-ICP-MS e AAS
- P77** A. De Robertis, C. De Stefano, C. Foti, O. Giuffrè, S. Sammartano
Sulle capacità complessanti dell'acido benzen-esacarbossilico
- P78** A. De Robertis, C. De Stefano, C. Foti, A. Gianguzza, O. Giuffrè, S. Sammartano
Studio quantitativo sulle interazioni dell'ATP con ammine ed amminoacidi
- P79** F. Federici, S. Marchese, M. Sinibaldi, A. Messina, M. Flioger
Enantioseparazione cromatografica su scala preparativa di fenoprofen mediante fasi stazionarie chiralì basate su ergot alcaloidi

- P80** M. Galletti, M. Kuneszka, I. Michetti, L. Testa
Determinazione del contenuto di Pb nel particolato atmosferico raccolto in Antartide nel corso delle campagne 1989/90 e 1990/91
- P81** L. Gambelli, P. Santaroni, L. Pizzoferrato
Determinazione tramite cromatografia a scambio ionico di sodio, potassio, calcio e magnesio in prodotti lattiero-caseari
- P82** A.M. Gioacchini, P. Bocchini, A. Roda, G.C. Galletti
HPLC-ES-MS del dolcificante artificiale aspartame e uso di un reattore fotochimico post-colonna
- P83** R. Giovannetti, V. Bartocci, G. Perotti, G. Rastelli
Separazione di Hg(II) e Pd(II) mediante estrazione con soluzioni benzeniche di dibenzo-18-crown-6
- P84** C. Giovannoli, C. Baggiani, G. Giraudi, A. Vanni
Evidenza di proprietà leganti in una miscela oligopeptidica preparata mediante una tecnica di polimerizzazione a stampo molecolare
- P85** C. Giovannoli, C. Baggiani, G. Giraudi, V. Leone, A. Vanni, M. G. Giuffrida
Studio delle condizioni ottimali per la mappatura di un idrolizzato triptico di α -lattalbumina bovina per elettroforesi capillare
- P86** M. Grassi, M. Moroni, A. L. Bandini, G. Gatti
Contributo della spettroscopia NMR multinucleare all'analisi dell'interazione metallo pesante-humus
- P87** V. Librando, M. Florida
Selective solid-phase extraction and determination of N-PAHs in the presence of PAHs in the urban street dusts
- P88** E. Magi, A. Rovelli
Impiego della tecnica accoppiata cromatografia liquida/spettrometria di massa nella determinazione di composti alchilstannici in organismi marini
- P89** F. Mangani, R. Cenciarini
Microestrazione in fase solida (SPME) con fibre di silice fusa ricoperte di carbone grafitato: analisi GC e GC-MS di microinquinanti organici nell'aria ed in matrici acquose
- P90** S. Materazzi, R. Curini, M.A. Orru', G. D'Ascenzo, A. Fraioli
Studio termoanalitico dell'interazione acqua-matrice ematica e delle modificazioni indotte da anticoagulanti e/o patologie
- P91** V. Maurino, C. Minero, M. Vincenti, P. Calza, E. Pelizzetti
Fotodegradazione del diossano mediata da TiO_2 : determinazione del meccanismo e identificazione dei prodotti
- P92** M. A. Meli, D. Desideri, F. Guerra, C. Testa
Determinazione di Pb-210 in sedimenti marini mediante separazione cromatografica e conteggio del Bi-210

- P93** C. Minero, M. Vincenti, V. Maurino, M. Segà, E. Pelizzetti
Determinazione di composti idrofili in traccia in matrice acquosa mediante derivattizzazione con cloroformati alchilici e GC-MS
- P94** I. Moret, A. Gambaro
Determinazione quantitativa di componenti dell'aroma dei vini per estrazione liquido-liquido su supporto solido (sorbent extraction)
- P95** P. Pasini, A. Roda, M. Musiani, G. Carrea, S. Girotti, A. Suozzi, M. Baraldini
Prestazioni analitiche e applicazioni biotecnologiche di una strumentazione ultrasensibile per l'analisi quantitativa dell'immagine di processi bio- e chemiluminescenti
- P96** E. Perri, G. Sindona, A. Raffaelli, P. Salvadori
*Indagine preliminare sui composti fenolici delle foglie di olivo (*Olea europaea* L.) mediante spettrometria di massa ionspray*
- P97** D. Piazzese, V. Romano, G. Ruggirello, R. Zingales
La determinazione del potenziale di ossidoriduzione della coppia U(IV)-U(III) a 25°C in mezzo HCl, NaCl (Cl=3M)
- P98** M. Remelli, F. Dondi, F. Pulidori
Enantiomeric resolution of underivatized amino acids by affinity chromatography on a dynamically coated chiral column
- P99** M.V. Russo, G. Goretti, D. Cutilli, E. Veschetti
Colonne capillari per il campionamento di inquinanti organici dispersi nelle acque
- P100** G. Scarponi, C. Turetta, G. Capodaglio, M. Verità, S. Hreglich
Studio archeometrico sulle origini della produzione vetraria veneziana
- P101** A. Sturaro, G. Parvoli, R. Rella, L. Doretti
Microsinesi ed analisi GC-MS: un utile abbinamento per l'identificazione di composti
- P102** F. Tateo, G. Cantele, M. Bononi
Sulla determinazione quantitativa dell'etilvanillina sostanza aromatizzante artificiale ad impiego limitato nei prodotti dolciari
- P103** R. Toniolo, N. Comisso, G. Bontempelli, G. Schiavon
Una semplice metodica per determinare il contenuto ionico in nano-volumi di campione mediante cromatografia ionica
- P104** S. Zappoli, C. Tomba, F. Govoni, S. Canipari, F. Uggeri, P.L. Anelli
Retention mechanism of lanthanide BOPTA complexes in ion-interaction chromatography
- P105** O. Zerbinati, F. Trotta, G. Giraudi, C. Giovannoli, C. Baggiani
Capillary zone electrophoresis separation of chiral organic acids by means of β -cyclodextrin derivatives
- P106** L. Zoccolillo, L. Amendola, I. d'Harmant François, T. Leone
Analisi di pesticidi organofosfati a livello di sub-picogrammo mediante gascromatografia-spettrometria di massa a ionizzazione chimica negativa

P107 L. Zoccolillo, R. Hanel, A. Magri

*Determinazione computerizzata dello zolfo nelle benzine
mediante gascromatografia capillare con rivelatore fotometrico*

*Computerized sulfur determination in gasoline
by capillary gas chromatography with a photometric detector*

1. The first part of the document is a list of names and titles, including "Dr. J. H. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

2. The second part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

3. The third part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

4. The fourth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

5. The fifth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

6. The sixth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

7. The seventh part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

8. The eighth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

9. The ninth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

10. The tenth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

11. The eleventh part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

12. The twelfth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

13. The thirteenth part of the document is a list of names and titles, including "Dr. ...", "Dr. ...", and "Dr. ...".

Conferenze Plenarie

CONFIDENTIAL

I BIOSENSORI NELLA DIAGNOSTICA MEDICA E NELL'ANALISI AMBIENTALE: REALTA' E PROSPETTIVE

A. Roda, P. Pasini, M. Baraldini¹, S. Girotti¹, A.M. Gioacchini

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, ¹Istituto di Scienze Chimiche Università di Bologna

La possibilità di determinare in tempo reale, e senza alcuna fase preanalitica, analiti presenti in matrici complesse è una delle più attuali sfide analitico-tecnologiche.

Il concetto di biosensore come sistema analitico autonomo, incorporante l'elemento biospecifico di riconoscimento molecolare, in intimo contatto con un opportuno trasduttore in grado di convertire l'interazione con l'analita in un segnale quantificabile, è stato oggetto negli ultimi 20 anni di numerose ricerche; sono stati sviluppati biosensori che utilizzano enzimi immobilizzati ed integrati con una elevata serie di sistemi elettrochimici (potenziometrici, amperometrici), ottici, piezoelettrici ed acustici, e sono state riportate molte applicazioni in campo medico, ambientale, alimentare.

L'avanzamento della chimica delle proteine ha portato un contributo importante alla purificazione, immobilizzazione e studio della struttura terziaria degli enzimi, incrementando la selettività, sensibilità e robustezza dei biosensori sviluppati.

Il presente è rivolto ad aumentare la sensibilità, limitata a concentrazioni 10^{-3} - 10^{-6} M, a risolvere il problema delle interferenze nei sistemi elettrochimico-ottici e alla messa a punto di biosensori "universali", incorporando nuovi elementi biospecifici (anticorpi, recettori, sistemi biologici) in grado di analizzare qualsiasi molecola e non solo substrati di enzimi.

Molte sono le ricerche sugli immunosensori che utilizzano anticorpi in grado di interagire con sostanze quali farmaci, pesticidi, tossici ambientali. Gli immunosensori hanno aperto prospettive impensabili, migliorando la specificità e la sensibilità (10^{-6} - 10^{-12} M) del sistema. Le limitazioni riguardano la irreversibilità dell'interazione analita-anticorpo e la trasduzione di tale interazione, non così immediata come per gli enzimi. Sono stati sviluppati immunosensori autonomi integrando e combinando tecniche spettrofotometriche e cromatografiche.

Un biosensore ideale per uso diagnostico-clinico e complementare a metodi biochimico-clinici dovrebbe essere implantato direttamente in vivo o ex vivo e fornire in tempo reale la concentrazione dell'analita, al fine di poter intraprendere opportuni provvedimenti terapeutici al letto del paziente e in centri di terapia intensiva. L'analisi in vivo ha posto problemi di biocompatibilità e di robustezza dei metodi sviluppati e numerose sono le ricerche in corso sui materiali e tipi di immobilizzazione. Sistemi che utilizzano aggiunta di reattivi alla matrice tipo FIA o sistemi immunometrici automatizzati sono da definirsi "pseudobiosensori".

Il futuro dei biosensori riguarda lo sviluppo di microstrutture analitiche a livello di mesoscala (chips) contenenti, in un volume di pochi picolitri, una serie di canali collegati per le reazioni biospecifiche di riconoscimento. Di recente sviluppo sono i "genosensori" che contengono sonde a DNA sintetiche immobilizzate all'interno di chips di silicio. Il processo di ibridizzazione con il DNA bersaglio (analita) viene rivelato mediante sistemi elettrochimici (chips-permittivi) o mediante 3D imaging (videocamera Saticon o CCD) con l'impiego di sonde marcate con sostanze luminescenti o fluorescenti. Tali sistemi tipo "wafer" sono potenzialmente molto sensibili (10^{-9} - 10^{-12} moli) e offrono la possibilità di sviluppare biosensori integrati multianalita. Diagnosi precoce di una particolare patologia potrà essere effettuata direttamente su di un organo bersaglio con biosensori ottici combinati con tecniche endoscopiche e laparoscopiche.

In conclusione, allo stato attuale sono già presenti sul mercato biosensori per applicazioni biomediche sviluppati e prodotti da almeno 15 diverse compagnie; immunosensori o sistemi immunometrici integrati sono in fase di ricerca applicata e sperimentazione sul campo, con prospettive incoraggianti nel settore ambientale e della salute. L'esplosione delle biotecnologie nei settori medico-farmaceutico, agrario, veterinario ha stimolato ricerche chimico-analitiche che stanno portando alla messa a punto di "genosensori" per tecnologie analitiche di ibridizzazione e l'analisi automatica della sequenza del DNA.

IL RUOLO DELLA CHEMIOMETRIA NELLA CHIMICA ANALITICA

Michele Forina

Istituto di Analisi e Tecnologie Farmaceutiche ed Alimentari - Facoltà di Farmacia - Università di Genova

La Chimica Analitica è la scienza della informazione chimica, ed il processo di acquisizione della informazione si inserisce in ogni problema di natura chimica o richiedente dati chimici.

La Chemiometria organizza il processo chimico-analitico nelle tre fasi di:

- a) disegno sperimentale a livello del campionamento;
- b) nella fase della determinazione:
 - bl) ottimizzazione strumentale;
 - b2) relazione tra quantità fisiche misurabili e quantità chimiche;
- c) nella trasformazione delle quantità chimiche determinate in informazione chimica utile.

La Chemiometria si basa su di un insieme di tecniche della statistica univariata e multivariata, della matematica applicata e della informatica, opportunamente adattate al problema chimico. Il chimico analitico ha spesso utilizzato elementi propri delle strategie chemiometriche in modo intuitivo e sulla base della propria esperienza; l'evoluzione della strumentazione chimica analitica, la aumentata complessità dei problemi, il grande numero di campioni analizzati, hanno evidenziato i limiti di un procedere solamente intuitivo, e la necessità di una organizzazione del processo chimico analitico basata su procedimenti oggettivi in grado di lavorare in condizioni di grande dimensionalità di campioni o di quantità fisiche o chimiche.

Le tecniche chemiometriche non corrispondono univocamente alle singole fasi del processo chimico analitico. Per esempio le tecniche di regressione multipla si usano nel disegno sperimentale (che a sua volta è importante nella scelta dei campioni da analizzare, nella scelta degli standard da utilizzare nella calibrazione, nella ottimizzazione di un metodo di determinazione), si usano per ottenere una funzione di calibrazione, e infine per mettere in relazione quantità chimiche con altre quantità (p.e., valutazioni sensoriali, attività terapeutica, tossicità, maturazione, parametri climatici e geografici, diagnosi mediche).

La tecnica chemiometrica non può essere disgiunta dal problema chimico, a causa delle particolarità delle quantità chimiche (frequentemente discontinue, con incertezza fortemente dipendente dalla natura della matrice), e deve essere utilizzata empiricamente, con maggiore attenzione per il problema chimico piuttosto che per gli aspetti teorici.

L'obiettivo della chemiometria è l'ottenimento di informazione chimica rilevante per il problema, con il minimo costo e con la minima incertezza: poichè questi sono gli obiettivi della chimica analitica stessa, la chemiometria è parte essenziale della chimica analitica.

Si illustra una tecnica chemiometrica, la analisi delle componenti principali, in una applicazione strumentale (risoluzione di segnali sovrapposti in una tecnica analitica combinata), e nella valutazione della rilevanza della informazione chimica in problemi di chimica clinica, ambientale, alimentare. In tutti i casi esaminati, la analisi delle componenti principali (una delle tecniche base della chemiometria) permette facilmente di elaborare e di visualizzare una informazione di grandi dimensioni, e di interpretare i risultati utilizzando l'esperienza chimica e la conoscenza del problema reale.

C. Amatore

Ecole Normale Supérieure

Département de Chimie. URA CNRS 1110

24 rue Lhomond 75231 PARIS. Cedex 05. France

Riassunto non pervenuto al momento di andare in stampa

RUOLO STRATEGICO DELLE SPETTROSCOPIE DI SUPERFICIE NELLO STUDIO DI MATERIALI DI INTERESSE BIOMEDICO.

Luigia Sabbatini

Dipartimento di Chimica, Università di Bari Via Orabona, 4 70126 Bari

Tra le complesse problematiche connesse con il tema più generico della "Salute dell'Uomo", lo sviluppo e la produzione di materiali per dispositivi di interesse biomedico riveste un ruolo non secondario. Se è vero che la microchirurgia e le tecniche di impianto hanno fatto dei progressi notevoli è anche vero che hanno potuto contare, nel tempo recente, sulla disponibilità di materiali innovativi, con caratteristiche confacenti, non solo in termini di funzionalità rispetto alla destinazione finale, ma anche in termini più generali di compatibilità con l'intorno biologico o, meglio, di bioattività (cioè di stimolo di una funzione biologica, come ad. es., la proliferazione di cellule del tessuto osseo sulle pareti di una protesi). Mentre le proprietà relative alla funzionalità (resistenza meccanica, elasticità, resistenza alla fatica, etc.) sono più tipiche del "bulk" del materiale, quelle relative alla biocompatibilità e bioattività sono essenzialmente collegate alla sua superficie.

Nelle indagini tese alla comprensione della relazione struttura/proprietà nel campo dei materiali di interesse biomedico hanno giocato un ruolo chiave, come era prevedibile, le spettroscopie di superficie e, tra queste, soprattutto l'ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis), per la versatilità di applicazioni a materiali di varia natura, l'elevato contenuto chimico delle informazioni, l'avanzato livello dei modelli di trattamento ed analisi dei dati.

La relazione tenderà a mettere in luce il ruolo dell'analisi di superficie nella progettazione e nel controllo di interfacce di interesse in campo biomedico, con particolare riferimento ai materiali polimerici (1). Tra i vari esempi si dimostrerà come la funzionalizzazione selettiva di superfici le renda in grado di interagire attivamente con l'intorno biologico; come la caratterizzazione analitica superficiale di membrane polimeriche in uso in biosensori possa essere messa in relazione alla loro perm-selettività; come l'orientazione dei gruppi funzionali e la mobilità molecolare negli strati più esterni di un biomateriale ne condizionino pesantemente il responso biologico; come la segregazione superficiale e la formazione di microdomini incida sulle prestazioni a lungo termine; etc. Il goal finale, una volta acquisite queste informazioni, sarebbe ovviamente quello di una sintesi pilotata di materiali innovativi, sfruttando la reattività chimica superficiale.

Tra i problemi connessi con il riconoscimento analitico di gruppi funzionali presenti sulla superficie polimerica, si mostrerà come la recente strategia della derivatizzazione di superficie possa portare un contributo apprezzabile nei casi in cui tali gruppi sono presenti in concentrazione ai limiti della tecnica ESCA e/o nei casi in cui il "chemical shift" dei relativi segnali spettroscopici sia inferiore alla risoluzione strumentale.

1) L.Sabbatini, P.G.Zambonin, XPS and SIMS Surface Chemical Analysis of Some Important Classes of Polymeric Biomaterials. *J. Electron Spectrosc. Rel. Phenom.*, 1995, in corso di stampa.

TECNICHE ANALITICHE COMBinate IN CAMPO ALIMENTARE

A. Mangia

*Dipartimento di Chimica Generale e Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica
Università degli Studi di Parma - via delle Scienze, 43100 Parma*

Tra i maggiori problemi analitici che si incontrano in campo alimentare vi sono da un lato l'identificazione e la determinazione a livello di tracce di sostanze indesiderate presenti in matrici complesse e dall'altro la caratterizzazione di prodotti sulla base di un elevato numero di parametri. La soluzione di questi problemi richiede l'impiego di tecniche separative sempre più efficienti, che portano all'ottenimento di profili sempre più complessi; l'identificazione dei componenti sulla base di un solo parametro, normalmente il tempo di ritenzione o un indice ad esso correlato, risulta spesso inadeguata, anche per la difficoltà di ipotizzare o, di avere a disposizione, le necessarie sostanze di riferimento.

Una diversa strategia consiste nell'utilizzare simultaneamente per l'identificazione un maggiore numero di parametri, realizzando sistemi di rivelazione a tre o più dimensioni. Sulla base del successo della gascromatografia-spettrometria di massa, il numero delle combinazioni "on line" di tecniche di separazione e di rivelazione sta rapidamente crescendo. Alcune di queste tecniche combinate, come GC-MS e HPLC-DAD, vengono utilizzate in modo routinario, altre, come HPLC-MS, si stanno rapidamente affermando, mentre altre sono ancora in una fase di sviluppo e di consolidamento (es. CE-MS ed HPLC-NMR). Nella relazione verranno passate in rassegna le applicazioni, o le prospettive di applicazione, nel campo dell'analisi degli alimenti di alcune tra le più interessanti e promettenti tecniche combinate ed in particolare della cromatografia liquida-spettrometria di massa.

... the ... of ...

... the ... of ...

... the ... of ...

Tavola Rotonda

***"L'insegnamento della Chimica Analitica
in armonia con le indicazioni WPAC
(Working Party of Analytical Chemistry)"***

SECRET

Working Copy of Final Report
The information contained herein is
unclassified, but is exempt from
release under E.O. 13526, Section 1.4

SCI-DCI

LA CHEMIOMETRIA NELL'INSEGNAMENTO DELLA CHIMICA ANALITICA

E. Dondi

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via Luigi Borsari, 46 44100 Ferrara

La Chimica Analitica, è -secondo una delle più accettate definizioni [1] - una disciplina chimica il cui scopo è di "produrre strategie per ottenere informazioni usando in modo ottimale procedure per caratterizzare sistemi materiali". La Chemiometria ha il compito di: (a) progettare o selezionare procedure ottimali di misura od esperimenti; (b) fornire la massima informazione chimica nell'analisi dei dati [2]. La Chemiometria si integra pertanto in modo stretto con la Chimica Analitica.

Lo sviluppo prodigioso dei mezzi computazionali ha indubbiamente fornito e sta fornendo nuovo impulso allo sviluppo della Chemiometria. La Chimica Analitica -che include parti rilevanti della Chemiometria - si è nel contempo profondamente rinnovata anche per questi aspetti. Si esamineranno differenti aspetti delle procedure analitiche nelle quali sono coinvolti aspetti chemiometrici, campionamento, misura, trattamento dati, presentazione dei risultati, organizzazione di laboratorio, previsione - unitamente alle conoscenze di base indispensabili ed alle possibili modalità di insegnamento ed apprendimento.

[1] G. Kateman and A. Dijkstra, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 297(1979) 249.

[2] B.R: Kowalski in "Chemometrics in Chemistry", B.R: Kowalski Ed. Nato ASI Series, D. Reidel Publ. Comp., Dordrecht 1984, p. VII.

**TECNICHE ANALITICHE MODERNE COMBinate
NEI NUOVI PROGRAMMI DEI CORSI DI LAUREA**

G.P. Cartoni

Dipartimento di Chimica

Università La Sapienza - piazzale A. Moro, 5. 00185 Roma

Riassunto non pervenuto al momento di andare in stampa

L'INSEGNAMENTO DELLA CHIMICA ANALITICA IN CAMPO AMBIENTALE

Roger Fuoco

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

Il contributo della chimica nello studio delle problematiche connesse con il mantenimento e il miglioramento della qualità dell'ambiente riguarda principalmente l'origine, il trasporto, le reazioni, gli effetti e il destino di sostanze chimiche, presenti naturalmente o derivanti da attività umane, nei vari comparti ambientali (acqua, aria, suolo e sedimenti, specie biologiche). Nell'ambito di questi studi interdisciplinari, tra i vari aspetti che possono richiedere le competenze specifiche di un chimico, egli è chiamato a svolgere un compito di particolare importanza: acquisire informazioni sulla presenza delle sostanze chimiche di interesse in un determinato ecosistema e valutarne i relativi livelli di concentrazione nelle varie matrici. E' evidente come l'affidabilità dei dati analitici ottenuti ed una corretta valutazione della situazione reale siano decisivi per tutti gli studi successivi come, ad esempio, la comprensione dei processi di trasporto e trasformazione nell'ambiente delle sostanze chimiche in esame, la tempestiva evidenziazione di eventuali situazioni di rischio ambientale e la conseguente predisposizione di misure di intervento adeguate per evitare, o almeno ridurre al minimo, danni allo stesso ecosistema.

In questa breve relazione verranno affrontati sinteticamente alcuni degli aspetti più importanti legati all'insegnamento della Chimica Analitica in campo ambientale, e si cercherà di evidenziare come la capacità da parte di un ricercatore di ottenere dati analitici affidabili, soprattutto nel caso della determinazione di microcostituenti organici ed inorganici, le cui concentrazioni possono scendere sino a livello delle frazioni di parti per trilione (10^{-12} g/g), sia strettamente legata ad una preparazione specifica e ad una adeguata esperienza maturata in laboratori specializzati. In particolare, tale preparazione dovrebbe fornire da un lato i fondamenti dell'analisi chimica e i principi, teorici ed applicativi, delle varie tecniche strumentali incluse quelle più moderne, e dall'altro gli strumenti culturali idonei per poter affrontare correttamente le varie problematiche relative agli stadi più critici del processo di acquisizione dell'informazione analitica (dalla definizione delle modalità di campionamento sino all'analisi strumentale ed alla valutazione dei risultati), incluse le procedure per l'assicurazione ed il controllo della qualità del dato analitico.

CERTIFICAZIONE, MATERIALI DI RIFERIMENTO, SENSORI.

Luigi Campanella

Dipartimento di Chimica - Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Il progressivo ampliamento dei confini del mercato sempre più proiettato verso dimensioni internazionali pone con drammatica urgenza l'esigenza di garantire la qualità delle merci e, comunque, dei prodotti forniti per metterli al riparo dalla concorrenza attiva. È questo lo stimolo economico industriale che ha giustificato lo sviluppo della referenziazione analitica e dei metodi, sistemi e processi e materiali di riferimento. A tale aspetto se ne deve accoppiare un altro più rivolto alle problematiche scientifiche ed analitiche e finalizzato alla affidabilità della misura e quindi dei risultati. La chimica analitica in tutto questo giuoca un ruolo fondamentale.

L'analisi non è certamente solo chimica e non viene fatta soltanto da chimici e con mezzi chimici. Ma la chimica ha avuto particolari benemeritezze nello sviluppo della scienza analitica in tempi storici ed oggi contribuisce al suo profondo rinnovamento mediante la revisione critica dei principi e con il potenziamento dei suoi mezzi di indagine, a monte di decisioni ponderate e valide riguardanti i molti aspetti della società, in particolare la salute pubblica, la qualità dell'ambiente e l'avanzamento delle tecnologie.

La chimica, dalle origini e per molti anni, fu fortemente analitica, impegnata nell'impresa dell'acquisizione di conoscenze sul mondo inorganico e poi su quello organico, sulla composizione della materia e sulla sua struttura e sui processi che si determinavano nei sistemi indagati. Quando il bagaglio di conoscenza fu notevole, fu possibile trarre vantaggi economici per l'uomo, in termini di merci migliori e in maggiore quantità, di tutela della salute pubblica, di benessere generalizzato; e allora il ruolo euristico dell'analisi decadde a quello di tutore per la conservazione di questo stato favorevole di cose; ci fu la tendenza a relegare l'analisi a un ruolo ancillare, a un servizio indispensabile di solida struttura ma statica.

Da un certo tempo questa stortura si va sanando e si va di nuovo sviluppando la ricerca analitica conoscitiva rivolta ai fenomeni di base, ai problemi nuovi e reali, alla ottimizzazione e alla gestione economica dei processi produttivi, allo sviluppo dei mezzi strumentali di indagine adeguati e alla apertura di nuovi capitoli, come quello delle analisi biotecnologiche.

Due aspetti importanti del rinnovamento riguardano, il primo, lo spostamento dai criteri analitici basati sullo stato di equilibrio termodinamico a quelli imperniati su processi lontani da detto equilibrio; il secondo, la richiesta di valutazione e di documentazione del grado di affidabilità delle analisi sulla base di riferimenti materiali, strutturali e processuali accettati a livello internazionale. In queste prospettive e funzioni rinnovate il chimico analitico è costantemente alla ricerca di tecniche che permettano di ottenere affidabili risultati in modo rapido e preciso. Questa esigenza è particolarmente sentita in quei settori (alimentare, ambientale e chimico) nei quali è necessario effettuare, anche giornalmente, un'ampia varietà di determinazioni analitiche e di test di controllo, su differenti tipi di matrici reali, spesso anche di notevole complessità. I sensori, soprattutto quelli di tipo elettrochimico, risultano particolarmente adatti alla risoluzione di molti problemi analitici di vario tipo, concernenti matrici le più diverse, che si presentano in numero sempre maggiore. Con essi è infatti possibile determinare: a) la maggior parte dei cationi metallici e degli anioni di interesse analitico; b) un buon numero di composti organici presenti in matrici biologiche o vegetali; c) specifici "indicatori chimici", o particolari processi biochimici, correlati con lo stato di conservazione, o di degradazione di campioni di differente natura, ad esempio alimentari; d) alcune sostanze inquinanti, che possono essere rinvenute nelle acque, negli alimenti; nel suolo; e) residui di trattamenti industriali, f) il livello di qualità di campioni di interesse merceologico.

IL RUOLO DELLA CHIMICA ANALITICA NEI CORSI DI LAUREA DEL SETTORE AGROALIMENTARE

E. Desimoni

*Dipartimento di Fisiologia delle Piante Coltivate e Chimica Agraria
Università degli Studi di Milano Via Celoria 2, 20133 Milano*

A seguito di un approfondito dibattito condotto su scala europea (vedere per esempio i riferimenti 1-3) il Working Party on Analytical Chemistry (WPAC) of the Federation of European Chemical Societies (FECS) ha recentemente proposto un Eurocurriculum in Chimica Analitica (4,5) che individua i contenuti irrinunciabili per una adeguata formazione a livello universitario e quantifica in 392 ore l'impegno didattico complessivo. Di queste, 28 ore sono destinate ad argomenti introduttivi e/o generali (scopi della Chimica Analitica, processo analitico totale, campionamento, etc.) 168 ore sono destinate all'analisi mediante metodi chimici (equilibri in soluzione, titrimetria, gravimetria, cromatografia, elettroanalisi, sensori chimici, etc.), 154 ore all'analisi mediante metodi fisici (metodi strumentali di analisi) e infine 42 ore alla Chimica Analitica assistita da computers (chemiometria, struttura e funzioni di hardware e software, interfacciamento, etc).

L'Eurocurriculum è chiaramente finalizzato alla standardizzazione dei contenuti degli insegnamenti di Chimica Analitica nei corsi di laurea in Chimica e risulta difficilmente compatibile con l'organizzazione didattica di altri corsi di laurea.

Nel corso di laurea in Scienze e tecnologie alimentari, il più chimico della Facoltà di Agraria, l'impegno didattico complessivo stabilito dalle recenti modificazioni dell'ordinamento didattico (6) è di 3300 ore di cui almeno 400 riservate alla preparazione della tesi di laurea. A seguito della frammentazione del monte ore a disposizione tra le discipline fondamentali e, soprattutto, professionali o specialistiche, le ore disponibili per i due corsi fondamentali di *Chimica Analitica I* e *Chimica Analitica II* oscillano tra 100 e 180 a seconda della sede universitaria considerata.

Il peso didattico della Chimica Analitica diventa praticamente nullo all'interno degli altri corsi di laurea afferenti alla Facoltà di Agraria (corso di laurea in Scienze agrarie, Scienze delle produzioni animali, Scienze delle produzioni vegetali, Scienze forestali) dove la Chimica Analitica compare come disciplina complementare (spesso raramente prescelta dagli studenti) o solo come appendice agli insegnamenti afferenti ad altre discipline. Per quanto riguarda il corso di laurea in Scienze e tecnologie alimentari, oltre al minor numero di ore a disposizione per la didattica bisogna debitamente considerare i problemi connessi ad un numero di studenti spesso superiore alle capacità ricettive delle strutture e che rende ancor più inadeguata la strumentazione didattica normalmente a disposizione. In tale situazione si deve necessariamente ricorrere all'organizzazione di numerosi turni di esercitazioni e quindi ad una pesante riduzione del numero delle esercitazioni stesse. Infine non possono essere trascurati i problemi legati al fatto che queste ultime costituiscono spesso la prima occasione di frequenza di un laboratorio chimico per la maggior parte degli studenti.

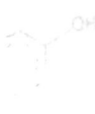
Sulla base di queste considerazioni si impone una realistica ridiscussione dei contenuti didattici degli insegnamenti di Chimica Analitica nei corsi di laurea del settore Agroalimentare e, probabilmente, un loro pesante ridimensionamento. Il problema verrà discusso anche alla luce dei risultati di un sondaggio condotto tra i Colleghi della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Milano.

- 1) E. Pungor, R. Keller, The Teaching of Analytical Chemistry in Europe; *Anal. Chem.*, 60 (1988) 623A-629A
- 2) R. Keller, Report of the WPAC-Study Group Education in Analytical Chemistry at University Level 1989/90 - Update and Reflections, *Mikrochim. Acta*, II (1991) 555-565
- 3) H. Malissa, M. Grasserbauer, Competition Analytical Chemistry- today definition and interpretation, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 343 (1992) 810-835
- 4) R. Keller, The WPAC-Eurocurriculum on Analytical Chemistry. Compiled by the Study Group Education of Analytical Chemistry, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 347 (1993) 1 -2

5) R. Keller, Education on Analytical Chemists in Europe: The WPAC Eurocurriculum on Analytical Chemistry, Anal. Chem., 66 (1994) 98A-101A

6) Modificazioni all'ordinamento didattico universitario relativamente al corso di laurea in scienze e tecnologie alimentari, D.M. 10 Dicembre 1993, G.U. della Repubblica Italiana, serie generale, n. 143 del 21-6-1994, p. 21

Sensori e Biosensori



Etanolo

O₂

Catecol

Benzene

Fenolo

BIOSENSORE A MICRORGANISMI TERMOFILII PER IL MONITORAGGIO DI FENOLI

R. Rella, D. Ferrara, G. Barison e L. Doretta

Ufficio Sicurezza e Prevenzione del CNR Corso Stati Uniti, 4- 35020 Padova

L. Lora

Istituto di Fotochimica e Radiazioni d'Alta Energia del CNR Via Romea, 4- 35020 Legnaro (Padova)

Un facile e veloce metodo per la determinazione analitica dei composti fenolici nelle acque reflue è di grande interesse per molte organizzazioni interessate al monitoraggio dell'inquinamento ambientale. Spesso risulta più importante la concentrazione complessiva dei composti fenolici anziché la loro determinazione individuale. Per questa ragione l'utilizzazione di un biosensore basato sull'ossidazione microbiologica dei fenoli potrebbe risultare interessante.

Molti biosensori, sia microbiologici che enzimatici, per i fenoli sono stati proposti. In tutti i casi l'azione inibente dei fenoli stessi o dei prodotti dell'ossidazione hanno reso questi difficilmente utilizzabili. Inoltre l'instabilità strutturale degli enzimi normalmente utilizzati, specialmente in matrici complesse come le acque di scarico di molte industrie, ha impedito qualsiasi sviluppo. Una soluzione al problema potrebbe venire da modificazioni della struttura terziaria delle proteine enzimatiche utilizzando tecniche chimiche o bioingegneristiche, al fine di ottenere proteine più stabili nel tempo e cataliticamente più efficienti. Un approccio sicuramente più immediato ed economico è l'applicazione in questo campo dei microrganismi termofili e dei loro enzimi che già naturalmente possiedono migliori caratteristiche di stabilità e resistenza a molti agenti chimico-fisici deleteri per la maggior parte dei microrganismi mesofili e dei loro corredi enzimatici.

Cellule metabolicamente attive di un ceppo di *Bacillus stearothermophilus*, capace di utilizzare fenolo come unica fonte di carbonio, sono state immobilizzate in membrane di idrossietil metacrilato (HEMA).

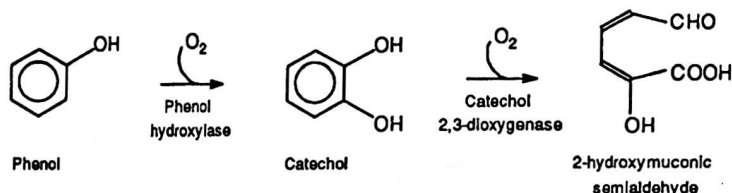


Figura 1. Rappresentazione schematica dell'ossidazione enzimatica del fenolo in *B. stearothermophilus*.

Accoppiando la membrana, microbiologicamente attivata, ad un elettrodo per l'ossigeno disciolto, è stato prodotto un biosensore per fenoli e composti correlati con proprietà peculiari. Risposte lineari sono state ottenute per fenolo, catecolo e per alcuni composti correlati. Lo stato stazionario era raggiunto in un tempo massimo di due minuti. La risposta, sufficientemente specifica, era stabile e riproducibile per mesi. Il biosensore può essere utilizzato in un intervallo di temperatura da 35° a 55°C ed a pH da 4,5 a 8,0, esplicitando la sua massima sensibilità a 55°C e pH 7,2. L'alta temperatura pur influenzando negativamente la solubilità dell'ossigeno ha incrementato la permeabilità della membrana e la velocità di diffusione dei metaboliti, producendo un migliore risultato finale rispetto alle basse temperature. Matrici complesse contenenti piccole concentrazioni di solventi o detersivi non sono tossiche per i microrganismi.

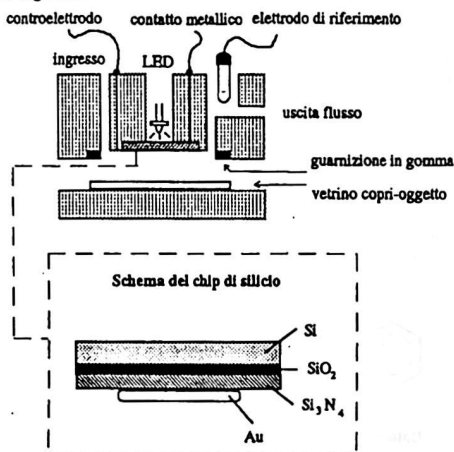
La stabilità di questo biosensore in condizioni estreme, l'auto-sterilità derivante dall'alta temperatura di utilizzo e dalla presenza di fenolo nel terreno utilizzato negli intervalli tra le misure, l'auto-rigenerazione, dovuta alla crescita dei microrganismi in tutte le fasi operative, potranno incoraggiare la sua utilizzazione su matrici come gli scarichi industriali, notoriamente poco permissivi per i biosensori sinora proposti.

REALIZZAZIONE DI UN IMMUNOSENSORE POTENZIOMETRICO PER PESTICIDI BASATO SULLA MISURA DI POTENZIALI REDOX

Adami M., Piras L., Sartore M., Fenu S., Nardelli D., Sardi A., Zunino M. e *Nicolini C.
 Technobiochip - via della Marina - 57030 Marciana (LI)

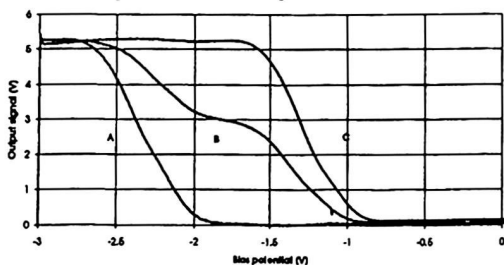
* Istituto di Biofisica - Università di Genova - via Giotto, 2 - Genova Sestri Ponente

E' stato realizzato un sistema potenziometrico, chiamato PAB (Potentiometric Alternating Biosensor), basato su un trasduttore al silicio. Il sensore rivela variazioni di pH in quanto lo strato superficiale è costituito da nitruro di silicio, ma può essere reso sensibile anche a potenziali redox, modificandone la superficie con uno strato metallico. Il trasduttore è stato alloggiato in una camera a flusso, connessa ad un circuito idraulico ed inserita in un sistema elettronico completo, studiato e realizzato nei nostri laboratori. Uno schema della camera di misura ed un particolare del trasduttore sono rappresentati nella figura seguente:



Mediante l'evaporazione di uno strato metallico di area variabile sulla superficie di nitruro di silicio, si ottengono caratteristiche di uscita del tipo schematicizzato nella figura seguente: la curva A si ottiene quando tutta la superficie esposta alla soluzione è coperta dallo strato metallico; la curva C deriva invece da una superficie sensibile interamente costituita da nitruro di silicio; la curva B, bifasica, si ottiene quando la superficie in contatto con la soluzione è parzialmente coperta da uno strato metallico mentre la restante è costituita da nitruro di silicio.

Il trasduttore è stato caratterizzato in termini di sensibilità e linearità della risposta e sono state esaminate diverse modalità di deposizione dello strato metallico; ai fini dell'applicazione come immunosensore, in cui si utilizza la perossidasi come label enzimatico, si è scelta una configurazione in cui l'intera superficie sensibile è coperta da uno strato sottile di cromo che facilita l'adesione di un

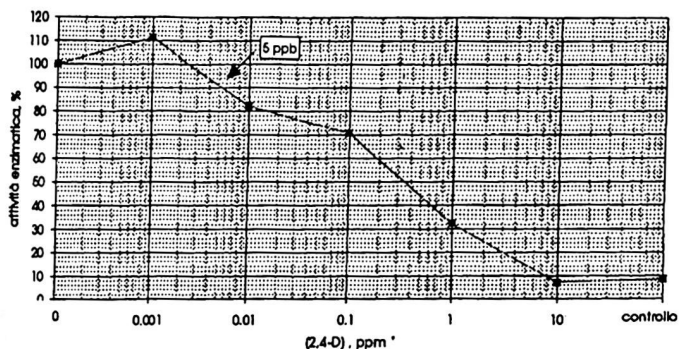


successivo strato di oro.

La risposta del sensore all'attività della perossidasi è stata studiata ed è risultata lineare in un range compreso tra qualche milliunità a circa 10 microunità. La reazione utilizzata impiega acqua ossigenata, tetrametilbenzidina e la coppia redox ferricianuro/ferrocianuro.

Un saggio immunoenzimatico competitivo per la rivelazione di un pesticida è stato messo a punto

utilizzando un anticorpo monoclonale contro il 2,4-D (acido 2,4-diclorofenossiacetico). L'anticorpo viene immobilizzato su un supporto solido e incubato in presenza di una concentrazione nota e fissa di coniugato 2,4-D-perossidasi e di concentrazioni variabili di 2,4-D. Si ottiene così una curva di calibrazione come quella mostrata nella figura seguente da cui si ricava che la concentrazione minima rilevabile di analita (corrispondente a un decremento del segnale pari al 10%) è di circa 5 ppb.



Due tipi di immobilizzazione dell'anticorpo sono stati adottati: su membrana attivata (Pall Biotyne B) e su vetro silanizzato (vetri coprioggetto). Il primo metodo presenta dei vantaggi pratici per la rapidità e la semplicità dell'immobilizzazione, tuttavia il secondo presenta una maggiore riproducibilità dei risultati.

COSTRUZIONE " ONE-STEP" DI UN SENSORE BIENZIMATICO MEDIANTE IMMOBILIZZAZIONE ELETTROCHIMICA CON FILM DI POLIPIRROLO

G.F. DeBenedetto

Scuola di Dottorato in Scienze Chimiche, Dipartimento di Chimica, Università degli Studi via Orabona, 4; 70126 BARI.

L'intrappolamento di enzimi in film elettropolimerizzati (1-4) è divenuto un metodo largamente accettato per la costruzione di biosensori grazie ai vantaggi particolari in termini di semplicità di esecuzione, alto controllo spaziale del processo di deposizione, elevata reiezione degli interferenti e bassi tempi di risposta degli stessi.

Tale approccio è potenzialmente impiegabile nella costruzione di sistemi multistrato e multienzima. La possibilità di costruire dispositivi multistrato è stata recentemente dimostrata realizzando un sensore per la determinazione di lattato basato su lattato ossidasi elettrochimicamente immobilizzata in un bilayer polifenilendiammina/polipirrolo.

In questa comunicazione verrà presentata una procedura one-step e interamente elettrochimica per la costruzione di un sensore amperometrico bienzimatico. Gli enzimi Horse Radish Perossidasi (HRP) e Glucosio Ossidasi (GOD), sono stati co-immobilizzati su elettrodi di carbone vetroso in un film di polipirrolo (PPY) elettrosintetizzato. Il perossido di idrogeno prodotto dall'ossidasi può essere rivelato attraverso la riduzione mediata dalla HRP in una finestra di potenziale (0-200 mV vs Ag/AgCl) che assicura la conducibilità elettrica del film e minimizza interferenze elettroattive. Film di polipirrolo di differente spessore sono impiegati per modulare la sensibilità e il range lineare del sensore. Le caratteristiche operazionali ed il ruolo del film polimerico verranno criticamente discussi.

- (1) C.Malatesta, F. Palmisano, L. Torsi, P.G. Zambonin, *Anal.Chem.*, 1990, 64, 2735
- (2) P.N. Bartlett, R.G. Whitaker, *J. Electroanal. Chem.*, 1987, 337
- (3) F.Palmisano, D.Centonze, A.Guerrieri, L.Torsi, P.G.Zambonin, *Biosensors & Bioelectronics*, 1993, 8, 393.
- (4) D.Centonze, A.Guerrieri, F.Palmisano, L. Torsi, P.G.Zambonin, *Fresenius J.Anal.Chem.*, 1994, 2, 497-
- (5) F.Palmisano, A. Guerrieri, M. Quinto, P.G.Zambonin, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 1005.

ULTRATHIN-FILM COMPOSITE MEMBRANE SENSOR FOR NITRATE ELECTROANALYSIS

L.M. Moretto¹, P. Ugo¹, C.R. Martin², G.A. Mazzocchin¹ and P. Guerriero³

¹ *Dipartimento di Chimica Fisica, Università di Venezia (Italy)*

² *Department of Chemistry, Colorado State University, Fort Collins, Colorado (USA)*

³ *ICTIMA, CNR, Area della Ricerca, Padova (Italy)*

A novel approach for preparing voltammetric sensors based on the use of ultrathin-film composite membranes is described in this communication, choosing the development of a new nitrate sensor as target example of practical importance for environmental electroanalysis.

The availability of simple and reliable methods for the determination of nitrate in natural waters is particularly relevant since nitrate is the species in higher oxidation state involved in the nitrogen cycle; in seawater its concentration ranges from low micromolar for oceanic to 350 μM for estuarine waters. This notwithstanding, analytical methods available at present for determining the nitrate ion in seawater are not completely satisfactory [1].

Recently, we have examined the possibility to develop a nitrate sensor which uses a Nafion coated electrode incorporating Yb^{3+} or UO_2^{2+} as electrocatalysts useful for the voltammetric detection of nitrate [2].

In the case of the modified electrode incorporating UO_2^{2+} , it is possible to determine nitrate when present in the 2-400 μM concentration range; however, problems connected with the slow release of the catalyst from the coating are observed. Moreover, NO_2^- , H_2PO_4^- and to a less extent, SO_4^{2-} interfere with the performances of the sensor.

In order to overcome such problems and limits, the preparation and development of a different kind of sensor which is based on the use of a ultrathin -film composite membrane is presented. Ultrathin-film composite membranes consist of a very thin selective coating deposited on the surface of a microporous support membrane. Apart wide applications in separation technology, this kind of membranes has been recently employed for developing a new prototype glucose sensor [3]. The ultrathin -film composite membrane developed by us for nitrate detection is prepared starting from a commercial alumina ultrafiltration membrane (Anopore®) which is characterized by an average pore diameter of 200 nm. One side of the Anopore membrane is made conductive by sputtering a thin (50nm) gold layer. The gold layer is then used as working electrode on which the electrochemical polymerization of 1-methyl-3-(pyrrole-1-ylmethyl) pyridinium is carried out. The best polymer layer thickness able to give a permselective thin coating characterized by cation exclusion and fast anion permeability, results about 500 nm.

The ultrathin-film composite membrane has been used to prepare a prototype nitrate sensor containing in the inner compartment the enzyme nitrate-reductase and a suitable redox mediator (methylviologen) together with the working electrode.

Optimization of the specific nitrate sensing capabilities as well as possible applications for seawater and lagoon waters analysis will be also described and discussed.

1. E.J. Carpenter and D.G. Capone eds., Nitrogen in the Marine Environment, Academic Press, New York 1983. 2. P. Ugo, L.M. Moretto and B. Ballarin, *Electroanalysis*, 7 (1995) 129.

3. B. Ballarin, C.R. Brumlik, D.R. Lawson, W. Liang, L. S. Van Dyke and C.R. Martin, *Anal. Chem.*, 64 (1992) 2647.

BIOSENSORE ELETTROCHIMICO BASATO SUGLI ENZIMI INVERTASI E GLUCOSIO OSSIDASI PER LA DETERMINAZIONE DEL MERCURIO, METILMERCURIO ED ETILMERCURIO

A. Amine, C. Cremisini, G. Palleschi***

Faculté des Sciences at Techniques, Department de Biologie, C.P. 146, Mohammadia, Morocco

** ENEA Dipartimento Ambiente SAF-MET, Casaccia Via Anguillarese 301, 00060 Roma*

*** Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli Federico II, via Università 100, 80055 Portici, NA*

Il mercurio ed i suoi composti quali metil ed etilmercurio sono stati determinati utilizzando un biosensore elettrochimico a glucosio e l'enzima invertasi.

Quest'ultimo viene totalmente inibito dal mercurio a livelli di concentrazione di parti per miliardo (ppb) mentre alle stesse concentrazioni l'enzima glucosio ossidasi immobilizzato non subisce alcuna inibizione. Sono stati inoltre misurati composti organici del mercurio per via della loro importanza clinica. Infatti il mercurio ingerito con gli alimenti si accumula nei capelli sotto forma di metilmercurio (90%) ed etil mercurio. In soggetti la cui alimentazione è a base di pesce sono state trovate concentrazioni di metilmercurio nei capelli a livelli di parti per milione (ppm). Inoltre la determinazione del mercurio a livelli di ppb con un sistema di misura rapido e poco costoso è particolarmente interessante se confrontata con le tecniche di analisi esistenti. La procedura di analisi è la seguente: Il glucosio, prodotto dall'azione dell'enzima invertasi sul saccarosio, reagisce con la glucosio ossidasi immobilizzata su un sensore elettrochimico di platino e produce H_2O_2 che dà un segnale di corrente proporzionale alla concentrazione di mercurio e/o dei suoi composti organici essendo specifici inibitori dell' invertasi. Parametri come il pH, il tampone, la concentrazione di enzima e del substrato, il tempo di reazione e di incubazione sono stati ottimizzati. Il mercurio ed i suoi composti sono stati determinati nelle condizioni sperimentali migliori utilizzando l'enzima invertasi sia in soluzione che immobilizzato. I risultati hanno dimostrato che questa inibizione è competitiva con il substrato e reversibile. Il mercurio ed i suoi composti sono stati determinati rispettivamente nell'intervallo di concentrazione 1 - 10 ppb. La determinazione del mercurio è risultata essere più sensibile di quella dei suoi composti. E' stato inoltre dimostrato che metalli quali Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , inibiscono l'enzima invertasi solo se presenti a livelli di ppm. Il maggior interferente è risultato l'argento che ha dato una inibizione del 64% quando si è utilizzata una concentrazione di 120 ppb. L'enzima invertasi è poco costoso. Per la determinazione del mercurio e dei suoi composti sono stati utilizzati 2.5µg per analisi il che significa che è possibile eseguire circa 400 analisi con un milligrammo di enzima. Inoltre la determinazione eseguita con l'enzima in soluzione è risultata più sensibile di quella effettuata con l'enzima immobilizzato.

Cromatografia/MS

ISOLAMENTO ED IDENTIFICAZIONE MEDIANTE GC-MS DI UN NUOVO METABOLITA DELL' ANTITUMORALE 5'-DEOSSI-5-FLUOROURIDINA NEL SIERO DI PAZIENTI IN TRATTAMENTO CHEMIOTERAPICO

*Carlo G. Zambonin**

Dipartimento di Chimica

Università degli Studi di Bari - Via Orabona, 4 - 70126 BARI

Le fluoropirimidine sono molecole note per la loro attività antitumorale. Tra esse il 5-fluorouracile (5-FU) può essere considerato uno dei farmaci più attivi nella terapia del cancro (1).

Il profarmaco 5'-deossi-5-fluorouridina (5'-dFUR) rilascia il farmaco 5-FU preferenzialmente nelle cellule tumorali, riducendone gli effetti collaterali ed innalzandone l'efficacia terapeutica (2).

Nel laboratorio citato sono già stati sviluppati (3, 4) alcuni metodi analitici (HPLC e GC-MS) per la determinazione simultanea di 5'-dFUR, 5-FU e di alcuni loro importanti intermedi metabolici in campioni di siero di pazienti sottoposti a trattamento chemioterapico con 5'-dFUR.

Nel corso del presente lavoro è stata trovata per la prima volta evidenza della biometilazione "in vivo" del profarmaco 5'-dFUR con formazione di un metabolita mai rilevato nel corso delle numerose indagini condotte sul farmaco durante il lungo periodo di tempo in cui ha avuto luogo la sua sperimentazione pratica la biometilazione sembra avvenire in maniera specifica in posizione N³ sull'anello pirimidinico. Il nuovo metabolita prodotto è stato individuato mediante gas cromatografia - spettrometria di massa (GC-MS) dei trimetilsilili derivati di estratti di campioni di siero provenienti da pazienti in trattamento chemioterapico con 5'-dFUR. In seguito ad un'attenta interpretazione dello spettro di massa EI, il prodotto metabolico è stato identificato come N³-Me-5'-dFUR. Una conferma definitiva della struttura ipotizzata è stata ottenuta confrontando lo spettro di massa e il tempo di ritenzione gas cromatografico del composto incognito con quelli di uno standard preparato sinteticamente. Anche i risultati di uno studio NMR sono in accordo con le conclusioni delle indagini analitiche sopra citate.

L'importanza pratica del risultato del presente lavoro consiste nel fatto che la descritta biometilazione compete probabilmente con la metabolizzazione intracellulare del 5'-dFUR a 5-FU catalizzata dall'enzima timidina fosforilasi. Quindi, data la relativamente elevata concentrazione di N³-Me-5'-dFUR osservata nel siero di pazienti tumorali in trattamento con 5'-dFUR, essa può alterare sensibilmente la biodisponibilità del farmaco.

1) R. Duschinsk, E. Plevan and C. Heidelberger, *J. Am. Chem. Soc.*, 79 (1957) 4559.

2) R.D. Armstrong and R.B. Diasio, *Cancer res.*, 41(191) 4g91.

3) A. Guerrieri, F. Palmisano, C. G. Zambonin, M. De Lena, *Analytica Chimica Acta*, 296 (1994) 43-50.

4) C.G. Zambonin, Tesi di Laurea, Università degli Studi di Bari.

*L'Autore è grato all' "Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro" (AIRC, Milano) per l'assegnazione di una borsa di studio.

CHIMICA HOST-GUEST ALL'INTERFACCIA GAS-SOLIDO. ASSORBIMENTO E DESORBIMENTO SELETTIVO DI COMPOSTI ORGANICI ALL'INTERNO DI UN DISPOSITIVO DI PURGE & TRAP

*M. Vincenti, C. Minero, V. Maurino, E. Pelizzetti and E. Dalcanale**

Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino, Via Pietro Giuria 5, 10125 Torino;

**Dipartimento di Chimica Organica e Industriale, Università di Parma, Viale delle Scienze, Parma*

Il grande sviluppo che la chimica sopramolecolare, e più in particolare la chimica host-guest, ha assunto negli anni recenti, si è rivolto in grande misura allo studio in soluzione (sintesi, caratterizzazione, proprietà termodinamiche) e secondariamente allo stato solido (forma cristallina, siti di interazione). Solo recentemente, hanno assunto un certo rilievo anche gli studi in fase gas (natura e meccanismi di interazione) e all'interfaccia solido-liquido (estrazioni selettive) e solido-gas (sensori). In ogni sistema in cui non sia presente una fase liquida, l'interazione fra la specie host e la specie guest risulta priva degli effetti di solvatazione che tendono a modificarne l'intensità e la natura medesima. Le due specie interagiscono quindi liberamente in assenza di terzi corpi, rivelando la natura intrinseca del loro legame chimico.

Lo studio delle interazioni fra una serie di piccole molecole guest in fase gassosa ed una serie di molecole host quali "adsorbenti" solidi, ha dunque il duplice scopo di investigare la natura e la forza dell'interazione, e al tempo stesso di verificare la potenziale applicabilità di questi sistemi alla soluzione di problemi chimico-analitici, nell'ambito di dispositivi "classici" di analisi. In questo contesto, abbiamo pensato di introdurre molecole host, quali sono i cavitandi, opportunamente supportate, all'interno della cartuccia adsorbente di un dispositivo di "purge & trap". Lo scopo ultimo, in ambito chimico-analitico, è di pervenire alla ritenzione selettiva di classi di sostanze (alcoani, idrocarburi aromatici, ecc.) all'interno della trappola, eliminando nel contempo gli interferenti e l'acqua, prima del desorbimento e l'iniezione nel gascromatografo.

Al fine di pervenire ad una valutazione quantitativa delle interazioni host-guest, nei limiti della possibile disomogeneità dei siti di interazione, è stato progettato e quindi realizzato un esperimento, che prevede (i) lo stripping da soluzione acquosa di una miscela di 10 componenti in corrente di azoto, (ii) l'interazione dei soluti con la cartuccia adsorbente, dove molecole di cavitandi sono supportate su microsferi di vetro, (iii) il desorbimento a temperatura costante per tempi di desorbimento variabile, dove tuttavia gli esperimenti sono ripetuti a temperature di desorbimento via via crescenti, (iv) l'iniezione nel gascromatografo, previa crio-focalizzazione, e la determinazione quantitativa. Da questa serie di esperimenti a tempi di desorbimento e temperature variabili, si ottiene una matrice di dati per ciascun composto della miscela. Le costanti cinetiche di desorbimento (tempi variabili) sono legate all'energia libera di desorbimento per ciascun composto, che a sua volta dipende dalla temperatura. Si sono ottenuti dati per tre diversi tipi di cavitandi, tutti supportati su microsferi di vetro. Tali dati sono confrontati con quelli ottenuti con microsferi non supportate e con un adsorbente tradizionale (Tenax). In generale, si è osservato che cloroformio e diclorometano sono le sostanze che interagiscono più fortemente con i cavitands supportati, dando luogo in alcuni casi ad un adsorbimento irreversibile. Anche gli idrocarburi aromatici interagiscono con buona efficienza (elevato recupero), e vengono desorbiti a temperature medio-alte. Viceversa, alcuni idrocarburi alifatici e l'acqua non vengono trattenuti affatto dalla cartuccia adsorbente, a differenza di quanto avviene con gli adsorbenti tradizionali, e quindi sono spurgati al di fuori del dispositivo di analisi.

Attraverso il confronto dei dati ottenuti per i diversi cavitandi è possibile prefigurare un meccanismo di interazione, dove i legami host-guest, molteplici e relativamente deboli, esplicano un'azione differenziata. Per esempio, differente è il comportamento fra i cavitands aperti e quelli chiusi, fra quelli che possono dare legami idrogeno e quelli che possono interagire soltanto attraverso dipoli.

RECENTI SVILUPPI NELL'INTERFACCIAMENTO CROMATOGRAFIA LIQUIDA-SPETTROMETRIA DI MASSA DI TIPO PARTICLE BEAM

Achille Cappiello, Giorgio Famiglini e Fabrizio Bruner

Centro di studio per la Chimica dell'Ambiente e le tecnologie strumentali avanzate

clo Istituto di Scienze Chimiche, Università di Urbino, Piazza Rinascimento 6, 61029 Urbino

A differenza di altre tecniche di interfacciamento tra la cromatografia e la spettrometria di massa, rimpiazzate da più recenti soluzioni, il particle beam continua a mantenere vivo il suo interesse in campo analitico. La spiegazione di ciò risiede nel fatto che rimane l'unica tecnica, disponibile commercialmente, in grado di fornire spettri di massa ad impatto elettronico delle sostanze analizzate. Questa caratteristica si rivela particolarmente preziosa nell'analisi di piccole molecole organiche, non compatibili con la gas cromatografia, delle quali è possibile ottenere spettri di massa riproducibili e confrontabili con la letteratura.

Negli ultimi anni il nostro gruppo di ricerca ha apportato notevoli miglioramenti per un utile e razionale impiego di questa interfaccia. In particolare essa è stata adattata all'uso di microcolonne, che pur mantenendo la stessa efficienza delle colonne convenzionali, consentono di ottenere flussi di fase mobile assai piccoli (1-2 $\mu\text{L}/\text{min}$) con notevoli vantaggi (1): maggiore sensibilità, in particolare impiegando solventi acquosi; possibilità di lavorare con il nebulizzatore e la camera di desolvatazione a temperatura ambiente con minor rischio di decomposizione; maggiore facilità di ottimizzazione della nebulizzazione indipendentemente dal tipo di sostanza e dal solvente impiegato.

E' stato inoltre ottimizzato l'allontanamento della fase mobile dal sistema e il trasporto del soluto a basse concentrazioni. Infine è stato migliorato il processo di vaporizzazione di sostanze particolarmente termolabili, eliminando possibili decomposizioni o effetti memoria. Questi progressi hanno consentito di applicare vantaggiosamente la tecnica di interfacciamento particle beam per l'analisi di diverse classi di composti sia di interesse ambientale (pesticidi acidi e neutri) (2), sia di interesse farmacologico o biologico (3).

(1) Cappiello, A.; Bruner, F. *Anal. Chem.* 1993, 65, 1281.

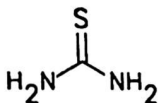
(2) Cappiello, A.; Famiglini, G.; Bruner, F. *Anal. Chem.* 1994, 66, 1416.

(3) Cappiello, A.; Famiglini, G.; Mangani, F.; Tirillini, B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1995, 6, 13 2.

SVILUPPO DI UNA METODICA PER LA DETERMINAZIONE RAPIDA DI TIOUREA IN ACQUE REFLUE MEDIANTE FIA-APCI-SRM-MS-MS

Andrea Raffaelli, Sergio Pucci, Raffaello Lazzaroni, Piero Salvadori
Centro di Studio del CNR per le Macromolecole Stereordinate ed Otticamente Attive,
Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Via Risorgimento, 35, 56126 PISA.

La tiourea è, tra le sostanze tossiche nei confronti dei batteri nitrificanti, quella più attiva, con un limite di tossicità accertato di 76 ppb.



TIOUREA - Formula Bruta: $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$ - PM 76,12

p.f. 182 °C; d. 1,405 g/cm³;

sol. acqua, alcool; insol. etere

Limite Tossicità batteri nitrif.: 76 ppb

Questo può costituire un serio problema per gli impianti di trattamento biologico basati sul processo di nitrificazione/denitrificazione, in quanto se la tiourea supera tale limite si ha un rilascio anomalo di ammoniaca che non è ammesso dall'attuale legislazione.

La determinazione della tiourea ai sopracitati livelli di concentrazione in acque reflue da lavorazioni di conceria si è rivelato un problema tutt'altro che banale:

- i. I campioni di acque reflue da analizzare sono caratterizzati dalla presenza di un notevole numero di componenti, alcuni dei quali presenti in concentrazione piuttosto elevata, dell'ordine delle ppm.
- ii. La tiourea è estremamente solubile in acqua e difficilmente estraibile con solventi organici, quali etere o cloruro di metilene, in cui è praticamente insolubile.
- iii. La tiourea è poco volatile e difficilmente analizzabile in gas-cromatografia.
- iv. Prove preliminari atte alla messa a punto di un metodo HPLC hanno portato al deterioramento irreversibile di una colonna cromatografica dopo poche iniezioni di campione, a causa dell'accumulo di sostanze presenti nella matrice.

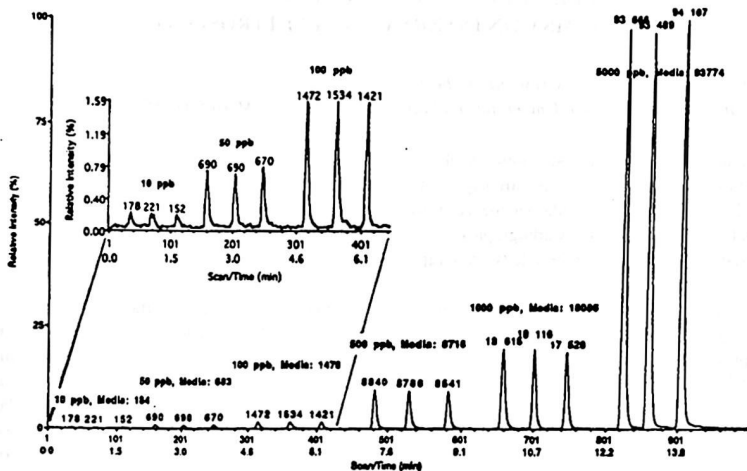
Il problema è stato quindi affrontato mediante spettrometria di massa con una tecnica di ionizzazione in fase liquida, in particolare mediante Ionspray (IS) e Ionizzazione Chimica a Pressione Atmosferica (APCI).

La ionizzazione APCI ha fornito i risultati migliori, e viene quindi qui descritta. In mancanza poi di una adeguata tecnica di separazione, è stata impiegata la spettrometria di massa tandem (MS-MS) iniettando il campione mediante la tecnica "Flow Injection Analysis" (FIA). Le misure sono state effettuate su uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo Perkin Elmer Sciex API III plus, equipaggiato con sorgente API e interfaccia Heated Nebulizer per la ionizzazione APCI. L'apparecchio era collegato con una pompa HPLC Perkin Elmer Serie 200 a due solventi e il campione veniva iniettato attraverso un iniettore Rheodyne 7125 munito di un loop da 20 µl. La fase mobile era costituita da una miscela acqua/metanolo 50:50 a un flusso di 1 ml/min. Lo spettro APCI-MS della tiourea presenta un unico picco a m/z 77, attribuibile alla molecola protonata ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

Lo spettro MS-MS di ioni prodotto dello ione a m/z 77 è caratterizzato da due ioni frammenti, uno a m/z 60 ($[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$) e uno a m/z 43 ($[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{S}]^+$).

Le misure quantitative sono state effettuate in condizioni MS-MS mediante la tecnica "Selected Reaction Monitoring" (SRM) che consiste nel monitorare solo le due frammentazioni 77->60 e 77->43. In questo modo lo strumento diventa anche un efficace mezzo di separazione: solo una sostanza che ha uno ione a m/z 77 che produce due frammenti a m/z 60 e 43 può essere rivelata, rendendo lo spettrometro di massa un rivelatore completamente specifico per la tiourea.

In queste condizioni si raggiunge un limite di rivelabilità di 1-2 ppb senza, con una curva di calibrazione lineare almeno nell'intervallo di concentrazioni esaminate (1-5000 ppb). I cromatogrammi relativi alla curva sono riportati in figura.



L'analisi di campioni reali ha fornito ottimi risultati, con una buona corrispondenza nei limiti di rivelabilità osservati. Infatti, grazie alla MS-MS, la matrice, piuttosto complessa, viene completamente eliminata e anche in queste condizioni è possibile apprezzare la tiourea a livello di 2-3 ppb. Particolarmente interessante è l'ottima rispondenza riscontrata tra i valori di concentrazione misurati e il limite di tossicità riportato in letteratura. Infatti, campioni prelevati durante fasi di buon funzionamento dell'impianto mostravano valori di tiourea al di sotto delle 50 ppb, mentre campioni prelevati durante fasi di malfunzionamento, con rilascio di ammoniaca, mostravano valori di tiourea al di sopra delle 100 ppb.

DETERMINAZIONE SPECIFICA DI PESTICIDI E LORO METABOLITI IN ACQUE AMBIENTALI: ESTRAZIONE IN FASE SOLIDA PER MEZZO DI UNA CARTUCCIA DI GCB SEGUITA DA LC/MS CON INTERFACCIA ELETTROSPRAY

Antonio Di Corcia, Carlo Crescenzi, Roberto Samperi

Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", Piazza Aldo Moro 5, 00185 Roma

E' stato sviluppato un metodo molto sensibile e specifico per il dosaggio di pesticidi acidi e neutri e loro metaboliti in campioni ambientali acquosi. Questo metodo si basa su:

A. Estrazione in fase solida per mezzo di una cartuccia contenente un nuovo tipo di Carbon Blak Grafittizzato (GCB), cioè Carbograph 4.

Rispetto al precedente materiale (Carbograph 1), il Carbograph 4 ha un'efficienza di estrazione circa 4 volte superiore.

B. Separazione ed identificazione degli analiti per mezzo di HPLC/MS con interfaccia Elettrospray. Per questo studio sono stati selezionati 70 pesticidi sulla base del loro interesse ambientale e sulla rappresentatività delle varie classi di pesticidi di uso comune. Il procedimento prevede il passaggio di 1 e 4 L rispettivamente di acqua di fiume e acqua potabile attraverso una cartuccia contenente 0.5 g di Carbograph 1. Sfruttando la presenza sulla superficie di GCB di siti attivi carichi positivamente, la separazione di analiti acidi da quelli neutri è stata realizzata per mezzo di eluizione differenziale usando due distinte fasi eluenti. I recuperi anche di specie molto polari, come i metaboliti dell'atrazina, erano superiori all'85%, senza riguardo della natura del campione acquoso.

La frazione neutra contenente i pesticidi neutri erano analizzati per mezzo di HPLC/ES/MS in modo positivo. E' stata valutata la variazione del segnale ionico in funzione della natura del modificante organico (metanolo, acetonitrile) e dell'aggiunta alla fase mobile di piccole quantità di acidi e sali.

La frazione contenente analiti acidi è stata analizzata in modo negativo, adottando la tecnica "Ion-Pair" così da ottenere ioni preformati degli analiti acidi. La variazione dell'intensità del segnale ionico è stata valutata variando sia la natura che la concentrazione del sale di ammonio quaternario aggiunto alla fase mobile.

La strumentazione usata consisteva di:

1. Colonna analitica convenzionale (25 cm x 4.6 mm i.d.)
2. ES/MS del tipo "bench-top" equipaggiato con un singolo quadrupolo.
3. "splitter" che permetteva l'ingresso nella sorgente ES di 40 µL.
4. Il resto della fase mobile era diretto ad un rivelatore UV (220 nm).

Per ioni preformati, la risposta del sistema ES/MS era linearmente correlata alla quantità iniettata nell'intervallo 0.5-200 ng, mentre questo intervallo si restringeva a 70 ng per ioni pseudomolecolari. L'interfaccia elettrospray è un processo gentile di formazione di specie cariche. Ne consegue che solo ioni molecolari sono prodotti. Tuttavia, variando il potenziale della camera di desolvatazione degli ioni, ioni-frammento possono essere ottenuti, cosicchè la specificità della tecnica può essere di gran lunga aumentata. La natura e l'abbondanza di ioni diagnostici è stata studiata variando opportunamente il potenziale della camera di desolvatazione.

Operando in "full-scan", i limiti di sensibilità del metodo erano 2-10 ng/L e 8-16 ng/L rispettivamente per pesticidi neutri ed acidi.

Chemiometria

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes that this is essential for ensuring transparency and accountability in the organization's operations.

2. The second part of the document outlines the specific procedures and protocols that must be followed when recording transactions. It details the steps from initial recording to final review and approval.

3. The third part of the document discusses the role of the accounting department in maintaining these records and ensuring that they are up-to-date and accurate. It also mentions the importance of regular audits and reviews.

4. The fourth part of the document discusses the importance of maintaining these records for legal and regulatory purposes. It notes that accurate records are essential for compliance with various laws and regulations.

5. The fifth part of the document discusses the importance of maintaining these records for financial reporting and analysis. It notes that accurate records are essential for preparing financial statements and conducting financial analysis.

6. The sixth part of the document discusses the importance of maintaining these records for internal control and risk management. It notes that accurate records are essential for identifying and managing risks within the organization.

7. The seventh part of the document discusses the importance of maintaining these records for external communication and stakeholder relations. It notes that accurate records are essential for providing reliable information to investors, creditors, and other stakeholders.

8. The eighth part of the document discusses the importance of maintaining these records for historical and archival purposes. It notes that accurate records are essential for preserving the organization's history and providing a basis for future decision-making.

9. The ninth part of the document discusses the importance of maintaining these records for legal and regulatory compliance. It notes that accurate records are essential for demonstrating compliance with various laws and regulations.

10. The tenth part of the document discusses the importance of maintaining these records for financial reporting and analysis. It notes that accurate records are essential for preparing financial statements and conducting financial analysis.

NUMERO CRITICO DI CAMPIONI NEL TRASFERIMENTO DEGLI SPETTRI IN NIRS MEDIANTE PLS-2

Michele Forina, Giuliana Drava, Chiara Casolino

Istituto di Analisi e Tecnologie Farmaceutiche ed Alimentari Università di Genova

La spettrofotometria NIRS è in rapido sviluppo, soprattutto come metodo per il controllo rapido della qualità nella industria farmaceutica ed in quella alimentare.

Uno dei maggiori problemi è costituito dalla onerosità della calibrazione, e dal fatto che essa deve essere ripetuta per tutti gli strumenti che fanno parte di una rete e anche per uno stesso strumento nel tempo, per le variazioni dell'ottica o delle condizioni di utilizzo.

I procedimenti di trasferimento dello spettro utilizzano una tecnica di regressione (PDS, Piecewise Direct Standardization, o PLS-2, Partial Least Squares [il 2 indica che la regressione coinvolge due blocchi di variabili]) permettono di calcolare lo spettro che si otterrebbe su di un certo strumento A dallo spettro ottenuto su di un altro strumento B.

Il trasferimento dello spettro richiede, come la calibrazione della quantità chimica, un certo numero di standards, che hanno il vantaggio di non essere dipendenti dal problema chimico, e di essere stabili nel tempo, a differenza degli standard secondari utilizzati nella calibrazione.

Tra le questioni aperte figurano la scelta di standards opportuni per il trasferimento, la individuazione del numero minimo di questi standards per trasferire efficientemente lo spettro, e il grado di complessità della regressione (numero di variabili latenti in PLS).

Questo lavoro affronta gli ultimi due punti. Sono stati utilizzati dati sintetici, per poter confrontare i risultati con quelli ottenuti da altri Autori mediante PDS, e dati reali relativi alla determinazione di umidità i farine di sois.

Gli standards per la calibrazione del trasferimento sono scelti mediante disegno D-ottimo sugli spettri di tutti i campioni candidati; è stata effettuata una analisi dettagliata delle prestazioni (misurate dall'errore di predizione nel trasferimento degli spettri dei campioni non utilizzati per la calibrazione) utilizzando da 3 a 10 standards, variando il rumore su tre livelli comprendenti le possibili situazioni sperimentali, e ovviamente studiando i modelli PLS in funzione del numero delle variabili latenti.

Nel caso dei dati simulati è stato osservato che 5 standards assicurano un eccellente trasferimento (ovviamente comparato con il rumore nello spettro da trasferire); e che il modello PLS richiesto ha 4 variabili latenti; aumentando il numero degli standards si ha un guadagno limitato nella bontà di trasferimento; il numero di variabili latenti oltre le 4 non è critico.

Risultati analoghi sono stati ottenuti con i dati reali, per i quali si è studiato il trasferimento dello spettro da uno strumento a filtri con diciannove bande di riflettanza, ad uno spettroscopio con settecento lunghezze d'onda. Il trasferimento viene effettuato in questo caso calcolando le componenti principali delle due matrici degli spettri, effettuando la regressione PLS-2 tra le componenti principali, e quindi riottenendo dalle componenti principali il dato spettrale richiesto.

DISEGNO SPERIMENTALE IN ELETTROANALISI E SUE APPLICAZIONI IN CAMPO FARMACEUTICO

Sergio Pinzauti, Paola Gratteri, Sandra Furlanetto

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Firenze, Via G. Capponi 9, Firenze.

L'ottimizzazione di un metodo di analisi ha come scopo l'ottenimento di risposte in grado di soddisfare criteri quali la sensibilità, la selettività e la riproducibilità, importanti ai fini analitici.

L'utilizzo di una strategia di ricerca multivariata quale il disegno sperimentale permette un significativo risparmio di tempo e rende l'interpretazione dei risultati più semplice ed affidabile rispetto ai risultati ottenuti con una strategia di tipo univariata, che non valuta le interazioni esistenti tra le variabili.

Lo scopo che si propone il disegno sperimentale è quello di aiutare lo sperimentatore nello stabilire una strategia di ricerca ottimale, elaborata prima della conduzione degli esperimenti, con cui interpretare i risultati ottenuti.

La messa a punto di metodi di analisi utilizzando la voltammetria di ridissoluzione dopo adsorbimento (AdSV) ha comportato l'ottimizzazione di una serie di variabili (eletrolita di supporto, pH, E_{acc} , t_{acc} etc) allo scopo di massimizzare il segnale ottenuto a seguito della riduzione dell'analita. L'ottimizzazione del metodo di analisi per il dosaggio dell'antibatterico a struttura chinolonica cinoxacina [1], è stata condotta mediante l'uso di una matrice di Hadamard, seguita dall'applicazione in successione di due disegni fattoriali frazionari 2^{5-1} ; lo studio della superficie di risposta è stato condotto con l'uso di un disegno di Doehlert che ha evidenziato una forte interazione tra le variabili pH e ampiezza dell'impulso. Il metodo ottimizzato mostra un'elevata sensibilità ($LOD = 1.5 \times 10^{-9} M$) e un range di linearità che si estende da $0.4 \times 10^{-8} M$ a $9.0 \times 10^{-8} M$ con un R^2_{cv} pari a 0.9968. Per la rifloxacin [2], altro antibiotico chinolonico, il disegno sperimentale ha previsto l'uso di una matrice di Hadamard, seguita da un D-optimal design; lo studio è quindi terminato con l'applicazione di un disegno fattoriale saturo alle quattro variabili rimaste da studiare. Anche in questo caso è stata evidenziata la presenza di una interazione tra variabili; (durata impulso-velocità di scansione, Fig. 1) ed il range di linearità va da $1.7 \times 10^{-8} M$ a $1.9 \times 10^{-7} M$ con un LOD pari a $9.2 \times 10^{-9} M$. Un esempio di ottimizzazione simultanea di due risposte viene presentato mediante la descrizione della messa a punto di un metodo di analisi per l'omeprazolo, farmaco inibitore della pompa protonica. Lo screening delle variabili è stato in questo caso effettuato per mezzo di una matrice $3/4$ e lo studio della superficie di risposta è stato condotto con l'ausilio di un *central composite design*. Il range di linearità trovato si estende da $6.8 \times 10^{-9} M$ a $8.5 \times 10^{-8} M$ secondo l'equazione $y = 0.01099 (\mu A \times L \times \mu g^{-1})x + 0.01568 \mu A$ ed il LOD trovato è pari a $5.5 \times 10^{-9} M$. In tutti e tre i casi presentati il modello ottenuto è stato validato previsionalmente.

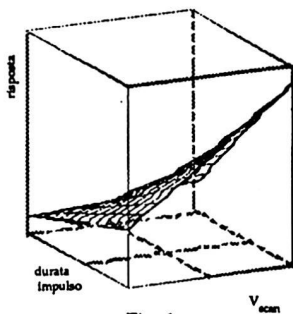


Fig. 1

[1] Gratteri P., Furlanetto S., Pinzauti S., Leardi R., Corti P., "Optimization by experimental design of the adsorptive stripping voltammetric parameters in the determination of cinoxacin", Electroanalysis; in press.

[2] Furlanetto S., Gratteri P., Pinzauti S., Leardi R., Santoni G., Dreassi E., "Design and optimization of the variables in the adsorptive stripping voltammetric determination of rifloxacin in tablets, human plasma and urine", J. Pharm. Biomed. Anal. 13, 431-438;1995.

Spettroscopia

DETERMINAZIONE DI U E Th A LIVELLI DI ULTRACACCE MEDIANTE SPETTROMETRIA ICP-MS-HR.

P. Benetti, G. Cecchet, S. Nidasio

Università di Pavia ed INFN, sezione di Pavia

P. Trincherini,

Istituto Ambiente, JRC - Ispra

La tecnica ICP-MS sta riscuotendo un notevole interesse in campo analitico, per validi motivi. Innanzitutto presenta i vantaggi, già riscontrati nella spettrometria di emissione ottica (ICP-OES), dell'impiego di una sorgente a plasma: il campione viene introdotto a pressione atmosferica e le interferenze chimiche risultano più contenute che in altri sistemi di atomizzazione. A questi occorre aggiungere l'elevato grado di ionizzazione per i vari elementi ottenuto nella torcia ICP e la riconosciuta sensibilità della spettrometria di massa. Una più attenta analisi porta a ritenere che l'impiego di un ICP come sorgente penalizzi nel confronto la spettrometria ottica a causa di un elevato valore della funzione di partizione, cui al solito si aggiunge un'efficienza quantica inferiore all'unità; questo almeno per elementi a spettri ottici complessi. Nell'ICP-MS, invece, l'informazione analitica viene convogliata sui pochi isotopi dell'elemento, con l'ulteriore vantaggio che il possibile utilizzo di isotopi artificiali aggiunti all'inizio come "spikes" garantisce ulteriormente la procedura analitica. Quest'ultima prerogativa è ancora più importante quando si operi a livello di ultratracce (ppt) e sia richiesto un pretrattamento chimico del campione.

Attualmente sono disponibili due tipi di strumenti: ICP-MS quadrupolare oppure ad alta risoluzione (HR). L'ultimo tipo di macchina, sebbene più complesso e costoso, offre importanti vantaggi soprattutto in fatto di sensibilità: i rispettivi limiti di rivelabilità, LOD (3σ), sono in genere migliori di due ordini di grandezza. Uno degli strumenti in funzione presso il JRC di Ispra appartiene a questa classe (VG Plasmatrace); è fornito di un analizzatore elettrostatico con in serie un settore magnetico, quindi a doppia focalizzazione, con un potere risolutivo variabile sino a 8000. Un trasduttore ioni-elettroni tipo "channeltron" permette la lettura dei segnali in regime di conteggio di singoli ioni. Nella determinazione di uranio e torio tale strumento ha dimostrato di poter operare con soluzioni sino a livelli di ppq (10^{-15} g/g), purchè siano rispettate rigorose procedure analitiche.

Innanzitutto sia le soluzioni di riferimento che i campioni devono essere preparati in laboratori ad atmosfera controllata, classe 100, con reagenti ultrapuri.

La necessità di operare con soluzioni acquose di HNO_3 1% comporta la doppia distillazione di acido suprapuro commerciale (ottenendo così un prodotto al 65%, di purezza comparabile con quello Tamapure, Giappone, cioè ≈ 40 ppq in U e Th) mentre per passaggio su colonne MAXY, Francia, si ottiene un'acqua contenente 12 ± 4 e 19 ± 6 ppq di U e Th, rispettivamente.

Le curve di calibrazione (adattamento ottimale con Minuit su una retta $y = mx + q$) tipicamente danno una sensibilità $m = 700$ conteggi/ppq sia per uranio che per torio, con una $s_m \approx 8$ per U e ≈ 14 per Th. Questi dati si riferiscono a concentrazioni non superiori a 5 ppq; q in genere è trascurabile. Con un tempo di integrazione di 8 s, il limite di rivelabilità (3σ) per le soluzioni acquose di HNO_3 1% (bianco strumentale) è di 20 ppq per entrambi gli analiti. I campioni esaminati sono un polimero acrilico e due liquidi scintillatori: pseudocumene il primo, mentre la composizione del secondo non è stata rivelata dal produttore.

Ciascun campione è stato suddiviso in tre aliquote, processate in modo del tutto indipendente, su ognuna delle quali sono state infine eseguite quattro misure.

Lo pseudocumene ha richiesto un semplice pretrattamento chimico, consistente in una lenta evaporazione in contenitori di quarzo preconizionati, riprendendo poi il residuo con HNO_3 ; per sicurezza anche per questo campione, come per gli altri, sono state fatte con successo (100%) prove di recupero su tutte le aliquote, utilizzando 233U.

Per la dissoluzione del polimero acrilico e dell'altro liquido scintillatore è stato invece necessario ricorrere ad un forno a microonde, mettendo a punto adeguate procedure che in particolare evitassero l'uso di H_2O_2 , come suggerito da taluni autori, perchè troppo contaminata: la migliore è risultata contenere, per es., 1.9 ± 0.2 ppt di U. I recuperi hanno dato come valor medio (102 ± 8) %.

Tenuto conto delle necessarie diluizioni e/o dei reattivi impiegati, la dissoluzione ha innalzato gli LOD (3σ) dei "bianchi di processo" per entrambi gli analiti di un ordine di grandezza per lo pseudocumene e due ordini per gli altri campioni, rispetto ai bianchi strumentali. In tabella sono riportati i valori ottenuti, in ppt, riferiti ai campioni originali.

I valori ottenuti, la loro precisione ed i risultati delle prove di recupero mettono in evidenza la bontà della procedura analitica utilizzata, in particolare le ottime prestazioni dell'ICP-MS-HR. Occorre tuttavia segnalare come la necessità di introdurre il campione in soluzione si riveli ancora un punto debole dell'attuale configurazione strumentale: nel caso in esame, per es., occorre lavorare in ambienti classe 100 e le inevitabili fluttuazioni associate ai livelli dei bianchi di processo peggiorano i limiti di rivelabilità da ppq a ppt.

CAMPIONE	232 Th	RSD%	238 U	RSD %
polimero	55 ± 1	1.8	89 ± 2	2.2
scintillatore	14 ± 1	7.1	56 ± 1	1.8
pseudocumene	0.81 ± 0.08	9.9	3.2 ± 0.1	3.1

PRINCIPI E POSSIBILITA' DELLE SCARICHE A BASSA PRESSIONE IN SPETTROSCOPIA DI EMISSIONE ATOMICA: ALCUNI ESEMPI APPLICATIVI

Q. Senofonte, S. Caimi, S. Caroli

*Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Tossicologia Applicata
Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma*

L'analisi diretta di campioni senza trattamento preliminare riduce notevolmente sia il tempo di analisi sia il rischio di contaminazione dovuta alla dissoluzione e manipolazione del campione stesso. Nella letteratura degli ultimi anni sono riportate numerose indagini in merito al modo più idoneo di introduzione del campione solido nella sorgente spettroscopica per la conseguente analisi elementare. In particolare sono stati studiati, con discreto successo, metodi per la volatilizzazione di particelle solide in spettroscopia di emissione atomica con plasma accoppiato induttivamente (ICP-AES). Questi metodi, prevalentemente di tipo termico, necessitano dell'utilizzo di filamenti, forni, archi, scintille o laser oppure ricorrono all'inserimento diretto nella sorgente. Esistono peraltro metodi alternativi per la determinazione di elementi in solidi conduttori e non, quali quelli basati su scariche a bassa pressione, come la scarica luminescente (GD) od il catodo cavo (HCD). Queste offrono, rispetto all'ICP-AES, vantaggi sia per quanto riguarda lo spettro relativamente povero di righe con interferenze spettrali assai limitate, sia in termini di utilizzazione del campione come tale. Infatti, l'analisi diretta con queste sorgenti per la determinazione dei costituenti minori e degli elementi a bassa concentrazione presenti in matrici solide (acciai, leghe, ecc.), offre oggi prospettive notevoli viste le elevate caratteristiche di accuratezza e precisione. I campioni che devono essere sottoposti all'analisi non hanno bisogno di particolari trattamenti se non per fatto che devono presentare una superficie piana adatta ad essere interfacciata alla sorgente. La polverizzazione del campione, previa corretta impostazione di alcuni parametri operativi come l'intensità di corrente, la differenza di potenziale e la pressione di gas di trasporto (ad esempio Ar ed He), è conseguente dall'impatto delle particelle di gas ionizzato sulla superficie del campione. Gli atomi così estratti dallo strato superficiale vengono quindi eccitati e la radiazione emessa viene risolta e quantizzata. Nel caso di campioni elettricamente non conduttori, è necessario che questi vengano miscelati con materiali conduttori, come polvere di rame o di grafite. Questo tipo di sorgenti è stato utilizzato per la determinazione di elementi in traccia e a concentrazioni superiori come Al, Cr, Fe e Mn, in campioni di sedimenti antartici. I campioni sono stati miscelati con polvere di rame ad elevata purezza nel rapporto di 1:5 e successivamente compressi in forma di dischi. I calibranti sono stati preparati analogamente utilizzando ossidi puri degli elementi in esame. I risultati così ottenuti sono stati confrontati con quelli conseguiti tramite ICP-AES, con ottimo accordo tra le due serie di dati. Le prestazioni offerte da questa tecnica si possono quindi considerare accettabili anche se il loro potere di nivelabilità può in alcuni casi non essere adeguato alla soluzione di specifici problemi analitici.

CARATTERIZZAZIONE ANALITICA MEDIANTE METODOLOGIE XPS- DERIVATIZZAZIONE CHIMICA DI FILM DI POLI(O-FENILENDIAMMINA) ELETTROSINTETIZZATI

Ilario Losito

*Scuola di Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche Dipartimento di Chimica,
Università degli Studi, Via E. Orabona 4, 70126 BARI.*

Film di poli(o-fenilendiammina) (PPD) possono essere ottenuti per polimerizzazione elettrochimica del monomero su vari tipi di elettrodi (ad esempio platino o grafite) [1]. Nel periodo intercorso dalla prima elettropolimerizzazione riportata per la PPD [2], numerosi studi sono stati dedicati all'applicabilità di tale materiale in settori di notevole interesse tecnologico, che vanno dalla misura del pH alla mediazione del trasferimento elettronico, alla protezione dei metalli dalla corrosione, alle celle fotovoltaiche. Recentemente tale polimero è stato usato con successo nell'immobilizzazione di enzimi finalizzata alla realizzazione di biosensori [3,4], potendo in questo caso usufruire anche della sua permselectività nei confronti di specie in soluzione.

Nonostante l'interesse suscitato in ambito applicativo, tuttavia, un'attenzione relativamente limitata è stata rivolta allo studio della struttura chimica della PPD. Ciò si deve in qualche misura all'esiguità dello spessore (tipicamente dell'ordine della decina di nanometri) dei film utilizzati per talune applicazioni.

Per le sue caratteristiche l'XPS appare quindi una delle tecniche più indicate per ottenere informazioni sulla struttura del polimero.

In questo lavoro l'analisi degli spettri XPS ad elevata risoluzione degli elementi presenti nel polimero (C, N, O), effettuata con l'ausilio di procedure di fitting e di verifica incrociata, è stata utilizzata per indagare sulla struttura di film di PPD elettrosintetizzati da soluzioni acquose a vari valori di pH. La notevole complessità del materiale non permette però una speciazione e quantificazione per tutti i gruppi funzionali presenti. All'analisi XPS "convenzionale" è stato allora affiancato l'uso di tecniche di derivatizzazione chimica (CD-XPS). La tecnica CD-XPS [5, 6, 7] consente, infatti, di rivelare e quantificare gruppi funzionali derivatizzandoli in maniera selettiva con molecole contenenti un elemento (uno o più atomi) ad elevata cross-section di fotoionizzazione (ad esempio F) ed analizzando il segnale XPS derivante dall'elemento introdotto.

Nel caso specifico particolare attenzione è stata rivolta ai gruppi amminici primari, la cui presenza potrebbe essere associata ad un particolare modello strutturale del polimero (tipo-polianilina), e ai gruppi carbonilici, C=O, cui sembra appartenere gran parte dell'ossigeno rivelato dall'analisi XPS convenzionale.

1. K. Chiba, T. Ohsaka, Y. Ohnuki, N. Oyama, *J. Electroanal. Chem.*, 219, 117 (1987), e riferimenti ivi citati.
2. A.M. Yacynych, H.B. Mark jr., *J. Electrochem. Soc.*, 123, 9, 1346 (1976).
3. C. Malitesta, F. Palmisano, L. Torsi, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 62, 2735 (1990).
4. F. Palmisano, D. Centonze, P.G. Zambonin, *Biosens. Bioelectron.*, 9, 471 (1994).
5. A. Chilkoti, B.D. Ratner in *Surface Characterization of Advanced Polymers* (ed. L.Sabbatini, P.G. Zambonin), cap. 6, VCH, 1993.
6. F. Palmisano, C. Malitesta, D. Centonze, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, (1995), in stampa
7. C. Malitesta, I. Losito, L. Sabbatini, P.G. Zambonin, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, (1995), accettato per la pubblicazione.

Chimica Analitica Ambientale

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

Chemical Analysis of the Sample

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page.

DETERMINAZIONE DI ULTRACRACCE DI PIOMBO NELLA NEVE ANTARTICA MEDIANTE VOLTAMMETRIA DI RIDISSOLUZIONE ANODICA

G. Scarponi, C. Barbante, C. Turetta, P. Cescon

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari di Venezia

Viene presentata una metodologia elettroanalitica per la misura del contenuto di piombo in campioni di neve antartica (livello di concentrazione 1-10 pg/g). La determinazione viene eseguita direttamente (senza preconcentrazione) mediante voltammetria di ridissoluzione anodica con scansione del potenziale ad impulsi e misura differenziale della corrente (DPASV). Viene utilizzata una cella elettrochimica costruita interamente in Teflon e provvista di un elettrodo a disco rotante di grafite vetrosa (RGCDE), su cui un sottile film di mercurio (TMFE) viene depositato elettroliticamente prima dell'analisi, di un elettrodo di riferimento ad Ag/AgCl, KCl(sat.) e di un elettrodo ausiliario in platino.

A 50 g del campione di neve scongelata vengono aggiunti 20 µl di una soluzione satura di KCl quale elettrolita di supporto. Viene utilizzato sale ultrapuro e la soluzione è ulteriormente purificata mediante passaggio attraverso la resina chelante Chelex 100. Vengono impiegate le seguenti condizioni strumentali. Deposizione: degasamento 15-30 min, potenziale di deposizione -0.95 V, tempo di deposizione 40 min, velocità di rotazione dell'elettrodo 4000 giri/min, tempo di equilibratura 30 s. Scansione: elettrodo fermo, scansione ad impulsi differenziale, velocità di scansione 10 mV/s, ampiezza dell'impulso 50 mV, frequenza impulsi 5 s⁻¹, potenziale iniziale -0.95 V, potenziale finale -0.20 V. Condizionamento elettrodo: velocità di rotazione 4000 giri/min, potenziale -0.20 V, tempo di condizionamento 5 min. La determinazione quantitativa viene effettuata utilizzando la misura della corrente di picco e il metodo delle aggiunte standard multiple.

Il potenziale di deposizione ottimale è stato scelto sulla base di un esperimento pseudopolarografico. Il bianco dovuto all'aggiunta dell'elettrolita di supporto è risultato pari a 0.10 pg/g. L'accuratezza delle misure è stata controllata, in assenza di materiali di riferimento specifici, attraverso l'analisi dell'acqua di mare di riferimento per metalli in tracce NASS (National Research Council of Canada).

La tecnica voltammetrica risulta sufficientemente sensibile per la determinazione del piombo alle bassissime concentrazioni rilevate nella neve antartica (1-10 pg/g). La determinazione non richiede preconcentrazione o particolari manipolazioni che potrebbero portare alla contaminazione del campione. La strumentazione, compatta e leggera, può essere agevolmente trasportata in aree remote, e, purché siano garantite le condizioni di pulizia del laboratorio, essa consente di verificare direttamente in campo le procedure di prelievo e conservazione dei campioni, nonchè di ottenere immediatamente risultati validi che potrebbero evitare la conservazione ed il trasporto di campioni congelati.

La concentrazione del piombo nella neve antartica presenta un andamento temporale simile a quello rilevato in Groenlandia, anche se i valori sono dieci-venti volte inferiori. Dopo un incremento osservato fino alla fine degli anni settanta, la quantità è recentemente diminuita fino ad un valore che, nella Terra Vittoria è attualmente di 2-3 pg/g. Il massimo di concentrazione (intorno a 10 pg/g) sembra essere localizzato agli inizi degli anni ottanta e la successiva diminuzione può essere collegata all'uso della cosiddetta benzina senza piombo.

MESSA A PUNTO DI UN SISTEMA DI CAMPIONAMENTO, PRECONCENTRAZIONE E DETERMINAZIONE RADIOMETRICA DEL P-32 COSMOGENICO IN CAMPIONI MARINI

D. Desideri, M.A. Meli, C. Roselli, C. Testa
Istituto di Chimica Generale, Università di Urbino

Lo studio del comportamento biogeochimico del fosforo nel mare è di notevole interesse per la comprensione dei fenomeni che governano il ciclo dei nutrienti.

Il P-32 ($T_{1/2} = 14,3$ giorni), prodotto negli alti strati dell'atmosfera per azione dei raggi cosmici su nuclei di argon, può essere utilizzato per stimare i tempi di residenza del fosforo nei vari comparti dell'ecosistema marino: ciò a causa del suo tempo di dimezzamento che è dello stesso ordine di grandezza dei fenomeni che regolano il ciclo del fosforo nel suddetto ecosistema.

Poiché la concentrazione del P-32 (disciolto, particellato ed associato alle componenti planctoniche) è molto bassa, per poterlo misurare occorre prelevare grandi volumi d'acqua; ciò comporta la necessità di disporre di: a) un sistema di campionamento e di preconcentrazione adeguato, b) una tecnica di separazione chimica del fosforo dagli elementi interferenti c) un contatore beta a basso fondo.

Il campionamento e la preconcentrazione dello ione fosfato vengono realizzati filtrando circa 100 m^3 di acqua di mare su retini di plastica con maglie di $200 \mu\text{m}$ e $60 \mu\text{m}$ per trattenere lo zooplancton e il fitoplancton rispettivamente. Per la raccolta del microparticolato un volume di circa 10 m^3 viene filtrato su filtro a membrana con maglie da $1 \mu\text{m}$; per la ritenzione del fosforo inorganico disciolto (DIP), l'acqua viene fatta passare su tre cartucce in serie contenenti 1 litro di resina XAD7 supportante $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Il pretrattamento delle matrici prelevate consiste nella distruzione della matrice silicea ed organica per il fito-zooplancton ed il microparticolato; per il DIP, si scioglie $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e si elimina Fe^{3+} con metil-isobutil chetone.

Sulle soluzioni così ottenute viene poi effettuata la separazione del fosforo mediante doppia precipitazione dello ione fosfato prima come fosfomolibdato d'ammonio e successivamente come fosfato ammonico magnesiacco.

Le sorgenti di fosfato ammonico magnesiacco vengono infine contate con un contatore beta a flusso di gas (argon-metano) avente un fondo particolarmente basso ($0,44 \pm 0,03$ cpm). I conteggi sono ripetuti per 20-30 giorni per verificare il decadimento del P-32.

In questo lavoro, che è frutto della collaborazione tra CISE, ENEL ed Università di Urbino, verranno presentati i primi risultati ottenuti in alcune campagne effettuate nel Mar Mediterraneo.

TOSSICITA' E SPECIAZIONE DI COMPOSTI ORGANOMETALLICI IN ACQUA DI MARE

Concetta De Stefano ^{a)}, Alessandro De Robertis ^{a)}, Claudia Foti ^{a)}, Antonio Gianuzza ^{b)}, Francesca Marrone ^{b)}, Manuela Martino ^{b)} and Silvio Sammartano ^{a)}

^{a)} Dipartimento Chimica Inorganica, Analitica e Struttura Molecolare,

Università di Messina, S. Agata di Messina, I-98166, Messina

^{b)} Dipartimento Chimica Inorganica,

Università di Palermo, Via Archirafi 26-28, I-90123 Palermo

La produzione mondiale di derivati di organostagno (IV) utilizzati soprattutto come catalizzatori (nelle industrie di materie plastiche) o come antivegetativi (nelle vernici e nei preservanti del legno e del marmo) o ancora come additivi negli antiparassitari in agricoltura, raggiunge alcune migliaia di tonnellate per anno, nonostante alcuni paesi abbiano vietato l'uso di detti composti a causa della loro elevata tossicità. Questa è strettamente dipendente dal numero e dal tipo di gruppi organici presenti nella molecola, mentre la natura del gruppo anionico è, di solito, priva di importanza.

Oltre che per gli accennati usi industriali, derivati organici dello stagno possono essere presenti negli ambienti idrici - sia in soluzione che nei sedimenti - per effetto della bioacchilazione dello stagno inorganico [1], soprattutto in presenza di alte concentrazioni di sostanza organica biodisponibile, analogamente a quanto avviene per il mercurio inorganico. In questo senso, i sedimenti, ricchi di materiale umico, rappresentano il maggior serbatoio di composti organostannici dal quale essi vengono rilasciati lentamente nelle acque distribuendosi nelle più svariate forme chimiche in dipendenza di alcuni importanti fattori ambientali, quali pH, salinità, temperatura, ossigenazione, etc.

La elevata tossicità dei composti di organostagno hanno indotto molti ricercatori ad effettuare, negli ultimi anni, studi sia in vitro che in vivo sugli effetti prodotti da questi composti nei confronti di alcuni organismi acquatici [2]. A fronte di una grande quantità di pubblicazioni sulla chimica allo stato solido dei derivati di organostagno e sugli effetti tossici da essi prodotti in relazione agli usi più comuni, il loro comportamento in soluzione acquosa è stato solo parzialmente studiato [3-6] essendo limitato alle indagini sulle interazioni di questi composti con acqua (specie idrolitiche) e/o con molecole di interesse biologico ad un solo valore di forza ionica, 0.1 M KNO₃. Non è riportato in letteratura alcun lavoro sul comportamento chimico (speciazione) dei composti di organostagno nelle acque naturali (acque dolci, acque marine, estuarine) i cui valori di salinità (forza ionica) variano in un intervallo abbastanza ampio (0.05 - 0.8 mol dm⁻³).

E' ben noto [3] che i cationi di organostagno (IV) idrolizzano in soluzione acquosa in un largo intervallo di pH, dando luogo alla formazione di specie $[(R_nSn)_p(OH)_q]^{p(4-x)q}$, ma non è stata esaminata l'influenza che i costituenti maggiori delle acque naturali esercitano sulla formazione delle specie idrolitiche.

Allo scopo di fornire un quadro dettagliato della speciazione di composti di organostagno (IV) nelle acque naturali, viene riportato uno studio di complessazione [7,8] dello ione (CH₃)₂Sn²⁺ in mezzi acquosi contenenti i principali costituenti delle acque naturali (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻) con particolare riferimento all'acqua marina; per le indagini in questo mezzo sono state adoperate soluzioni di acqua di mare sintetica (SSWE) in un intervallo di salinità tra 5 e 45 ‰. Lo studio è stato effettuato per via potenziometrica a 25°C, seguendo il seguente schema:

- determinazione delle costanti di idrolisi in mezzi non interagenti (NaNO₃, NaClO₄) in un intervallo di forza ionica (0 ≤ I ≤ 3 M)
- determinazione delle costanti di idrolisi (0 ≤ I ≤ 2 M) e delle costanti di formazione delle specie complesse cloruro e solfato in mezzi interagenti contenenti i principali costituenti delle acque naturali (NaCl, Na₂SO₄)
- determinazione delle costanti di idrolisi in SSWE (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻) e controllo della validità del modello di complessazione

Le indagini hanno messo in evidenza la formazione delle seguenti specie idrolitiche $[M(OH)]^+$, $[M(OH)_2]^0$, $[M_2(OH)_2]^{2+}$, $[M_2(OH)_3]^+$, $[M(OH)_3]^-$, $[con M = (CH_3)_2Sn^{2+}]$ e delle specie complesse $[MCl]^+$, $[MCl_2]^0$, $[MCl(OH)]^-$, $[MSO_4]^0$ e $[MSO_4(OH)]^-$.

Considerando sia la formazione delle specie idrolitiche che quella delle specie complesse, è stato possibile tracciare il quadro completo della speciazione inorganica in acqua di mare, prendendo in considerazione tutte le interazioni tra i componenti della stessa SSWE [9].

[1] R.J. Maguire, *Chemosphere*, 15, 253, (1986)

[2] R. Vitturi, A. Gianguzza, F. Maggio and L. Pellerito, *Applied Organomet. Chem.* 8, 509-515, (1994), e riferimenti ivi riportati.

[3] R.S. Tobias and M. Yasuda, *Inorg. Chem.*, 2, 207, (1963)

[4] G. Arena, R. Purrello, E. Rizzarelli, A. Gianguzza and L. Pellerito, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 773, (1989).

[5] V. Cucinotta, A. Gianguzza, G. Maccarrone, L. Pellerito, R. Purrello and E. Rizzarelli, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2299, (1992)

[6] G. Arena, A. Contino, S. Musumeci and R. Purrello, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3383, (1990); G. Arena, R. Call, N. Loretta, S. Musumeci and R. Purrello, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2039, (1992).

[7] P.G. Daniele, A. De Robertis, C. De Stefano and S. Sammartano, in *Miscellany of scientific papers offered to Enric Casassas*, Barcelona, Spain (1991).

[8] P.G. Daniele, A. De Robertis, C. De Stefano, S. Sammartano and C. Rigano, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2353, (1985)

[9] A. De Robertis, C. De Stefano, A. Gianguzza and S. Sammartano, *Chem. Speciation and Bioavailability*, 6, 65, (1994).

**STUDIO DELLE VARIAZIONI STAGIONALI
DELL'ACCUMULO E DELLA SPECIAZIONE DI COMPOSTI
ORGANOSTANNICI IN ORGANISMI MARINI
MEDIANTE HPLC-GENERAZIONE DI IDRURI-ICPAES.**

Paola Rivaro, Roberto Frache

Cattedra di Chimica Analitica, Istituto di Chimica Generale, Università di Genova

I composti organostannici, in particolar modo tributilstagno cloruro (TBT) e trifeniilstagno cloruro (TPT) sono utilizzati come sostanze biocide ad ampio spettro di azione nella composizione di vernici marine antivegetative.

Rilasciati nell'ambiente marino, già a concentrazioni pari a 2-3 ng l⁻¹, possono produrre effetti tossici cronici in molluschi e gasteropodi (1).

Il mitilo (*Mytilus galloprovincialis*) viene sovente utilizzato nei programmi di monitoraggio come bioindicatore per la valutazione della qualità dell'ambiente marino, poichè è in grado di accumulare nei tessuti le sostanze inquinanti presenti nell'acqua, fornendo una stima delle loro variazioni temporali (2).

Per la separazione e la quantificazione degli analiti è stato impiegato un sistema strumentale costituito da HPLC-generatore di idruri-ICP AES.

Tale metodica consente la separazione delle specie oggetto di studio in breve tempo e presenta limiti di rilevabilità (7 ng Sn) tali da renderla utilizzabile per l'analisi di campioni reali (3).

In questa comunicazione sono presentati i risultati riguardanti le variazioni stagionali di composti organostannici riscontrate in tessuti di mitili stabulati per un anno nelle acque del porto petroli di Genova e campionati mensilmente.

(1)- Bryan,G.W., Burt,G.R., Gibbs, P.E, Pascoe, P.E. - J.Mar.Biol.Ass. U.K, 1993, 73, 913.

(2)- Page, D.S. - Mar.Poll.Bull.,1989,20, 129.

(3)- A.Mazzucotelli, P.Rivaro - Microchem. J., 1995,1,23 1.

DETERMINAZIONE DI SOSTANZE ORGANICHE VOLATILI IN ACQUE POTABILI E FLUVIALI MEDANTE GLC.

V. Zelano, M. Ginepro, D. Gastaldi, S. Rizzi, G. Ostacoli.

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

A seguito del notevole uso di solventi da parte dell'industria e a seguito della presenza dei trihalometani nella acque clorate lo studio delle sostanze organiche volatili presenti nelle acque ha suscitato un interesse sempre crescente, e questo perché tali sostanze possono essere tossiche a breve e a lungo termine, sia direttamente come tali, che indirettamente a seguito della reazione con gli ossidanti e/o i disinfettanti di cui l'uso appare per di più ineluttabile. Chiaramente gli effetti tossici valgono sia per gli esseri umani (acque potabili) che per la flora e la fauna fluviale (acque di fiume). Inoltre dette sostanze volatili sono largamente responsabili della degradazione dei parametri organolettici delle acque potabili, oltre che essere all'origine dei fenomeni di reviviscenza batterica nelle reti di distribuzione [1]. La loro determinazione viene effettuata mediante GC, preceduta da una estrazione con opportuno solvente o con il metodo dello spazio di testa. Negli ultimi anni la tecnica Purge and Trap (P&T) sembra però essere diventata quella più adatta alla determinazione di tali sostanze. Ancora più recentemente sono comparse sul mercato delle fibre che hanno permesso di sviluppare la microestrazione in fase solida (SPME). In questo lavoro i composti volatili elencati nel metodo US-EPA 502.2 sono stati determinati nelle acque potabili di fonte pubbliche (21 punti di campionamento) della città di Torino, mediante la tecnica P&T. Viceversa la tecnica SPME è stata adottata per l'analisi delle acque di alcuni fiumi piemontesi. Come rivelatori si sono adoperati il PID e l'ELCD montati in serie e lo spettrometro di massa, quest'ultimo soprattutto per il riconoscimento di altre sostanze volatili non comprese nell'elenco di cui sopra. La tabella riporta l'elenco delle sostanze ritrovate nelle acque delle fontane considerate e le figure rappresentano due cromatogrammi tipici. Come si nota esse costituiscono meno del 50% di quelle considerate nel metodo EPA e di esse solo 16 sono quelle che si ritrovano con maggiore frequenza e che sono state utilizzate per valutare la qualità delle acque analizzate. I dati analitici sono stati trattati mediante analisi statistica multivariata (HCA, PCA, FA) e in base a questo studio si sono potute distinguere differenti zone della città le cui acque hanno caratteristiche diverse. Soprattutto rispetto al primo fattore (associato a composti quali Triclorofluorometano, cis-1,2-Dicloroetilene e 2,2-Dicloropropano, Trielina, 1,2-Dicloropropano, Tetracloroetilene) si è potuta individuare una zona, centro-ovest, a maggiore contenuto di solventi, rispetto ad una zona nettamente più pulita situata lungo il fiume Po. L'analisi dei fattori, effettuata dopo la rotazione dei componenti principali, ha permesso di individuare almeno altri tre fattori significativi, ognuno correlato con un certo numero di variabili.

[1] Bruchet A., Legrand M. F., Anselme C., Mallevalle J. Water Supply, 1989, 7, 77-84.

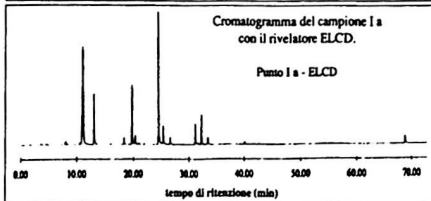
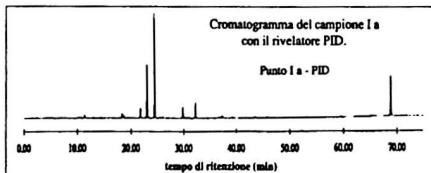


Tabella: elenco dei composti ritrovati nei campioni:

1	diclorodifluorometano
2	clorometano
3	bromometano
4	triclorofluorometano
5	1,1-dicloroetilene
6	1,1-dicloroetano
7	cis-1,2-dicloroetilene + 2,2-dicloropropano
8	bromoclorometano
9	clorofornio
10	1,1,1-tricloroetano
11	tetracloruro di carbonio
12	1,2-dicloroetano
13	trielina
14	1,2-dicloropropano
15	bromodichlorometano
16	toluene
17	1,1,2-tricloroetano
18	tetracloroetilene
19	dicloroclorometano
20	1,1,1,2-tetraclorometano
21	bromofornio
22	1,2,3-tricloropropano+1,1,2,2-tetraclorometano
23	1,4-diclorobenzene
24	1,2,4-triclorobenzene
25	naftalene

STUDIO DEI MECCANISMI DI ATOMIZZAZIONE, IN PRESENZA O MENO DI MODIFICATORI DI MATRICE, NELLA DETERMINAZIONE ETA-AAS DI TELLURIO IN CAMPIONI AMBIENTALI.

Marco Grotti e Francesco Contegno

Cattedra di Chimica Analitica-Istituto di Chimica Generale, Università di Genova.

Riccardo Leardi

Istituto di Analisi e Tecnologia Farmaceutica e Alimentare, Università di Genova.

Due aspetti fondamentali della Spettroscopia di Assorbimento Atomico con Atomizzazione Elettrotermica (ETA-AAS) non ancora completamente risolti sono il problema delle interferenze chimiche, da cui molte determinazioni sono affette, e la comprensione dei meccanismi di atomizzazione, soprattutto quando l'analita è in presenza di altri elementi costituenti la matrice e di un modificatore chimico, aggiunto in molti casi per ridurre gli effetti interferenti. Tali aspetti, inoltre, sono strettamente connessi, in quanto solo la delucidazione dei meccanismi che stanno alla base dell'atomizzazione dell'analita, delle interferenze della matrice o dell'azione dei modificatori può portare ad una soluzione razionale del problema delle interferenze. Il lavoro presentato in questa comunicazione si poneva un duplice obiettivo:

- 1) Effettuare una migliore caratterizzazione delle interferenze chimiche mediante un approccio multivariato, che consideri non solo gli effetti dei singoli interferenti, aggiunti "uno alla volta", ma anche le eventuali interazioni tra interferenti.
- 2) Sviluppare un nuovo metodo per lo studio delle reazioni che avvengono all'interno del fometto di grafite e applicare tale metodo per investigare la causa delle interferenze e il meccanismo di azione dei modificatori di matrice.

Il problema analitico considerato è la determinazione ETA-AAS di tellurio, in presenza di elementi maggiori, quali il sodio, il potassio, il calcio e il magnesio, normalmente presenti in campioni ambientali. Tale determinazione è particolarmente importante dal punto di vista ambientale tossicologico, data l'accertata tossicità dei composti del tellurio, anche a livello di tracce.

L'analisi ETA-AAS di tellurio è complicata dalla sua elevata volatilità e dai pesanti effetti interferenti i quali determinano la formazione di un doppio picco di assorbimento, non più utilizzabile analiticamente, probabilmente originato dalla atomizzazione di tellurio da due differenti composti. Per ridurre la perdita di analita prima dell'atomizzazione ed eliminare le interferenze, palladio e nichel vengono normalmente impiegati come modificatori di matrice.

Le interferenze di Na, K, Ca e Mg sono state studiate mediante un approccio chemiometrico. Un opportuno disegno sperimentale, ha permesso di stimare i coefficienti del seguente modello ipotizzato:

$$Y = b_0 + b_1 [\text{Na}] + b_2 [\text{K}] + b_3 [\text{Mg}] + b_4 [\text{Ca}] + b_5 [\text{Na}][\text{K}] + b_6 [\text{Na}][\text{Mg}] + b_7 [\text{Na}][\text{Ca}] + b_8 [\text{K}][\text{Mg}] + b_9 [\text{K}][\text{Ca}] + b_{10} [\text{Mg}][\text{Ca}] + b_{11} [\text{Na}][\text{K}][\text{Mg}] + b_{12} [\text{Na}][\text{K}][\text{Ca}] + b_{13} [\text{K}][\text{Mg}][\text{Ca}] + b_{14} [\text{Na}][\text{K}][\text{Mg}][\text{Ca}]$$

dove la risposta Y è l'area del picco di assorbimento.

Si è così evidenziato che, qualora si vogliano quantificare o studiare le interferenze della matrice, oltre all'effetto dei singoli elementi, devono essere considerate anche le loro interazioni. L'effetto del palladio e del nickel nel ridurre le interferenze è stato confermato, ripetendo la serie di esperimenti con una piattaforma ricoperta di modificatore, mentre il ruolo del carbonio è stato studiato, sostituendo alla piattaforma di grafite, una piattaforma di tantalio.

Per quanto riguarda, invece, il secondo obiettivo di questo lavoro, si è pensato di studiare le reazioni che avvengono all'interno del fometto di grafite, mediante una "riproduzione in macro" di tale sistema. Mantenendo fissi i rapporti tra analita e interferente, quantità macroscopiche di tellurio (10 mg) e di interferente (1g o 10g) sono state poste in un crogiolo di grafite e riscaldate, in un forno ad induzione,

in corrente di Argon e secondo un programma termico del tutto analogo a quello utilizzato durante l'analisi ETA-MS. Il riscaldamento è stato interrotto rapidamente alla temperatura di fusione della miscela reattiva, in corrispondenza di un punto intermedio della rampa di riscaldamento, poco prima dell'atomizzazione. In questo modo i composti che eventualmente si formano, in fase condensata, tra l'analita e l'interferente, o tra l'analita e il modificatore chimico, vengono "congelati", prima che vaporizzino o si decompongano, e possono essere studiati mediante microscopia elettronica o diffrazione a RX. Poiché i reattivi, l'ambiente e le condizioni termodinamiche e cinetiche sono identiche a quelle di una analisi ETA-AAS, non vi sono obiezioni teoriche all'estrapolazione dei risultati a quantità assolute più piccole. I risultati ottenuti finora possono essere così riassunti:

1) È stata osservata la formazione di due composti cristallini, a struttura esagonale, tra tellurio e sodio e tra tellurio e potassio. Si può, perciò, ipotizzare che l'effetto interferente osservato sia causato dalla formazione di tali composti dai quali il tellurio viene atomizzato in un tempo diverso e con una diversa facilità rispetto al composto dal quale atomizza in assenza di interferente.

2) In presenza di palladio o di nichel nell'ambiente di reazione, in quantità pari a quella dell'interferente, non si sono osservati composti tra tellurio e interferente ma degli aggregati sferoidali tra tellurio e modificatore. Si può, perciò, ipotizzare che la formazione di un aggregato analita-modificatore, più stabile, prevenga la formazione del composto tra analita e interferente, eliminando l'effetto di quest'ultimo.

Un analogo procedimento è stato applicato per il calcio e il magnesio, ma l'ambiente fortemente igroscopico ha impedito, finora, una chiara osservazione microscopica. Infine, i composti ottenuti, sono stati sottoposti ad analisi strutturale mediante microdiffrazione a RX.

In conclusione, la ricerca condotta fino a questo punto ha consentito di formulare un'ipotesi sul meccanismo di interferenza del sodio e del potassio sulla determinazione del tellurio e sul meccanismo di azione di nichel e palladio nel prevenirla. Inoltre, è stata sviluppata una metodologia che può essere applicata, in generale, per lo studio dei meccanismi di atomizzazione.

DETERMINAZIONE DI CONTAMINANTI IN CAMPIONI ALIMENTARI E AMBIENTALI PER VIA IMMUNOENZIMATICA: AFLATOSSINA B1 E ATRAZINA.

*Maria Pesavento**, *Enrica Baldini*, *Alessia Daconi*, *Carla Riolo*, *Teresa Soldi*, *Antonella Profumo*.
Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia.

**Istituto di Scienze Mat. Fis. Chim., Università di Milano*

E' stato messo a punto un metodo ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) per la determinazione di due possibili contaminanti di cibi, l'Aflatossina B1 e l'Atrazina. Il primo è un contaminante naturale prodotto da alcuni funghi, del tipo *Aspergillus Flavus* e *Aspergillus Parasiticus*, che si sviluppano su sostanze alimentari quali semi oleosi, cereali, spezie, prevalentemente in zone a clima caldo-umido, ma che attualmente sembrano essersi diffusi anche in quelle a clima temperato. Si tratta di una delle sostanze più altamente cancerogene finora conosciute. L'Atrazina è un pesticida utilizzato in agricoltura, e sue tracce sono presenti in acque naturali e potabili, e in numerosi vegetali, anche se attualmente il suo utilizzo è severamente limitato.

Dato che tutti i reagenti immunologici richiesti sono reperibili in commercio, i tests qui proposti possono essere eseguiti in un normale laboratorio per analisi chimiche.

Il maggiore vantaggio delle analisi immunologiche di tipo ELISA, già ampiamente utilizzate da molti anni in campo chimico-clinico, ma solo recentemente applicate a campioni di altra natura (1), consiste nel fatto che si possono determinare concentrazioni molto basse in matrici complesse, con alta specificità, senza bisogno di apparecchiature particolarmente sofisticate, e in tempi ragionevoli. Il più importante svantaggio è costituito dalla bassa riproducibilità del metodo. Questo aspetto è stato esaminato con particolare attenzione nel presente lavoro, assieme a quello delle interferenze. In ambedue i casi si è utilizzato come fase solida, da attivare con l'opportuno reattivo immunologico per la formazione del complesso anticorpo-aptene in fase solida, una normale piastra da microtitolazione a 96 pozzetti, sulle pareti dei quali le proteine vengono adsorbite per via fisica. Le successive fasi della analisi sono quindi state eseguite rispettivamente facendo reagire con la fase solida una soluzione contenente Aflatossina B1 e anticorpo specifico marcato con enzima (fosfatasi alcalina e perossidasi di rafano) in difetto, e una soluzione contenente Atrazina e Atrazina marcata con enzima (perossidasi di rafano). Pur impiegando per tutti e due gli analiti un metodo per competizione, si sono utilizzate due strategie diverse, dato che in commercio sono disponibili reagenti diversi. Nel caso della Aflatossina B1 la attivazione della fase solida è stata fatta con un coniugato BSA-Aflatossina B1 (SIGMA), mentre per l'Atrazina si è usato un anticorpo specifico anti-atrazina (Chemicon). In ambedue i casi sono state ottimizzate le quantità dei reagenti tanto bloccati in fase solida che in soluzione. Sono state anche ottimizzate le reazioni enzimatiche di rivelazione, in relazione alla acidità, alla concentrazione di substrato, e ai tempi di incubazione. La risposta del test è ottenuta in termini di assorbanza in funzione della concentrazione di analita nella soluzione in esame. In ambedue le strategie adottate la assorbanza diminuisce all'aumentare della concentrazione di analita. L'intervallo dinamico è dell'ordine di 3 unità logaritmiche, da circa 100 a 0.1 ppb, con riproducibilità del 15% all'interno di una curva di standardizzazione.

Allo scopo di meglio caratterizzare gli equilibri di competizione, è stato messo a punto un metodo per la determinazione dei coefficienti di formazione dei complessi antigene-anticorpo tanto in fase solida che in soluzione. E' stata anche considerata la possibilità di impiegare come fase solida una membrana preattivata, disponibile commercialmente, sulla quale le proteine possono essere legate covalentemente. Una fase solida di questo tipo presenta un certo interesse in quanto può essere riutilizzata, e quindi usata per lo sviluppo di biosensori (2).

(1) J. M. Van Emon, V. Lopez-Avila, *Anal. Chem.*, **64**, 79 A (1992).

(2) R.M. Carter, M.A. Poli, M. Pesavento, D.E.T. Sibley, G.J. Lubrano, G.G. Guilbault, *Immunochemicals*, **3**, 128 (1993).

IMPIEGO DI MATERIALI DI RIFERIMENTO NELL'IDENTIFICAZIONE DI LEGANTI PROTEICI IN MANUFATTI PITTORICI ANTICHI

M. Perla Colombini, Roger Fuoco, Beatrice Muscatello, Francesca Marra

Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale,

Università di Pisa via Risorgimento 35, 56126 Pisa

La conoscenza e la caratterizzazione chimica dei leganti pittorici, utilizzati nei dipinti antichi come mezzi fissativi e disperdenti dei pigmenti, sono fonte di preziose informazioni sia per la ricostruzione delle tecniche esecutive di un'opera d'arte sia per la definizione di un adeguato programma di restauro e conservazione dell'opera stessa. Tale caratterizzazione presenta problematiche analitiche particolarmente difficili da risolvere a causa della presenza simultanea di più leganti, del degrado del materiale ad opera dell'invecchiamento e dell'inquinamento ambientale e della scarsità del materiale da analizzare.

Per quanto riguarda il riconoscimento e la caratterizzazione dei leganti proteici (caseina, uovo e colla animale), sono state sviluppate metodologie analitiche particolarmente complesse basate sulla determinazione quantitativa degli amminoacidi che li compongono. La difficoltà di ottenere risultati accurati e riproducibili, intrinseca nelle procedure complesse, e la mancanza quasi assoluta di materiali di riferimento in questo settore, hanno portato sino ad oggi alla produzione di dati poco attendibili e spesso discordanti tra di loro.

Sulla base di queste considerazioni, si è ritenuto opportuno avviare uno studio relativo alla caratterizzazione di stesure pittoriche di riferimento con l'obiettivo finale di fornire parametri oggettivi ed affidabili per la identificazione dei vari leganti proteici presenti, anche in miscela, nel campione. A questo scopo, sono state preparate a cura dell'Opificio delle Pietre Dure di Firenze (Ministero dei Beni Culturali) seguendo le antiche ricette del Cennini, trenta diverse stesure pittoriche composte da caseina, colla animale e uovo intero, presenti sia da soli che in miscela 1:1, e mescolati con sei pigmenti fondamentali (ocra rossa, ocra verde, nero vite, bianco S. Giovanni, terra verde e smaltino). In questa comunicazione vengono descritti i risultati relativi a queste stesure, e ai materiali proteici puri impiegati per la loro preparazione, ottenuti mediante una procedura analitica da noi messa a punto e basata sull'idrolisi acida assistita dalle microonde, sulla derivatizzazione degli amminoacidi liberati con un agente silanizzante e sull'analisi mediante gas-cromatografia/spettrometria di massa. Dai risultati così ottenuti, sono stati calcolati e confrontati i valori di alcuni rapporti tra le concentrazioni degli amminoacidi più rappresentativi, ognuno con il proprio coefficiente di variazione, ed è stata dimostrata la capacità del metodo proposto di identificare i vari leganti proteici mediante la sua applicazione all'analisi di alcuni campioni reali provenienti da manufatti pittorici.

Cromatografia

1. The following information was obtained from a confidential source who has provided reliable information in the past.

2. The source has advised that the following information is true and correct:

3. The source has advised that the following information is true and correct:

4. The source has advised that the following information is true and correct:

5. The source has advised that the following information is true and correct:

6. The source has advised that the following information is true and correct:

7. The source has advised that the following information is true and correct:

8. The source has advised that the following information is true and correct:

9. The source has advised that the following information is true and correct:

10. The source has advised that the following information is true and correct:

CONFIDENTIAL

11. The source has advised that the following information is true and correct:

12. The source has advised that the following information is true and correct:

13. The source has advised that the following information is true and correct:

14. The source has advised that the following information is true and correct:

15. The source has advised that the following information is true and correct:

SVILUPPO DI METODI CROMATOGRAFICI CON DIVERSI SISTEMI DI RIVELAZIONE PER L'ANALISI DI ACIDI FENOLICI

C. Bocchi, M. Careri, F. Groppi, A. Mangia, P. Manini, G. Mori

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

Gli acidi fenolici svolgono un importante ruolo nella definizione delle caratteristiche organolettiche di vini e distillati, apportando la caratteristica nota "di legno" tipica dei prodotti a lungo invecchiamento in botti di rovere; il loro ruolo è però sicuramente più complesso intervenendo, attraverso equilibri acido-base e formazione di complessi, nei processi biochimici che avvengono nella produzione e nella conservazione⁽¹⁻³⁾.

Per quanto riguarda la determinazione analitica degli acidi fenolici in matrici naturali è necessario ricorrere ad una tecnica di tipo separativo. Poiché la mancanza di volatilità degli acidi fenolici esclude la possibilità di impiego della gascromatografia, il metodo più comunemente applicato è la tecnica HPLC in fase inversa con meccanismi di formazione di coppie ioniche o di soppressione ionica⁽⁴⁻⁵⁾; è possibile inoltre l'impiego della cromatografia liquida in fase diretta, limitatamente però ai metossi- ed ai monoidrossi derivati degli acidi benzoico e cinnamico⁽⁶⁾. Per la determinazione di basse concentrazioni di acidi fenolici anche la tecnica HPLC non è priva di difficoltà a causa della limitata sensibilità della tradizionale rivelazione spettrofotometrica, dovuta ai modesti assorbimenti specifici degli acidi fenolici ed alla complessità delle matrici nelle quali questi si trovano.

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di studiare la possibilità di impiego di diversi sistemi di rivelazione per HPLC (spettrofotometrico, amperometrico, spettrometria di massa con interfaccia Particle Beam) al fine di ottenere maggiore sensibilità e specificità nella determinazione degli acidi fenolici; sono stati corrispondentemente sviluppati procedimenti di separazione con meccanismi adatti ai vari rivelatori utilizzati.

Per la rivelazione spettrofotometrica in assorbimento è stato utilizzato un meccanismo di ripartizione in fase normale su colonna CN, con fase mobile organica-acquosa a pH apparente circa 2, che ha permesso di ottenere la separazione di 15 acidi fenolici in un tempo notevolmente inferiore a quello richiesto dai tradizionali sistemi a fase inversa⁽⁷⁾.

Nel presente studio sono stati considerati i seguenti acidi: salicilico (1), benzoico (2), cinnamico (3), veratrico (4), gentistico (5), vanillico (6), p-idrossibenzoico (7), o-cumarico (8), p-cumarico (9), ferulico (10), 3,4-diidrossibenzoico (11), siringico (12), caffeico (13), sinapico (14) e gallico (15).

Elevate sensibilità sono state ottenute utilizzando la rivelazione amperometrica, con un meccanismo di separazione a fase inversa che fa uso di una colonna C18 e di una fase mobile costituita da miscela in percentuali variabili di metanolo (8-13%) e tampone acetato d'ammonio (5×10^{-3} M)/acido acetico (1.77-2.50 M) ad un pH 2.3-2.5. È stato riscontrato che mentre la percentuale di metanolo influisce sui tempi di ritenzione, la concentrazione dell'acido acetico nella miscela eluente risulta determinante per la forma dei picchi cromatografici. Un esempio di cromatogramma è riportato in Figura 1a.

L'impiego di questo tipo di rivelazione è stato preceduto dallo studio del comportamento elettrochimico degli acidi fenolici in voltammetria ciclica, in soluzioni aventi caratteristiche simili a quelle della fase mobile, ed in voltammetria idrodinamica con il rivelatore in flusso. Sulla base dei risultati ottenuti è stato scelto un potenziale di lavoro che permettesse di rivelare tutti gli acidi presi in esame ad eccezione dell'acido veratrico, che richiede un potenziale più alto, e degli acidi cinnamico e benzoico che, non contenendo alcun gruppo ossidrilico ossidabile, non sono risultati elettroattivi. Questo studio ha evidenziato la possibilità offerta dalla rivelazione elettrochimica di utilizzare il potenziale applicato all'elettrodo di lavoro come elemento di selettività, utile soprattutto nel caso della presenza di matrici complesse.

Il limite di rivelazione determinato per gli acidi fenolici presi in esame è risultato essere compreso tra

10 e 50 ppb (volume di iniezione 20 μ l); è stata inoltre verificata la linearità di risposta in un intervallo di due ordini di grandezza.

Allo scopo di ottenere una identificazione certa degli acidi fenolici anche in mancanza di una completa separazione cromatografica, è stato studiato il comportamento degli acidi fenolici utilizzando la tecnica accoppiata PB LC-MS. L'interfaccia Particle Beam offre la possibilità di ottenere spettri di massa ad impatto elettronico (EI) confrontabili con quelli delle raccolte. Negli spettri di massa EI degli acidi fenolici acquisiti nell'intervallo 90-250 u sono presenti sia lo ione molecolare sia frammenti dovuti alla perdita di gruppi ossidrilici, di gruppi metile e di molecole di acqua nel caso degli isomeri orto. La separazione nel caso del sistema PB LC-MS è stata condotta in fase diretta con colonna CN, in condizioni analoghe a quelle utilizzate per la rivelazione UV. In Figura 1b è riportato un cromatogramma ottenuto con la tecnica PB LC-MS.

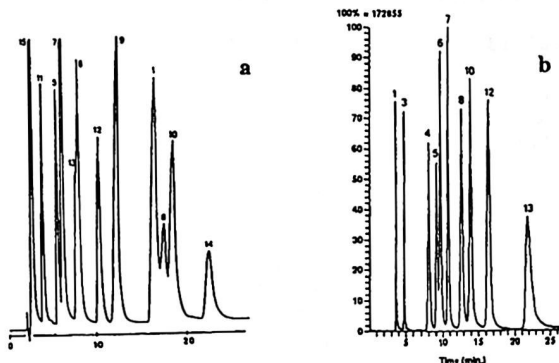


Figura 1 Separazione di una miscela di acidi fenolici ottenuta mediante (a) RP HPLC-EC; colonna C18; fase mobile: metanolo (13%)-acetato di ammonio (5×10^{-3} M)/acido acetico (1.77 M), flusso 1 ml/min; (b) sistema PB LC-MS con colonna CN; fase mobile: eluente A: esano-dietil etere 80/20; eluente B: 2-propanolo/acido formico 80%, 91/9 (v/v); A:B rapporto volume 98/2 (v/v); flusso 0.8 ml/min.

I metodi sviluppati sono stati quindi impiegati per l'analisi degli acidi fenolici in campioni di sughero e di vino.

¹ T. Delgado, C. Gómez-Cordovés, Rev. Franc. Oenol., 1987, 107, 39

² J. M. Andersen, W.B. Pedersen, J. Chromatogr., 1983, 259, 131

³ D.P. Miller, G.S. Howell, C.S. Michaelis, D.I. Dickmann, Am. J. Enol. Vitic., 1992, 43, 333

⁴ G.P. Carloni, F. Cocioli, L. Pontelli, E. Quartucci, J. Chromatogr., 1991, 537, 93

⁵ D.A. Guillén, G.C. Barroso, J.A. Pérez-Bustamante, J. Chromatogr. A, 1994, 679, S9

⁶ R. Schwarzenbach, J. Chromatogr., 1982, 239, 677

⁷ M. Careri, P. Manini, G. Mori, Anal. Proc., 1995, 32, 129

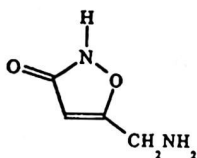
SEPARAZIONE E DETERMINAZIONE DI SOSTANZE PSICOTROPE MEDIANTE RP-PLC CON REAGENTE AD INTERAZIONE IONICA IN BASIDIOMICETI DEL GENERE AMANITA E IN ANGIOSPERME DEI GENERI LOPHOPHORA E TRICHOCEREUS.

M.C. Gennaro, D. Giacosa

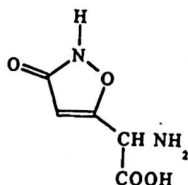
Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino - Via P. Giuria 5 - 10125 Torino

Amanita muscaria

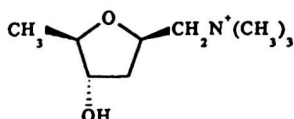
Le prime notizie sull'uso psicotropo dell'*Amanita* giunsero in Europa nel XVIII secolo. Poco studiata ne è tuttora la composizione. Mentre l'effetto tossico della muscarina è noto da tempo, più recentemente sono stati individuati come responsabili degli effetti psicotropi il muscimolo e l'acido ibotenico, che rivestono attuale e notevole interesse in farmacologia per le loro potenzialità come psicofarmaci.



muscimolo



acido ibotenico

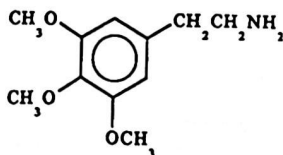


muscarina

Considerando il rilevante interesse e la scarsità di metodi attualmente disponibili, si è sviluppato un metodo di cromatografia HPLC con reagente ad interazione ionica per la identificazione e il dosamento in *Amanita muscaria* di acido ibotenico, muscimolo e muscarina. Il metodo, ottimizzato sia nel processo di estrazione che nella scelta delle diverse condizioni cromatografiche, consente il dosamento nell'*Amanita* di muscimolo (limite di determinazione 30 µg/L), acido ibotenico (15 µg/L) e muscarina (3 mg/L).

Cactus Lophophora williamsii e *Cactus Trichocereus pachanoi*

Mediante il metodo HPLC con reagente di interazione ionica sviluppato per il dosamento della mescalina limite di determinazione 35 µg/L) sono state possibili identificazione e determinazione non solo nel più noto *Lophophora williamsii* (peyote) ma anche nel *Trichocereus pachanoi*.



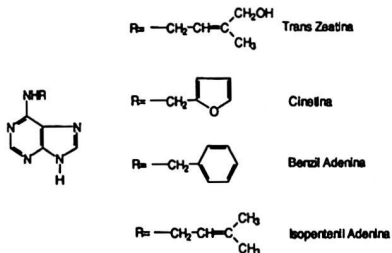
mescalina

DETERMINAZIONE ANALITICA DI ORMONI VEGETALI IN ACQUA DI MARE

S. Ferraro, M. Mozzoni, P. Passamonti e F. Pucciarelli

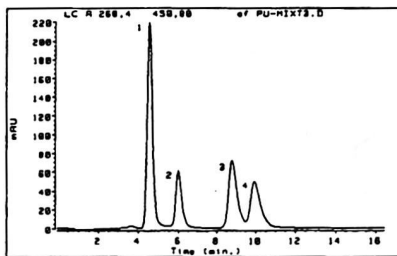
Dipartimento Scienze Chimiche, Università di Camerino - via S. Agostino, CAMERINO (MC)

Le citochinine sono una famiglia di ormoni di origine vegetale presenti nell'acqua di mare (1-3) provenienti da organismi viventi come macro e microalghie e batteri. In genere i fitormoni, prodotti normalmente dalle piante superiori, vengono anche introdotti artificialmente come sostanze regolatrici della crescita nelle coltivazioni ortofrutticole. Successivamente dette sostanze, attraverso meccanismi di dilavamento e trasporto (precipitazioni atmosferiche, irrigazioni etc.), vengono riversate in mare provocando delle alterazioni più o meno marcate della zona di mare costiera (4-5). Dette sostanze, in quanto ormoni, sono ovviamente attive a bassissima concentrazione (0.1-10 ppb) e le citochinine sono in genere promotori dell'accrescimento e della differenziazione delle alghe.



Da studi microbiologici si è visto che il processo di produzione di essudati polisaccaridici (muco) da parte di alcune alghe è legato al fenomeno dell'eutrofizzazione. Questo fenomeno sembra correlato sia allo squilibrio di concentrazioni di determinati nutrienti (nitrati, fosfati e silicati) sia alla presenza di questi ormoni che promuovono la produzione di muco facilitando l'aggregazione delle cellule (6). Da ciò risulta che il dosaggio delle citochinine nell'acqua di mare può fornire uno strumento in grado di tenere sotto controllo

uno dei parametri legati al fenomeno di formazione delle mucillagini. Per questo si è cercato di mettere a punto una metodica che permettesse di determinare contemporaneamente la isopentenil adenina, la zeatina, la cinetina e la benzil adenina sfruttando la proprietà di queste sostanze di essere elettroattive su vari elettrodi. Da prove effettuate le citochinine risultano essere elettroattive sia in riduzione su HMDE in ambiente acido sia in ossidazione su GCE in ambiente neutro. Poiché i segnali mostrati sono aspecifici, sia quelli in ossidazione sia quelli in riduzione, si è sviluppata una metodica HPLC per separare le sostanze per poi identificarle mediante rivelatore elettrochimico in serie alla colonna. Qui di seguito è mostrato un cromatogramma delle quattro citochinine:



Cromatogramma di una miscela di citochinine: Colonna Supelcosil LC-8DB 150x4.6 mm particelle 3 µm; fase mobile metanolo 53% - tampone acetato di ammonio 0.2M in acqua pH = 6.0; flusso 0.5 ml/min; rivelatore UV, 268 nm; iniezione 1 µl, 2.5 mg/ml fase mobile (1: zeatina; 2: cinetina; 3: benzil adenina; 4: isopentenil adenina).

Lo studio sta ora procedendo verso la messa a punto del detector elettrochimico e nel pre-concentrare le citochinine separandole dalla matrice marina in modo da ottimizzare il dosaggio analitico.

1 M. Pedersen, Nature 218 (1968) 776.

2 M. Pedersen; G. Fridborg, Esperientia 28 (1972) 111-112

3 M. Pedersen, Physiol. Plant 28 (1973) 101-105

4 T. Kentzer; K. Kluszyńska-Burkiewicz; A. Radziwonowska; B. Potulska-Klein Stud. Mat. Ocean. 19 (1977) 164-170

5 T. Kentzer; R. Synak; K. Burkiewicz Biol. Plant 22 (1980) 218-225

6 H. Homme; A. Mazur Ambiente, Risorse, Salute Maggio-Giugno 1992

DETERMINAZIONE DELLA DISTRIBUZIONE DI MASSE MOLECOLARI DI POLIELETTROLITI MEDIANTE CROMATOGRAFIA DI ESCLUSIONE STERICA. IL CASO DEGLI ACIDI UMICI

Valeria Fogacci, Renato Seeber, Domenica Tonelli

Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali

Università di Bologna - Viale del Risorgimento, 4 - 40136 Bologna

Carlo Gessa

Istituto di Chimica Agraria - Università di Bologna - Viale Berti-Pichat, 10-40127Bologna

In un lavoro di ricerca volto a caratterizzare aspetti diversi del chimismo di acidi umici (HA), alla luce delle diverse proprietà chimiche degli stessi al variare della massa molecolare, l'estratto totale di HA è stato sottoposto ad una procedura di frazionamento mediante ultrafiltrazione tangenziale. Per verificare l'efficienza di tale operazione, si è pensato di utilizzare la cromatografia di esclusione sterica (SEC) quale tecnica di controllo della distribuzione di masse molecolari nei tagli ottenuti.

La cromatografia di esclusione sterica è frequentemente utilizzata per determinare la distribuzione delle masse molecolari di polimeri organici di sintesi. Una curva di eluizione in SEC può essere vista come un profilo della distribuzione delle dimensioni molecolari, quando sia possibile trovare una relazione che trasformi la scala in ascissa, espressa in termini di volume di ritenzione (V_e), in una nuova scala espressa in termini di masse molecolari. Ovviamente, tale relazione sarà funzione della specifica colonna e strumentazione usate. Il metodo più convenzionale di calibrazione consiste nell'uso di una serie di standard della stessa natura chimica dei composti che si analizzano, aventi una distribuzione di masse molecolari la più stretta possibile.

Quando si usi la SEC per la determinazione di distribuzioni di masse molecolari di HA, ci si trova ad affrontare problemi inerenti alla loro natura di polielettroliti, nonché al loro specifico chimismo. Per ottenere una separazione basata unicamente sulle dimensioni molecolari, occorre evitare ogni interazione con la matrice polimerica che costituisce il riempimento della colonna; queste interazioni possono essere significative quando si ha a che fare con sostanze in cui siano presenti molti gruppi funzionali, quali i polielettroliti in generale; in particolare, la varietà dei gruppi presenti negli acidi umici impone di considerare una vasta gamma di possibili interazioni. Un altro problema risiede nella non disponibilità di standard di calibrazione che siano adatti per polielettroliti non proteici. Ancora, la forma e le dimensioni delle molecole di acidi umici in soluzione risentono fortemente della concentrazione del materiale umico, della forza ionica e del pH⁽¹⁾. Ad alta concentrazione (> 3.5-5 g/L), alta forza ionica (>0.05 M) e basso pH (< 3.5), gli acidi umici tendono ad aggregarsi tramite legami a H e per azione delle forze di Van der Waals. Aumentando il pH queste interazioni diventano più deboli e, a causa della progressiva salificazione dei gruppi a carattere acido, gli aggregati si separano in particelle più piccole fino a che, a bassa concentrazione (< 3.5-5 g/L), bassa forza ionica (< 0.05 M) e pH sufficientemente elevato (>3.5), gli HA si possono considerare polielettroliti lineari e flessibili.

Il primo approccio alla caratterizzazione della distribuzione delle masse molecolari degli HA è stato quello di utilizzare il metodo della calibrazione con opportuni standard. Poiché si è lavorato in condizioni in cui gli HA presumibilmente si comportano come polielettroliti lineari e flessibili, il kit di calibrazione più idoneo è sembrato quello dei polisaccaridi, anche se si tratta di polimeri neutri; peraltro, quando non sono disponibili, come in questo caso, standard della stessa natura delle sostanze in esame, la SEC può servire solamente come mezzo per confrontare distribuzioni di dimensioni molecolari.

Per verificare la consistenza delle distribuzioni di masse molecolari ottenute, si è tentato di passare dalla curva di calibrazione in termini di masse molecolari di standard commerciali ad una curva di calibrazione propria della sostanza in esame, seguendo un procedimento riportato in letteratura, noto come "calibrazione universale"². Tale metodo prevede di riportare, in funzione di V_e , il logaritmo di

J, volume idrodinamico del polimero definito come $J = [\eta] \times M$, dove M è la massa molecolare e $[\eta]$ è la "viscosità intrinseca" ottenuta, con procedura diversa a seconda della natura del polimero, da misure di viscosità a diversa concentrazione. Il volume idrodinamico è il reale parametro su cui si basa la separazione in SEC. Tale calibrazione è stata ottenuta eseguendo misure viscosimetriche sui polisaccaridi standard, nello stesso solvente che costituisce l'eluente in colonna. Dalla definizione di J e dalla equazione di Mark-Houwink $[\eta] = K \times M^\alpha$, che correla $[\eta]$ con la massa molecolare tramite due costanti, K e α caratteristiche di ogni singolo polimero neutro in un certo solvente, è possibile ricavare i valori di tali costanti per gli acidi umici. Il procedimento si basa sul profilo cromatografico relativo a due frazioni di HA con diversa distribuzione di massa molecolare e sui valori di J ricavati dalla curva di calibrazione universale in corrispondenza di una serie di V_e del profilo sperimentale. Noti i valori ottenuti per i parametri K e α , si costruisce la retta di calibrazione tipica del polimero.

I valori da noi ottenuti per gli HA sono risultati privi di significato fisico, molto probabilmente per la difficoltà di applicare i concetti validi per i polimeri neutri ai polielettroliti. Questo lavoro ha confermato quindi la difficoltà di definire le distribuzioni delle masse molecolari di polimeri tramite SEC quando non si abbiano a disposizione gli standard opportuni e, soprattutto, ha evidenziato la necessità di elaborare modelli teorici adatti a definire il comportamento in soluzione di polimeri non neutri.

1. Ghosh, K., and Schnitzer, M., Soil Sci., 1980, 129, 266
2. Morris, M.C., J.Chromatog, 1971, 55, 203

ENANTIOSEPARAZIONE DI ACIDI CARBOSSILICI MEDIANTE FASI STAZIONARIE CHIRALI FUNZIONALIZZATE CON DERIVATI DI ERGOT ALCALOIDI

F. Bachechi

Istituto di Strutturistica Chimica, CNR - Area della Ricerca di Roma, C.P. 10, 00016 Monterotondo
Stazione, Roma

M. Flieger

Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnská 1083, C-142 20
Prague 4, Czech Republic

A. Messina

Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza" P.le Aldo Moro 5, 000185 Roma

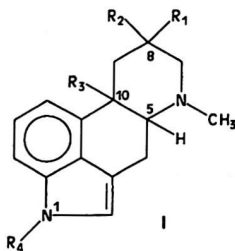
A.L. Segre

Istituto di Strutturistica Chimica e Servizio NMR, CNR - Area della Ricerca di Roma

M. Sinibaldi

Istituto di Cromatografia, CNR - Area della Ricerca di Roma.

Gli Ergot alcaloidi costituiscono una classe di composti con alta potenzialità di applicazione nella sintesi di fasi stazionarie chirali per HPL (1-5). Ciò è dovuto alla presenza nella struttura ergolinica (I) di: a) due o tre atomi di carbonio asimmetrico; b) un gruppo accettore di elettroni rappresentato dall'anello indolico; c) funzioni basiche che possono costituire siti di interazioni elettrostatiche o di legami H, d) versatilità di introdurre in R_2 gruppi di impedimento sterico o siti di ulteriori interazioni stereoselettive. Un'altro fattore favorevole all'impiego di Ergot alcaloidi nel campo delle separazioni enantiomeriche analitiche e su scala preparativa è il costo di produzione relativamente basso, essendo tali composti ottenuti mediante processi di fermentazione. Nella presente comunicazione saranno illustrati: 1) la sintesi di alcuni supporti chirali ottenuti funzionalizzando gel di silice con il derivato (+)-(5R,8S,10R)-terguride, che presenta rispetto a (I):



$R_1 = H$; $R_2 = NH-CO-N(C_2H_5)_2$; $R_3 = H$; $R_4 = C_3H_7-NH_2$ o C_3H_7 ;

2) il relativo meccanismo di ritenzione osservato per una serie di acidi organici (ammino acidi, acidi 2-arilpropionici), che è stato individuato come la risultante della formazione di complessi o coppie ioniche, in cui N(6) ed il gruppo indolico rappresentano rispettivamente un punto di ancoraggio per la funzione carbossilica, ed un sito di interazione - con le funzioni ariliche del soluto; 3) lo studio del meccanismo di ricognizione chirale, che è stato condotto mediante spettroscopia NMR in soluzione e la determinazione per raggi X della struttura dei complessi diastereomerici tra la terguride e gli isomeri (R-) e (S-) dell'acido 2-(6-metossi-2-naftil)propionico (naproxen). Questa ultima indagine è determinante non solo per prevedere il grado di risoluzione di un racemato, ma soprattutto per sviluppare ulteriormente la chimica degli Ergot alcaloidi come selettori chirali.

1. M. Flieger, M. Sinibaldi, L. Cvak and L. Castellani, *Chirality*, 6 (1994) 549.

2. M. Sinibaldi, M. Flieger, L. Cvak, A. Messina and A. Pichini, *Chromatogr. A*, 666 (1994) 471.

3. L. Castellani, M. Flieger, L. Mannina, P. Sedmerna, A.L. Segre and M. Sinibaldi, *Chirality*, 6 (1994) 543.

4. L. Castellani, M. Flieger and M. Sinibaldi, *J.Liq. Chrom.*, 17 (1994) 3695.

5. A. Messina, A.M. Girelli, M. Flieger, M. Sinibaldi, P. Sedmerna and L. Cvak, "Direct resolution of optically active isomers on chiral packings containing ergoline skeletons. Part V. Enantioseparation of amino acid derivatives", in preparazione.

POLIMERI BIOMIMETICI A STAMPO MOLECOLARE: COMPORTAMENTO CROMATOGRAFICO DI UN POLIMERO LEGANTE LA TEOFILLINA

C. Baggiani, F. Trotta, G. Giraudi, A. Vanni, G. Moraglio**

Dip. di Chimica Analitica, Università di Torino, via P. Giuria 5 - 10125 Torino - tel. 011-6707622

** Dip. di Chimica Inorganica, Fisica e dei Materiali, Università di Torino, via P. Giuria 7-10125 Torino - tel. 011-6707550*

La polimerizzazione a stampo molecolare rappresenta una metodologia emergente per la preparazione di macromolecole sintetiche ad elevato grado di reticolazione, dotate di capacità legante selettiva nei confronti di specifici legandi. I polimeri a stampo molecolare (MIP, molecular imprinted polymer) vengono ottenuti a partire da miscele a composizione predefinita di monomeri, agenti reticolanti e legandi, in un opportuno solvente organico. Le proprietà leganti del polimero derivano dalla creazione, indotta dalla presenza del legando, di cavità di forma e carica elettrostatica complementari a quelle del legando stesso. Recenti studi hanno dimostrato l'utilità di tali polimeri come componenti per la costruzione di sensori molecolari ad elevato grado di selettività, come sistemi biomimetici capaci di simulare le proprietà leganti di un anticorpo o le proprietà catalitiche di un enzima, e come fasi stazionarie per cromatografia HPLC. In quest'ultima veste i MIP sono stati utilizzati con successo nella separazione di isomeri ottici e nella preconcentrazione ed estrazione selettiva di analiti di interesse clinico da matrici complesse.

Una valutazione generale dell'applicabilità in campo ambientale, clinico e biotecnologico dei MIP richiede uno studio delle loro caratteristiche in termini di specificità e capacità legante. Tale studio è stato effettuato su di un sistema di riferimento noto in letteratura, preparato per polimerizzazione di acido metacrilico e etilenglicole dimetacrilato in presenza di teofillina.

La valutazione dell'effetto di variabili quali pH, forza ionica e capacità tamponante della fase mobile sulla costante d'equilibrio termodinamica è stata studiata mediante cromatografia frontale, determinando sia la costante d'equilibrio che la concentrazione dei siti leganti. Il comportamento cromatografico in termini di selettività della colonna e rapporto di capacità è stato studiato mediante cromatografia zonale, utilizzando miscele solvente organico - tampone a vari pH come fase mobile.

In vista dell'utilizzo di MIP quali fasi stazionarie per estrazioni selettive di contaminanti ambientali e molecole d'interesse clinico da matrici complesse, sul medesimo sistema di riferimento sono state eseguite alcune prove preliminari di estrazione di teofillina da una matrice complessa. In particolare modo è stato valutato l'effetto di alcuni parametri chimico-fisici (pH, forza ionica, solventi non acquosi) sul comportamento estrattivo, con particolare riguardo al coefficiente di recupero e alla selettività.

UNA TECNICA ANALITICA SEPARATIVA PER LA CARATTERIZZAZIONE DI PARTICOLATO IN DISPERSIONE: FRAZIONAMENTO IN CAMPO GRAVITAZIONALE-FLUSSO (GFFF) PER L'ANALISI DIMENSIONALE DI FASI STAZIONARIE HPLC

P. Reschiglian, D. Melucci, R. Valtancoli e G. Torsi

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

L'analisi dimensionale di materiale particolato riveste notevole interesse nella generale caratterizzazione di tali campioni in quanto molte proprietà dei sistemi dispersi dipendono dalla curva di distribuzione dimensionale (PSD). In HPLC, ad esempio, è noto come l'efficienza di una colonna sia fortemente determinata dal diametro medio e dalla PSD della fase stazionaria. Per chi svolge attività in campo cromatografico, in un laboratorio di metodiche analitico-separative, l'accesso alla determinazione accurata di tali grandezze può essere notevolmente ostacolato dal fatto che le tecniche di analisi dimensionale di norma utilizzate (microscopia elettronica, coulter-counter, laser scattering) sono di tipo non separativo, quindi difficilmente implementabili in tali laboratori, e di costo elevato da giustificare solo un uso ben più che saltuario.

Le tecniche di Frazionamento in Campo-Flusso (FFF) sono metodiche separative di tipo liquido-cromatografico da tempo dimostrate valide per la rapida determinazione PSD di varie fasi disperse [1], tra cui supporti per uso cromatografico [2,3]. In particolare la tecnica di Frazionamento in Campo Gravitazionale-Flusso (GFFF), la più semplice ed economica delle metodiche FFF, si è dimostrata accurata nella valutazione PSD di fasi silicee irregolari e sferiche [4]. In GFFF, infatti, esistono le condizioni per una determinazione diretta delle dimensioni dai parametri di ritenzione (tempo di ritenzione e larghezza di picco).

Vengono qui presentate la configurazione strumentale e la metodologia GFFF utilizzabili per l'analisi PSD di vari supporti silicei, sia di tipo "diretto" che di tipo "inverso" (RP). Si dimostra come una colonna GFFF può essere facilmente assemblata a basso costo e sostituire, in una strumentazione classica liquido-cromatografica, la colonna HPLC permettendo a laboratori non attrezzati per lo studio PSD di ottenere accurate analisi dimensionali di sistemi in dispersione con conoscenze standard di liquido-cromatografia.

Rispetto alla ottimizzazione della procedura di analisi GFFF di tali sistemi dispersi vengono descritti gli effetti della composizione della fase mobile e del tipo di colonna GFFF sulla ritenzione e quindi sulla accuratezza dell'analisi PSD derivata e, in un ambito quantitativo, sia la dipendenza del recupero di campione dalle condizioni sperimentali che la possibilità di determinazione diretta della quantità iniettata mediante una singola analisi.

[1] J. C. Giddings, *Science*, 260, (1993)1456

[2] J. C. Giddings, M. Moon, *Anal. Chem.*, 63, (1991) 2869

[3] S. K. Ratanathanawongs, J. C. Giddings, *Chromatographia*, 38, (1994) 545

[4] P. Reschiglian, G. Torsi, *Chromatographia* 40, (1995) 467

CAMPIONAMENTO ED ANALISI CON GC-MS DI AMMINE AROMATICHE A LIVELLO DI ULTRATRACCE IN ACQUE NATURALI E DI RIFIUTO

S. Raccanelli, M. Favotto, F. Messineo

(EniChem S.p.A. SIA, Via della Chimica, 5, 30175 Porto Marghera-VE)

B. Pavoni

(Dip. Sci. Amb., Università di Venezia, Dorsoduro 2137- 30123 VE)

E' stata sviluppata una metodologia di campionamento e analisi, sensibile e selettiva, che permette di determinare le concentrazioni di 21 ammine aromatiche e 4 benzidine tra le più diffuse e tossiche a livello di ppt in acqua.

Il metodo è stato inizialmente messo a punto per acque di falda e successivamente è stato adattato anche per acque reflue.

Il campione (1 L) prelevato in doppio tramite pompa ad immersione, viene addizionato di idrossido di sodio e conservato in bottiglia silanizzata di vetro scuro a 4° C.

Anilina, difenilammina e 3,3'-diclorobenzidina deuterate sono usate come standard interni.

Dopo estrazione liquido-liquido con diclorometano (3x50 ml), l'estratto viene addizionato di 1 ml di toluene e concentrato in evaporatore rotante.

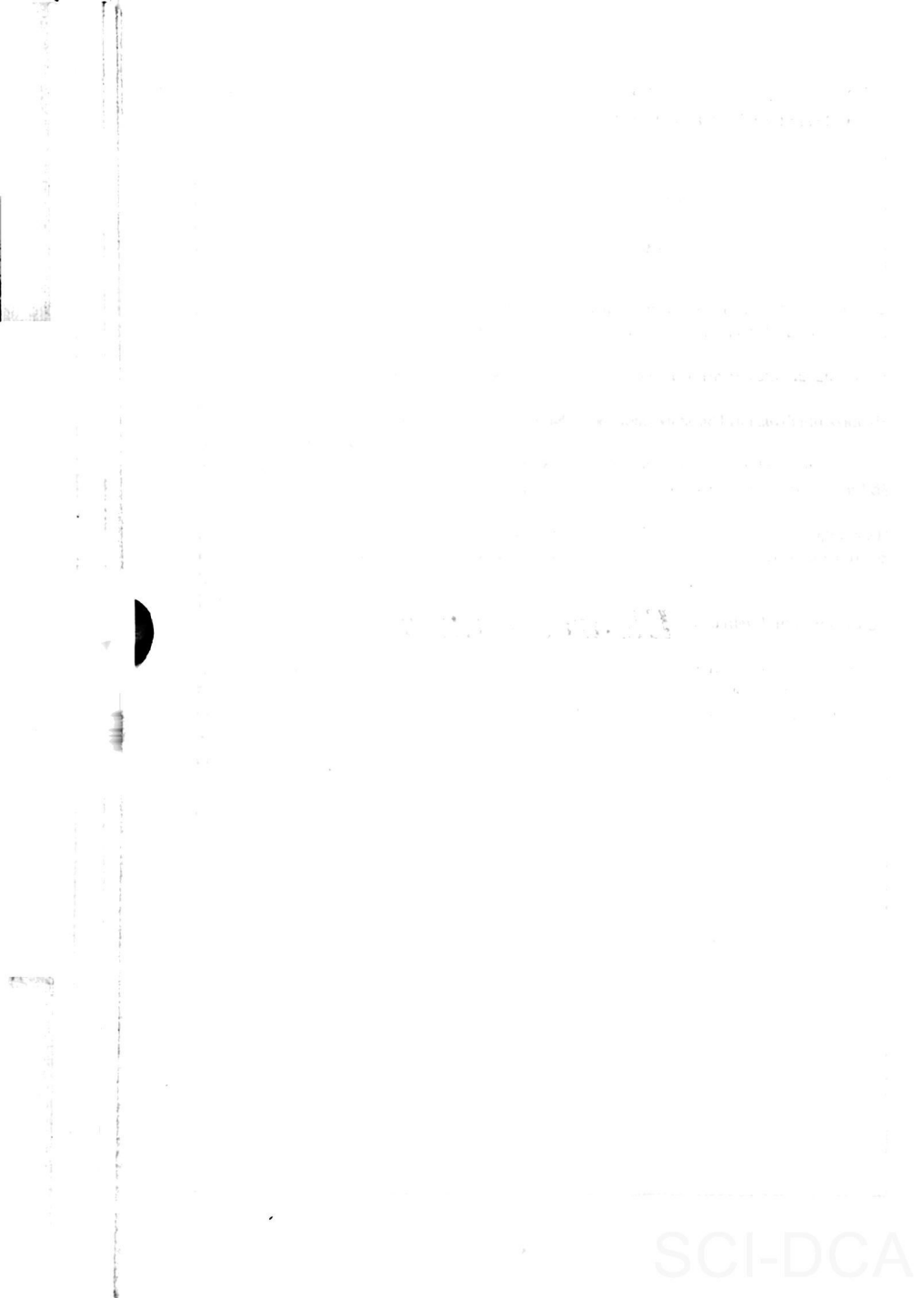
La derivatizzazione viene effettuata su 0.500 mL di toluene con APFP (anidride pentafluoropropionica). Le rese di derivatizzazione superano il 97% per 18 ammine e 4 benzidine, mentre le N,N- sostituite e la dinitroanilina non reagiscono.

L'analisi viene condotta con HRGC-LRMS in frammentografia di massa.

La resa calcolata in base agli standard interni è superiore al 90 %. Il limite di rilevabilità per ciascun analita derivatizzato è di 10 ng/L (ppt).

In genere per campioni di acque di falda non è necessaria una procedura di purificazione del campione. Gli estratti da acque di scarico vengono invece purificati per eluizione su colonna cromatografica multistrato caricata con allumina acida, carbonato di sodio e solfato di sodio. Il campione purificato viene poi derivatizzato e analizzato seguendo la procedura sopradescritta. In questo caso la resa globale, calcolata con gli standard interni, è superiore a 85%.

Elettroanalitica



SCI-DCA

COMPLESSI METALLO-LEGANTE IN VOLTAMMETRIA DI STRIPPING CATODICO ADSORBITIVO: DETERMINAZIONE DI METALLI IN TRACCIA

Ornella Abollino, Maurizio Aceto, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini

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

Tra le tecniche di preconcentrazione per la determinazione di elementi in traccia sono comunemente impiegate procedure di precomplessazione ed arricchimento di complessi metallo-legante per estrazione in fase solida (adsorbimento, scambio ionico). A queste procedure può essere assimilata la voltammetria di stripping, in questo caso, stripping catodico adsorbitivo, la preconcentrazione si realizza per adsorbimento del complesso metallo-legante sulla goccia di mercurio, e la successiva scansione di potenziale in senso catodico può fornire un segnale correlabile alla concentrazione di metallo. In questa ricerca abbiamo studiato il comportamento polarografico, con la tecnica di stripping catodico adsorbitivo, di alcuni leganti quali EDTA, DTPA, Tiron, 8-idrossi chinolina, acido 8-idrossi-7-iodo e 8-idrossi chinolin 5-solfonico, 8-idrossi chinaldina e chelanti di tipo azo-solfonato: Acid Alizarin Violet N, Calmagite, Plasmoscorinth B, Acid Red 4, Acid Orange 8, Palatine Chrome Black, Nitrazine Yellow, per una loro applicazione nella determinazione di metalli in traccia in sistemi naturali.

Lo studio è consistito nella valutazione dei voltammogrammi ottenuti per i leganti considerati, a diverse condizioni operative (pH, intervalli di potenziale, concentrazioni relative), e eventuali loro modificazioni in presenza di metalli (Ni, Pb, Mn, Cd). Si è poi proceduto ad un confronto dei risultati ottenuti con questa procedura, picchi di riduzione in presenza dei metalli, con la distribuzione delle specie metalliche (metallo libero/metallo complessato) calcolata attraverso le costanti condizionali di stabilità e la distribuzione relativa ottenuta in recuperi dei metalli quali complessi solfonati su resine a scambio anionico.

Il metodo è stato utilizzato per la determinazione del Mn(II) a livello di tracce in campioni ambientali (acqua di mare dell'Antartide).

RIVELAZIONE AMPEROMETRICA IN CROMATOGRAFIA LIQUIDA DI ALDITOLI E CARBOIDRATI CON UN ELETTRODO MODIFICATO A BASE DI RAME(I) OSSIDO DISPERSO IN UNA MATRICE DI GRAFITE E POLIETILENE.

T. R. I. Cataldi, D. Centonze, I.G. Casella, M. Martuscelli, V. Forastiero
Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata
via N. Sauro, 85 -85100 Potenza. Tel. 0971474237, fax 0971474223

Gli elettrodi a pasta di carbone (CPE) rappresentano un argomento di notevole interesse scientifico, come dimostrato dal loro crescente impiego in vari settori elettroanalitici e dall'aumento del numero di pubblicazioni avvenuto nell'ultimo decennio [1]. La metodologia dei CPE modificati con catalizzatori di vario tipo rappresentano una valida alternativa alle strategie classiche basate sulla modificazione delle superfici elettrodiche mediante adsorbimento chimico, formazione di legami covalenti e crescita di films polimerici elettroattivi. L'utilizzo, in luogo del carbone vetroso, di una matrice costituita da polvere di grafite mista ad un legante di natura organica e/o inorganica è giustificato dalla facilità con cui la superficie del CPE può essere rinnovata e dal miglioramento del rapporto segnale rumore. A questo proposito è da notare che la corrente di fondo e la stabilità meccanica dei CPE sono influenzate sia dalla purezza della grafite utilizzata nella pasta, sia dal tipo di legante organico [2]. In questi ultimi anni, rilevante successo hanno riscosso i CPE modificati con ossidi di metalli di transizione, quali Cu(I), Ni(II), Ru(IV) e Co(II,III) [3-6], che mostrano una spiccata attività catalitica in ambiente alcalino verso l'elettrossidazione di composti alifatici scarsamente ossidabili e privi di gruppi cromofori o fluorofori. Recentemente, nel nostro

Cu₂O in pasta di grafite e polietilene

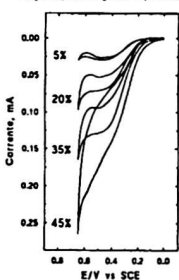


Figura 1

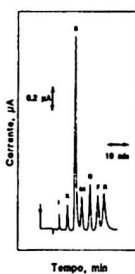


Figura 2

laboratorio è stata dimostrata la fattibilità di un CPE preparato con NiO intrappolato in una matrice di grafite + PVC ed usato come rivelatore amperometrico in flusso di alditoli [4]. Nell'ambito di uno studio più generale volto alla realizzazione e caratterizzazione di nuovi elettrodi a pasta di carbone modificati con catalizzatori metallici, si è approntato un sensore costituito da ossido di rame(I) disperso in una matrice di grafite (G) e polietilene (PE), Cu₂O/G/PE. Questo sensore risulta essere preparabile in meno di 1 ora, presenta una superficie facilmente rinnovabile ed è caratterizzato soprattutto da una bassa corrente di fondo. I risultati preliminari in voltammetria ciclica hanno evidenziato un'elevata attività elettrocatalitica nei confronti di composti poliossidrilati. Questa attività

risulta essere funzione del carico di Cu₂O nella matrice di grafite e polietilene, come mostrato in figura 1 dove sono riportati i voltammogrammi ciclici ottenuti in presenza di mannitolo 5 mM ad una velocità di scansione di 50 mV/s in NaOH 0.48 M. L'impiego di questo elettrodo nella rivelazione in cromatografia liquida è dimostrata in figura 2, dove è riportata una separazione di alditoli, Inositolo (250 nmol in colonna), Xilitolo (25 nmol), Sorbitolo (150 nmol), Mannitolo (10 nmol) e zuccheri, Glucosio (25 nmol), Fruttosio (25 nmol) e Ribosio (75 nmol). La separazione è stata effettuata con una colonna Carbowax MA1 (Dionex) utilizzando una cella elettrochimica in configurazione walljet. Il Cu₂O/G/PE presenta, peraltro, elevata stabilità, rapido tempo di risposta e bassi limiti di rivelabilità per tutti gli analiti investigati.

1. K. Kalcher, J.-M. Kauffmann, J. Wang, I. Svancar, K. Vytras, C. Neuhold and Z. Yang, *Electroanalysis*, 7 (1995) 5.
2. C. Urbaniczky and K. Lundströml, *J. Electroanal. Chem.*, 176 (1984) 169.
3. Y. Xie and C.O. Huber, *Anal. Chem.*, 63 (1991) 1714.
4. T.R.I. Cataldi and D. Centonze, *Anal. Chim. Acta*, 317 (1995) 43.
5. J. Wang and Z. Taha, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 1413.
6. S. Mannino, M.S. Coio and S. Ratti, *Electroanalysis*, 5 (1993) 145.

LA DETERMINAZIONE DELLA SELETTIVITA' POTENZIOMETRICA: UN NUOVO INDICE DI SELETTIVITA'

Carlo Maccà

*Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica ed Analitica,
Università di Padova, Via Marzolo 1, I-35131, Padova*

La Commissione di Chimica Elettroanalitica della Divisione di Chimica Analitica della IUPAC ha recentemente aggiornato la Raccomandazione sui metodi per la presentazione dei valori dei coefficienti di selettività degli elettrodi ione-selettivi, [1] precedentemente contenuta nelle disposizioni sulla relativa nomenclatura. [2] Nella presente comunicazione commentiamo l'ultima Raccomandazione, spiegando i motivi per la quale la troviamo piuttosto deludente, e proponiamo un diverso approccio alla soluzione dei problemi sollevati dagli autori e da essi risolti in maniera a nostro parere non adeguata. Comunemente per l'espressione quantitativa della selettività d'un elettrodo per lo ione primario in presenza d'uno ione interferente con carica dello stesso segno s'impiega il coefficiente di selettività potenziometrico, $k_{A,B}^{pot}$, generalmente definito in riferimento all'equazione di Nikolskii-Eisenman:

$$E = E^* + N \log \{ [A] + k_{A,B}^{pot} [B]^{z_A/z_B} \} / z_A \quad (1)$$

Tuttavia questa equazione in una gran parte dei casi risulta inadeguata a rappresentare la reale risposta elettrodoica al variare delle concentrazioni delle specie pertinenti, particolarmente quando $Z_A \neq Z_B$. Anche equazioni di altra forma risultano sperimentalmente giustificate solo in casi particolari e in condizioni limitate.

L'equazione di N-E implica la dipendenza delle dimensioni del coefficiente di selettività dal rapporto fra le cariche ioniche. Di conseguenza, il confronto dei valori dei coefficienti di selettività per coppie di ioni primario/interferente a diverso rapporto di carica non consente di fissare una scala di selettività numerica univoca (altrettanto avviene, del resto, senza suscitare scandalo, per i prodotti di solubilità); inoltre, mentre per coppie di ioni isoivalenti un valore di $k_{A,B}^{pot} < 1$ segnala univocamente una preferenza per lo ione primario e un valore > 1 la preferenza opposta, altrettanto non avviene per coppie eterovalenti. Gli Autori della Raccomandazione giudicano queste caratteristiche come gravi inconvenienti, per risolvere i quali consigliano l'adozione generalizzata del metodo di determinazione del coefficiente di selettività denominato "matched potential method" [3], quale metodo puramente operativo avulso da qualsiasi modello di risposta. Tuttavia le modalità del metodo corrispondono all'assunzione implicita dell'equazione

$$E = E^* + N \log \{ [A] + k_{A,B}^{pot} [B] \} \quad (2)$$

come modello della risposta elettrodoica bi-ionica. Nella Raccomandazione vengono riportati alcuni esempi nei quali, mediante l'adozione di questo approccio, valori di coefficienti di selettività ritenuti "assurdamente grandi" e "ingannevoli" vengono ricondotti entro termini "ragionevoli" e chiaramente indicativi della reale preferenza dell'elettrodo per l'uno o per l'altro ione.

Nella presente comunicazione viene dimostrato che il metodo sostenuto dalla IUPAC, se applicato secondo le indicazioni, anziché appianare le difficoltà per una quantificazione razionale della selettività potenziometrica le può aggravare notevolmente. Infatti, sia che l'equazione (1) rappresenti il reale comportamento dell'elettrodo, sia che non lo rappresenti, l'uso di tale metodo per coppie eterovalenti introduce nei valori dei coefficienti di selettività una dipendenza sistematica dalla concentrazione di ione interferente a cui viene effettuata la determinazione (a meno che la reale risposta elettrodoica per una coppia eterovalente non obbedisca all'equazione (2), ciò che può accadere solo fortuitamente); questa dipendenza può essere molte volte superiore a quella, deprecata, dei coefficienti di selettività

tradizionali. E' proprio grazie a questa dipendenza che, scegliendo opportunamente le condizioni di misura, si riesce a riportare $k_{A,B}^{pot}$ a dei valori "ragionevoli".

Viene dimostrato anche che per ioni eterovalenti il coefficiente di selettività operazionale (che proponiamo, per chiarezza, di denominare *rapporto d'interferenza*, $R_{A,B}^{pot}$) aumenta all'aumentare della concentrazione d'interferente quando $Z_A < Z_B$, diminuisce nel caso contrario. In ambedue i casi è possibile trovare o calcolare una concentrazione, reale o virtuale, d'interferente (che di per sè può anche essere assurdamente grande o piccola), per la quale il rapporto d'interferenza ha valore unitario. Il corrispondente valore numerico, che denominiamo indice di selettività, è probabilmente l'unica grandezza adatta a stabilire, qualora ne venga ravvisata la necessità, una scala univoca che permetta di confrontare la selettività per lo ione a carica maggiore rispetto allo ione a carica minore indipendentemente dal valore del rapporto di carica.

[1] Y. Umezawa, K. Umezawa and H. Sato, Pure Appl. Chem., 67 (1995) 507.

[2] IUPAC, Compendium of Analytical Nomenclature, Pergamon, Oxford, 1978, p.168

[3] V. P. Gadzkepo and G. D. Christian, Anal. Chim. Acta, 164 (1984) 279.

SIMULAZIONE DI PROCESSI DI ELETTROCHEMILUMINESCENZA PRODOTTI DA ONDE QUADRE AD ALTA FREQUENZA SU ULTRAMICROELETTRODI. EFFETTI DELLA CADUTA OHMICA E DELLA COSTANTE DI TEMPO DI CELLA SU POTENZIALE, CORRENTE FARADICA, CAPACITIVA E LUCE.

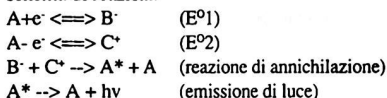
P. Pastore*, F. Magno*, M.M. Collinson** e R.M. Wightman***

*Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica ed Analitica, via Marzolo 1, 35131 Padova, ITALIA.

**Department of Chemistry, Kansas State University, Manhattan, Kansas 66506-3701, USA.

***Department of Chemistry, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599-3290, USA.

In questo lavoro si è razionalizzato un processo di elettrochemiluminescenza [1-5] (ECL) prodotto da onde quadre simmetriche ad alta frequenza (5-100 kHz) su ultramicroelettrodi prestando particolare attenzione all'effetto che la caduta ohmica e la costante RC del sistema hanno su potenziale elettrodo, corrente faradica, corrente capacitiva ed emissione di luce. Il processo studiato è quello descritto dal seguente schema di reazioni:



Un singolo precursore, A, viene ridotto ed ossidato a due potenziali distinti tra loro producendo i corrispondenti radicali anione (B⁻) e catione (C⁺) che, reagendo tra loro, producono due molecole di precursore una delle quali nello stato eccitato di singoletto.

Quest'ultima decade allo stato fondamentale emettendo un fotone. Lo studio è stato fatto per mezzo della simulazione digitale usando l'algoritmo "hopscotch" come metodo alle differenze finite. La simulazione ha permesso di deconvolvere le correnti faradica e capacitiva e di dimostrare che la caduta ohmica, $i_{oh}R$, e la costante di tempo della cella, RC, condizionano la forma d'onda del potenziale che a sua volta ritarda e modifica la forma della corrente faradica e quindi l'emissione di luce come mostrato in fig. 1A-D. Opportuni diagrammi permettono, in linea di principio, di distinguere sistemi aventi costanti di annichilazione adimensionali $\lambda = kt_s C_A$ maggiori di 1000, valore limite per il controllo diffusivo (k =costante di annichilazione, t_s =semiperiodo dell'onda quadra e C_A =concentrazione del precursore). Si è studiato inoltre l'effetto del valore di λ sulla forma e sulla posizione dello strato di reazione (fig.2) assieme all'influenza che diversi coefficienti di diffusione hanno anche sul movimento dello strato di reazione stesso. Infine, è stata individuata la presenza di strati di reazione multipli relativi a step precedenti che dimostrano che le zone di emissione possono essere più di una.

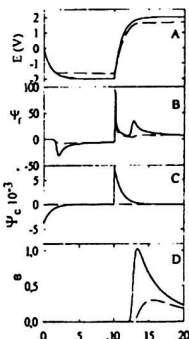


Fig. 1 Simulazione digitale del primo ciclo di un esperimento di ECL su ultramicroelettrodi con polarizzazione rettangolare ad alta frequenza. A) Potenziale elettrodo; B) corrente faradica adimensionale; C) corrente capacitiva adimensionale; D) intensità di luce adimensionale. Parametri di simulazione: potenziale di ossidazione=2.0V, potenziale di riduzione=-2.0V, V=50kHz, DA=1.3x10⁻³cm²/s, CA=10⁻⁴mol/cm³, R=5x10³Ω, C=2x10⁻¹¹farad, k=10⁻⁴s⁻¹M⁻¹, k⁰=1cm²/s, α=0.5. (—): λ=7.85x10³ cm² (---): λ=7.85x10⁴ cm²

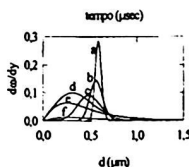


Fig. 2 Forma dello strato di reazione in funzione delle distanze dall'elettrodo alla fine del 5° ciclo di polarizzazione. Parametri di simulazione: v=10kHz, S=7x85x10⁻⁷cm², D_A=1.3x10⁻³cm²/s, C_A=10⁻⁴mol/cm³, R=5x10³Ω, C=2x10⁻¹¹farad, k⁰=1cm²/s, α=0.5, 5° ciclo. Curve a-f λ=10000, 1000, 100, 10, 1, 0.1 rispettivamente.

1. E.A. Chandross and F.I. Sonntag, *J. Am. Chem. Soc.*, 86(1964)3179.
2. S.W. Feldberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 88(1966)390.
3. L.R. Faulkner, *J. Electrochem. Soc.*, 124(1977)1724.
4. M.M. Collinson, P. Pastore, K.M. Maness and R.M. Wightman, *J. Am. Chem. Soc.*, 116(1994)4095.
5. M.M. Collinson, P. Pastore and R.M. Wightman, *J. Phys. Chem.*, 98(1994)11942.

IMPIEGO DI MICROELETTRODI SOLIDI NELL'ANALISI DI PIOMBO E RAME IN CAMPIONI REALI

M. Antonietta Baldo, Salvatore Daniele and Gian A. Mazzocchin

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

L'interesse legato alla salvaguardia ambientale ed ai pericoli tossicologici che derivano dal consumo di alimenti, ha reso necessario lo sviluppo di tecniche d'analisi sempre più sensibili per la determinazione di inquinanti organici, inorganici, organometallici. Tra i moderni metodi voltammetrici, lo stripping anodico viene ampiamente utilizzato nell'analisi di tracce di metalli pesanti, impiegando generalmente elettrodi di mercurio sia di dimensioni convenzionali, che microscopiche [1,2]. In particolare, i microelettrodi di mercurio hanno recentemente trovato numerose applicazioni nell'analisi diretta di campioni reali, in quanto presentano alcune vantaggiose proprietà che consentono il loro impiego ad esempio in sistemi a bassa forza ionica in assenza di elettrolita di supporto e senza agitazione della soluzione durante lo stadio di preconcentrazione [2,3].

I microelettrodi solidi, invece, sono stati finora poco utilizzati per la determinazione di specie metalliche in tracce. Tali microsonde, oltre a presentare le stesse vantaggiose proprietà dei microelettrodi di mercurio, consentono una ulteriore semplificazione della procedura analitica, in quanto in questo caso viene eliminato lo stadio di deposizione di mercurio sul substrato elettrodo.

In questa comunicazione viene presentato uno studio relativo alla messa a punto di una procedura analitica per determinare piombo e rame in matrici di natura ambientale ed alimentare, impiegando microelettrodi a disco di grafite e platino. Sono state innanzitutto eseguite alcune indagini preliminari riguardo il processo di deposizione dei due cationi in soluzioni sintetiche a diversa concentrazione e composizione, per ottimizzare i parametri sperimentali di stripping quali potenziale di deposizione, tempi di elettrolisi, e caratteristiche voltammetriche dei processi di stripping. Un'attenzione particolare è stata dedicata allo studio delle interferenze nella codeposizione di piombo e rame, a causa della formazione di composti intermetallici che in determinate condizioni rendono difficoltosa l'analisi simultanea di questi due cationi.

La procedura analitica messa a punto è stata successivamente applicata all'analisi in situ di un campione di acqua piovana e alcuni campioni di vino. L'accuratezza di questo metodo è stata valutata mediante misure di confronto eseguite utilizzando microelettrodi di mercurio. In Fig.1 è riportato un tipico voltammogramma di stripping registrato su microelettrodo a disco di grafite in un campione di vino.

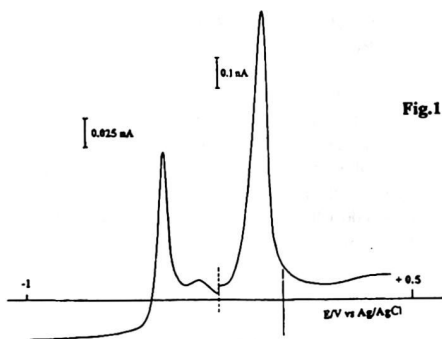


Fig.1

- 1 J. Wang, "Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications", VCH, Deerfield Beach, FL, (1985).
- 2 M.A. Baldo, S. Daniele, M. Corbetta and G.A. Mazzocchin, *Electroanalysis*, (1995).
- 3 S. Daniele, M.A. Baldo, P. Ugo and G.A. Mazzocchin, *Anal. Chim. Acta*, 219 (1989) 19.

1

Prima Sessione Poster

SCI-DCA

AMPEROMETRIC DETERMINATION OF GLUCOSE, ETHANOL, LACTATE AND β -HYDROXYBUTYRATE USING A NEW PURIFIED DIAPHORASE CO-IMMOBILISED WITH DEHYDROGENASES ON PLATINUM ELECTRODE

R. Antiochia, A.D. Magri and G. Palleschi*

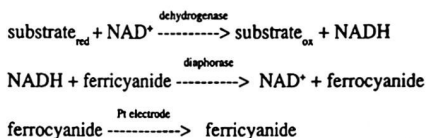
Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza", Piazzale Aldo Moro 5, 0015 Roma, ITALY

*Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli Federico II Via Università 100, 80055 Portici, Napoli

Diaphorases catalyse the electron transfer from NADH to oxidised dyes.

The reoxidation of these molecules, called mediators, at the electrode surface is carried out at a much lower potential than the one required for the direct oxidation of NADH.

Since NAD(P)⁺ is the cofactor of more than 300 dehydrogenases NAD(P)⁺ dependent enzymes, by adding a dehydrogenase in solution in presence of diaphorase, NAD(P)⁺ and mediator the determination of many substrates of analytical, clinical, food and environmental interest is feasible. However these enzymes can also be used immobilised on polymer membranes. This avoids the enzyme waste and makes the analysis inexpensive. The overall reaction is the following



The diaphorase used in these experiments was extracted from *Bacillus stearothermophilus* and was purified using a combination of ion exchange, gel filtration and affinity chromatography. The specific activity was found to be 281 units/mg protein.

In order to assemble electrochemical biosensors firstly the experimental conditions were optimised immobilising only the diaphorase.

Four different membranes were tested and Immobilon™ Affinity Membrane resulted the best to immobilise the enzyme. It showed the highest current sensitivity (linearity range: $10^{-2}/1.0$ mmol/L) and the lower detection limit (5×10^{-8} mol/L).

For all membranes tested the optimum pH was 7.0 in 0.1 mol/L phosphate buffer and the optimum temperature was at about 70°C, according to the excellent thermal stability of *Bacillus stearothermophilus*.

After the optimization of all the parameters diaphorase was co-immobilised with selected dehydrogenases enzymes. Enzyme ratio, enzyme amount, different buffers and pH were tested and optimised. The same buffer and pH selected for previous experiments performed with diaphorase gave the best results for all the dehydrogenase enzymes tested. Glucose dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, lactate dehydrogenase and, β -hydroxybutyrate dehydrogenase were immobilised and the related substrates were determined as shown in the following table:

Substrate	Linearity range (mmol/L)	Detection limit (mol/L)
Glucose	$10^{-3}/0.2$	5×10^{-7}
Ethanol	$10^{-3}/1.0$	1×10^{-6}
Lactate	$10^{-3}/0.2$	1×10^{-6}
β -hydroxybutyrate	$10^{-3}/0.5$	5×10^{-7}

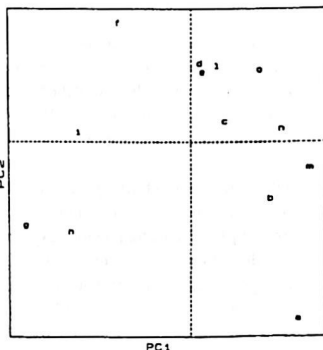
UNFOLDING PCA PER LO STUDIO DELLE DETERMINAZIONI ANALITICHE NELLE ACQUE DELLA LAGUNA VENETA

Carla Armanino*, Silvia Lanteri*, Luigi Alberotanza**.

* Istituto di Analisi e Tecnologie Farmaceutiche ed Alimentari, Università di Genova, via Brigata Salerno, Genova

** CNR - Istituto per lo Studio della Dinamica delle Grandi Masse, San Polo 1364, 30125 Venezia

La qualità della vita è strettamente correlata alla qualità delle acque che utilizziamo e che ci circondano. L'esigenza di continue determinazioni chimiche nelle acque, la loro grande importanza ed il loro costo elevato, generano la necessità di utilizzare nel miglior modo possibile tutte le informazioni raccolte durante il procedimento analitico. La individuazione del significato chimico e biologico delle determinazioni analitiche, ultima fase del processo analitico, diventa fondamentale e solo i metodi di esplorazione dei dati basati sull'analisi multivariata sono in grado di interpretare le grandi matrici di dati tridimensionali (stazioni di rilevamenti, parametri chimico analitici, tempo) prodotte dai monitoraggi ambientali. Allo scopo di sottolineare questo aspetto, si è studiata una serie di dati storici, comunque recenti, ottenuti da rilevamenti effettuati durante il quinquennio 1986-1990 nel bacino centrale della Laguna di Venezia. I campioni provengono da 13 stazioni sparse all'interno della Laguna, dove i rilevamenti sono stati effettuati con regolarità mensile, e sui quali sono stati determinate 14 variabili chimiche e fisiche. Considerando separatamente ogni anno di prelievi, le misure raccolte costituiscono una matrice di dimensioni 13 (le stazioni) * 14 (le variabili misurate) * 12 (le condizioni, cioè le osservazioni mensili), mentre il dataset completo costituisce una matrice $13 * 14 * 60$. Queste matrici possono essere osservate da tre punti di vista, le tre differenti facce del cubo, da cui si può studiare l'effetto delle stazioni di campionamento, dei mesi di prelievo, e l'importanza e le correlazioni tra le variabili in gioco. Da ciascuno di questi punti di vista si deve ottenere un array bidimensionale che dia l'immagine più informativa possibile. L'analisi dei componenti principali, effettuata dopo unfolding, è il trattamento più semplice in grado di fare questo (1). L'unfolding è uno sviluppo, solitamente in senso orizzontale, della matrice dei dati originali, a cui segue poi la consueta analisi dei componenti principali. In questo caso è stato effettuato un pretrattamento di scaling delle variabili sull'intero dataset prima dell'unfolding, dal momento che si è voluto studiare principalmente l'effetto delle stazioni di rilevamento e del periodo di rilevamento. Studio delle stazioni di rilevamento: dall'osservazione dei primi due componenti principali ottenuti dalla matrice che ha per righe le 13 stazioni e per colonne le combinazioni delle 14 variabili per le 12 osservazioni si vede chiaramente il significato spaziale del primo componente, che trattiene l'informazione dovuta alla distanza dal mare aperto. Si notano similarità (attese e non attese) tra alcuni siti di rilevamento, si osserva come il percorso costante compiuto per i prelievi possa aver influito sui risultati, ma venga trattenuto dal secondo componente principale e sia quindi eliminabile. Le stazioni sono indicate nella figura, secondo il percorso di prelievo: a: Bocca di Porto del Lido, b: San Marco, c: il canale della Giudecca, d: S. Giorgio in Alga, e-h: Porto Marghera, i: Fusina, l: punto interno all'altezza di Malamocco, m: Bocca di Porto di Malamocco, o: isola di S. Clemente. È stato studiato inoltre l'effetto dei mesi di campionamento (matrice che ha per oggetti i 12 mesi di campionamento e per colonne le combinazioni tra le 13 stazioni e le 14 variabili) e l'effetto delle variabili (matrice che ha per righe le variabili e per colonne le combinazioni tra le 13 stazioni e le 12 osservazioni mensili).



(1) René Henrion, "N-way principal component analysis. Theory algorithms and applications", Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 25 (1994) 1-23.

SVILUPPO DI UN METODO IMMUNOENZIMATICO IN FASE SOLIDA PER LA DETERMINAZIONE DEL PESTICIDA FENOXYCARB

C. Baggiani, P. Coletto*, G. Giraudi, A. Vanni

Dip. di Chimica Analitica, Università di Torino, via P. Giuria 5 - 10125 Torino - tel. 011-6707622

* Scuola di Specializzazione in Biotecnologie, Facoltà di Scienze M.F.N., Università di Torino

L'etil-2-(4-fenossifenossi)-etilcarbammato, noto più comunemente come "fenoxycarb" è un pesticida a bassa tossicità che agisce come regolatore dell'ormone della crescita su molte specie di insetti. Impiegato come protettore delle piante da frutta, è sospettato di interferire con l'imbozzolamento dei bachi da seta, e di essere quindi responsabile indiretto di un considerevole danno economico.

La determinazione analitica corrente del residuo al suolo o su foglia prevede, dopo una complessa procedura di clean-up del campione, un'eluizione isocratica su fase inversa C-18 degli estratti organici. Poiché il metodo non è sensibile a dosi inferiori a 50 ppb, si è considerata la possibilità di sviluppare un metodo immunochimico capace di abbassare il limite di rilevabilità a livello del ppb.

E' stato quindi ottenuto un'antisiero di coniglio contenente anticorpi anti-fenoxycarb per immunizzazione con un coniugato tra albumina bovina e un derivato dell'analita, il 2-(4-fenossifenossi)-etilamina emisuccinamidato, scelto in modo da ottenere anticorpi il più possibile specifici.

Il metodo immunoenzimatico competitivo utilizzato consiste nella competizione per una quantità fissa di anticorpo specifico tra il fenoxycarb contenuto nei campioni e una quantità fissa di coniugato fenoxycarb - tiroglobulina bovina (insolubilizzato sui pozzetti di una piastra per microtitolazione) per l'occupazione dei siti leganti dell'anticorpo specifico anti-fenoxycarb. Una volta realizzato l'equilibrio tra i reagenti, l'anticorpo legato all'analita viene lavato via, mentre quello legato al fenoxycarb in fase solida viene successivamente determinato attraverso il legame con un anticorpo anti- γ -globuline di coniglio, 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.

E' stato studiato l'effetto del grado di sostituzione del coniugato fenoxycarb - tiroglobulina bovina in fase solida e le condizioni operative del saggio, quali la diluizione ottimale dell'antisiero anti-fenoxycarb e del secondo anticorpo, la temperatura e i tempi di incubazione, il pH di reazione, la presenza di solventi organici e il rapporto volumetrico tra la soluzione di antisiero specifico e il campione, ottenendo un saggio capace di misurare concentrazioni di fenoxycarb in soluzione comprese tra 0.1 e 100 ppb (dose minima rilevabile in tampone 50 ppt). Le prove eseguite su una matrice costituita da estratti fogliari hanno dimostrato la stabilità della curva in condizioni reali, confermando la possibilità di determinare con elevata sensibilità il fenoxycarb mediante un saggio immunoenzimatico.

VARIAZIONI DEL CONTENUTO DI ALCUNI NUTRIENTI ED ELEMENTI IN TRACCIA NELLE CERCHIE ANNUALI DI *Pinus pinea* L. IN AREE MEDITERRANEE.

E. Barbolani*, M. Ferretti* e R. Udisti**

* Department of Soil Science and Plant Nutrition,
University of Florence - Piazzale delle Cascine, 28 I-50144 Florence (Italy).

** Department of Public Health and Environmental Analytical Chemistry,
University of Florence - Via Gino Capponi, 9 I-50121 Florence (Italy).

La possibilità dell'analisi chimica delle cerchie annuali degli alberi come mezzo di indagine ambientale è stata precedentemente considerata per quanto riguarda la concentrazione di P, Cl e S negli anelli legnosi di *Pinus pinea* L. campionati in Sardegna (Ferretti et al. 1992). Una evidente variazione temporale di accumulo di Cl e S a partire dal 1970 è stata messa in evidenza elaborando i dati relativi alle concentrazioni e tenendo conto della quantità di legno prodotta nei rispettivi anni.

Sempre in Sardegna e nell'area di Livorno, sono stati campionati anelli di *Pinus pinea* L. per avere indicazioni sul contenuto di metalli che, qualora non esistano traslocazioni di questi elementi all'interno della pianta, possono rispecchiare la situazione ambientale al tempo di formazione del legno. La specie *Pinus pinea* L. è stata scelta poiché le conifere, per la loro struttura del legno, si prestano meglio di altre piante decidue per la costruzione di un andamento cronologico della presenza dei metalli. Infatti l'attrito che i liquidi circolanti devono superare nelle tracheidi delle aghifoglie è molto maggiore di quello che si verifica nel passaggio dai vasi delle latifoglie. Inoltre gli anelli di accrescimento sono chiaramente individuabili, con andamenti regolari e mostrano un passaggio netto tra la zona primaverile e la zona tardiva.

In seguito alle indicazioni emerse da queste precedenti indagini, sono stati campionati anelli, sempre della specie *Pinus pinea* L., in piante situate in condizioni ambientali diverse, per valutare l'andamento temporale delle concentrazioni di vari metalli e verificare se, anche in località diverse, esistono differenze di comportamento per metalli notoriamente connessi allo stato nutrizionale della pianta e metalli la cui disponibilità ambientale appare maggiormente connessa alle attività antropiche.

Nella zona di Ravenna sono state campionate piante di 28, 68, 79 e 90 anni di età, che si trovano ad una distanza dal mare compresa fra 0,3 e 3,5 Km. È stata campionata anche una pianta di 62 anni nella zona dell'Appennino Forlivese (Brisighella) ed una di 140 anni a Coca (Spagna), per avere un più ampio periodo d'indagine.

Dal momento che, a parità di apporto del metallo, la concentrazione di questo risulta influenzata dalla dimensione dell'anello legnoso, è stata calcolata la quantità totale di legno prodotto nei vari anni. In tal modo è stato possibile evidenziare la quantità totale accumulata dei vari metalli e osservare che l'andamento temporale della quantità di elementi nutrienti, quali Ca e Mg, segue lo stesso trend della quantità di legno prodotta nei vari anni. Gli altri elementi hanno diverso comportamento e la loro presenza può essere legata al contributo di differenti condizioni ambientali.

Sono stati analizzati anche i terreni sottostanti, ma non sono state osservate relazioni tra la concentrazione dei metalli e il contenuto di questi nella pianta.

DETERMINAZIONE SPETTROFOTOMETRICA DI MICROQUANTITA' DI Hg(II) MEDIANTE COMPLESSAMENTO CON COPROPORFIRINA-I.

V. Bartocci^o, R. Giovannetti*, L. Alfei^o, M. Gusteri^o.

*Centro Interdip. Grandi Apparecchiature, P.le G. da Varano, Università degli Studi di Camerino, Camerino

^oDipartimento di Scienze Chimiche, Via S. Agostino 1, Università degli Studi di Camerino, Camerino.

A causa della grande abbondanza e dell'importanza biologica delle metallo porfirine in piante e animali, la chimica di questi composti è stata ampiamente studiata in una grande varietà di campi. L'importanza dal punto di vista analitico delle porfirine risiede nel fatto che esse formano complessi molto stabili con alcuni metalli, nonostante la velocità di reazione sia comunemente più bassa dei comuni agenti complessanti a catena aperta (1-4). Le porfirine avendo un'intensa banda di assorbimento tra 400 e 500 nm ed essendo quindi dei composti altamente reattivi per i metalli, sono state vantaggiosamente utilizzate nella determinazione di microquantità di ioni metallici.

In questo studio è stato messo a punto un semplice metodo che comporta l'utilizzo dell'acido 2,7,12,17 tetrapropionico della 3,8,13,18-tetrametil-21H, 23H-porfina denominata Coproporfirina-I (CPI), per la determinazione di ppb di Hg(II) mediante misure spettrofotometriche.

Le misure sono state effettuate a pH = 10 sia mediante il metodo delle aggiunte standard che mediante titolazione diretta con CPI; tali metodi hanno permesso la determinazione di 1 ppb di Hg(II) con una deviazione standard del 2%.

In tale determinazione, Cu(II), Co(II), Mn(II), Zn(II), Ni(II), Pb(II), Cr(II), Fe(III), Mg(II), Ca(II), Sr(II) e Ba(II) non interferiscono fino a 100 mg/l. mentre Pd(II) e Fe(II) interferiscono. L'interferenza del Pd(II) può essere rimossa mediante addizione di una soluzione di KI 0.01 M, mentre quella del Fe(II) mediante preliminare ossidazione a Fe(III).

Sono state inoltre effettuate diverse misure spettrofotometriche allo scopo di chiarire la cinetica e il meccanismo di incorporazione di Hg(II) nella CPI-I nonché per il calcolo della costante di complessamento.

1. M. Tabata and M. Tanaka, Trends in analytical chemistry, 1991, 10, 128.

2. K. Kavamura, S. Igarashi and T. Yotsuyanagi, Analytical Sciences, 1988, 4, 175.

3. J. I. Itoh, T. Yotsuyanagi and K. Aomura, Analytica Chimica Acta, 1975, 74, 53.

4. R. Giovannetti, V. Bartocci, S. Ferraro, M. Gusteri, P. Passamonti, Talanta in corso di stampa.

DATAZIONE CHIMICA DI CAROTE DI NEVE CAMPIONATE IN ANTARTIDE.

S. Becagli, R. Udisti and G. Piccardi .

Department of Public Health and Environmental Analytical Chemistry,
University of Florence - Via Gino Capponi, 9 I-50121 Florence (Italy).

Per la corretta interpretazione delle informazioni climatiche e ambientali contenute in campioni di neve raccolti da trincee o perforazioni del manto nevoso, è importante poter risalire all'anno e, possibilmente, alla stagione in cui tale deposizione è avvenuta. L'attribuzione di una datazione assoluta a ogni singolo campione raccolto può essere ottenuta riconoscendo e contando gli strati nevosi annuali accumulatisi successivamente a partire dalla superficie o da un evento temporale noto, memorizzato in un particolare strato nevoso (eruzioni vulcaniche, esperimenti o incidenti nucleari ecc..).

La datazione e, in particolare, la classificazione stagionale di un campione esaminato è importante nello studio dei fenomeni correlati al global change come, ad esempio:

a) l'identificazione delle fonti primarie e secondarie dell'aerosol atmosferico; b) lo studio dei meccanismi di trasporto delle varie sostanze esaminate; c) il significato di correlazioni esistenti tra i vari componenti. Da un punto di vista glaciologico, si può ottenere, inoltre, la caratterizzazione di una stazione di prelievo, mettendo in evidenza l'importanza dell'altitudine, della distanza dal mare e della posizione geografica sull'accumulo nevoso medio annuo. Tali informazioni sono essenziali nell'ambito climatico in quanto possono portare a una migliore comprensione dei bilanci di massa delle calotte glaciali. Numerosi parametri chimici sono stati esaminati ai fini dell'individuazione dei migliori traccianti stagionali nella Regione Northern Victoria Land (Antarctica). Le variazioni con la profondità di un parametro chimico e/o fisico possono presentare un comportamento stagionale dovuto sia alla stagionalità della sorgente che a quella dei meccanismi di trasporto. Inoltre, la scelta dei parametri utilizzabili deve essere effettuata in base all'univocità del segnale stagionale nell'ambito della tipologia della stazione di campionamento. Per la regione studiata, caratterizzata da una notevole influenza marina, i migliori indicatori stagionali sono risultati essere i componenti dell'aerosol atmosferico di origine marina, in particolare riguardo ai metaboliti delle fioriture fitoplanctoniche estive (solfati non da spray marino = non sea salt sulphate - nssSO_4^{2-} e acido metansolfonico - MSA). L'estrema differenza tra irraggiamento solare estivo ed invernale, principale caratteristica ambientale delle aree situate ad elevate latitudini, fornisce, inoltre, un attendibile indicatore stagionale fotochimico: H_2O_2 , MSA, nssSO_4^{2-} e H_2O_2 sono stati, quindi, scelti come traccianti chimici stagionali. Le variazioni della concentrazione di tali sostanze sono riportate in funzione della profondità degli strati nevosi campionati e un metodo multiparametrico è utilizzato per ottenere una datazione affidabile. Una valutazione multiparametrica della stagionalità permette di superare alcune difficoltà imposte dai profili di concentrazione di singoli traccianti annuali come, ad esempio, la perdita o la difficile interpretazione del segnale stagionale per un dato anno. D'altra parte, la valutazione di più parametri contemporaneamente può presentare alcuni limiti legati essenzialmente a:

a) scelta dei parametri utilizzati; b) contemporaneità dei massimi stagionali delle sostanze considerate; c) presenza, per certi anni e per uno o più componenti, di massimi stagionali relativamente più bassi (o addirittura assenti) di altri massimi annuali vicini.

Per superare tali difficoltà è stato messo a punto un semplice metodo multiparametrico basato sulla ricerca e normalizzazione dei massimi per ogni profilo di concentrazione in funzione della profondità. Una curva risultante dai valori sommati punto per punto dei singoli profili normalizzati costituisce un nuovo profilo temporale più facilmente esaminabile che permette di ottenere una datazione più oggettiva. Questa procedura è applicata ai campioni raccolti in due trincee della profondità di circa due metri e in una carota di circa 8 metri nel raggio di circa 200 Km dalla base italiana in Antartide Terra Nova Bay. I valori degli accumuli nevosi annui sono stati messi in relazione all'altitudine e alla distanza dal mare. Tali valori sono in accordo con quanto precedentemente riportato sulle stesse stazioni o in stazioni di analoga tipologia. Una affidabile datazione chimica è, infine, estremamente utile per la migliore comprensione dei segnali stagionali forniti da misure stratigrafiche ed isotopiche.

DEPOSIZIONI ATMOSFERICHE A VALLOMBROSA NEL BIENNIO 1993/94 IN RELAZIONE ALLE ACQUE DI NUBE.

Silvano BELLANDI, Caterina OPPO e Francesco PANTANI

*Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale, via G. Capponi 9,
50121 Firenze*

La stazione di campionamento di Vallombrosa è una tipica stazione di montagna, posta a 1000 metri d'altezza sul livello del mare. Le indagini e i dati relativi alle acque meteoriche sono in corso fino dal 1984, con particolare riferimento alla caratterizzazione della loro acidità. L'acqua di pioggia è stata raccolta settimanalmente col campionatore WET and DRY della Ditta MTX, mentre l'acqua di nube è stata prelevata con un campionatore attivo (CNB 1000-A della MTX) che raccoglie gocce di acqua della nube per mezzo del loro impatto inerziale su filamenti di teflon.

Gli anni 1993 e 1994 sono stati caratterizzati da una scarsa presenza di acidità libera nelle deposizioni meteoriche raccolte a Vallombrosa: pH mediano 5.05, alcalinità globalmente depositata nei due anni (valore netto) 21 mequiv/m². La neutralizzazione è imputabile al materiale calcareo del pulviscolo atmosferico. Nell'acqua di nube al contrario è spesso presente elevata acidità, con pH < 4. Il rapporto fra acidità solforica e nitrica appare all'origine di poco superiore a 1. L'apporto dei componenti dell'aerosol marino alla composizione chimica delle precipitazioni appare maggiore nella stagione fredda. Il confronto col decennio precedente sembra indicare un andamento attualmente in diminuzione delle deposizioni acide.

ELETTRODI IONOSELETTIVI CON IONOFORI CALIX[4]ARENE-TRIAMIDI

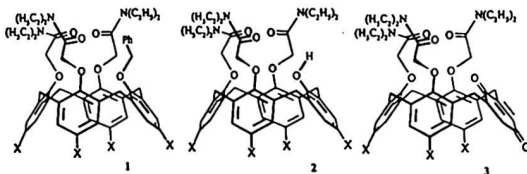
C. Bocchi*, M. Careri*, A. Casati**, G. Mori*, A. Raineri**, R. Ungaro**

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

** Dipartimento di Chimica Organica e Industriale, Università di Parma, Viale delle Scienze, 43100 Parma

I composti calixarenici, variamente funzionalizzati, vengono da tempo impiegati come ionofori nella realizzazione di membrane di trasporto e di elettrodi ionoselettivi^{1,2}. Essi spesso presentano notevoli selettività nella coordinazione con metalli alcalini o alcalino-terrosi, e offrono comunque sempre l'opportunità di verificare semplici ed interessanti relazioni selettività-struttura.

Gli ionofori studiati in questo lavoro sono sei calix[4]arene-triamidi che differiscono per la natura del quarto sostituente nel bordo inferiore e per la presenza del *terz*-butile nel bordo superiore.



X=H (a), *terz*-butile (b)

Con questi ionofori sono stati messi a punto elettrodi ionoselettivi a membrana liquida secondo il procedimento precedentemente descritto³, impiegando *o*-nitrofenilottiletere come solvente.

Tutti gli elettrodi così realizzati hanno presentato

una evidente selettività per lo ione sodio che è stato quindi scelto come ione primario.

Dal punto di vista analitico, la selettività più interessante compete agli ionofori triamidici 1a e 1b con un valore di pK_{NaK}^{el} pari a 2.97 per entrambi, migliore di quelli ottenuti con ionofori omologhi calixarenici tetramidici (3). Le risposte sono state studiate in termini di sensibilità (mV/pNa) e selettività rispetto agli ioni alcalini e alcalino-terrosi. La sensibilità si avvicina al valore nernstiano per tutti gli ionofori, mentre lo ione più interferente risulta essere Li⁺. In un precedente lavoro³ si era trovato che per ionofori calix[4]areni tetramidici il maggiore interferente era lo ione K⁺. Ciò può essere spiegato ammettendo che lo ione Li⁺ possa interagire con due soli gruppi amidici e che, al contrario, la coordinazione dello ione K⁺ ne interessi quattro. Come nel caso dei calix[4]areni tetramidici, il *terz*-butile nel bordo superiore non influenza la selettività.

Esperimenti di voltammetria ciclica dello ionoforo 3 in presenza di quantità crescenti di ioni Li⁺, Na⁺ e K⁺ hanno permesso di formulare ipotesi sulle relazioni struttura-selettività.

(1) C. D. Gutsche, Calixarenes. In Supramolecular Chemistry; F. J. Stoddard, Ed.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1989.

(2) Calixarenes, a versatile class of macrocyclic compounds; J. Vicens, V. Bohmer, Eds.; Kluwer: Dordrecht, 1990.

(3) M. Careri, A. Casati, A. Guarinoni, A. Mangia, G. Mori, A. Pochini, R. Ungaro Anal. Chem. 1993, 6, 3156.

DETERMINAZIONE DI TENSIOATTIVI CATIONICI MEDIANTE NUOVI SENSORI (ISE ED ISFET): APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE E FARMACEUTICO.

L. Campanella, L. Aiello, C. Colapicchioni, M. Tomassetti.

Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma (Italia)

Il monitoraggio ambientale dei tensioattivi cationici ha assunto un crescente interesse, sia a causa del loro continuo impiego nella vita quotidiana, che delle loro applicazioni in campo industriale (ad esempio nell'industria tessile), sia perché il loro costante utilizzo può determinare degli effetti dannosi sugli organismi acquatici e provocare inquinamento delle falde acquifere, a causa della loro proprietà di disperdere particelle sospese e virus, che in tal modo risultano difficilmente eliminabili nei processi di percolazione attraverso il terreno. La determinazione quantitativa dei tensioattivi cationici può essere effettuata mediante metodi volumetrici, gravimetrici e spettrofotometrici, anche accoppiati con sistemi operanti in FIA (flow-injection analysis). Questi metodi hanno lo svantaggio di richiedere in genere lunghi tempi di analisi. Inoltre queste tecniche non sempre si rivelano adatte per la determinazione di tensioattivi cationici a concentrazioni molto basse quali quelle richieste ad esempio nel monitoraggio ambientale. Anche gli elettrodi ione-selettivi (ISE) sono stati impiegati per la determinazione di tensioattivi, sia mediante potenziometria diretta, o mediante metodi basati su titolazioni potenziometriche. Per esempio nel nostro laboratorio sono stati sviluppati negli ultimi anni ISE [1,2] ed ISFET [3] selettivi per tensioattivi anionici.

In questa comunicazione è invece descritta la messa a punto e la caratterizzazione di tre nuovi tipi di sensori ISE e ISFET, selettivi verso tensioattivi cationici, che impiegano, come scambiatori, dispersi in una matrice di PVC, rispettivamente: reineckato di benzildimetilacetil ammonio (RBDHA), reineckato di dodeciltrimetilammonio (RDDTMA), o invece fosfotungstato di esadecilpiridinio (PT(HDP)3).

È stata inoltre studiata, sia la selettività dell'ISFET che impiega l'RDDTMA come scambiatore e che ha dato i migliori risultati, in termini di sensibilità e di intervallo di linearità, nei riguardi dei principali cationi inorganici e dei più comuni interferenti organici. Questo ISFET è stato impiegato anche per il dosaggio di tensioattivi cationici in acque di lago, fiume e mare. Inoltre si è controllato se l'ISFET preparato potesse operare in modo corretto anche se direttamente immerso nei suddetti campioni reali acquosi. In entrambi i casi, è possibile affermare che i risultati ottenuti sono stati in genere soddisfacenti sotto il profilo analitico.

L'impiego notevole che viene fatto dei tensioattivi cationici nella preparazione di prodotti disinfettanti, di uso sia esterno che interno, data la loro proprietà germicida, ci ha spinto ad utilizzare il nostro sensore anche nel controllo del contenuto in tensioattivo cationico di alcune specialità farmaceutiche, reperibili in commercio. È stato possibile effettuare le misure senza ricorrere a processi separativi od estrattivi, del tensioattivo dalle soluzioni farmaceutiche commerciali analizzate, in cui esso è contenuto. È stato quindi eseguito il dosaggio del cloruro di benzalconio (BCCI), uno dei germicidi più usati, ed i valori ottenuti sono stati confrontati con quelli nominali, forniti dalle ditte produttrici. Per verificare l'accuratezza del metodo, sono state eseguite prove di "recupero" di benzalconio, con il metodo dell'aggiunta standard, in alcune delle soluzioni farmaceutiche commerciali analizzate. I risultati sperimentali sono risultati in buon accordo con quelli calcolati.

I dati sono stati certamente soddisfacenti sotto il profilo analitico ed il metodo decisamente interessante sotto il profilo innovativo. Il nuovo sensore a stato solido si è infatti dimostrato più efficiente del corrispondente ISE di tipo classico, dotato inoltre di buona selettività, di un tempo di risposta molto basso $S \leq 30$ secondi, infine di costo limitato e di realizzazione relativamente semplice e riproducibile.

[1] L. Campanella, F. Mazzei and M. Tomassetti, *Inquinamento*, (6) (June) (1987) 44-46.

[2] L. Campanella, F. Mazzei, M. Tomassetti and R. Sbrilli, *Analys*, 113 (1988) 325-328.

[3] L. Campanella, M. Battilotti, A. Borraccino, C. Colapicchioni, M. Tomassetti, G. Visco, *Sensors and Actuators B*, 19 (1994) 321-328.

RISANAMENTO MEDIANTE FOTODEGRADAZIONE DI TERRENI INQUINATI DA IDROCARBURI

L. Campanella, G. Crescentini, S. Militerno

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

Gli idrocarburi sono attualmente tra i chemicals maggiormente utilizzati nell'industria e, contemporaneamente, gli inquinanti più diffusi nella biosfera.

Il largo impiego di tali sostanze ha portato ad un notevole aumento del rischio di contaminazione dei suoli, contaminazione che può verificarsi durante l'estrazione, il trasporto e il trattamento del petrolio e dei suoi derivati.

Per quanto riguarda l'impatto ambientale di tali sostanze molti sono i fattori da tenere in considerazione sia relativamente al terreno che all'idrocarburo in esame.

Tra questi fattori i principali sono: natura e tipo del terreno (caratteristiche idrogeologiche), concentrazione, composizione chimica e stabilità dell'idrocarburo.

Gli idrocarburi risultano particolarmente tossici sia per le piante che per l'uomo, nel qual caso possono portare a cancerogenesi.

Nell'evenienza di inquinamento da idrocarburi su terreni, le tecniche di risanamento attualmente utilizzate prevedono il recupero, che permette di ripristinare la "sicurezza" del sito ma non allontana realmente le sostanze nocive, o il trattamento con il quale le sostanze nocive vengono distrutte o trasformate in altre non tossiche. Tali tecniche inoltre possono essere distinte in tecniche *ex situ* e *in situ*.

In questo lavoro, vengono presentati i risultati primari ottenuti nel trattamento di suoli inquinati da idrocarburi via fotodegradazione catalizzata da una miscela, costituita da un semiconduttore inorganico (TiO_2) e da un polimero organico conduttore (polianilina), direttamente dispersa sul terreno da trattare.

L'attività di tale miscela catalitica, immobilizzata in membrana di polivinilcloruro, è già stata abbondantemente sperimentata e confermata con altri precedenti studi, svolti sempre dal nostro gruppo di ricerca, relativamente al trattamento di reflui acquosi contenenti composti organici clorurati (monoclorofenoli, atrazina, terbutilazina, propoxur) e idrocarburi (benzene, toluene).

Le prove sperimentali sono state eseguite su campioni di terreno essiccato in stufa a 60°C fino a costanza del peso, senza alcun trattamento ulteriore. 18g di tale terreno sono stati addizionati con opportune quantità di idrocarburo e bagnati con acqua. I campioni così preparati sono stati irradiati per determinati intervalli di tempo mediante uno strumento (QUV Panel Accelerated Weathering Tester) che simula perfettamente la radiazione solare fino a 400 nm.

Ad ogni intervallo di tempo, è stata valutata la percentuale di fotodegradazione dell'idrocarburo in esame, previa estrazione dal terreno, via HPLC.

Le prove sperimentali hanno previsto sempre il confronto tra il processo fotodegradativo catalizzato e quello non catalizzato di analoghi campioni di terreno, nonché prove di diffusione degli idrocarburi stessi nel suolo.

Dai primi risultati si può affermare che il processo fotodegradativo potrebbe essere utilizzato per un pretrattamento nelle metodologie di risanamento dei suoli, poiché il processo catalizzato consente di ridurre in modo notevole la concentrazione dell'idrocarburo, almeno negli strati più superficiali, in tempi relativamente brevi, e comunque molto più brevi di quelli richiesti per la penetrazione dell'idrocarburo negli strati profondi del terreno.

UN NUOVO SENSORE A STATO SOLIDO (ISFET) PER LA DETERMINAZIONE DELL'ACIDO SALICILICO ED ACETIL-SALICILICO. APPLICAZIONI IN CAMPO FARMACEUTICO.

L. Campanella*, G. Crescentini*, M.P. Sammartino*, Y. Su**, M. Tomassetti*

*Dip.to di Chimica, Università "La Sapienza" Roma

**Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing (China)

Il salicilato ed i suoi derivati sono principi attivi molto importanti contenuti in parecchie specialità farmaceutiche. L'acido salicilico è principalmente usato come agente terapeutico esterno (cheratolitico), mentre l'acido acetilsalicilico è ancor oggi l'antiinfiammatorio, analgesico ed antipiretico maggiormente utilizzato. Sebbene l'efficacia e la sicurezza dell'acido acetilsalicilico come analgesico ed antireumatico sia ben nota, è necessario tenere in considerazione la sua potenziale tossicità, se usato impropriamente. Quindi l'analisi dell'acido acetilsalicilico è ormai un esame di routine, sia nella chimica clinica, che nel controllo di qualità nella produzione di farmaci. In questa comunicazione viene descritto un nuovo ISFET, basato su una membrana polimerica, selettiva per lo ione salicilato, che ricopre la superficie del "gate" del FET.

La membrana selettiva è formata da tetradodecylammoniosalicilato (scambiatore) polivinilcloruro (polimero di supporto) ed un opportuno plasticizzante. Sono state studiate le risposte del sensore verso il salicilato e l'acetilsalicilato, nonché le principali caratteristiche analitiche. L'intervallo di linearità è compreso tra 5×10^{-5} mol/L e $1,5 \times 10^{-2}$ mol/L e la pendenza della curva di calibrazione ha un valore di 49 mV per decade di concentrazione, nel caso dell'acido salicilico; per l'acido acetilsalicilico sono stati trovati valori dell'intervallo di linearità compresi tra 7×10^{-5} mol/L e $1,5 \times 10^{-2}$ mol/L, e 47 mV per decade di concentrazione, come valore della pendenza della curva di calibrazione. Per entrambi i composti il tempo di risposta è risultato < 20 s. Il sensore può lavorare in un intervallo di pH compreso tra 6,9 e 12,7, essendo pH 9 il valore ottimale. Ad eccezione dello ione clorato e dello ione nitrato, non sono state riscontrate notevoli interferenze da parte di altre sostanze comunemente contenute nelle preparazioni farmaceutiche commerciali. Il sensore è stato usato per analizzare il contenuto di acido acetilsalicilico e salicilico in alcuni farmaci commerciali (comprese e pomate). I dati ottenuti sono risultati ben correlati con quelli ottenuti utilizzando il classico metodo volumetrico, per l'analisi dell'acido salicilico ed acetilsalicilico, che del resto non risulta sempre applicabile, al contrario del metodo basato sul nuovo sensore, qui proposto.

BIOSENSORI ENZIMATICI PER LA DETERMINAZIONE DI POLIFENOLI E DI SOLFITO NEI VINI

L. Campanella, G. Favero, M.P. Sammaritano, M. Tomassetti

Dp. di Chimica, Università di Roma "La Sapienza" P.le A. Moro, 5 - 0015 Roma.

Recentemente sono state condotte nel nostro laboratorio una serie di ricerche, volte alla messa a punto di nuovi metodi per l'analisi di alcuni composti, presenti nei vini, quali il solfito ed i polifenoli totali, la cui determinazione riveste notevole importanza analitica.

Il solfito, in particolare, viene utilizzato nell'industria alimentare per la conservazione dei cibi, come antiossidante, antimicrobico e come sbiancante; la determinazione del solfito risulta quindi di particolare importanza, in quanto è possibile che insorga, a causa dell'assunzione di cibi e bevande contenenti solfito, una patologia che si manifesta con irritazioni gastriche, nausea, cefalea ed in alcuni casi shock anafilattico.

Anche il contenuto polifenolico rappresenta un indice importante e caratteristico dei vini; molte sono infatti le sostanze polifenoliche contenute nel vino, ad esempio, gli antociani ed i tannini, che, soprattutto nei vini giovani, sono i principali responsabili della tipica colorazione di questa bevanda; né va dimenticata l'attività batteriostatica delle sostanze polifenoliche.

In questa ricerca sono stati messi a punto due biosensori, ottenuti accoppiando un elettrodo amperometrico a diffusione gassosa per la determinazione dell'ossigeno (elettrodo di Clark), rispettivamente con l'enzima solfito ossidasi, o con l'enzima tirosinasi. L'elettrodo indicatore per l'ossigeno permette di seguire le rispettive reazioni di ossidazione del solfito a solfato, o del fenolo ad ortochinone, nelle quali viene consumato ossigeno; il segnale prodotto è funzione della concentrazione del substrato volta per volta impiegato. Gli enzimi sono stati immobilizzati in maniera opportuna: la solfito ossidasi su membrana di nylon funzionalizzato, mentre la tirosinasi, oltre che su membrana di nylon funzionalizzato, anche in gel di kappa-Carragginina.

Le risposte dei biosensori sono state caratterizzate in soluzioni tampone utilizzando rispettivamente il solfito, oppure la catechina, come substrato; quest'ultima è in genere considerata come il composto fenolico di riferimento nell'analisi di vini.

Sono state infine valutate le reali possibilità di impiego nell'analisi del solfito e dei polifenoli, contenuti in diversi campioni di vino commerciali. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli trovati rispettivamente per mezzo di un classico metodo enzimatico a rivelazione spettrofotometrica, nel caso dell'analisi del solfito, oppure con il metodo spettrofotometrico basato sul reattivo di Folin-Ciocalteu, nel caso dell'analisi dei polifenoli. La correlazione ottenuta, tra dati spettrofotometrici e risultati elettrochimici, è risultata sicuramente buona in entrambi i casi.

TRATTAMENTO DEI CAPILLARI PER L'ANALISI ELETTROFORETICA DELLE PROTEINE

G.P. Cartoni, F. Coccioli, R. Jasionowska, D. Ramires

Dipartimento di Chimica Università "La Sapienza" di Roma - Piazza A. Moro, 5 - 00185 ROMA

Il problema principale connesso con la determinazione delle proteine mediante elettroforesi condotta nei capillari di silice fusa è il forte adsorbimento di questi composti (in particolare di proteine basiche) sulle pareti del capillare con conseguente diminuzione dell'efficienza e della risoluzione. La causa di questa forte interazione sono i gruppi silanolo presenti sulla superficie di silice fusa che fungono da siti di adsorbimento.

Per eliminare questo inconveniente si possono tentare vari approcci tra cui i principali sono:

- 1) variazione del pH e aumento della concentrazione dell'elettrolita base;
- 2) disattivazione dinamica della superficie del capillare mediante additivi all'elettrolita base (ammine, tensioattivi cationici solventi organici);
- 3) modificazione chimica della superficie interna del capillare (silanizzazione e rivestimento con polimeri: PEG, poliacrilamide, metilcellulosa, etc).

Per effettuare la separazione delle proteine è necessario non lavorare a pH estremi per evitare la denaturazione delle proteine.

L'elevata concentrazione dell'elettrolita base è favorevole in quanto consente di schermare meglio la parete (i gruppi silanolo della silice fusa), ma aumenta troppo la corrente e quindi il riscaldamento dovuto all'effetto Joule.

La disattivazione dinamica del capillare consiste nel condizionamento dello stesso con il tampone addizionato di un tensioattivo. In un capillare così preparato si effettua l'analisi elettroforetica utilizzando un identico tampone contenente il tensioattivo. Sono molto efficaci per questo scopo i sali di tetraalchilammonio con un sostituente alchilico a lunga catena. I cationi di ammonio quaternario vengono adsorbiti sulla parete di silice fusa schermandola. In queste condizioni si può osservare un'inversione del flusso elettroosmotico e quindi le proteine, a seconda della concentrazione, vengono rilevate all'anodo.

Il rivestimento è stato effettuato con un metodo statico in una fase unica, utilizzando la soluzione contenente silanizzante, polimero (PEG) e catalizzatore.

Per variare lo spessore del rivestimento sono state utilizzate soluzioni a diverse concentrazioni del polimero. Nei capillari rivestiti si osserva una riduzione del flusso elettroosmotico che è indice dello schermaggio dei gruppi silanolo, e anche l'adsorbimento delle proteine risulta notevolmente ridotto.

DETERMINAZIONE SIMULTANEA DI ASPIRINA, PARACETAMOLO E CAFFEINA IN COMPRESSE DI ANALGESICO MEDIANTE SPETTROFOTOMETRIA UV

Liberato Ciavatta*, Mauro Iuliano* e Raffaella Porto**

* Dipartimento di Chimica dell'Università "Federico II", Via Mezzocannone, 4 80134, Napoli

** Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Arcavacata di Rende 87030, Cosenza

E' stato messo a punto un metodo rapido, poco costoso e preciso per la determinazione simultanea di aspirina, paracetamolo e caffeina in preparati analgesici (APC). Il saggio si basa su assorbimento specifico della radiazione ultravioletta da parte dei costituenti attivi in soluzione 0.1 M di HCl, dove la trasformazione per idrolisi di aspirina in acido acetico e salicilico è sufficientemente lenta a temperatura ambiente. E' evitato così l'uso di grandi quantità di solvente organico, come cloroformio o alcol metilico, spesso suggeriti per tale tipo di analisi. Poiché compresse anche polverizzate si solubilizzano con lentezza a temperatura ambiente in HCl 0.1 M, un procedimento alternativo più conveniente è quello di trattare campioni solidi all'ebollizione in acqua per 15-20 minuti. In queste condizioni l'aspirina è completamente trasformata in prodotti di idrolisi ed il suo contenuto è determinato tramite assorbimento caratteristico della radiazione ultravioletta di acido salicilico.

Le assorbanze misurate in soluzioni dei singoli componenti, in concentrazione 100 μ M, sono conformi alla legge di Lambert-Beer entro ± 0.001 unità. D'altra parte, piccole ma apprezzabili deviazioni dalla legge, attribuite a interazioni associative per legami idrogeno, si osservano in miscele sintetiche binarie. Apportando correzioni per questi piccoli effetti, la legge di Lambert-Beer può essere scritta come espressione lineare delle concentrazioni dei tre principi attivi. Queste, pertanto, possono essere dedotte dalla soluzione di tre equazioni lineari.

Perché il metodo acquisisca sensibilità e selettività, viene utilizzato un gran numero di sensori (lunghezze d'onda) e il sistema ridondante di equazioni viene trattato con metodi standard di minimi quadrati. Adoperando dati spettrofotometrici presi ogni 2 nm tra 226 e 330 nm, corrispondenti a 53 sensori, la radice quadrata del determinante della matrice di calibrazione, che dà una misura della sensibilità [1,2], raggiunge valori sufficientemente elevati, di circa 1.6×10^{13} (cmM)⁻³. Inoltre, il numero di condizione della matrice di calibrazione ha un valore di 3.69, che è sinonimo di un soddisfacente livello di selettività [3,4].

Il metodo è stato applicato all'analisi di una serie di miscele ternarie sintetiche in cui il rapporto molare dei costituenti è simile a quello in cui generalmente si trovano in prodotti commerciali; aspirina: paracetamolo: caffeina = 1: 1: 0.1. Dall'esame di 5 miscele si è stabilito che l'errore relativo medio di previsione [4] per i tre componenti è inferiore a 0.6%, un livello di accuratezza quindi sufficiente per analisi di controllo in serie.

Tre preparati farmaceutici commerciali sono stati analizzati con il metodo proposto. I risultati mostrano differenze dalla composizione nominale anche maggiori dell'1%. Il metodo quindi sembra idoneo per controlli in serie di omogeneità.

Il tempo di analisi si aggira intorno ad 1 ora.

1. Sustek J., Anal. Chem., 46,1676(1974).
2. Junker, A. e Bergmann, G. Z. Anal. Chem., 272,267(1974).
3. Jochum, C., Jochum, P. e Kowalski, B. R., Anal. Chem., 53,85(1981).
4. Otto, M. e Wegscheider, W., Anal. Chim. Acta, 180,445(1986).

SENSORI AMPEROMETRICI PER ENZIMI DEIDROGENASI OTTENUTI PER ELETTROPOLIMERIZZAZIONE DI MONOMERI ORGANICI E PQQ SU ELETTRODI DI PLATINO, ORO E CARBONE.

A Curulli, I. Carelli*, O. Trischitta e G. Palleschi**

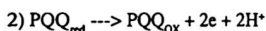
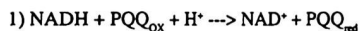
Centro di Studio per l'Elettrochimica e la Chimica Fisica delle Interfasi, Via del Castro Laurenziano, 7 - Roma.

*Dipartimento di ICMMPM, Università di Roma "La Sapienza", Via del Castro Laurenziano, 7- Roma.

**Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II", Via Università, 100, Portici, Napoli.

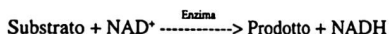
Il pirolochinolinochinone, l'acido 4,5-diidro-4,5-diosso-1H-pirrolo [2,3-f]chinolino-2,7,9-tricarbossilico (PQQ), un "electron carrier" specifico per NADH è stato inglobato sulla superficie di trasduttori elettrochimici per elettropolimerizzazione di monomeri organici, quali 1,3- e 1,4 fenilendiammina in tampone fosfato a pH 8.2. È stata eseguita una voltammetria ciclica del PQQ sull'elettrodo nudo, che ha evidenziato in tampone fosfato a pH 7.1 due picchi voltammetrici complementari, uno di riduzione a -0.14 V vs. SCE ed uno di ossidazione a +0.19 V vs. SCE. La voltammetria è stata ripetuta con l'elettrodo modificato col film polimerico ed il PQQ: si è osservato un quadro voltammetrico, analogo a quello ottenuto precedentemente con il PQQ in soluzione: questo dimostra che il PQQ è stato inglobato sulla superficie dell'elettrodo.

Nelle stesse condizioni sperimentali il NADH ha dato un picco ossidativo su elettrodo nudo a +0.77V. Questo picco scompare, se sull'elettrodo è presente un film polimerico senza PQQ. Se invece sull'elettrodo è presente un film polimerico dove è stato inglobato il PQQ, si osserva un picco ossidativo a +0.20 V, la cui corrente dipende dalla concentrazione di NADH. Questo è in accordo con il seguente schema di reazioni:



L'acido ascorbico, che costituisce uno dei più comuni interferenti nell'analisi di liquidi biologici e che ha un picco di ossidazione prossimo a quello del PQQ, non dà luogo ad alcun picco ossidativo su un elettrodo dove è presente un film polimerico più PQQ.

Sono stati presi in considerazione diversi parametri, come la quantità di PQQ e di monomero, la velocità e il tempo di durata dell'elettropolimerizzazione, il tampone ed il pH di lavoro. Sono stati provati diversi materiali elettrodi; buoni risultati hanno dato l'oro ed il platino, meno buoni la grafite vetrosa, pessimi la grafite pirolitica, dove il PQQ si adsorbe con successiva degradazione. Il NADH è stato determinato nel range 10^{-4} - 10^{-2} molL⁻¹ con un limite di rilevabilità di 5×10^{-3} molL⁻¹. Il NAD⁺ è un cofattore utilizzato nella trasformazione di substrati, catalizzata da enzimi deidrogenasi, secondo lo schema seguente:



Il NADH viene ritrasformato in NAD⁺ dal PQQ_{ox} e la reazione 2) dà un segnale di corrente proporzionale alla concentrazione di substrato analizzato. Glucosio deidrogenasi, lattato deidrogenasi e glutammato deidrogenasi sono stati selezionati come enzimi guida. I risultati ottenuti con questa nuova procedura saranno in seguito discussi.

Lavoro eseguito con il contributo finanziario del C.N.R. e del MURST (60% Progetti di Ateneo)

FILM POLIMERICI ELETTROSINTETIZZATI COME EFFICIENTI BARRIERE ANTI-INTERFERENZIALI IN BIOSENSORI BASATI SU ENZIMI IMMOBILIZZATI IN UN GEL BSA/GLUTARALDEIDE.

G.E. DeBenedetto, A. Tenore, F. Palmisano

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Orabona, 4; 70126 Bari.

I film polimerici non conduttori presentano dei ben definiti vantaggi per quanto riguarda le proprietà di permselectività nei confronti di interferenti elettroattivi.

Il polipirrolo overossidato ad esempio mostra (1,2) notevoli proprietà anti-interferenziali difficilmente eguagliabili da approcci convenzionali.

Un recente studio elettrochimico/XPS (3) su membrane di polipirrolo overossidato (PPY_{ox}) ha inoltre fornito chiare evidenze circa la relazione fra perm-selectività e caratteristiche chimico strutturali del film. L'utilizzazione di membrane non conduttrici elettrosintetizzate non è comunque necessariamente confinata ai biosensori ottenuti per immobilizzazione elettrochimica. Infatti tali membrane possono vantaggiosamente sostituire quelle più tradizionali (vedi acetato di cellulosa) in quanto di gran lunga più efficienti, depositabili con elevato controllo spaziale e con una procedura completamente elettrochimica potenzialmente adattabile a sistemi di produzione su larga scala.

In questa comunicazione verrà descritto un biosensore al glucosio basato su GOD intrappolata in un gel (ottenuto mediante co-crosslinking (4) di enzima, BSA e glutaraldeide) deposto su un elettrodo di Pt modificato con PPY_{ox}.

La procedura di immobilizzazione, semplice e veloce, permette di costruire facilmente un biosensore con le caratteristiche desiderate; infatti controllando opportunamente una serie di parametri sperimentali è stato messo a punto un biosensore completamente privo di interferenti, con elevata sensibilità e stabilità ed ampio range lineare.

(1) D. Centonze, A. Guerrieri, F. Palmisano, L. Torsi, P.G. Zambonin, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1994, 34, 47.

(2) F. Palmisano, A. Guerrieri, M. Quinto, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 1005.

(3) D. Centonze, F. Palmisano, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 1995, in stampa.

(4) A. Guerrieri, G.E. DeBenedetto, F. Palmisano, P.G. Zambonin, *The Analyst*, in corso di stampa (1995)

SVILUPPO DI UN SAGGIO IMMUNOENZIMATICO ELETTROCHIMICO PER AROCLOR 1248

Michele Del Carlo e Marco Mascini

Dipartimento di Sanità pubblica, Epidemiologia, e Chimica Analitica Ambientale
Sez. di Chimica Analitica Via G. Capponi, 9 50121 Firenze.

I policlorobifenili (PCB) sono inquinanti ubiquitari presenti in tutto l'ecosistema e a causa della loro tossicità rappresentano un rischio potenziale per l'uomo. Il monitoraggio della presenza di PCB riveste una particolare importanza sia nella valutazione dello stato di un sito contaminato sia nella valutazione dell'azione di disinquinamento. La misura di PCB in matrici di interesse ambientale usando le metodiche tradizionali è costosa e richiede tempo nella produzione dei risultati, per cui esiste un crescente interesse per metodi alternativi. I saggi immunoenzimatici (ELISA) rappresentano un'area di ricerca in espansione nel campo della chimica analitica ambientale per la loro rapidità, precisione, velocità e semplicità di esecuzione. Gli anticorpi per i PCB utilizzati in questo lavoro sono stati ottenuti da conigli utilizzando per la prima immunizzazione PCB coniugati a gelatina, e successivamente una miscela di PCB non coniugati a proteine. Si sono così ottenuti finora 4 sieri con anticorpi per i PCB, usando questi è stato sviluppato un saggio immunoenzimatico di tipo competitivo per la determinazione di Aroclor 1248 secondo il seguente protocollo: a) una miscela di PCB coniugati con una proteina virale sono stati adsorbiti alle pareti dei pozzetti della piastra usando una miscela (50/50) metanolo/tampone carbonato a pH 9.6 per 3 ore a temperatura ambiente b) gli standard di Aroclor 1248 in un intervallo compreso fra 5 ppm e 100 ppm sono stati incubati in provetta per 30 minuti con una opportuna quantità di anticorpo e poi trasferiti in piastra dove l'incubazione è proseguita per altri 60 minuti. c) il legame fra il siero e i PCB immobilizzati su piastra

è stato controllato usando un anticorpo secondario anti-IgG di coniglio coniugato con perossidasi, l'attività della perossidasi era poi misurata per via spettrofotometrica a 450 nm con il cromoforo TMB-one step® (Pierce). Ogni fase del saggio è stato seguito da tre lavaggi con una soluzione di Tween 20 al 0.5% in tampone fosfato salino. I risultati mostrano che con questo procedimento è possibile misurare concentrazioni di Aroclor 1248 nell'intervallo 5-100 ppm (figura 1). In una seconda fase della ricerca si è voluto sviluppare un procedimento elettrochimico per la misura della attività della perossidasi compatibile con il saggio descritto. Tramite voltammetrie

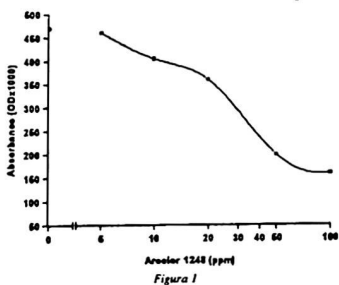


Figura 1

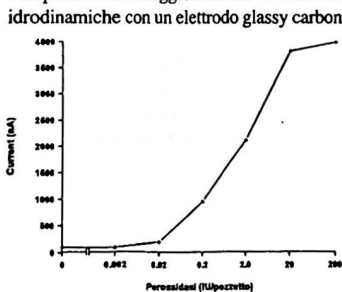


Figura 2

idrodinamiche con un elettrodo glassy carbon, ed un procedimento FIA (flow injection analysis) si sono stabilite le migliori condizioni operative. Due substrati elettrochimici per la perossidasi sono stati studiati: l'acido ferrocene acetico, e il guaiacolo, i potenziali di riduzione sono rispettivamente -300 mV e -250 mV vs Ag/AgCl. Il pH ottimale, considerando stabilità del substrato e attività, è 7.5. In figura 2 è riportata la misura elettrochimica di attività della perossidasi usando il substrato acido ferrocene acetico, nelle condizioni precedentemente stabilite, utilizzando un tempo di incubazione enzima/substrato di 10 minuti. Combinando il saggio su piastra precedentemente caratterizzato con ciascuno dei due substrati è stato realizzato un saggio immunoenzimatico elettrochimico di tipo competitivo per Aroclor 1248.

DETERMINAZIONI DI TIOLI D'INTERESSE BIOLOGICO-FARMACEUTICO CON ELETTRODO MODIFICATO CON COBALTO-FALOCIANINA.

Gabriella Favaro e Mario Fiorani

Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica ed Analitica, Università di Padova, via Marzolo, 1 - 35131 Padova

L'introduzione di elettrodi chimicamente modificati ha permesso di estendere il campo d'applicazione delle tecniche elettroanalitiche soprattutto per quanto riguarda l'analisi di sostanze presenti in tracce d'interesse alimentare, ambientale, clinico e biologico. Tra questi gli elettrodi costituiti da composti di carbonio quali la pasta di carbone hanno trovato largo impiego soprattutto grazie alla facilità di costruzione e di rinnovo della superficie.

La presente comunicazione si riferisce all'utilizzo di un elettrodo del tipo a pasta di carbone, modificato con cobalto-ftalocianina, impiegato nella determinazione di tioli d'interesse ambientale e biologico. Nel nostro caso anziché pasta di carbone (grafite + nujol o altro legante) è stato utilizzato il Conductive Carbon Cement (CCC, un composto costituito da grafite + un polimero acrilico disciolto in toluene o xilene). Com'è noto la pasta di grafite ha una consistenza piuttosto morbida, anche dopo essere stata impaccata, che ne facilita il rinnovo, ma la rende poco adatta per applicazioni in flusso (FIA o HPLC) [1]. Inoltre è poco resistente in presenza di solventi organici in cui il legante è solubile il che la rende poco adatta nel caso di accoppiamento con HPLC. Il CCC si presenta invece, una volta seccato, come un cemento piuttosto duro da rimuovere, la cui superficie non viene modificata dal flusso di soluzione, ed è più resistente anche in presenza di solventi organici (in percentuale non elevata).

Alcune metallo-ftalocianine hanno un'azione catalitica nei confronti dell'ossidazione di determinati tioli, e se incorporate in un elettrodo fanno da mediatori redox. Le caratteristiche dell'elettrodo CCC modificato con cobalto-ftalocianina (CoPC) sono state studiate in flusso, inizialmente con i più comuni tioli: cisteina, glutazione, 2-mercaptoetanololo, ditiotretolo.

Successivamente l'elettrodo è stato utilizzato per la determinazione di alcuni tioli d'interesse biologico-farmaceutico: captopril, penicillamina, tiopronina (antiipertensivi e/o antireumatici). I metodi di determinazione usuali di tali composti prevedono derivatizzazione e determinazione per via spettrofotometrica o fluorimetrica, eventualmente dopo separazione HPLC [2-4], o metodi voltammetrici con HDME [5], non utilizzabili in flusso.

La risposta elettrochimica a tali composti su elettrodi solidi, quali GC, pasta di carbone o CCC è estremamente bassa o nulla fino a potenziali dell'ordine di 0.9 - 1.0 V vs. SCE, mentre l'elettrodo CCC-CoPC dà risposte soddisfacenti già a potenziali di 0.6 V, con notevole diminuzione del rumore di fondo e aumento della selettività. Questo avviene soprattutto a pH acidi, i più adatti ad una separazione cromatografica di questi composti di tipo amminoacidico [6]. L'andamento della risposta è stato valutato in funzione del potenziale applicato e del pH tramite voltammogrammi idrodinamici ottenuti con un sistema FIA e una cella a strato sottile. Le calibrazioni hanno andamento inizialmente lineare e poi tendenzialmente costante per valori più elevati di concentrazione (reazione di tipo catalitico). L'intervallo dinamico lineare varia per ogni composto. Sensibilità di risposta e limite di rivelabilità ottenuti sono abbastanza buoni. Le sostanze prese in esame sono state determinate su elettrodo CCC-CoPC anche dopo separazione HPLC a fasi inverse con soddisfacenti risultati.

1. X. Huang, W.Th. Kok, *Anal. Chim. Acta*, 273 (1993) 245-253.

2. K.K. Verma, K.K. Stewart, A. Jain, D. Gupta, S.K. Sanghi, *Talanta*, 38 (1991) 283-289.

3. V. Cavrini, R. Gatti, P. Roveri, M.R. Cesaroni, *Analyst*, 113 (1988) 1447-1452.

4. B. Kagedal, T. Andersson, M. Carlsson, T. Denneberg, A. Hoppe, *J. Chromatogr.*, 417 (1987) 261.

5. P. Passamonti, S. Ferraro, V. Bartocci, F. Pucciarelli, *Electroanalysis*, 3 (1991) 847-854. 6. M.K. Halbert, R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, 57 (1985) 591-595.

AUTOMATIC SELECTION OF VARIABLES IN PLS, AVS-PLS

Michele Forina, Silvia Lanteri

Istituto di Analisi e Tecnologie Farmaceutiche ed Alimentari Università di Genova

Cristina de la Pezuela, Antonio Ruis Departamento de Química Analítica Universidad Autónoma de Barcelona

PLS (Partial Least Squares Regression) è attualmente la tecnica di regressione più utilizzata in chimica analitica, in tutti i problemi multivariati in cui le variabili predittrici sono più o meno correlate. Un caso tipico è la calibrazione multivariata applicata in spettrometria, dove una quantità chimica è messa in relazione con molte quantità fisiche, assorbanze a lunghezze d'onda contigue.

Un problema importante in PLS è la eliminazione delle variabili predittrici che portano più rumore che informazione utile.

AVS (Automatic Variables Selection) si contrappone a IVS (Interactive Variable Selection), ed è come questo un metodo component-wise, che non elimina totalmente le variabili, ma le esclude solamente da alcune (al limite da tutte) variabili latenti di PLS.

Mentre IVS comporta una serie di interventi dell'operatore, e conseguentemente una soluzione soggettiva che può essere di buon livello solo se l'operatore ha un elevato grado di conoscenze chemiometriche, AVS fornisce una soluzione unica e richiede poca esperienza (relativamente) da parte dell'operatore.

Sia X_{IV} la matrice delle V variabili predittrici con I righe (oggetti, campioni), e y_i il corrispondente vettore della variabile risposta (la quantità chimica).

PLS lavora generalmente sulle variabili autoscalate o centrate.

L'algoritmo fondamentale di PLS (una sola variabile risposta) comprende, per ogni variabile latente, i seguenti passi:

a) $u_j = x_{.j}$, j indica una qualunque colonna di X

b) $w_v = X_{.v}^T u_j$

c) $c = y_i \cdot t_j / (t \cdot t)$

c) normalizzazione di u (divisione per la norma euclidea)

d) $t_j = X_{.v} w_v$

e) $p_v = X_{.v}^T t_j / (t \cdot t)$

f) $X_{IV} = X_{IV} - t_j p_v$

g) $y_i = y_i - c \cdot t_j$

Gli ultimi due passi eseguono l'aggiornamento della matrice X e del vettore y , per il passaggio alla variabile latente successiva, che lavora sui residui.

L'algoritmo è costituito, tra l'altro, (punto b), da una regressione per l'origine, che calcola i coefficienti w (weights) dei predittori sulla variabile latente. AVS interviene a questo livello, e se la correlazione tra il predittore (o il suo residuo) e la variabile risposta è inferiore ad un determinato livello di significato, il coefficiente è posto eguale a zero.

AVS esplora vari livelli di significato, sino a cancellare per la variabile latente in studio tutti i predittori meno uno. Il valore ottimo del livello di significato è ottenuto mediante ottimizzazione predittiva. Un set di convalida esterno misura l'errore di predizione effettivo del modello così ottenuto sulla quantità chimica di interesse. Il vantaggio di AVS è quello di eliminare predittori che non contribuiscono positivamente alla regressione, diminuendo l'errore di predizione, ma anche quello di fornire variabili latenti più semplici e quindi più facilmente interpretabili.

Le prestazioni di AVS vengono illustrate sia con i dati sintetici utilizzati per IVS da Lindgren e Wold, sia con set di dati reali.

AVS è implementato nel programma PLS-AVS del package F-PARVUS, versione Fortran PowerStation del package PARVUS.

IL CONTROLLO DI QUALITA' DEI DATI ANALITICI NELLA DETERMINAZIONE DEI POLICLOROBIFENILI (PCB) IN CAMPIONI AMBIENTALI

Roger Fuoco e Maria Perla Colombini

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

I policlorobifenili (PCB) sono una classe di composti organici di sintesi di elevato interesse ambientale, soprattutto in considerazione della loro tossicità e del ruolo che alcuni di essi giocano nei processi di carcinogenesi. Senza dubbio, l'impiego di questi composti come fluidi dielettrici è stata l'applicazione industriale che da un lato ha sfruttato al meglio le loro proprietà, ma che dall'altro ha costituito la fonte principale della contaminazione ambientale a causa della assoluta mancanza, per circa quaranta anni, di norme per il loro corretto smaltimento. Ciò ha determinato la diffusione dei PCB, soprattutto per via atmosferica, in tutti i comparti ambientali, portando alla loro inclusione nella lista degli inquinanti prioritari, ed al loro inserimento in vari programmi internazionali di ricerca sui cambiamenti globali del nostro pianeta. Negli ultimi anni, sono state quindi proposte in letteratura numerose procedure analitiche per la loro determinazione in varie matrici, ma purtroppo, i dati pubblicati sono risultati, in molti casi, poco attendibili, e spesso contraddittori, a causa della mancanza o della non corretta applicazione di idonee procedure per il controllo di qualità dei dati analitici.

In questa comunicazione vengono illustrate alcune metodologie analitiche da noi messe a punto per la determinazione dei PCB in campioni ambientali (acqua di mare, sedimenti, terreno) e in campioni di oli utilizzati come fluidi dielettrici, insieme alle procedure adottate per il controllo della qualità dei risultati. In particolare viene mostrato come, attraverso il corretto impiego di materiali certificati e di campioni "spiked", sia possibile avere informazioni quasi in tempo reale sulla qualità dei dati prodotti e sulle prestazioni della procedura analitica utilizzata. Infine, vengono discussi i risultati più significativi relativi a un programma Europeo di intercalibrazione per la determinazione di PCB in soluzioni standard, oli e sedimenti marini.

APPLICAZIONE DI METODI CHEMIOMETRICI ALLA RICERCA DELLO STANDARD INTERNO OTTIMALE PER LA DETERMINAZIONE DI METALLI PESANTI NEI SEDIMENTI, MEDIANTE ICP-AES.

Marco Grotti e Raffaella Pantani

Cattedra di Chimica Analitica-Istituto di Chimica Generale, Università di Genova.

Riccardo Leardi

Istituto di Analisi e Tecnologia Farmaceutica e Alimentare, Università di Genova.

Il metodo dello standard interno, in quanto basato sulla lettura del rapporto tra il segnale dell'analita e il segnale di un elemento di riferimento, si presenta come un'ottima tecnica per ottenere risultati più precisi e per ridurre le interferenze da matrice.

Nella spettrometria atomica di emissione con sorgente a plasma indotto da radiofrequenze (ICP-AES), tale metodo è stato applicato soprattutto per migliorare la precisione analitica (1-6).

La condizione fondamentale perché la sua applicazione determini anche una riduzione degli effetti interferenti consiste nel fatto che l'analita e lo standard risentano di tali effetti in eguale misura.

Per valutare la possibilità di applicare il metodo dello standard interno alla determinazione di alcuni metalli pesanti (Sn, Ni, Pb e Cu) nei sedimenti, mediante spettrometria atomica di emissione con sorgente a plasma indotto da radiofrequenze (ICP-AES), è stato iniziato uno studio finalizzato alla ricerca dello standard interno, e della sua concentrazione, ottimali per tale determinazione.

La ricerca è stata condotta sulle terre rare, sulle quali il nostro gruppo di ricerca possedeva già un certo numero di informazioni riguardo alla loro suscettibilità alle interferenze, ed è stata affrontata con metodi chemiometrici.

In questo poster vengono presentate le applicazioni di tali metodi (analisi dei componenti principali, disegni sperimentali di Doehlert, fattoriali completi e D-ottimali) e i risultati ottenuti.

- 1) J. Schmidt and W. Slavin, *Anal. Chem.*, 1982, 54, 2491.
- 2) S.A. Myers and D.H. Tracy, *Spectrochim. Acta*, 1983, 38B, 1227.
- 3) A. Lorber and Z. Goldbart, *Anal. Chem.*, 1984, 56, 37.
- 4) T. Catterick, *Analyst*, 1984, 109, 1465.
- 5) M.H. Ramsey and M. Thompson, *Analyst*, 1985, 110, 519.
- 6) J.M. Mermet and J.C. Ivaldi, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, 8, 795.
- 7) A. Mazzucotelli, F. De Paz, E. Magi and R. Frache, *Anal. Sci.*, 1992, 8, 189

STUDIO DI UNA ESTRAZIONE CHIMICA SELETTIVA DI METALLI IN TRACCE LEGATI A CARBONATI NEL PARTICOLATO MARINO, MEDIANTE ANALISI SEM-EDX, ETA-AAS E ICP-AES.

G. Ianni e F. Biffi

Istituto di Chimica Generale - Cattedra di Chimica Analitica Università di Genova
Viale Benedetto XV, 3 16132 - GENOVA

Le tecniche di valutazione dei cicli biogeochimici degli elementi in tracce e dell'impatto ambientale da parte di inquinanti sono attualmente rivolte, quando possibile, alla determinazione delle "specie" di un determinato elemento piuttosto che alla determinazione della concentrazione totale.

Nel sistema sedimento-acqua di mare-particolato sospeso la tendenza di un elemento ad essere accumulato dagli organismi dipende, fra l'altro, dalla biodisponibilità dell'elemento in questione, che a sua volta è funzione della sua speciazione, e dalla capacità del sistema stesso di riformire, mediante il particolato, l'elemento precedentemente rimosso dalla soluzione tramite processi biotici e abiotici. Perciò l'identificazione delle specie dei metalli in tracce adsorbiti o precipitati sulla superficie del particolato o dei sedimenti è più indicativa dell'analisi totale. Di particolare interesse sono, fra le altre, le frazioni carbonatiche di varia origine e le loro interazioni con i metalli in tracce.

In un nostro precedente lavoro [1] abbiamo applicato al particolato marino sospeso una procedura di estrazione sequenziale selettiva usata solitamente per i sedimenti [2]. Il residuo di ogni estrazione è stato controllato col microscopio elettronico a scansione e con la sonda (SEM-EDX) ed è stata verificata in generale una scarsa efficienza di tutti gli stadi dell'estrazione sequenziale. Si è quindi successivamente cercato di migliorare ed ottimizzare i vari stadi dell'estrazione, usando sempre l'analisi al SEM-EDX come controllo. Lo scopo è di ottenere una procedura di estrazione più efficiente e di conseguenza uno strumento più accurato da utilizzare negli studi di speciazione.

Ad oggi siamo riusciti ad affinare il primo stadio dell'estrazione sequenziale, relativo alla frazione dei carbonati, che consiste in un attacco con acetato d'ammonio a pH 5, mediante modifiche del tempo di contatto e del rapporto estraente/particolato. Il miglioramento ottenuto permette un'individuazione ed una correlazione più completa dei metalli in tracce legati ai carbonati, risultati che, come si è già visto, sono particolarmente importanti per i problemi di rimobilizzazione dei metalli stessi nell'ambiente marino.

1) F. Baffi, M. Ravera, C. Ianni, F. Soggia e E. Magi, *Anal. Chim. Acta*, 306 (1995) 149

2) A. Mazzucotelli, B. Cosma e F. Soggia, *Ann. Chim.*, 79 (1989) 617.

NUOVA METODICA PER LA DETERMINAZIONE DEL PIOMBO NEL PARTICOLATO ATMOSFERICO IN AMBIENTE URBANO.

Clinio Locatelli, Giancarlo Torsi, Pierluigi Reschiglian, Francesco Fagioli, Dora Melucci, Nicola Rossi.
Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, Via F. Selmi 2, I-40126 BOLOGNA (Italy).
Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via L. Borsari 46, I-44100 FERRARA (Italy).

Viene proposto un nuovo metodo, chiamato "Standardless Method" per la determinazione del piombo nel particolato atmosferico.

Risulta evidente, da un confronto fra il metodo ufficiale e il metodo da noi proposto, che il primo sottostima il livello di piombo presente nell'ambiente urbano intorno al 27%.

Dati i livelli normalmente esistenti, un tale errore, anche se non porta a situazioni pericolose, non può comunque essere accettato soprattutto se esistono metodi più accurati, semplici e capaci di dare risposte, se necessario, praticamente in tempo reale, in quanto il tempo di raccolta del campione e l'analisi del medesimo è di qualche minuto.

In questo lavoro vengono illustrate le apparecchiature necessarie per la messa in opera di un nuovo metodo con le caratteristiche sopraelencate e vengono presentati i dati relativi al confronto con il metodo ufficiale.

Viene inoltre presentato un metodo combinato per eseguire misure atte a separare e analizzare due frazioni di particolato di diversa granulometria determinata dal cut off del filtro. La conoscenza quantitativa della frazione granulometrica associata all'inquinante è molto importante per valutazioni tossicologiche.

MONITORAGGIO AMBIENTALE IN MUSEI E BIBLIOTECHE

Salvatore Lorusso

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università della Tuscia, Viterbo

Mario Genova

CISE, Milano

Rocco Mazzeo,

Museo Civico Archeologico, Bologna

Gli studi riguardanti le relazioni esistenti fra l'inquinamento atmosferico e il degrado del patrimonio storico-artistico sono notevolmente complessi e in molti casi richiedono, di conseguenza, un approccio multidisciplinare.

Solamente in anni recenti è stato possibile passare da studi piuttosto generici, caratteristici delle prime ricerche iniziate circa una trentina di anni fa, a studi sempre più specifici e complessi, grazie anche all'evolversi delle tecniche e delle strumentazioni dedicate.

Lo stato di conservazione dei materiali di interesse storico-artistico ed archeologico all'interno dei musei o in ambienti di deposito è strettamente legato al grado di inquinamento chimico e biologico dell'aria e alle variabili temperatura, umidità relativa e illuminazione dell'ambiente.

In generale i danni prodotti dall'inquinamento dell'aria sui materiali esposti nei musei dipendono dai valori delle tre variabili dette, ad es. l'umidità relativa può influenzare gli attacchi della microflora, la temperatura influenza gli attacchi chimici e biologici in generale, l'illuminazione favorisce gli attacchi chimici e i fattori di invecchiamento.

Pur mettendo in atto provvedimenti finalizzati alla riduzione dell'inquinamento ambientale, in generale non è possibile ottenere l'eliminazione totale degli agenti inquinanti, soprattutto quelli biologici.

Diventa quindi importante controllare le variabili ambientali termometriche e di illuminazione allo scopo di mantenere quelle condizioni che rendano minimo il danno prodotto dagli agenti inquinanti. La ricerca, svolta nel corso degli ultimi anni, è stata quindi condotta allo scopo di valutare le variabili energetico-ambientali sul benessere sia umano che dei beni conservati in ambienti confinati.

In particolare, in riferimento agli ambienti museali le finalità sono state:

- esaminare la situazione energetica ed ambientale esistente in una area museale significativa con particolare riguardo alla climatizzazione, all'illuminazione e alla presenza di agenti inquinanti (come area museale significativa è stato scelto il Museo Nazionale di Villa Giulia a Roma);
- valutare, almeno qualitativamente, eventuali effetti negativi sullo stato di conservazione del materiale storico-artistico esposto all'interno del museo, in relazione all'inquinamento chimico dell'aria e ai valori di temperatura, umidità relativa e illuminazione dell'ambiente;
- applicare un modello termodinamico agli ambienti espositivi;
- individuare alcuni interventi sul sistema energetico del museo tendenti a migliorare la conservazione del patrimonio storico-artistico;
- applicare un modello di correlazione fra i valori di concentrazione degli inquinanti negli ambienti indoor-outdoor.

In riferimento poi agli ambienti "biblioteche" si è preso in esame una unità culturale in cui, insieme con una presenza umana più significativa e più continua rispetto all'ambiente museale, sono conservati beni caratterizzati da materiali diversi dai precedenti, ma particolarmente importanti e diffusi nello scenario della conservazione.

Si tratta di beni librari, sia quelli a disposizione di un gran numero di fruitori per lettura e consultazione, sia quelli che, per via del lodevole interesse storico-artistico, sono solamente esposti al pubblico in opportuni luoghi protetti.

Per lo svolgimento della ricerca sono state individuate due biblioteche: la Biblioteca Nazionale Centrale e la Biblioteca Casanatense, entrambe a Roma

La prima biblioteca ha permesso di affrontare la problematica della conservazione di libri che, essendo a disposizione del pubblico per consultazione, vengono frequentemente spostati e quindi per molte ore del giorno si trovano esposti alle condizioni ambientali delle sale di consultazione.

La seconda biblioteca ha permesso di affrontare la problematica della conservazione dei libri che, essendo opere di grande interesse storico-artistico (codici miniati), in generale non sono a disposizione del pubblico per consultazione e devono essere conservati costantemente in luoghi protetti.

Il quadro sperimentale che ne è derivato ha permesso di fornire una definizione più chiara ed affidabile sulla valutazione energetico-ambientale in ambienti "indoor", in cui è fondamentale affrontare le problematiche relative al benessere del sistema: ambiente-bene culturale-fruttoro, nei quali cioè l'integrità fisica col tempo dei materiali costituenti i beni culturali deve necessariamente "sposare" esigenze di benessere non solo per i fruitori, ma anche di gestione corretta e di ottimizzazione dei consumi (in particolare quelli energetici) ai fini di ricadute economiche positive.

ALCUNE CONSIDERAZIONI SULLA DETERMINAZIONE DEL CALCIO IONICO NEL LATTE

Lucarini M., Di Lullo G., Carnovale E.

Istituto Nazionale Della Nutrizione, Via Ardeatina 546-00178 Roma

Introduzione

Latte e prodotti derivati sono la fonte più importante di calcio nella dieta sia dal punto di vista quantitativo che della biodisponibilità (1). La forma chimica in cui il calcio è presente nei prodotti è fondamentale ai fini dell'assorbimento. In vista dell'importanza nutrizionale del calcio e della presenza crescente sul mercato di nuovi prodotti e nuove formulazioni lattiero-casearie è necessario disporre di un metodo "in vitro" che permetta di avere un'indicazione della disponibilità all'assorbimento del calcio. Alcuni autori affermano che il calcio solubile (totale), dopo digestione simulata, è indice della biodisponibilità (2), mentre altri sostengono che il calcio ionico rappresenta in modo più soddisfacente tale indice (3). I valori riportati in letteratura per il calcio determinato tramite digestioni "in vitro" risultano diversi da quelli ottenuti da digestioni "in vivo" ed in particolare più alti nel caso che sia il calcio solubile a rappresentare la biodisponibilità o più bassi nel caso del calcio ionico.

Obiettivo

Alla luce di questi dati ci è sembrato utile, prima di iniziare lo studio della disponibilità del calcio nel latte e nei prodotti derivati, cercare di standardizzare le condizioni per la determinazione delle diverse forme di calcio nel latte; mentre per il calcio totale, determinato mediante assorbimento atomico, si è proceduto con la metodologia riportata in letteratura, per il calcio ionico sono state prese in considerazione diverse variabili che possono influire nella sua determinazione; tra queste variabili non è stato considerato il pH in quanto già noto il suo effetto sulla concentrazione di ioni calcio in matrici alimentari quali latte e derivati.

Materiali e metodi

Sono stati studiati i tre tipi di latte in commercio (intero, parzialmente scremato e scremato) determinando il calcio ionico, in funzione della diluizione e della forza ionica, sui campioni di latte tal quale e campioni di latte centrifugati (1h a 10000 r.p.m. e 1h a 30000 r.p.m. alla temperatura di 5°C). Per la determinazione del calcio ionico è stato utilizzato un elettrodo Orion con membrana polimerica, mentre per modificare la forza ionica si è utilizzato un regolatore di forza ionica in soluzione 4M sempre fornito dalla Orion.

Risultati e discussione

Vengono discussi i risultati ottenuti nel caso del latte parzialmente scremato in quanto gli altri due campioni mostrano andamenti analoghi senza nessuna apparente relazione con il diverso contenuto in grasso dei tre campioni.

Nella figura 1 è mostrato l'andamento del calcio ionico in funzione della diluizione del campione dopo centrifugazione a tre differenti forze ioniche (FI) della soluzione (0,08 M; 0,50 M e 1,00 M). Appare evidente l'effetto della diluizione che mostra un plateau dopo aver diluito il campione circa 20 volte con acqua bidistillata; l'effetto della diluizione può essere interpretato ammettendo che parte del calcio che si trova nello stato colloidale

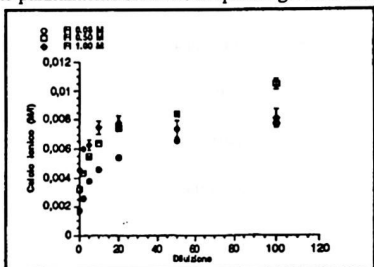


Figura 1

possa, a seguito della diluizione, passare in soluzione potendo così essere misurato; la cinetica dell'estrazione del calcio dallo stato colloidale è influenzata dalla forza ionica ed aumenta all'aumentare di quest'ultima.

Nella figura 2 è riportato il confronto tra il contenuto di calcio ionico nel latte prima e dopo la centrifugazione, in funzione della diluizione.

Nel latte tal quale gli effetti della diluizione sono amplificati, rispetto al latte centrifugato, per la presenza delle caseine (in particolare la α_{s1} -caseina) che hanno la maggior affinità per il calcio (4) e sono in grado di rilasciarne maggiori quantità in seguito alla diluizione.

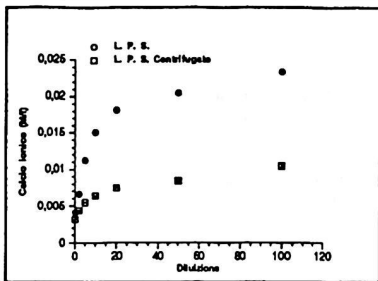


Figura 2

1) Carnovale E., Di Lullo G., CaMelloni M. (1994). ANI Convegno Latte e Derivati: tra tecnologia e nutrizione, Roma 7-8 giugno 1994.

2) Schwartz et al. (1982). An in vitro system for measuring intrinsic dietary mineral exchangeability: alternative to intrinsic isotopic labelling. *J. Nutr.*, 112, 497-504.

3) Zemel, (1984). In vitro evaluation of the effect of ortho-tripoly-exametaphosphate on iron and calcium bioavailability. *J. Food Sci.*, 51, 957-9.

4) C. P. Pappas, J. Rothwell (1991). The effects of heating, alone or in presence of calcium or lactose, on calcium binding to milk proteins; *Food Chem.*, 42, 183-201.

STUDIO SULLA POSSIBILITA' DI IMPIEGO DEL RODIZONATO DI PIOMBO PER LA PRECONCENTRAZIONE ED ANALISI DEL RADIO IN MATRICI AMBIENTALI

Maggi L., Vantini Ganzerli M.T.

Dipartimento di Chimica Generale dell' Università di Pavia - Viale Taramelli, 12 - 27100 PAVIA

La determinazione dell'attività di radionuclidi naturali e artificiali nell'ambiente comporta notevoli difficoltà a causa delle concentrazioni molto basse. Alcuni di essi, come ad esempi lo ^{90}Sr , sono dei beta emettitori puri e per il loro dosaggio radiometrico si rende necessaria una loro completa purificazione dagli altri radionuclidi. Tenendo conto di questi presupposti diventa indispensabile disporre di metodi che permettano la preconcentrazione e la purificazione di ciascun radionuclide in esame. Il presente lavoro riguarda la messa a punto di un metodo di preconcentrazione e purificazione del radio mediante assorbimento selettivo in colonna cromatografica. In particolare si è studiata la possibilità di impiegare un sale dell'acido rodizonico. La scelta è caduta sul rodizonato di piombo che è più solubile rispetto al rodizonato di radio e di bario e consente in tal modo l'assorbimento di tali ioni dalle soluzioni. La preparazione dello scambiatore è stata effettuata trattando il rodizonato di sodio con piombo nitrato in presenza di carbone che funziona come supporto. In assenza di carbone la filtrazione del composto, che si presenta colloidale, è piuttosto difficoltosa. Le prove eseguite in batch impiegando come tracciante il ^{133}Ba hanno evidenziato che lo scambiatore funziona molto bene a pH 9. Tutte le prove di scambio sono state effettuate impiegando il ^{133}Ba in sostituzione del radio in quanto esso, pur avendo un comportamento chimico molto simile, presenta minori problemi per il dosaggio e la radiotossicità. Sono state valutate la capacità di scambio e la variazione del coefficiente di assorbimento in funzione del pH e della concentrazione degli ioni che generalmente si trovano nelle matrici ambientali quali Ca^{2+} , HCO_3^- , CO_3^{2-} .

Si è infine sperimentato l'impiego dell'assorbitore in colonna per la preconcentrazione del radio dalle acque superficiali.

CARATTERIZZAZIONE DI UN BIOSENSORE AMPEROMETRICO DELLA TERZA GENERAZIONE OTTENUTO PER IMMOBILIZZAZIONE ELETTROCHIMICA DELLA GLUCOSIO OSSIDASI SU SALI ORGANICI CONDUTTORI

C.Malitesta, F.Palmisano, P.G.Zambonin

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari, via Orabona 4, 70100 BARI

D.Centonze

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, via N. Sauro 85, 85100 POTENZA

L'immobilizzazione elettrochimica di enzimi (p.es. Glucosio Ossidasi, GOx) in membrane polimeriche permeative non-conduttrici (ad es. poliorotofenilendiammina (PPD), polipirrolo overossidato ecc.) è oggi riconosciuta come un metodo valido per la preparazione di biosensori[1,2]. Tale procedura completamente elettrochimica rappresenta una maniera molto efficace di produrre, in un solo stadio, biosensori della prima generazione, il cui responso non risente delle più comuni interferenze[3-6]. Nonostante le peculiari caratteristiche mostrate, tali biosensori condividono con gli altri della prima generazione il limite della dipendenza dalla concentrazione di ossigeno nel mezzo analizzato. Tale problema è stato in passato affrontato attraverso l'uso di mediatori redox, immobilizzati sulla superficie elettrodica o in soluzione (biosensori della II generazione) [7], in grado di competere vantaggiosamente con l'ossigeno nella fase di riossidazione dell'enzima. Più di recente, per tale compito, sono stati utilizzati i sali organici conduttori (COS) che al tempo stesso possano fungere anche da elettrodo (biosensori della III generazione)[8]. In quest'ultimo caso sono stati utilizzati metodi classici di immobilizzazione enzimatica che non eliminano il problema degli interferenti.

Recentemente sono stati riportati risultati preliminari[9] su di un sistema (Pt/COS/PPD/GOx) che coniuga i vantaggi dell'uso degli elettrodi COS con quelli derivanti dalla procedura di immobilizzazione elettrochimica già citata.

In questa comunicazione saranno illustrate e discusse le caratteristiche operazionali del sensore ed i risultati di uno studio XPS che, in particolare, ha consentito di formulare un'ipotesi ragionevole sul meccanismo attraverso il quale l'enzima viene riossidato dalle specie che costituiscono la superficie elettrodica.

1) C. Malitesta, F. Palmisano, L. Torsi and P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 2735

2) P.N. Bartlett and J.M. Cooper, *J. Electroanal. Chem.*, 362 (1993)1

3) D.Centonze, A. Guerrieri, C.Malitesta, F.Palmisano and P.G.Zambonin, *Annali di Chimica*, 82 (1992) 219

4) D.Centonze, A. Guerrieri, C.Malitesta, F.Palmisano and P.G.Zambonin, *Fresenius J.Anal.Chem.*, 342 (1992) 729

5) F.Palmisano, D.Centonze, A.Guerrieri, and P.G.Zambonin *Biosensors & Bioelectronics*, 8 (1993) 3936

6) F.Palmisano, D.Centonze, P.G.Zambonin, *Biosensors & Bioelectronics*, 9 (1994) 471

7) R.M.Ianniello, T.J.Lindsay and A.M.Yacynych, *Anal.Chem.*, 54 (1982) 1980

8) W.J.Albery, P.N.Bartlett and D.H.Craston, *J.Electroanal.Chem.*, 194 (1985) 223

9) F.Palmisano, D.Centonze, C.Malitesta, P.G.Zambonin, *J.Electroanal.Chem.*, 381 (1995) 235

DETERMINAZIONE DI CARBOIDRATI IN PRODOTTI ALIMENTARI MEDIANTE CAMPIONAMENTO CON MICRODIALISI ED HPLC CON RILEVATORE AMPEROMETRICO.

Saverio Mannino, Maria Stella Cosio

*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari e Microbiologiche,
Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano*

Da un esame dei metodi più comunemente utilizzati per l'analisi dei prodotti alimentari, appare evidente come la preparazione del campione costituisca la fase più complessa e determinante per l'affidabilità del risultato analitico finale. E' evidente quindi la necessità di sviluppare metodi analitici semplici rapidi selettivi, multielementari e che richiedono una non laboriosa fase di pretrattamento del campione.

La microdialisi è una delle più recenti tecniche di campionamento, utilizzata principalmente nel campo clinico che presenta notevoli potenzialità, soprattutto nell'isolamento di sostanze contenute in matrici complesse come quelle alimentari che poi possono essere determinate con diverse tecniche analitiche in sistemi a flusso o in batch.

Nel presente lavoro vengono illustrati i risultati ottenuti per la determinazione multielementare di zuccheri in matrici alimentari liquide e semisolide mediante un sistema a flusso formato da una sonda da microdialisi accoppiata ad un cromatografo liquido operante con un rivelatore amperometrico costituito da un elettrodo modificato chimicamente con una miscela di ossidi di cobalto. Per la separazione degli zuccheri si è operato con una colonna cromatografica CarboPac PA1, utilizzando NaOH 100 mM come eluente, che permette la separazione di glucosio, fruttosio e saccarosio in circa 8 minuti.

La procedura proposta è semplice, rapida e non richiede alcun pretrattamento del campione, eccetto la diluizione, e permette la simultanea determinazione degli zuccheri in numerose matrici alimentari.

DETERMINAZIONE DELL'ACIDO ASCORBICO NEL SIERO CON UN REATTORE ENZIMATICO

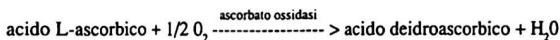
G. Marrazza, M. Mascini

Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale,

Sez. Chimica Analitica Università degli Studi di Firenze via G. Capponi, 9; 50121 Firenze

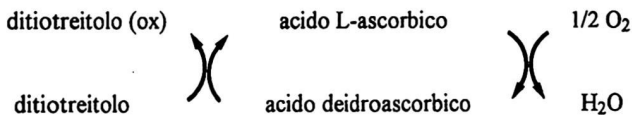
E-mail: Mascini@cesitl.unifi.it

In questo lavoro è descritto un sistema a flusso per la determinazione dell'acido ascorbico a basse concentrazioni in campioni di siero. Il metodo è basato sulla misura amperometrica con un elettrodo ad ossigeno accoppiato ad un reattore enzimatico. L'enzima Ascorbato Ossidasi è stato immobilizzato mediante glutaraldeide su palline di vetro, a porosità controllata, aventi gruppi aminopropilici. Le palline venivano impaccate in un tubo di tygon. L'acido L-ascorbico è ossidato ad acido deidroascorbico dall'enzima L-ascorbato ossidasi in accordo alla seguente reazione:



La misura del consumo di ossigeno permette la determinazione del substrato coinvolto nella reazione enzimatica.

Il ditiotreitolo (DTT) è stato addizionato alle soluzioni di acido ascorbico e ai campioni di siero. Il DTT è stato usato per stabilizzare le soluzioni di acido ascorbico e per ridurre l'acido deidroascorbico prodotto dalla reazione enzimatica ad acido ascorbico. La reazione ciclica tra la forma ossidata e ridotta della vitamina C usando il DTT può essere illustrata come segue:



Il segnale della corrente di riduzione dell'ossigeno è aumentato di circa il 60% quando il DTT è stato usato ad una concentrazione di 1×10^{-2} M. Il sistema è risultato abile a misurare la vitamina C a basse concentrazioni. Quando si sono analizzati campioni di siero, si è potuto misurare l'acido ascorbico nell'intervallo di concentrazioni da 1×10^{-6} a 5×10^{-4} M in pochi secondi.

TRASPORTO DI COMPOSTI ORGANICI ALL'INTERFACCIA ACQUA DI MARE - ATMOSFERA DURANTE I PROCESSI DI AEROSOLIZZAZIONE

Fabio Masi, Luciano Lepri, Piergiorgio Desideri

Dip. Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale

Università di Firenze, via G. Capponi, 9.

E' stato utilizzato un apparato di Gershey modificato per lo studio in laboratorio del trasferimento nell'atmosfera di numerosi composti organici appartenenti a diverse classi (idrocarburi alifatici ed aromatici, ftalati, steroidi, esteri di acidi grassi, pesticidi clorurati, erbicidi) da soluzioni sintetiche di acqua di mare in presenza o meno di tensioattivi ionici e non ionici a differenti concentrazioni e da campioni di acqua prelevati nel mare Tirreno. Questi ultimi campioni sono stati utilizzati sia tal quali che dopo filtrazione del particolato sospeso.

I composti organici esaminati vengono trasportati nell'atmosfera sia direttamente in fase gassosa per stripping con Azoto sia tramite aerosol liquido a seconda della loro struttura chimica e delle loro caratteristiche chimico-fisiche (tensione superficiale, volatilità, solubilità in acqua, idrofobicità).

I risultati ottenuti investono un notevole interesse in quanto consentono di conoscere le modalità del trasferimento di queste sostanze organiche dagli oceani all'atmosfera. Ciò permette di meglio comprendere il complesso meccanismo di trasporto dei composti organici biogenici ed antropogenici non soltanto a breve ma soprattutto a lunga distanza ed in particolare dalle regioni temperate a quelle fredde polari come il continente Antartico.

AMPEROMETRIC BIOSENSOR FOR THE DETERMINATION OF GABA.

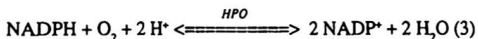
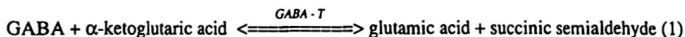
Franco Mazzei*, Francesco Botrè**, Giampiero Lorenti*, Elisabetta Polise*, Fernando Porcelli***

*Cattedra di Chimica Fisica, Dipartimento di Studi di Chimica e Tecnologia delle Sostanze Biologicamente Attive, Università "La Sapienza" P.le Aldo Moro, 5 - 00185, Roma.

**Istituto di Merceologia, Università "La Sapienza", via del Castro Laurenziano, 9 - 00161, Roma.

***Cattedra di Chimica Fisica, Dipartimento di Scienze Ambientali, Università della Tuscia, Via San Camillo de Lellis - 01100, Viterbo.

This work reports the realization of an amperometric biosensor for the determination of GABA. The biosensor is based on the catalytic activity of the coupled enzymatic system γ -Aminobutyric Glutamic Aminotransferase (GABA-T) + Succinic Semialdehyde Dehydrogenase (SSDH), usually named GABASE, and horseradish peroxidase (HPO). The reactions catalyzed by these enzymes are:



The biosensor is therefore based on the combined catalytic activity of GABASE and horseradish peroxidase (HPO), suitably assembled on a commercially available O_2 -sensitive Clark-like amperometric electrode. The measurement of the oxygen consumption (reaction 3) allows to determine the concentration of NADPH formed (reaction 2) and, in turn, of GABA.

The main analytical and physico-chemical features of the biosensor are presented and discussed.

CHARACTERIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES: A COMPARISON BETWEEN ELISA METHOD AND THE BIOSENSOR TECHNOLOGY

M. Minunni ^{a)}, P. Sklada ^{b)}, T. Giersch ^{c)}, G. Guilbault ^{d)}, M. Mascini ^{a)} and B. Hock ^{c)}

^{a)} Dip. di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Ambientale, Firenze (I)

^{b)} Biochemistry Dpt., Mazaric University, Brno (Cz)

^{c)} Technische Universität München, Lehrstuhl für Botanik, Freising (D)

^{d)} Chemistry Dpt., Cork University, (Eire)

Immunoassays are based on the binding reaction between an antibody and an antigen. The reaction between these two partners is defined by the affinity constant K_A , calculated as the equilibrium constant of the reaction:



The reaction is a dynamic equilibrium. Conventional assay methods achieve high sensitivity using radioactive, fluorescent or enzyme labels. They often require time-consuming incubation and separation steps. On the other hand very recently the biosensors technology is providing new suitable methods for antibody characterization. These devices utilize one reaction partner immobilized on a sensor surface of a suitable physical transducer, while the other one flows over it. The immunoreaction can be followed in real time without any label. The time response is in the range of a few seconds. Different technologies can be used for this approach: e.g. surface plasmon resonance, integrated optical grating couplers, resonant mirrors and piezoelectric systems.

In the present work we wanted to compare the ELISA method for the calculation of the affinity constant with a biosensor approach using a Quartz Crystal Microbalance (QCM) device, using antibodies against atrazine. In both approaches, the antigen is immobilized on the interacting surface and then exposed to the antibody. In the ELISA method both Ab and the immobilized Ag concentrations are decreased in order to extrapolate to zero [Ab] and tracer concentrations, where K_A approaches the inverse of the analyte concentration at the middle of the test. Here $K_A = 1/[B_{50\%}]$. From a certain Ab dilution and Ag surface concentration, the value of 50%B/B₀ does not change any more.

In the QCM the value is obtained as a ratio of the association rate constant (k_a) and dissociation rate constant (k_d).

I METALLI PESANTI NELLE DEPOSIZIONI ATMOSFERICHE DRY

Luciano Morselli*, Piera Olivieri**, Elisa Grandi*

*Università degli Studi di Bologna - Facoltà di chimica industriale

**ENEA AMB.SAF.DIN. Bologna

La "dry deposition" è l'insieme di tutti i processi di trasporto e rimozione di gas e aerosol dall'atmosfera alla superficie terrestre in assenza di precipitazione. La deposizione atmosferica dry non può essere ignorata quando si vuole valutare l'impatto degli inquinanti atmosferici sul suolo, sulla vegetazione e sui materiali. Le procedure della raccolta della dry deposition sono di particolare difficoltà e ancora soggette a standardizzazione. Nel caso da noi considerato rappresenta una sedimentazione del materiale particellare atmosferico per periodi mensili su superfici diverse.

Al materiale particellare atmosferico sono associati diversi metalli tossici quali Pb, Ni, V, Cr, Cd, Zn, Co, Mn, As, Hg e i loro composti. Le loro fonti di emissione possono essere naturali (spray marino, eruzioni vulcaniche, erosione del suolo ecc.) oppure antropogeniche (emissioni industriali, traffico veicolare, centrali di potenza, impianti termici, inceneritori dei rifiuti).

La difficoltà maggiore nella caratterizzazione della dry deposition consiste nel riuscire a raccogliere un campione realmente significativo. L'approccio sperimentale da noi adottato consiste nel confrontare due tipi di campionatori ove la superficie recettrice di uno è solida, campionatore wet-dry, mentre nel secondo è rappresentata da uno strato d'acqua, campionatore DSSA. Entrambi i campionatori sono dotati di un sensore di pioggia collegato con un motore elettrico che aziona il sistema di copertura, chiudendo il raccogliatore del dry pochi secondi dopo l'inizio dell'evento meteorico e preservandolo dalle deposizioni umide.

Il campionatore wet-dry (Tecora) è costituito da un secchio di PE convenzionale, di superficie 0.0661 m². Il campionamento viene fatto una volta al mese e la raccolta del campione avviene manualmente: si procede lavando il secchio con una determinata quantità d'acqua deionizzata, poi con 40 ml di HNO₃ 1:1. Le due soluzioni di lavaggio vengono tenute separate, portate a secco a bassa temperatura (60°C) e successivamente mineralizzate.

Il campionatore DSSA (MTX-Italia) è costituito da un recipiente che espone una superficie d'acqua di 0.0594 m². Lo strato d'acqua è mantenuto ad un livello costante da un sensore ottico e da una pompa peristaltica. Il campione viene raccolto ogni 15 giorni e filtrato su filtri Millipore di acetato di cellulosa (dimensione dei pori 0.22 µm). I filtri vengono successivamente mineralizzati, mentre il filtrato viene acidificato fino a pH=2 con HNO₃ e successivamente analizzato.

Allo scopo di individuare la tecnica di mineralizzazione più idonea sono state effettuate prove in parallelo utilizzando uno standard di riferimento (Standard Reference Material N.B.S. 1648 - urban particulate matter). In tab.1 sono riportate le prove di mineralizzazione con i vari metodi considerati [7,8,9]

Tab.1 Prove di mineralizzazione dello standard di riferimento

	valori certificati	B.T.	B.T.	MW	MW	MW
		HNO ₃	HNO ₃ +HF	HNO ₃	HNO ₃ +H ₂ O ₂	HNO ₃ +HF
Pb	6.55±0.08mg/g	6.4±0.7	6.6±1.1	6.7±0.8	7.5±0.5	6.8
V	140±3µg/g	113±18	124±7	106±5	108±10	134±9
Ni	82±3µg/g	90±8	75±9	111±18	88±11	78±10
Cd	75±7µg/g	86±16	76±3	86±12	78±6	76±11
Cr	403±12µg/g	115±24	341±20	111±1	111±12	267±38
Zn	4.76±0.14mg/g	5.52	4.35±0.19	4.48±0.19	4.41±0.8	4.41
As	115±10µg/g	106±13	n.d.	119±2	128±13	n.d.

Legenda: B.T.: mineralizzazione in bomba di teflon

MW: mineralizzazione con microonde

In base ai risultati ottenuti, la procedura di mineralizzazione scelta consiste nel trattare i campioni con 10 ml di HNO_3 + 2 ml di HF, in una bomba in teflon convenzionale, in stufa a 155°C per 12 ore. La quantità di acidi e il tempo di permanenza in stufa possono variare con la quantità di campione [6]. Le soluzioni che si ottengono sono state analizzate con la tecnica spettroscopica ad assorbimento atomico: in fometto di grafite per i metalli Pb, Ni, Cd, V, Cr, As e in fiamma per lo Zn.

Dai primi risultati di confronto dei campioni reali ottenuti, si può notare che le concentrazioni dei metalli ($\mu\text{g/g}$) nei campioni raccolti con il DSSA risultano maggiori in quanto viene considerata la sola frazione ottenuta su filtro, mentre le quantità globalmente depositate per m^2 risultano diversificate in relazione alla possibilità di solubilizzazione di sali nello strato d'acqua del campionatore DSSA.

[1] Morselli, L.; Gallorini, M.; Zappoli, S.; Rizzio, E. *Analyst* 1988,113, 1575-1578

[2] Morselli, L.; Carrelli, R.; Errani, E.; Gallorini, M.; Rizzio, E. *The Pittsburg Conference & Exposition 1987, Atlantic City, New Jersey*

[3] Morselli, L.; Chiesa, M. *Inquinamento* 1990, n. 12, p.45

[4] Schroeder, W.H. et al. *APCA* 1987, 37, 1267-1285

[5] Zobrist, J. et al. *Water, Air and Soil Pollution* 1993, 71, 111-130

[6] Tartari, G.A. et al. in pubblicazione

[7] Gallorini, M. et al. *The Science of Total Environment* 1993, 133, 285-298

[8] ISTISAN 88/19 ISSN-039]-1675 "Campionamento e dosaggio di microinquinanti in flussi gassosi convogliati"

[9] Castellani, C.M.; Sassi, S.; Trevissoi, E.; Vicini, G. *ENEA RT/AMB/93/01*

DISPOSITIVO DI CAMPIONAMENTO SOTTOCUTANEO PER LA VALUTAZIONE DEL "PROFILO" DI METABOLITI DURANTE 24 ORE

*Danila Moscone, Lucia Scarciglia, Jacob Korff**

Dip. di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università "Tor Vergata", Roma

**Dep. of Biological Psychiatry, University of Groningen, The Netherland*

Il monitoraggio continuo del metabolismo "in vivo" è di grande interesse nella ricerca chimico-clinica grazie soprattutto alla possibilità di applicazioni cliniche dei risultati ottenuti, come una più precoce diagnosi o interventi terapeutici "in tempo reale", specie in reparti di terapia intensiva o durante operazioni chirurgiche. Fino ad ora però, il monitoraggio continuo è possibile solo per pochi metaboliti, grazie soprattutto alla microdialisi.

Recentemente è stata introdotta una nuova tecnica di campionamento "in vivo" basata sul principio della ultrafiltrazione: una fibra cava di piccolo diametro (100-200 μm) e di taglio molecolare (MWCO) inferiore a 30.000 Daltons, viene inserita nel tessuto sottocutaneo e connessa tramite un tubo ad una sorgente di vuoto; il fluido interstiziale è così forzato a passare attraverso i pori della fibra e può essere raccolto. Sostanze di peso molecolare più grande del MWCO della fibra sono escluse dal liquido raccolto, che quindi è libero da proteine e può essere analizzato senza ulteriori purificazioni.

Utilizzando questa tecnica di campionamento è stato realizzato un "24 hours sampling device", dispositivo che permette di raccogliere in continuo il fluido sottocutaneo, il quale può essere in seguito analizzato per seguire il "profilo" durante 24 ore di ogni tipo di costituente a basso peso molecolare del liquido interstiziale, come ad esempio ioni, ormoni, metaboliti, etc.

Questo dispositivo è costituito da 2-4 cm di fibra cava, che viene inserita sottocute, connessa ad un tubo di piccolo diametro interno (125 μm) e di lunghezza tale da contenere il liquido raccolto durante 24 ore. L'altra estremità del tubo di raccolta è collegata ad una provetta in cui è stato fatto un moderato vuoto (~ 500 mbars), che agisce come "pompa aspirante" per l'intero sistema.

Per ottenere un flusso costante è stato necessario inserire nel sistema una "restrizione" al flusso, formata da 2-5 cm di un tubo di piccolissimo diametro (15 μm), il quale assicura un basso (0,1-0,2 $\mu\text{l}/\text{min}$) ma molto costante flusso di aspirazione. Questo basso flusso è stato considerato necessario per non alterare l'equilibrio tra i capillari e il fluido interstiziale ed ottenere così un campione che rispecchi l'effettiva composizione di quest'ultimo.

Tutti i parametri del sistema, come la lunghezza della fibra di ultrafiltrazione, il diametro del tubo di raccolta, il diametro e la lunghezza del tubo di restrizione, il volume del tubo da vuoto ed il valore del vuoto applicato sono stati studiati ed ottimizzati.

Problemi come la diffusione longitudinale dei metaboliti durante le 24 ore di raccolta, o come la evaporazione del campione attraverso le pareti del tubo di raccolta, sono stati minimizzati.

È stato così realizzato un dispositivo semplice, di basso costo, ma soprattutto portatile per il monitoraggio continuo durante 24 ore di metaboliti di basso peso molecolare, che potrebbe essere definito un "holter metabolico". Come esempio di applicazione è stato misurato il glucosio contenuto nel tubo di raccolta per via elettrochimica, utilizzando un biosensore alloggiato in una opportuna cella a flusso.

REALIZZAZIONE DI UN SENSORE PER DNA VOLTAMMETRICO BASATO SU COMPOSTI INTERCALANTI ELETTROATTIVI

S. Palanti, G. Marrazza, M. Mascini

Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale, Sez. Chimica Analitica
Università di Firenze Via G. Capponi, 9, 50121 Firenze internet: Mascini@cesit1.unifi.it

Sensori elettrochimici per DNA possono costituire dei dispositivi utili per la determinazione di specie biologiche patogene di interesse ambientale.

La superficie di elettrodi glassy carbon è stata modificata immobilizzando oligonucleotidi a singola elica oligo-(dG)₁₂₋₁₈ o oligo-(dA)₁₂₋₁₈. La scansione voltammetrica ciclica in tampone fosfato di questi elettrodi modificati evidenzia un aumento di corrente irreversibile intorno a +900 mV dovuta all'ossidazione di guanosina e di adenina e dipendente dalla quantità di oligonucleotide immobilizzato. La scansione voltammetrica lineare dell'elettrodo modificato in presenza di Daunomicina, (un intercalante del DNA, indicatore di ibridazione), evidenzia inoltre la presenza di un picco anodico ad un potenziale che dipende dalla quantità di oligonucleotide immobilizzato sulla superficie dell'elettrodo. Se poi l'elettrodo modificato è immerso in una soluzione contenente l'oligonucleotide con la sequenza complementare avviene rapidamente l'ibridazione, e la scansione voltammetrica lineare in presenza di Daunomicina mette in evidenza uno spostamento del picco anodico proporzionale alla quantità dell'oligonucleotide complementare ibridato.

Lo spostamento del potenziale del picco anodico della Daunomicina è quindi l'indicatore della quantità di oligonucleotide complementare. L'elettrodo glassy carbon può essere modificato per adsorbimento fisico, applicando aliquote di 10 µl di una soluzione acquosa 0.32 M di oligonucleotide sulla superficie dell'elettrodo ed aspettando fino ad evaporazione a temperatura ambiente.

L'immobilizzazione dell'oligonucleotide è stata effettuata anche formando gruppi carbossilici sulla superficie dell'elettrodo e facendoli reagire tramite carbodimmide con il gruppo amminico libero presente nella guanosina.

I voltammogrammi sono eseguiti in tampone fosfato pH 7.0 0.02 M, usando un elettrodo Ag/AgCl ed un elettrodo di Pt rispettivamente come elettrodo di riferimento e come elettrodo ausiliario. La velocità di scansione è 100 mV/s e il potenziale è fatto variare da +200 a +1000 mV. L'ibridazione dell'oligonucleotide immobilizzato è eseguita a 25°C ponendo la superficie dell'elettrodo a contatto con la soluzione dell'oligonucleotide oligo-(dC)₁₂₋₁₈ o oligo-(dT)₁₂₋₁₈ a singola elica complementare. Le scansioni voltammetriche lineari sono effettuate in una soluzione di Daunomicina 50 M in tampone fosfato 0.02 M pH 7.0 con una velocità di 20 mV/s vs un elettrodo di riferimento Ag/AgCl e elettrodo di Pt come ausiliario in un intervallo di potenziale tra +200 e +1000 mV.

In fig. 1 è riportata una curva di calibrazione ottenuta immobilizzando con legame covalente 16µg di oligo-(dG)₁₂₋₁₈ sull'elettrodo ed utilizzando varie quantità di oligo-(dC)₁₂₋₁₈ complementare. Le scansioni voltammetriche lineari sono state eseguite in presenza di Daunomicina. In ordinata è riportata la variazione del potenziale del picco anodico della Daunomicina legata al DNA a doppia elica rispetto a quello a singola elica, in ascissa la concentrazione di oligo-(dC)₁₂₋₁₈. I risultati mettono in evidenza la possibilità di realizzare un sensore per sequenze geniche reali da utilizzarsi in campo ambientale.

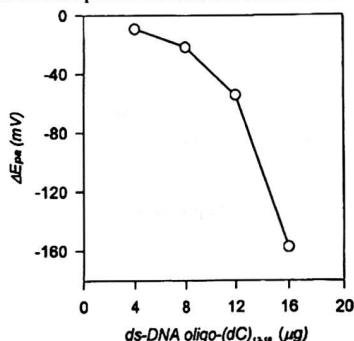


Fig. 1

DETERMINAZIONE DI PESTICIDI INIBENTI L'ATTIVITÀ ACETILCOLINESTERASICA MEDIANTE BIOSENSORI REALIZZATI CON ELETTRODI STAMPATI. ANALISI DI CAMPIONI REALI

I. Palchetti, A. Cagnini, M. Del Carlo e M. Mascini

Università degli Studi di Firenze

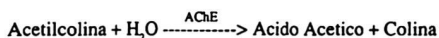
Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale

Sez. Chimica Analitica Via G. Capponi 9 50121 Firenze

C. Coppi

Servizio Multizonale di Prevenzione Azienda U.S.L. N. 3 di Pistoia Via Baroni 18 Pistoia

La serigrafia è una tecnica utilizzata per la preparazione di circuiti stampati e per la produzione di elettrodi monouso su larga scala (1). Nel nostro laboratorio è stata messa a punto un metodo per la preparazione di elettrodi stampati a base di grafite contenenti centri catalitici. (2) Un elettrodo contenente Ru 0.5% è stato utilizzato per la preparazione di un biosensore per la colina, ottenuto immobilizzando sulla superficie elettrodica l'enzima colina ossidasi. Questo enzima catalizza la trasformazione della colina in betaina e acqua ossigenata che si ossida sulla superficie dell'elettrodo polarizzato a +700 mV vs SCE. 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 derivati dell'acido carbammico. Incubando l'enzima 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. Utilizzando soluzioni standard di Paraoxon, considerato come pesticida di riferimento (3), si ottiene un limite di rilevabilità di 0.2 ppb con un tempo di incubazione di 10 minuti. L'inibizione ottenuta viene espressa come inibizione percentuale (1%) secondo la formula:

$$I\% = \frac{i_0 - i}{i_0} \times 100$$

Questo è un valore generale che ci permette valutazioni semi-quantitative del campione in esame. Il metodo è stato utilizzato nell'analisi di campioni ortofruccicoli. Il pretrattamento del campione impone

l'utilizzo di un solvente apolare in grado di estrarre i pesticidi. E' stato quindi necessario valutare l'influenza di vari solventi (tetraidrofurano, acetone, acetonitrile, metanolo, dimetilsolfossido) sull'attività enzimatica e il loro comportamento elettrochimico. L'acetonitrile è stato il solvente di scelta nelle successive analisi. I risultati dell'analisi sono riportati nella seguente tabella.

Campione*	I%	Pesticida presente**
Pere	14.8	Fentoato (300 ppb)
Finocchi	5	Pirazofos (tracce)
Cipolline	5	Fosalone (tracce)
Sedano	28.8	Fenitotrión (200 ppb)
Melone	10	Acefate (tracce)
Arance	38.8	Fosalone (600ppb) Clorpirifos (etile e metile) (50 ppb) Pirimicarb (50ppb)

(* I campioni sono stati preparati con gel permeation chromatography.

** I metodi di riferimento utilizzati sono stati GLC-NPD e GLC-ECD)

(1) Thick Film Sensor, (editor) Prudenziati, Handbook of Sensor and Actuators, Vol. 1, Elsevier (1994)

(2) Cagnini A., et al., Mikrochimica Acta in press.

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

SILVER(I) AND COPPER(II) ION-SELECTIVE ELECTRODES BASED ON ELECTROLYTICALLY PLATED CHALCOGENIDE COATINGS FROM HSeO_3^- SOLUTIONS.

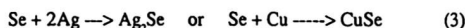
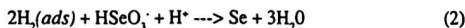
G. Papeschi, M. Del Carlo and N. Pratesi

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Florence, Via G. Capponi 9, 60121 Florence, Italy.

The cathodic electrodeposition of selenium from 0.1 M Na_2SeO_3 solutions whose pH was decreased to between 5 and 6 with either sulphuric or hydrochloric acid, is utilized for preparing Ag_2Se and CuSe films directly upon silver and copper substrates to be used as ion-selective electrodes [1, 2].

When a gold cathode is employed, red selenium is quickly deposited at a current density of 2 mA cm^{-2} . As silver or copper cathodes are used, silver or copper selenides coatings are formed on the metal basis either by direct electrolysis or by cyclic voltammetry.

The observed deposit formations imply the following reactions take place at the cathodic surface:



The Nernstian range of the $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{Se}$ electrode is from 10^{-1} to 10^{-7} - 10^{-8} M silver nitrate. For the Cu/CuSe electrode the linear relationship of potential vs. Cu(II) activity is from 10^{-1} to 10^{-5} - 10^{-6} M copper nitrate. The ionic strength of all solutions was adjusted to 0.1 by adding an appropriate volume of 1M KNO_3 .

The very low value of silver selenide solubility product permits to obtain experimental evidence of Ag(I) adsorption processes on the electroactive $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{Se}$ electrode surface. In order to measure the Ag(I) release or uptake of one $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{Se}$ electrode, a second $\text{Ag}/\text{Ag}_2\text{Se}$ electrode previously stabilized in the base electrolyte is used as a measuring electrode in the same solution.

These results seem to prove that adsorption is the main electrode potential controlling process at submicromolar Ag(I) concentrations.

The effect of the base electrolyte on the electrode potential has been evaluated by using either a 0,1 M KNO_3 or KF .

1) G. Papeschi, S. Pinzauti, P. Gratteri, M. Larini, *Sensors and Actuators B*, 7 (1992) 544.

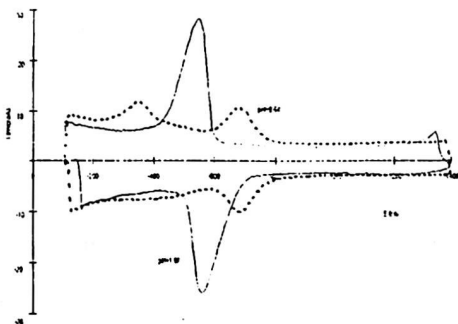
2) G. Papeschi, *Sensors and Actuators*, 24 (1995) 336-340

CARATTERIZZAZIONE DEL COMPORTAMENTO ELETTRO-CHIMICO DEL CATIONE TRIFENILSTAGNO SU HMDE

P.Passamonti, F.Costantini, S.Ferraro e F.Pucciarelli
Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Camerino
Via Sant'Agostino, 1 - 62032 - CAMERINO (MC)

L'intera classe dei prodotti organostannici è stata per tutti gli ultimi venti anni utilizzata in dosi massicce nei più svariati settori industriali: dalla produzione di vernici per la protezione di opere e manufatti immersi in acqua, all'inglobamento in estrusi di PVC con la funzione di stabilizzanti, dalla produzione di vetri ricoperti di SnO₂ usati nei pannelli solari, alla funzione di anti-radicali e biocidi in agricoltura, ecc. Due dei sopracitati usi hanno avuto forti ripercussioni nel settore ambientale, tanto che molti paesi hanno emanato leggi più restrittive per il loro uso (1). Un composto appartenente a questa categoria è il trifenilstagno cloruro (TPhSnCl) che in soluzione acquosa 1.0 M in NaCl si comporta come un acido debole con una pKa \approx 4.5 (2) e mostra, su HMDE, un comportamento elettrochimico abbastanza insolito. In Fig.1 sono mostrati due voltammogrammi del TPhSn⁺ ottenuti a diversi valori di pH. La comparsa di un solo picco di adsorbimento durante una scansione di riduzione a pH acidi indica che vi è un unico prodotto che adsorbe sulla superficie di Hg. Al contrario, quando il pH è più elevato, nasce un secondo picco a potenziali più positivi indicando come la forma ridotta, presente a quei valori di pH, sia molto più facilmente adsorbita rispetto alla prima. L'andamento della I_{pa} e della E_{pa} contro il pH illustrano bene la situazione, delineando anche che, nella zona in cui il pH è maggiore di 6.5, avviene un altro processo non ancora ben chiarito. Operando a velocità di scansione abbastanza elevate (100 Vs⁻¹) dall'andamento della I_{pa} contro la C_{bulk} abbiamo ricavato il grado di ricopertura, la concentrazione di saturazione C_{max} = 1.5x 10⁻⁶ M e quindi l'isoterma di adsorbimento che guida il processo (3). Quella di Frumkin sembra ottimamente compatibile con i dati sperimentali, portandoci a determinare sia il parametro di interazione intermolecolare g = -1.05 che la costante di adsorbimento, $\beta_{ads} = 4.13 \times 10^4$ M⁻¹. L'andamento della I_{pa} e di E_{pa} con la velocità di scansione è compatibile con un meccanismo di dimerizzazione che era già stato delineato in precedenti lavori da diversi autori (4 -5), ed è stata calcolata una K_{dim} \approx 7.2x10⁶ M⁻¹.

Fig. 1 - Voltammogramma del TPhSnCl in soluzione acquosa 1.0M con tampone Britton-Robinson a pH = 1.98 (-----) e 9.64 (—). Velocità di scansione 100 Vs⁻¹, C_{bulk} = 5.1 gM, elettrodo lavorante HMDE, elettrodo di riferimento Ag/AgCl KCl (3.0 M), gas usato N₂.



- 1) R.J. Maguire, R.J. Tkacs, Water Poll. Res.J.Can., 22 (1989) 227-233.
- 2) K.O. Lund, Acta Chem. Scand., 13 (1967) 983-987.
- 3) S.K.Rangarajan, J.Electroanal.Chem., 82 (1977) 93-132.
- 4) B.Fleet, N.B.Foudzer, a) J.Electroanal.Chem.,63 (1975) 59-68; b) J.Electroanal.Chem.,63(1975)69-78; c) J.Electroanal.Chem.,63(1975)79-84; d) J.Electroanal.Chem.,101 (1979) 386-390.
- 5) E.Laviron, Electrochim.Acta, 16 (1971) 409-421.

TITOLAZIONI POTENZIOMETRICHE DI SISTEMI DIPROTICI

G. Pezzatini

Dipartimento di Chimica - Università di Firenze

G. Loglio

Dipartimento di Chimica Organica "U. Schiff" - Università di Firenze

S. Becagli

Dipartimento di Sanità pubblica, Epidemiologia e Chimica analitica ambientale - Università di Firenze

Il metodo di linearizzazione dei dati di titolazioni potenziometriche per ricavare i punti equivalenti, introdotto da G. Gran più di 40 anni fa, pur essendo un metodo approssimato, è stato largamente applicato per la sua innegabile semplicità di impostazione e di messa in opera. Molti sono stati anche gli sviluppi ed i perfezionamenti del metodo originale e l'autore stesso ne ha recensito i principali [1]. Maccà e Bombi [2] hanno analizzato in maniera esemplare il livello di approssimazione del metodo originale nei più significativi tipi di titolazioni e ne hanno auspicato una più estesa applicazione, al tempo stesso mettendo in guardia dai possibili usi inappropriati.

Fra le titolazioni potenziometriche, quelle acido-base hanno un posto di rilievo; in quest'ambito le titolazioni di sistemi diprotici sono state piuttosto trascurate perché l'estrapolazione che fornisce il volume di equivalenza si compie, con errore accettabile, col metodo approssimato originale solo in un limitato numero di casi e di condizioni particolari. Tuttavia, con approccio rigoroso, Midgley e McCallum [3] svilupparono, fra l'altro, un'espressione, funzione lineare del volume di titolante, per la titolazione di un acido debole diprotico con base forte considerando unicamente il 2° punto equivalente. Tale espressione è di difficile interpretazione e non ha ricevuto in seguito la dovuta attenzione nella pratica chimico-analitica.

Con l'occhio rivolto all'applicazione concreta, che presenta spesso una serie di limitazioni aggiuntive rispetto al quadro tracciato in teoria, si è affrontato, in linea teorica e sperimentale, un caso significativo di titolazione di base diprotica con acido forte, sviluppando una procedura di determinazione del 1° punto di equivalenza, suscettibile di estensione a qualsiasi sistema diprotico.

Il sistema esaminato è la titolazione di Na_2CO_3 con HCl , spesso sfruttata per fissare il titolo della soluzione di HCl contro la sostanza madre basica diprotica. La procedura potenziometrica qui sviluppata, essendo potenzialmente molto accurata e basata sulla raccolta di pochissimi punti sperimentali, si pone come alternativa al metodo di rilevamento del 2° punto equivalente con indicatori chimici, tuttora proposto dai manuali di chimica analitica.

Una volta fissato il sistema di equazioni che caratterizzano lo stato di equilibrio della soluzione in qualsiasi punto della titolazione, il sistema stesso viene risolto sviluppando una funzione $f(V)$ che esprime le moli di carbonato non titolate prima del 1° punto equivalente:

$$f(V) = C_a^\circ (V_{\text{eq}} - V) = C_b^\circ V_b - C_a^\circ x V$$

dove C_a° è la concentrazione molare iniziale di HCl , V è il volume di HCl aggiunto a un campione prefissato di soluzione di Na_2CO_3 costituito con un volume V_b di soluzione di concentrazione molare C_b° , e V_{eq} è il volume di HCl di equivalenza per la conversione ad HCO_3^- . La funzione $f(V)$ è rigorosamente lineare e l'intercetta del grafico di $f(V)$ contro V con l'asse delle ascisse fornisce il 1° punto equivalente senza errore sistematico: infatti la risoluzione del sistema di equazioni che caratterizza l'equilibrio in soluzione è condotta considerando tutti gli equilibri in giuoco e le rispettive costanti, funzioni delle attività delle specie. La necessaria valutazione dei coefficienti di attività delle specie ioniche non influisce criticamente sui risultati del procedimento, qualunque sia l'espressione usata per il calcolo di tali coefficienti. Di contro l'espressione originale di Gran per il caso corrispondente conteneva le seguenti approssimazioni: (a) completa separazione dei due equilibri di protonazione

della base; (b) assenza di idrolisi della base nella fase iniziale della titolazione; (c) identificazione di attività e concentrazione.

Il trattamento proposto è del tutto generalizzabile, ma il sistema preso ad esempio se ne avvantaggia particolarmente: infatti l'evaporazione di CO_2 in equilibrio con l'acido carbonico disciolto, già sensibile in prossimità del 1° punto equivalente nella titolazione del carbonato, rende improponibile la titolazione potenziometrica al 2° punto equivalente. Si può altresì prevedere che, affrontando il problema secondo lo sviluppo proposto da Midgley e McCallum e limitando, di necessità, la raccolta dei punti sperimentali prima del 1° punto equivalente, l'estrapolazione al 2° punto equivalente risenta molto di anche piccoli errori accidentali.

La figura 1 rappresenta i risultati di una delle numerose prove sperimentali condotte con soluzioni di Na_2CO_3 e di HCl di concentrazione nota a meno dello 0.2%. L'analisi dei dati mostra che l'estrapolazione della funzione $f(V)$ sull'asse delle ascisse conduce ad un valore di $V=V_{\text{eq}}$ che differisce meno dello 0.2% da quello teoricamente previsto, in qualunque intervallo si prendano i punti sperimentali, mentre il trattamento secondo Gran dà un errore dipendente dall'intervallo prescelto e comunque non trascurabile.

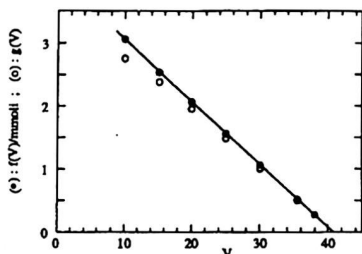


Fig. 1. Titolazione di 200 cm^3 di Na_2CO_3 $2.016 \times 10^{-2} \text{ M}$ con HCl 0.1000 M . La funzione indicata con $g(V)$ corrisponde alla funzione di Gran ($V \times a_{\text{OH}^-}$) moltiplicata per un fattore di normalizzazione per far coincidere la scala dei due grafici.

- [1] G. Gran, *Analytica Chimica Acta*, 206 (1988) 111.
- [2] C. Maccà e G.G. Bombi, *Analyst*, 114 (1989) 463
- [3] D. Midgley e C. McCallum, *Talanta*, 21 (1974) 723.

VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA DI SEPARAZIONI HRGC MEDIANTE UN METODO SEMPLIFICATO BASATO SULL'ANALISI DI FOURIER

M.C. Pietrogrande, A. Felinger* e F. Dondi

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via L. Borsari, 46, I-44100 FERRARA

*Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Veszprém, P.O. Box 158, H8201 Veszprém, Ungheria.

Il grande sviluppo raggiunto in questi ultimi anni dalla Cromatografia ad Alta Efficienza richiede un'esatta determinazione e controllo dell'efficienza raggiunta dalla separazione cromatografica, specialmente nel caso della separazione di miscele complesse a più componenti. Numerosi sono i metodi proposti per calcolare i vari parametri che descrivono tale efficienza: tra questi il metodo statistico della sovrapposizione [1,2] e un metodo basato sull'analisi di Fourier, che interpreta la funzione di autocovarianza di un cromatogramma complesso in termini delle sue proprietà statistiche [3-5]. Tuttavia queste procedure richiedono in genere calcoli numerici complessi, mentre in realtà per poter calcolare l'efficienza cromatografica sono richiesti metodi semplici e veloci.

La procedura proposta è una semplificazione del metodo completo dell'analisi di Fourier [3-5]. Essa si basa sul calcolo della funzione di autocovarianza (EACVF) di un cromatogramma sperimentale acquisito in forma digitalizzata. La prima parte del plot di EACVF appare come metà di un picco gaussiano. L'ampiezza a metà altezza di tale picco, misurabile con metodo grafico, è in relazione semplice con l'ampiezza media del picco cromatografico del singolo componente σ . L'altezza del picco di EACVF, cioè il valore di tale funzione a $t = 0$, è in relazione con il numero dei componenti della miscela analizzata, n . Da queste due grandezze di base, è possibile calcolare tutti gli altri attributi che descrivono l'efficienza della separazione cromatografica di una miscela a più componenti.

La consistenza del metodo proposto è stata verificata applicandolo a diverse miscele analizzate in GC-MS: una miscela standard di idrocarburi lineari, una miscela di Aroclor 1260, una miscela contenente oltre 120 congeneri diversi di PCB. I risultati ottenuti permettono di evidenziare parecchie caratteristiche delle separazioni di miscele complesse, in particolare gli effetti di sovraccarico. Inoltre i dati ottenuti concordano pienamente con quelli derivati dal più complesso metodo completo dell'analisi di Fourier.

[1] J. M. Davis, J. C. Giddings, *Anal. Chem.* 57 (1985) 2178.

[2] J. M. Davis, *Anal. Chem.* 66 (1994) 735.

[3] A. Felinger, L. Pasti, F. Dondi, *Anal. Chem.* 62 (1990) 1846.

[4] A. Felinger, L. Pasti, F. Dondi, *Anal. Chem.* 64 (1992) 2164.

[5] M. C. Pietrogrande, L. Pasti, F. Dondi, M. H. Bolland Rodriguez, M. A. Carro Diaz, *J. High Resolution Chromatography* 17 (1994) 839.

MODIFICAZIONE NEL TEMPO DI DUE INDICI DI FRESCHEZZA NELLA TROTA IRIDEA (*ONCORHYNHUS MYKISS*) MANTENUTA A DIVERSA TEMPERATURA DI CONSERVAZIONE

B.M. Poli*, G. Volpe**, M. Mascini**, G. Geri*, M. Mecatti*, P. Guidotti*.

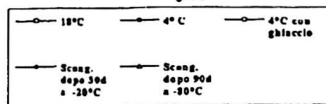
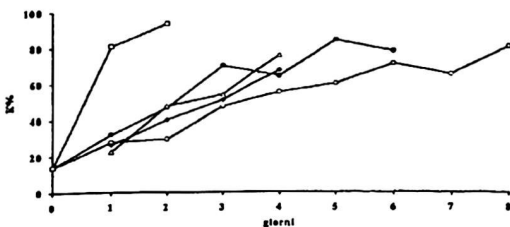
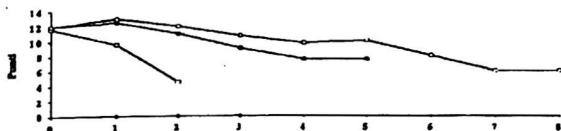
*Dipartimento di Scienze zootecniche dell'Università degli Studi di Firenze

**Dipartimento Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale, Sezione Chimica analitica, dell'Università degli Studi di Firenze

L'aggettivo "fresco" in Italia qualifica pesce non conservato a temperature al di sotto del congelamento e non in stato di "incipiente alterazione". Dato che per il pesce la "freschezza" è l'attributo qualitativo più importante, una sua più precisa definizione risulta essenziale per la tutela del consumatore. Il "valore K" calcolato in base ai prodotti di decomposizione dell'ATP muscolare, determinati con HPLC o con l'impiego di biosensori, è stato suggerito come un buon indicatore della freschezza del pesce ma anche la conducibilità elettrica dei tessuti, in evidente diminuzione con l'avanzare delle alterazioni biochimiche post mortem, può essere utile. Lo scopo della ricerca è stato quello di studiare le modificazioni di conducibilità elettrica e del valore K nel muscolo di trote iridee conservate in varie condizioni di temperatura per controllarne la possibile utilizzazione come indici di freschezza.

Circa 80 trote iridee del peso medio di 350 g (274 - 440 g) sono state uccise e suddivise in 5 gruppi di numero variabile a seconda della diversa temperatura di conservazione (18°C, 4°C, 4°C con ghiaccio,

Conducibilità con Torrymeter e valore di K %



biosensore a xantina ossidasi per la determinazione del valore K, ovvero del rapporto percentuale tra le concentrazioni di inosina + ipoxantina e quelle di inosinammonofosfato+ inosina + ipoxantina.

Come risulta dal grafico la conducibilità elettrica delle trote iridee, relativamente alta al momento della morte, si abbassa rapidamente con il trascorrere del tempo raggiungendo punti al di sotto di 10 già ad un giorno di conservazione a temperatura ambiente; raggiunge invece tali valori solo dopo due giorni a 4°C, mentre rimane superiore a 10 anche dopo 5 giorni di conservazione a 4°C con ghiaccio. Nel pesce

- 20°C, - 80°C) per un numero di giorni adeguato ad ogni modalità di conservazione post mortem (da 0 a 90). Sul fianco sinistro e a metà della lunghezza corporea di tre soggetti per ciascuna temperatura di conservazione e per ciascun giorno di conservazione, è stata determinata la conducibilità elettrica mediante apparecchio Torrymeter (GRI Electronics Limited). Campioni di muscolo prelevati in altrettanti soggetti dalla stessa localizzazione sono stati avvolti in nylon, sottoposti a spremitura ed analizzati mediante un

congelato o surgelato il torrymeter non rileva alcuna conducibilità elettrica.

Il valore K, risultato inferiore a 20 alla morte (pesce da consumare anche crudo), è salito vertiginosamente entro le prime ore del primo giorno nei soggetti tenuti a 18°C raggiungendo 80 entro le 24 ore.

Il valore K è invece rimasto intorno a 30 anche dopo 1 giorno dalla morte nei pesci tenuti a 4°C senza ghiaccio e si è mantenuto intorno a 40 dopo 2 giorni dalla morte, superando questo valore da 3 giorni dalla morte in poi. Le trote conservate a 4°C con ghiaccio hanno mantenuto più a lungo le condizioni di relativa freschezza. I valori K presentati nei 4 giorni successivi allo scongelamento dai pesci tenuti a - 80°C per tre mesi sono stati solo lievemente più elevati di quelli rilevati nei soggetti congelati a - 20°C per un mese. Questi ultimi, conservati a 4°C dopo lo scongelamento, hanno presentato valori K intermedi ai valori dei soggetti non congelati e mantenuti a 4°C, con e senza ghiaccio.

L'uso abbinato dei due indici di freschezza sembrerebbe vantaggioso: il K per descrivere l'evoluzione nel tempo della degradazione dell'ATP alle diverse modalità di conservazione ed il punteggio Torrymeter per rivelare l'avvenuto congelamento, aspetto di grande utilità nell'ambito del servizio di repressione frodi.

CARATTERIZZAZIONE CHEMIOMETRICA DI UN SISTEMA IDROGRAFICO IPOGEO DEL CARSO TRIESTINO

Edoardo Reisenhofer (*), Gianpiero Adami e Pierluigi Barbieri

(*) Dipartimento Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via Giorgieri 1, 34127 TS (Italia)

Il sistema idrografico del Carso Triestino è da lungo tempo all'attenzione di molti studiosi (1), ma, cionondimeno, la sua caratterizzazione è ancora lungi dall'esser definita. Il nostro studio è inteso a costituire un esempio di come i metodi dell'indagine statistica consentano di razionalizzare matrici di dati chimici, fisici, ambientali, ai fini della caratterizzazione di un ecosistema. Già in una indagine preliminare sulle 3 risorgive del Timavo presso S. Giovanni di Duino avevamo constatato come fosse possibile una discriminazione di acque, anche contigue, sulla base del loro contenuto di metalli pesanti, intesi quali traccianti naturali, e, in pari tempo, avevamo osservato caratteristiche di evoluzione stagionale e distribuzione spaziale che ci hanno indotto a programmare ulteriori campionamenti, estendendoli a ben 14 siti diversi, dal fiume Isonzo (GO) al Torrente Rosandra sul confine orientale con la Slovenia, con frequenza settimanale, in corrispondenza di situazioni di transizione meteorologica (ad es., durante i periodi di elevata piovosità susseguenti alle siccità estive). Tre parametri (conducibilità, pH e temperatura) venivano misurati in situ, mentre alcuni parametri chimici (cloruri, solfati e nitrati) venivano determinati in laboratorio mediante HPIEC. Già un'analisi statistica univariata evidenzia la diversa tipologia delle acque fluviali rispetto a quella delle risorgive; i parametri determinati in situ sono emersi come i più adatti alla discriminazione. Abbiamo poi focalizzato la nostra attenzione sulle acque del Carso monfalconese, che verosimilmente possono, a seconda dei regimi, risentire anche l'influenza del bacino imbrifero contiguo dell'Isonzo. Data la numerosità dei casi e delle variabili, ci siamo necessariamente orientati sull'analisi statistica multivariata. Un'analisi delle componenti principali individua 2 fattori che spiegano l'80% del totale della varianza; al primo fattore sono legati conducibilità e ioni disciolti, mentre al secondo sono correlate temperatura e pH. Considerando i punteggi delle componenti principali ('factor scores') corrispondenti ai singoli campionamenti nei 14 siti, abbiamo individuato 4 tipici raggruppamenti, nei quali vengono a disporsi rispettivamente le acque (i) dell'area di Duino, (ii) dei laghetti monfalconesi, (iii) dell'Isonzo e (iv) del fiume Vipacco. La posizione di questi punteggi sull'asse costituito dalla prima componente principale è agevolmente interpretabile in termini di diluizione, per cui da un lato troviamo le acque carsiche, di più elevata durezza, dall'altro le acque fluviali dell'Isonzo, più dolci. Va anche rilevato che la posizione lungo l'asse è condizionata dal regime idrico corrispondente al momento del campionamento, in quanto la durezza di un'acqua dipende anche dalla piovosità, non necessariamente locale, che a sua volta è condizionata da effetti stagionali. Ci sembra rilevante l'osservazione che la prima componente principale condiziona tutte le risorgive da noi considerate: il metodo statistico da noi considerato ci porta, cioè, a riaffermare l'appartenenza di queste risorgive ad un comune sistema idrografico. Un'analisi di raggruppamento, infine, conferma questi risultati. Viene ovviamente evidenziata la singolarità delle acque fluviali dell'Isonzo, ma più utili sono i risultati riguardanti le acque di risorgiva. Risultano infatti ben caratterizzati due raggruppamenti ("clusters"), l'uno costituito dalle risorgive prossime a Duino, l'altro dalle acque prossime ai laghetti monfalconesi. Il fatto che in quest'ultimo raggruppamento compaiano singolarmente 2 siti del primo, confermerebbe l'ipotesi fatta da alcuni AA. (2) che, a seconda dei regimi di piovosità o di magra, si possano verificare situazioni di miscelamento tra acque carsiche ed acque isontine. Per interpretare correttamente gli effetti stagionali, stiamo proseguendo nei campionamenti. In pari tempo, stiamo estendendo il numero dei parametri sperimentali determinati, onde poter valutare criticamente la significatività delle variabili, e poter in tal modo programmare un monitoraggio più economico e ragionato, che, ignorando i parametri ridondanti, sia impostato sulle determinazioni dei parametri più significativi.

(1) F. Mosetti, "Carsismo e idrologia carsica del Friuli-Venezia Giulia", Quaderni E.T.P., Riv. Limnol., 17, 1-144 (1989), e letteratura ivi citata

(2) G. Cancian, "L'idrologia del Carso goriziano-triestino", Acta Geologica, 64, 77-98 (1987).

INDAGINI SULLA QUALITÀ DELLE ACQUE NELL'ALTO ADRIATICO

Edoardo Reisenhofer (*), Gianpiero Adami, Pierluigi Barbieri, Diego Rivetti e Sergio Predonzani
(*) Dipartimento Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via Giorgieri 1, 34127 TS (Italia)

Il monitoraggio delle acque dell'Alto Adriatico, per valutare situazioni di potenziale inquinamento, studiarne le cause e proporre eventuali rimedi, è stato da noi iniziato nel 1976/77 (1) e successivamente ripreso in varie campagne successive. Inizialmente la zona più studiata era quella della Baia di Muggia, a sud di Trieste, in quanto quelle acque, poco profonde e chiuse da tre dighe, ricevevano, oltre gli apporti antropici della città di Muggia, anche gli apporti della zona industriale, di cantieri navali e di modeste attività agricole. Dato che il potenziale inquinamento era di tipo industriale, si è data inizialmente particolare attenzione ai metalli pesanti in tracce. In seguito, però, le mutate condizioni economiche che hanno portato alla cessazione o alla riconversione di molte attività industriali, ed una più severa normativa nel controllo degli scarichi industriali, hanno comportato un mutamento nella qualità di queste acque. Abbiamo quindi esteso nuovi campionamenti alle zone più antropizzate a nord nel Golfo di Trieste, monitorando anche parametri, quali i micronutrienti, più correlabili agli sversamenti urbani e/o agricoli. I dati sperimentali da noi raccolti sono stati sottoposti ad analisi statistiche uni- e multivariate allo scopo di interpretare le varie fonti di inquinamento, e la loro relativa importanza nei vari siti di campionamento. I micronutrienti si sono rivelati essere le variabili più importanti nel condizionare l'ecosistema da noi considerato, mentre è risultato secondario il significato dei metalli in tracce. Abbiamo verificato, inoltre, che, nel corso di due decenni, la qualità delle acque di costa è leggermente migliorata, sia per quanto riguarda i micronutrienti, che per i metalli pesanti: per il piombo, in particolare, s'è osservato un abbattimento notevole, evidentemente legato al minor uso che se ne fa quale additivo di benzine. Riteniamo che a questo miglioramento delle acque di costa abbia contribuito la realizzazione di impianti di depurazione e di alcuni collettori fognali che allontanano gli sversamenti fino a 8 km dalla costa.

Abbiamo perciò programmato un campionamento per l'appunto in corrispondenza dell'uscita dei collettori: sono stati qui presi in considerazione sia campioni di acqua di mare a diverse profondità, che campioni dei rispettivi sedimenti, di cui si sono analizzate sia le fasi solide che le acque interstiziali, ai fini di valutare l'evoluzione nel tempo dei parametri considerati. I micronutrienti nella colonna d'acqua, pur in prossimità dei collettori, presentano concentrazioni leggermente inferiori rispetto alle acque di costa; il solo dato eccezionale è la coppia nitrati-silicati alla foce dell'Isonzo: è evidente qui l'apporto fluviale di acque di dilavamento di terreni agricoli. I metalli presentano invece concentrazioni leggermente superiori rispetto ai dati rilevati sotto costa: va però tenuta presente la loro evoluzione dinamica, che li vede ripartiti in fase acquosa tra filtrato e particolato, con successivo accumulo nel sedimento attraverso processi di adsorbimento e precipitazione. Nelle acque interstiziali osserviamo per silicati e fosfati un incremento di 2-3 volte rispetto la colonna d'acqua sovrastante, e per l'ammoniaca (di essi ben più solubile) osserviamo valori di 1 o 2 ordini superiori: è qui evidente il ruolo giocato dalla decomposizione dei detriti organici sul fondo. Anche i metalli si concentrano nelle acque interstiziali, ma ben di più nella fase solida. Con l'analisi statistica multivariata intendiamo interpretare e discriminare le diverse situazioni di interazione tra colonna d'acqua sovrastante e i diversi tipi di sedimenti (da quelli sabbiosi di Lignano e Grado, a quelli pelitici del Golfo di Trieste), al di là delle attese correlazioni tra i metalli determinati (tra cui Pb, Cu, Cd, Cr, Ni, Zn e Mn). A questo fine, ci sembrano essere più significativi i metalli presenti in concentrazione minore, mentre quelli, come il manganese, presenti nei sedimenti a concentrazioni molto alte, risultano essere meno caratterizzanti. Sarebbero cioè proprio i costituenti minori gli 'indicatori' più efficaci ai fini della caratterizzazione dell'ecosistema studiato.

1) E. Reisenhofer et al., 'Electroanalytical determination of heavy metals in The Bay of Muggia: correlation with environmental data', Defence Research Information Centre Trans., 6548 (1982).

MOBILITA' DEL CALCIO E SOLUBILIZZAZIONE DELLA FIBRA ALIMENTARE IN SEMI DI PHASEOLUS VULGARIS.

S. Ruggeri, M. Cappelloni, E. Carnovale.

Istituto Nazionale della Nutrizione.- Via Ardeatina, 546.00178 ROMA

Il calcio svolge un ruolo importante nella struttura delle pareti cellulari dei vegetali. Esso infatti è coinvolto nella formazione di complessi con i gruppi carbossilici delle catene delle pectine chiamati "egg box".

I legami in cui tale ione partecipa sono oltremodo importanti sia dal punto di vista dell'utilizzazione biologica di questo minerale, sia nel determinare le caratteristiche di solubilità della fibra alimentare. Com'è noto la frazione solubile della fibra è responsabile di importanti effetti quali il rallentamento del tempo di transito intestinale, l'abbassamento della glicemia post prandiale e del colesterolo plasmatico (Schneeman, 1988); le modificazioni a carico di tale frazione assumono significati fisiologici differenti.

La mobilitazione di tale ione dalle pareti cellulari è di notevole interesse per le sue implicazioni chimiche, chimico-fisiche e nutrizionali. Per tali studi l'utilizzazione di elettrodi ione Ca selettivi può essere strumento utile e di facile applicazione.

Nel corso di tale ricerca è stato valutato l'effetto dell'ammollo in mezzi differenti sulla solubilizzazione del calcio e sulle diverse frazioni della fibra alimentare dei legumi al fine individuare eventuali correlazione tra essi.

Lo studio è stato condotto su una varietà di fagioli variegati (borlotti). I campioni sono stati posti in ammollo in H₂O distillata ed in una soluzione di NaCl 0,5M in rapporto 1:3 (p/v) legumi: acqua a tempi differenti: 20', 3h, 6h e 24h.

Sui differenti mezzi di ammollo sono state effettuate misure potenziometriche con elettrodo ione Ca selettivo (Olion, Model 93-20) su un voltmetro a misurazione digitale (Orion- 920A pH/ ISE Meter). La valutazione del calcio ionico nei mezzi di ammollo ha rivelato che l'ammollo in cloruro di sodio è significativamente più efficace ai fini della solubilizzazione del calcio; inoltre all'aumentare dei tempi di ammollo (fino alle 24h) in NaCl si assiste ad un aumento significativo del calcio in soluzione.

I semi posti in ammollo sono stati poi prelevati, liofilizzati e su questi è stata determinata la fibra alimentare solubile, insolubile e totale secondo il metodo AOAC (Prosky et al., 1988), e secondo il metodo di Englyst and Cummings, 1988 come NPS (Non Starch Polysaccharides).

Nei semi tenuti in ammollo in NaCl si osserva una variazione nel rapporto solubile/insolubile rilevabile sia con il metodo Englyst che con l'AOAC: dopo 24h di ammollo c'è una ridistribuzione delle frazioni della fibra con un aumento della frazione solubile del 20%. Questo probabilmente è dovuto sia alla presenza di ioni Na nel mezzo che possono liberare parte delle emicellulose che verrebbero rese solubili, sia alla mobilitazione del calcio dalle pareti che porterebbe ad una degradazione delle pectine e relativo aumento della loro solubilità.

1) Englyst H.N. & Cummings J.H. (1988). J. AOAC 71, 808-814.

2) Prosky L., Asp N.G., Schweizer T.F., De Vries J.W., Furba L., (1988). J. AOAC, 71, 1017-1023

3) Schneeman, B.O., (1988). Dietary fiber: Physical and Chemical Properties, Methods of Analysis, and Physiological Effects. Food Techn., 2, 104-110.

EFFETTI SULL'AMBIENTE CONSEGUENTI AL DILAVAMENTO DI PALI IN LEGNO TRATTATI CON SALI A BASE DI Cu, Cr, As (CCA)

Vincenzo Ruvolo, Giuseppe Cuffari, Domenico Puleo, Nicolò Tirone
L.I.P. u.o. Tossicologia Azienda USL n° 6 - via Nairobi, 4 Palermo

Premessa

L'impiego di supporto ligneo per la realizzazione di manufatti (traverse lignee per usi ferroviari, palafitte, bricole per ormeggi, paravalanghe, ponti e passerelle ecc), ed in particolare di impianti telefonici aerei, necessita che il legno venga sottoposto a trattamenti chimici preservanti per impedirne la marcescenza e per evitare l'aggressione da parte di parassiti. Il trattamento preservante utilizzato, in modo pressoché esclusivo nell'ultimo ventennio, consiste nell'impregnazione del supporto ligneo con una soluzione a base di sali di Arsenico, Rame e Cromo (CCA). Scopo del presente lavoro è quello di valutare l'effetto prodotto sull'ambiente dalla cessione di metalli conseguente al dilavamento del legno impregnato ad opera delle acque meteoriche. A tal fine sono state condotte indagini, in campo mirate alla verifica del livello di contaminazione da metalli nel terreno, nelle coltivazioni e nei corpi idrici circostanti i pali, ed indagini di laboratorio tendenti a simulare il fenomeno del dilavamento.

Determinazioni

Sono stati scelti pali in opera di impianto aventi un periodo di esercizio di circa 8 anni (esercizio medio 20 anni circa). Per ciascun palo sono state indagate due differenti profondità del terreno circostante a tre differenti distanze. Inoltre, per valutare il background dei metalli nel terreno sono stati prelevati a 30 m dalla linea di palificazione ulteriori due campioni a profondità 20 e 100 cm.

Inoltre sono stati valutati i livelli dei metalli in oggetto in pali nuovi e in pali dismessi, al fine di determinarne la cessione all'ambiente circostante durante il periodo di esercizio. Come specie vegetali sono state espianate due piante di vite (*vitis viniferae*) poste rispettivamente a 30 cm e a 30 m da uno dei pali in esame, da esse sono stati ricavati tre campioni (radici, fusto e tralci).

Da un pozzo adiacente la linea di palificazione è stato prelevato un campione d'acqua. Sui campioni ottenuti sono stati determinati As, Cu e Cr mediante Spettrofotometria AA. L'andamento riscontrato è analogo per i tre metalli; si riporta soltanto quello dell'arsenico in quanto più direttamente correlabile alla cessione del palo e non influenzato da attività antropiche (presidi chimici, ecc.).

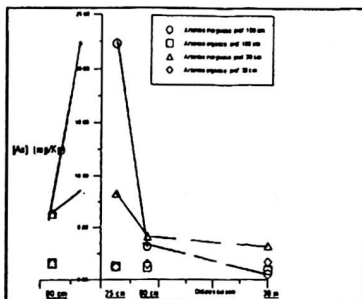
Al fine di meglio analizzare il problema della contaminazione dei terreni adiacenti si è proceduto alla differenziazione del contenuto di arsenico organico, cioè quello stabilmente fissato a macromolecole organiche costituenti il terreno, da quello inorganico ovvero quello tossicologicamente ed ecologicamente più pericoloso che oltre a problemi di fitotossicità, a causa della elevata solubilità in acqua può dare luogo ad una possibile graduale penetrazione nel terreno, fino a giungere a contaminare la falda idrica sottostante.

In laboratorio è stato anche simulato il fenomeno naturale di dilavamento dei pali ad opera delle acque meteoriche mediante delle prove statiche di cessione utilizzando come simulante una soluzione acquosa di ac. acetico a pH 5, durante la prova il rapporto superficie esposta - liquido simulante è stato mantenuto pari a quello reale tenendo conto della piovosità media annua nazionale.

Discussione dei Risultati

Nella figura seguente vengono riportati in diagramma i valori di As riscontrati in funzione della distanza dal palo e della profondità. Il contenuto in As inorg. segue lo stesso andamento riscontrato per il contenuto di As, Cu e Cr, mentre il contenuto in As organico è pressoché costante in ogni punto analizzato. Inoltre i valori di As inorg. sono elevati nelle zone vicine al palo ed in profondità. Dall'esame dei dati fin qui raccolti è possibile ipotizzare che l'incremento nella concentrazione di As riscontrato nelle adiacenze di pali impregnati sia essenzialmente di natura inorganica, ovvero sia la

frazione più mobile, e non risulti quindi fortemente legato alla matrice organica del terreno che potrebbe in qualche misura contenere nel tempo l'entità dell'inquinamento. I dati di letteratura riportano che piante che vivono in terreni contenenti livelli di arsenico superiori a 25 ppm, finiscono inevitabilmente per accumulare una parte, sia nelle radici che nella linfa anche se non esistono dati di accumulo sui frutti. Dai valori riscontrati nel presente lavoro è possibile evidenziare che esiste un livello di accumulo, seppur basso, di arsenico nell'apparato radicale della vite posta a 30 cm dal palo, mentre nel fusto e nelle parti aeree non si riscontrano livelli di arsenico superiori al limite di rilevabilità del metodo utilizzato. Nella tabella successiva vengono riportati i valori assoluti e percentuali di metalli ceduti rispetto al contenuto iniziale.



Palo	Anni in opera	Totale As ceduto (g)	Totale Cu ceduto (g)	Totale Cr ceduto (g)	% As ceduto	% Cu ceduto	% Cr ceduto
1	6	54,81	41,49	90,00	28,87	27,75	35,71
2	8	84,81	75,99	102,0	44,68	50,83	40,47
3	12	92,31	64,59	102,0	48,63	43,20	40,47
4	17	109,7	102,3	168,0	57,80	68,30	66,70
5	10,5	85,77	66,6	117,0	45,18	44,55	46,4
6	8	258,7	141,5	160,4	62,64	61,62	59,42
7	8	316,3	175,9	203,6	76,58	76,60	75,42

Dall'analisi dei risultati ottenuti si evince che dopo otto anni di esercizio i pali hanno già rilasciato circa il 40 % del loro contenuto iniziale in metalli.

Conclusioni

Dall'indagine eseguita si evidenzia un incremento orizzontale della concentrazione del metallo in una zona localizzabile a circa 80 cm dal palo ed un sensibile incremento in profondità, almeno sino a 1 metro. Sarebbe quindi opportuno indagare a profondità maggiori per meglio valutare l'impatto ambientale considerato l'elevato numero di pali, circa 10 milioni, installati sul territorio nazionale. Infine risulta interessante assimilare il dilavamento ad uno scarico, correlando i quantitativi di metallo ceduti ai limiti previsti dalla c.d. legge Merli.

- 1) R.C..De Groot et al. Distribution gradients of As, Cu, Cr around preservative treated wooden stakes - J. Env. Quality, 8,1,1979
- 2) G.R.Sandberg et al A proposed As cycle in an agronomic ecosystem-ACS Symp. S.7 Am.Chem. Soc. 1975 124-147.

STUDIO ELETTROCHIMICO E SPETTROELETTROCHIMICO DI COMPOSTI ORGANOMETALLICI DI Pt(II) CON 2,2'-BIPIRIDINE 6-ARIL E 6-ARILALCHILSOSTITUITE

Gavino Sanna, Giovanni Minghetti*, Renato Seeber**, Franco Laschi****

**Dipartimento di Chimica, Via Vienna 2, 07100 Sassari, Tel. 079-229492, Fax 079-229559.*

***Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali, Viale Risorgimento 4, 40136 Bologna, Tel. 051-6443257, Fax 051-6443456.*

****Dipartimento di Chimica, Pian dei Mantellini 44, 53100 Siena, Tel. 0577-298042, Fax 0577-280405.*

Vengono qui riportati i risultati ottenuti in uno studio sul comportamento elettrochimico (voltammetria ciclica, elettrolisi a potenziale controllato) e spettroelettrochimico (EPR) di una serie di derivati di Platino(II) contenenti diversi leganti anionici terdentati del tipo N-N-C, derivanti da 6-aril e da 6-arilalchil-2,2'-bipiridine, che presentano rispettivamente un ciclo ortometallato a 5 e 6 termini. Variando, per ogni bipiridina, il legante in quarta posizione di coordinazione (PPh₃, Py, MeCN, CO, Cl⁻, I⁻, CN⁻) si è ottenuta una serie di 28 specie cationiche o neutre che, in solvente MeCN - tetraetilammonio tetrafluoroborato 0.1 M, subiscono una riduzione monoelettronica reversibile ad un elettrodo di Platino. Le corrispondenti specie ridotte mononucleari, generate per elettrolisi esaustiva al potenziale del primo picco catodico, risultano solitamente stabili in soluzione ed in atmosfera inerte per alcune decine di minuti e sono state studiate tramite spettroscopia EPR. Il comportamento voltammetrico di quattro delle ventotto specie sintetizzate, derivate della 6-(α metil)benzil-2,2'-bipiridina, è stato a suo tempo oggetto di pubblicazione (1).



$R_1, R_2 = H, Me; L = CO, PPh_3, Py, MeCN, Cl^-, I^-, CN^-$

Figura 1 - Struttura dei composti studiati

I risultati finora ottenuti sono qui di seguito sinteticamente riepilogati.

Forte dipendenza del potenziale di prima riduzione dal tipo di legante presente in quarta posizione di coordinazione; l'influenza del tipo di bipiridina è, su tale grandezza, assai minore.

Sostanziale indipendenza del potenziale di riduzione dalle dimensioni dell'anello ciclometaltrato.

Pesante influenza della natura della bipiridina sul tempo di vita delle specie elettrogenerate. Si è infatti notato che la presenza di almeno un metile sul carbonio benzilico determina una netta stabilizzazione del derivato ridotto rispetto a quanto accade per gli analoghi derivati con la 6-benzil e con la 6-fenil-2,2'-bipiridina. L'interpretazione di tale effetto, del tutto generale, è ancora non del tutto univoca.

I dati EPR mostrano che l'extra elettrone presente nella specie ridotta (formalmente di Platino(I)) in realtà interagisce prevalentemente con il legante bipiridinico.

La diversa natura del sostituito L determina sia un certo effetto sul tempo di vita delle specie prodotte per elettroreduzione, sia una differente interazione dell'elettrone spaiato con il nucleo metallico. Essa risulta più accentuata quando $L = Cl^-, I^-, MeCN, Py$ e (in minor misura) PPh₃.

IL CONTROLLO DEI MICROINQUINANTI ORGANICI NELLE ACQUE DESTINATE AL CONSUMO UMANO SECONDO IL D. P. R n° 236/88: IL MODELLO ORGANIZZATIVO DEL P.M.P. DELL'A.U.S.L. DI PIACENZA.

Ettore Sassi, Elisabetta Russo, Fiorella Achilli, Adriano Fava, Lia Barazzoni, Stefania Calissardi, Marcello De Crema, Anna Ponticelli
Settore Chimico Ambientale - P. M. P. - Azienda U. S. L. di Piacenza - via XXI Aprile 48, Piacenza

Il D.P.R. 236/88 costituisce a tutt'oggi il riferimento normativo per i requisiti di qualità delle acque destinate al consumo umano. I controlli analitici esercitati vengono effettuati ai punti significativi della rete di distribuzione, alla sorgente, ai pozzi ed al punto di presa delle acque, agli impianti di adduzione, di accumulo e di potabilizzazione. La frequenza dei controlli è funzione dei parametri ricercati, della tossicità relativa e della numerosità degli utenti serviti.

Per quanto riguarda i microinquinanti organici, le sostanze determinate sono suddivise in a) parametri chimici tossici (Antiparassitari e Idrocarburi Policiclici Aromatici) e b) parametri chimici indesiderabili (Composti Organoalogenati, Fenoli, Idrocarburi e Oli minerali, Sostanze estraibili con cloroformio).

I limiti di concentrazione secondo il D.P.R. 236/88 sono: a) Antiparassitari (CMA=0.5 µg/l) e IPA (CMA=0.2 µg/l); b) VOCs (CMA=30 µg/l), fenoli (CMA=0.5 µg/l), idrocarburi e oli minerali (CMA=10 µg/l), SEC (VG=0.1 mg/l).

Per una tale attività di controllo è spesso necessario conciliare diverse esigenze tra cui impiego delle metodiche a livello routinario, applicazione a intere classi di composti con riferimento a pochi standard e massima conformità alle prescrizioni di legge, contestualmente ad un controllo capillare sul territorio. Il numero di campioni analizzati per anno è di circa 300 per i controlli di tipo C₄ (a) e di circa 700 per quelli di tipo C₃ (b).

I campioni vengono prelevati in più aliquote seguendo le modalità previste dalla legge o dalla metodica specificamente utilizzata, trasferiti tempestivamente in laboratorio e opportunamente conservati. Data la deteriorabilità del campione non intercorrono più di 24 ore tra il prelievo e l'apertura per la preparazione per l'analisi. Segue quindi la determinazione strumentale, la valutazione dei risultati ottenuti e la formulazione di un giudizio rispetto ai limiti di legge (CMA). In caso di superamento degli stessi, se si evidenzia una situazione che pregiudichi la salute pubblica, si attivano le autorità competenti per immediate forme di intervento. I risultati vengono comunicati rilasciando un certificato analitico, e periodicamente trasmessi all'Assessorato regionale alla Sanità.

Antiparassitari (composti neutri e basici). SPE/GC(ECD-NPD)

1L di acqua campione, addizionato di 10 ml di MeOH viene filtrato sotto aspirazione di una pompa a vuoto su di un Empore disk C₈ (Varian) preventivamente lavato con EtAc e condizionato con 10 ml di MeOH; il dischetto viene eluito con EtAc (max. 15 ml); l'eluato portato a secco sotto corrente di N₂ viene ripreso con 300-500 µl di i-ottano per la determinazione gascromatografica con rivelatori selettivi (ECD e NPD) su colonne capillari (SPB-5 e SPB-50).

Il limite di rilevabilità è di 0.01 µg/l per singolo principio attivo. Sui campioni positivi si effettuano conferme in GC-MS.

Antiparassitari (composti acidi). LL/GC-ECD

1 L di acqua campione viene acidificata a PH=3 ed estratta con 100+50 ml di CH₂Cl₂; l'estratto viene derivatizzato con Pentafluorobenzilbromuro, quindi portato a secco sotto corrente di N₂ e ripreso con acetone per l'analisi GC/ECD, dove vengono determinati i pentafluorobenzilderivati degli erbicidi fenossiacidi, con limite di rilevabilità di 0.005 µg/l.

Idrocarburi Policiclici Aromatici. LL/GC-MS(SIR)

La metodica applicata per la determinazione di IPA prevede un'estrazione liquido-liquido con CHCl_3 su di 1 l di campione, evaporazione del solvente e solubilizzazione del residuo con 200 μl di toluene. La soluzione ottenuta viene analizzata mediante GC-MS in acquisizione di ione selettivo che permette di valutare concentrazioni di 0.04 $\mu\text{g/l}$ per ogni singolo componente. Lo standard di riferimento è costituito da una miscela di 5 composti (fluorantene; benzo-3,4-fluorantene; benzo-3,4-pirene; benzo-1,12-perilene; indeno-1,2,3-c,d-pirene) e il risultato è espresso come sommatoria delle concentrazioni.

Composti Organoalogenati. EIS/GC-ECD

1.25 ml di acqua campione (prelevata in assenza di bolle d'aria) vengono introdotti in una vial da 5 ml contenente 1.75 g di $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e termostatati per 1 ora a 60°C. Successivamente si prelevano con una siringa a tenuta di gas 100 μl dello spazio di testa e si procede all'analisi gascromatografica su colonna wide-bore Vocol (Supelco), e rivelatore a cattura d'elettroni (ECD). Campo di applicazione: cloroformio; 1,1,1-tricloroetano; tetracloruro di carbonio; trielina; diclorobromometano; tetracloroetilene; dibromoclorometano; bromoformio; limite di rilevabilità = 0.4 $\mu\text{g/l}$ per singolo componente.

Fenoli. LL/VIS

La determinazione dei fenoli prevede il trattamento di 250 ml di campione a PH=10 con 4-amminoantipirina, l'aggiunta di ferricianuro di potassio e successiva estrazione con 10 ml di CHCl_3 . La concentrazione del complesso colorato nella fase organica anidrificata viene valutata per via spettrofotometrica a $\lambda=460\text{ nm}$ rispetto ad una curva di taratura espressa come $\mu\text{g/l}$ di fenolo. Il limite di rilevabilità è di 2 $\mu\text{g/l}$. * Il metodo si applica ai fenoli che non presentano i sostituenti -R, -Ar, PhCOO , $-\text{NO}_2$, $-\text{CHO}$ in posizione para.

Idrocarburi e Oli minerali. LL/IR

La metodica impiegata comporta l'estrazione liquido-liquido di 1 l di campione acidificato a PH=2 con 25 ml di Freon 113. L'estratto anidrificato viene sottoposto a scansione spettrofotometrica infrarossa tra 3200 cm^{-1} e 2700 cm^{-1} . La concentrazione degli inquinanti viene valutata confrontando l'assorbanza della banda di assorbimento a 2930 cm^{-1} , caratteristica dei legami C-H, con quella di una miscela standard costituita da benzene (25% v/v), i-ottano (37.5% v/v), n-esadecano (37.5% v/v). Per eliminare l'interferenza dovuta alla presenza di sostanze di origine vegetale e animale, l'estratto viene filtrato su uno strato di Florisil e sottoposto di nuovo a scansione. Il limite di rilevabilità è di 50 $\mu\text{g/l}$.*

*Entrambe le metodiche non consentono di raggiungere le CMA, permettono comunque di individuare tali sostanze nei casi di presunta contaminazione.

Sostanze estraibili con cloroformio. LL/GRAV

Questo parametro viene analizzato mediante determinazione gravimetrica del residuo proveniente da un'estrazione di 1L di acqua campione con 100 ml di CHCl_3 avente residuo fisso <2 mg/l ed evaporato sotto vuoto moderato a temperatura ambiente.

Per il SEC non esiste CMA, ma un Valore Guida per il dubbio significato tossicologico attribuibile alla miscela aspecifica che si ottiene con tale tipo di estrazione; sono per questo in corso indagini in merito, relativamente ad una dettagliata qualificazione dei componenti la miscela.

STUDIO DEI FENOMENI CORRELATI AL GLOBAL CHANGE DA CAROTE DI NEVATO CAMPIONATE IN ANTARTIDE.

R. Udisti *, E. Barbolani **, S. Becagli * and G. Piccardi *.

*Department of Public Health and Environmental Analytical Chemistry, University of Florence - Via Gino Capponi, 9 I-50121 Florence (Italy).

**Department of Soil Science and Plant Nutrition, University of Florence - Piazzale delle Cascine, 15 I-50144 Florence (Italy).

Durante le Campagne Antartiche effettuate dal 1991 al 1994, sono stati raccolti campioni di neve e nevato mediante scavo di trincee (profondità massima 3.5 m) e carotaggi (fino a 20 m) in stazioni situate a diversa altitudine e posizione geografica nell'area circostante la Base Italiana Terra Nova Bay.

I campioni, con risoluzioni di 2 - 5 cm di strato nevoso depositato, sono stati analizzati mediante Cromatografia Ionica, per componenti principali e in tracce, e mediante Flow Injection Analysis con detector spettrofluorimetrico per il contenuto in H_2O_2 .

Una forte connotazione stagionale, con massimi estivi e minimi invernali, caratterizza i profili di concentrazione dell' H_2O_2 tanto che tale sostanza costituisce il più importante indicatore chimico annuale ai fini della datazione di carote anche relativamente profonde.

Un metodo multiparametrico basato sulla variazione della concentrazione con la profondità di tre composti, H_2O_2 , acido metansolfonico (MSA) e solfati non provenienti da spray marino (non sea salt solfati = $nssSO_4^{2-}$), utilizzati come indicatori annuali, ha permesso di ottenere una attendibile datazione per via chimica dei campioni raccolti.

Sulla base di tale datazione, sono stati esaminati i profili concentrazione/profondità dei parametri presi in esame. Le serie temporali di dati così ottenute mostrano un comportamento stagionale di alcuni componenti, evidenziando una periodicità annuale delle loro fonti e/o dei meccanismi di trasporto.

Le serie chimiche dei dati sono state anche esaminate per individuare correlazioni e particolari comportamenti dei rapporti di concentrazione tra i vari componenti, al fine di individuare le possibili fonti, i meccanismi di trasporto e gli eventuali fenomeni di frazionamento dell'aerosol atmosferico intervenuti durante il movimento delle masse d'aria che hanno originato le deposizioni nevose. Uno spiccato effetto dell'altitudine della stazione di prelievo sulla composizione della neve è mostrato per la maggior parte dei componenti, mentre un effetto meno marcato è dovuto alla distanza dal mare.

Cloruri, sodio e magnesio risultano essenzialmente legati all'origine marina e le loro concentrazioni nelle deposizioni nevose appaiono particolarmente elevate in concomitanza con fenomeni di intensa immissione di spray marino nell'atmosfera (salt storm). Effetti di frazionamento sono comunque evidenziati dalla diminuzione della concentrazione di Cl^- e Mg^{2+} rispetto a quella del sodio all'aumentare dell'altitudine.

I solfati mostrano un comportamento molto simile a quello dei componenti marini nelle stazioni più vicine al mare e più basse. Esaminando le serie di dati riferite ai solfati totali e ai solfati non sea salt in funzione della posizione geografica della stazione, è possibile, però, individuare altre due fonti importanti: l'attività biogenica e gli effetti di trasporto a lungo raggio. Il primo di tali contributi assume una ben precisa connotazione stagionale, con massimi di concentrazione in concomitanza dei periodi di fioritura fitoplanctonica estiva. Il secondo contributo risulta man mano evidente con l'aumento della quota della stazione e nel periodo invernale. Anche le correlazioni esistenti tra $nssSO_4^{2-}$ e MSA, metabolita univoco di attività biologica marina, sono variabili oltre che con la stagionalità anche con la quota della stazione, evidenziando la presenza di altre fonti dei $nssSO_4^{2-}$.

Dai campioni raccolti in periodo estivo e a più bassa altitudine è possibile stimare il rapporto di formazione di $nssSO_4^{2-}$ e MSA dalla comune origine (dimetilsolfuro). Potassio e calcio mostrano un comportamento analogo a quanto osservato per i solfati. Le correlazioni con i componenti marini, buone per le stazioni più vicine al mare e a quote inferiori, diventano inconsistenti per le stazioni a

maggior altitudine ed in assenza di importanti fenomeni tipo salt storm. Suddividendo i campioni sulla base del contenuto in sodio come indicatore di contributo marino, si osservano coefficienti di arricchimento rispetto alla composizione dell'acqua di mare tanto maggiori quanto minore è la concentrazione in sodio.

Inoltre, sulla base delle correlazioni con il sodio, è stato possibile quantificare il contributo non marino per potassio e calcio, anche se l'individuazione delle fonti alternative non appare ancora possibile.

Al contrario di quanto osservato per i precedenti composti, componenti di origine e distribuzione prettamente atmosferica, come l' H_2O_2 e, in parte, l' HNO_3 , mostrano una tendenza all'aumento o, perlomeno, alla stabilità della concentrazione con l'altitudine della stazione di campionamento.

CAMPIONAMENTO SEQUENZIALE AD ALTA RISOLUZIONE DI SINGOLI EVENTI PIOVOSI. APPLICAZIONE A PIOGGE RACCOLTE A FIRENZE.

*D. Uncini * , E. Barbolani **, R. Udisti * and G. Piccardi * .*

**Department of Public Health and Environmental Analytical Chemistry, University of Florence - Via Gino Capponi, 9 I-50121 Florence (Italy).*

*** Department of Soil Science and Plant Nutrition, University of Florence - Piazzale delle Cascine, 15 I-50144 Florence (Italy).*

L'analisi delle deposizioni atmosferiche costituisce un efficace metodo indiretto per lo studio della composizione dell'aerosol troposferico e dei fenomeni di dilavamento di sostanze di origine naturale ed antropica. Per la comprensione dei fenomeni di rimozione atmosferica da parte di wet-depositions, assume particolare importanza conoscere la variazione progressiva della composizione della pioggia durante singoli eventi piovosi, con particolare riguardo alla relazione con l'intensità della precipitazione (mm/min). Diviene quindi indispensabile frazionare un evento piovoso con la maggiore risoluzione possibile e conoscere i tempi di ottenimento di ciascun sub-campione. Tale risoluzione, espressa come mm di pioggia campionati, risulterà principalmente essere funzione della sezione di cattura del campionatore e della minima quantità di campione necessaria per l'ottenimento del set di dati analitici necessari.

A tale scopo, è stato messo a punto un campionatore sequenziale automatizzato ad alta risoluzione (capace di ottenere frazioni di pioggia inferiori a 0.1 mm) mediante il quale sono stati campionati alcuni eventi piovosi avvenuti nella città di Firenze.

Il campionatore sequenziale è costituito essenzialmente da un campionatore wet-dry commerciale modificato e da un collettore di frazioni controllato via computer. Il raccogliatore wet è stato sostituito con un imbuto di polietilene (sezione di cattura di circa 700 cm²) collegato ad un collettore di frazioni tramite un sequenziatore a volume variabile. Selezionando il sequenziatore su un volume di 7 ml, si ottengono campioni relativi a circa 0.1 mm di pioggia.

I sub-campioni sono stati analizzati per cromatografia ionica (anioni inorganici, cationi ed alcuni acidi organici a basso peso molecolare), per Flow Injection Analysis con detector spettrofluorimetrico (H₂O₂, aldeide formica) e per la determinazione potenziometrica del pH. Particolari procedure di pulizia e controllo dei bianchi hanno permesso la determinazione di sostanze a livello di pochi ppb.

L'effettuazione delle misure analitiche nello stesso giorno della raccolta dell'evento piovoso ha permesso di evitare l'aggiunta di biocidi, diminuendo così il rischio di contaminazione dei campioni.

Esaminando la variazione infra-storm delle concentrazioni degli elementi analizzati, si osserva una generale, anche se non sempre presente, diminuzione della concentrazione con il procedere dell'evento; tale diminuzione appare particolarmente elevata soprattutto nelle prime frazioni raccolte (0 - 0.5 mm). Può essere messa, altresì, in evidenza una generale dipendenza inversa tra la concentrazione di diverse specie chimiche e l'intensità dell'evento.

Simili comportamenti concentrazione/tempo sono osservabili tra gruppi di sostanze aventi meccanismi di trasporto simili o comune origine. Correlazioni significative sono misurate tra nitrati e solfati, tra formiati e acetati e tra i tipici costituenti dello spray marino (Na, Cl, Mg).

Lo ione piruvato presenta, invece, un comportamento generalmente diverso da quello degli acidi carbossilici sopra citati; ciò è probabilmente dovuto alla sua minore volatilità e alla più elevata forza acida. Gli andamenti concentrazione/tempo per l'acido metansolfonico si avvicinano maggiormente a quelli degli anioni inorganici principali (con particolare riguardo a Cl⁻ e SO₄²⁻) piuttosto che a quello degli acidi organici a corta catena.

Dati preliminari relativi al comportamento di alcuni metalli pesanti (Cu, Cd, Pb, Fe, Mn, Al) mostrano un'analogia tendenza alla diminuzione della concentrazione con il procedere dell'evento e con l'aumento della intensità piovosa. Alcune significative correlazioni tra i trend di dilavamento di Pb e Cu e di Fe e Mn, potrebbero essere indicate, ma ulteriori dati sono necessari per poter verificare il fenomeno.

IDENTIFICAZIONE DELLA FONTE DI PROVENIENZA IN CASO DI INQUINAMENTO MARINO DA IDROCARBURI

Sonia Vezzani

Università di Genova, Istituto di Chimica Industriale, Corso Europa 30, 16132 Genova, Italia

I danni ambientali più rilevanti dovuti allo scarico in mare di petrolio, diretta conseguenza del consistente volume dei traffici marittimi, riguardano le aree costiere. Quotidianamente, i mari del mondo vanno soggetti ad un inquinamento lento ma continuo provocato, per cause accidentali o intenzionali, da navi sistema trasportanti idrocarburi.

Gran parte del petrolio movimentato nel Mediterraneo viene sbarcato in Italia. Con una media annuale di 90 milioni di tonnellate di petrolio, l'Italia è sicuramente il paese europeo soggetto ai maggiori rischi dovuti alle movimentazioni di prodotti petroliferi. Secondo le stime dell'UNEP (United Nations Environment Programme), il Mediterraneo viene colpito ogni anno, da sversamenti di idrocarburi pari a 635000 tonnellate. Il Regional Oil Comiting Center (ROCC) afferma che che nel Mediterraneo tra il 1977 e il 1987 si sono verificati 94 incidenti. Gli incidenti segnalati nella ricerca del ROCC, sono causati per il 34% da affondamento, per il 18% da collisione e per il 23% da altre cause.

L'analisi degli idrocarburi disciolti nell'acqua di mare è stata oggetto di ricerche approfondite che hanno proposto metodi di estrazione e concentrazione assai dettagliati.

Valutazioni rapide e sufficientemente precise circa l'origine dell' inquinamento costiero da idrocarburi possono essere desunte per via gascromatografica dal confronto tra campioni prelevati sui litorali costieri e campioni prelevati nelle stive di navi cisterna circolanti nel mare antistante il ritrovamento o in cui si suppone sia avvenuto lo scarico. Occorre perciò mettere a punto delle metodiche analitiche atte ad evidenziare le responsabilità oggettive delle navi cisterna per lo scarico o la perdita di idrocarburi in mare. Le analisi gascromatografiche sono state eseguite su sostanze catramose prelevate nelle zone costiere liguri e su petroli di diversa provenienza geografica, allo scopo di stabilire una "impronta digitale" atta a verificare la provenienza dei campioni cosiddetti "spiaggiati", tenendo conto dei fenomeni che possono aver modificato la composizione di partenza durante la permanenza in mare. Sono state utilizzate diverse colonne capillari non polari e debolmente polari e detector a ionizzazione di fiamma.

Data la natura spesso eterogenea dei campioni spiaggiati sono stati sperimentati vari metodi di prelievo e di preparazione che permettessero di ottenere campioni significativi. E' stato necessario, dopo la rimozione dei vari corpi estranei presenti nel campione, ricorrere ad una refrigerazione per effettuare una quartatura ed un prelievo rappresentativo.

Per tenere conto dei fenomeni di evaporazione e solubilizzazione avvenuti durante la permanenza in mare, sono stati effettuati diversi trattamenti sui campioni di partenza allo scopo di simulare il cambiamento di caratteristiche derivante dall'invecchiamento.

I cromatogrammi ottenuti riportano prevalentemente la distribuzione degli idrocarburi n-paraffinici che risultano costituire una parte considerevole degli oli minerali presi in esame. Per chiarire la verosimiglianza dei campioni rispetto allo standard sono state calcolate sia i rapporti tra le altezze che le aree di più picchi presi come riferimento.

L'identificazione è stata effettuata tenendo conto di diverse zone del cromatogramma considerando soprattutto le frazioni a peso molecolare più elevate, difficilmente influenzate da fenomeni di evaporazione. Gli idrocarburi più idonei per il riconoscimento sono quelli compresi negli intervalli C_{16} - C_{20} e C_{26} - C_{34} . Il metodo utilizzato ha consentito di raggiungere una ragionevole certezza circa la provenienza di vari campioni di idrocarburi spiaggiati.

1) S.J. Ramsdale e R.E. Wilkinson, J.Inst. Petroleum, 539 (1968) 326

2) M. Modugno, Ambiente Risorse Salute, 1 (1992) 26.

3) P.G. Desideri, L. Lepri, D. Heimler, S. Giannesi e L. Checchini, J. Chromatogr. 284 (1984) 178

PROCEDURA ANALITICA HPLC IN FASE INVERSA PER LA DETERMINAZIONE DEGLI INTERMEDI NELLA REAZIONE DI DEMOLIZIONE ELETTROCHIMICA DI FENOLO E SUOI DERIVATI CLORURATI

Antonello Viola, Anna Maria Polcaro e Simona Palmas

Dipartimento di Ingegneria Chimica e Materiali

Università di Cagliari - P.zza d'Armi 09123 Cagliari - tel. 070-290704 fax 070-280774

La crescente richiesta di riutilizzare acque di scarico e le rigorose legislazioni attualmente vigenti sulla qualità delle acque, determinano la necessità di mettere a punto tecniche in grado di trattare tutte le diverse varietà di correnti di scarico contenenti inquinanti. Il problema può essere particolarmente importante per gli scarichi di alcune industrie contenenti prodotti organici resistenti agli abituali processi di depurazione. La degradazione degli scarichi dipende infatti dal tipo di composti presenti nei reflui da trattare. In particolare quando si trattano fenoli, alcuni intermedi di ossidazione possono risultare più tossici e più difficilmente ossidabili del fenolo stesso.

Il trattamento elettrochimico può essere quindi un utile metodo per bloccare il processo allo stadio desiderato in modo da ottenere o l'ossidazione completa ad anidride carbonica e acqua, oppure la formazione di intermedi più facilmente degradabili. Il processo elettrochimico verrebbe così concepito come stadio di "finitura" nel primo caso, oppure come stadio di pretrattamento a monte del biologico, nel secondo. Ne consegue l'importanza e l'esigenza di monitorare, durante il processo di ossidazione, le concentrazioni degli intermedi e dei prodotti, allo scopo di individuare lo stadio della reazione in cui il trattamento elettrochimico possa essere sospeso e sostituito con l'ulteriore trattamento biologico.

Nel presente lavoro l'ossidazione elettrochimica è stata eseguita su elettrodi porosi di feltro di carbone sistemati in una cella elettrochimica a tre elettrodi. Il meccanismo di reazione è molto complesso ma, dai risultati finora ottenuti, pare che la reazione proceda con un primo stadio elettrochimico che porta alla formazione di radicali OH adsorbiti all'elettrodo, e prosegua poi, ad opera dei radicali appena prodotti, con una serie di stadi chimici che conducono ai prodotti finali di reazione.

Allo scopo di monitorare le concentrazioni dei reagenti (Fenolo, 2-6 Diclorofenolo) e dei prodotti (Idrochinone, Catecolo, Benzochinone, Acido Muconico, Acido Maleico, Acido Ossalico) durante la reazione, è stato sviluppato un metodo di analisi in cromatografia liquida ad alte prestazioni in fase inversa (RP-HPLC). Questo metodo consente la separazione completa dei suddetti composti attraverso la combinazione di una isocratica ad un gradiente di eluizione opportunamente condotti. La fase mobile impiegata è costituita da una soluzione di Potassio fosfato monobasico 0.05 M e Metanolo additivati dello 0.1% di acido fosforico. Le analisi sono state condotte su una colonna a fase legata alchilsililica del tipo octilsililica (C-8) da 25 cm x 4.6 mm con precolonna da 1 cm. I composti in analisi sono stati rivelati selettivamente in UV mediante l'ausilio di un programma di lunghezze d'onda che tiene conto delle esigenze di sensibilità e stabilità del segnale. La quantizzazione è stata eseguita utilizzando il metodo dello standard esterno in un intervallo relativamente ampio di concentrazioni, ottenendo ottimi risultati in termini di precisione, accuratezza e linearità di risposta.

Il metodo analitico sviluppato consente di raggiungere livelli elevati di efficienza e risoluzione, e si presenta oltremodo estremamente vantaggioso in quanto non richiede alcun pretrattamento o derivatizzazione dei campioni e comporta brevi tempi di esecuzione (20 min).

REALIZZAZIONE DI UN BIOSENSORE PER LA DETERMINAZIONE DELLA FRESCHEZZA DEL PESCE

G. Volpe*, M. Mascini*, B.M. Poli**, G. Geri**, M. Mecatti**

*Dipartimento Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale, Sezione Chimica analitica, dell'Università degli Studi di Firenze

**Dipartimento di Scienze zootecniche dell'Università degli Studi di Firenze

La realizzazione di un metodo accurato, semplice e rapido per la determinazione della freschezza del pesce, è di grande interesse nell'industria alimentare. A tale riguardo sono stati presi in considerazione vari indicatori di deterioramento come ammoniaca, ammine, acidi volatili e pH. Tuttavia la misura di questi indicatori non permette di stimare in maniera soddisfacente il grado di freschezza del pesce. Studi effettuati negli ultimi anni hanno dimostrato che la degradazione dei nucleotidi, nel muscolo di pesce, può essere utilizzata come un indicatore di freschezza. Immediatamente dopo la morte del pesce ha inizio la degradazione dell'ATP ad acido urico, attraverso la serie di reazioni:

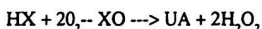
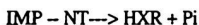


dove ATP, ADP, AMP = adenosina trifosfato, adenosina difosfato, adenosina monofosfato IMP, HXR = inosina monofosfato, inosina

HX, X, U = ipoxantina, xantina, acido urico

Poiché l'ATP, ADP ed AMP scompaiono circa 24 ore dopo la morte, per potere valutare il grado di freschezza del pesce, è stato introdotto un parametro K_1 basato sulla degradazione dei rimanenti composti, che può essere definito come segue: $K_1 = \text{HXR} + \text{HX} / \text{IMP} + \text{HXR} + \text{HX}$.

E' quindi possibile stimare la freschezza del pesce misurando soltanto tre dei sei metaboliti. Le reazioni enzimatiche coinvolte nella degradazione dell'IMP ad acido urico sono le seguenti:



Dove NT, NP, XO e P_i rappresentano rispettivamente la 5' nucleotidasi, la nucleoside fosforilasi, la xantina ossidasi ed il fosfato. IMP, HXR ed HX possono essere determinati utilizzando elettrodi ad ossigeno o ad acqua ossigenata, accoppiati con gli enzimi sopra menzionati. Il consumo di ossigeno o la produzione di acqua ossigenata determinano una variazione di corrente che è correlata alla concentrazione di questi metaboliti in soluzione. Per la stima della freschezza del pesce, è stato messo a punto un sistema di misura semplice e rapido, basato su un elettrodo di platino per la determinazione dell'acqua ossigenata. L'ipoxantina è stata determinata mediante reazione con la xantina ossidasi immobilizzata sulla superficie dell'elettrodo, mentre l'inosina monofosfato e l'inosina sono misurati aggiungendo in soluzione la 5' nucleotidasi e la nucleoside fosforilasi con una procedura "end point". In tal modo è stata ottenuta la completa conversione dell'IMP e dell' HXR ad HX che veniva rivelata dal biosensore a xantina ossidasi. Quindi, aggiungendo in successione al tampone di misura il campione da analizzare, la nucleoside fosforilasi e la nucleotidasi sono state registrate tre variazioni di corrente: Δ_1 , Δ_2 e Δ_3 corrispondenti rispettivamente ad HX, HXR e IMP.

Operando secondo questa procedura il valore K_1 poteva essere facilmente determinato senza preventive curve di calibrazioni mediante la seguente formula:

$$K_1 = \Delta_1 + \Delta_2 / \Delta_1 + \Delta_2 + \Delta_3$$

Parametri quali tipo di tampone, quantità di enzima e trattamento dei campioni di pesce sono stati studiati ed ottimizzati. Con questa procedura è stata ottenuta una risposta lineare nell'intervallo di concentrazione 10^{-6} - 2×10^{-5} mol/L per tutti e tre i metaboliti (ipoxantina, inosina ed inosina monofosfato), con un limite minimo di rilevabilità di 5×10^{-7} mol/L.

Al fine di valutare l'influenza della matrice "pesce" sulla risposta del biosensore sono state effettuate prove di recupero aggiungendo HX, HXR ed IMP alla soluzione tampone dopo l'aggiunta di estratti di pesce. Dai risultati ottenuti si è evidenziato come l'effetto della matrice sia trascurabile ai fini della determinazione dei metaboliti d'interesse (recupero compreso tra il 98 e il 106 %).

Infine sono stati analizzati campioni di trota iridea conservati in differenti condizioni determinandone la concentrazione di HX, HXR, IMP ed il K %.

PROPRIETA' LEGANTI DI UN SEDIMENTO FLUVIALE

V. Zelano*, M. Gulmini*, P.G. Daniele**, A. Torazzo***, G. Ostacoli*.

*Università di Torino, Dipartimento di Chimica Analitica, Via P. Giuria 5, Torino.

** Università di Messina, Dipartimento di Chimica Inorganica, Analitica e Struttura Molecolare, Salita Sperone 31 Vill. S. Agata (ME)

***Università di Torino, Dipartimento di Scienze Merceologiche, P.zza Arbarello 8, Torino

I sedimenti, grazie alla grande varietà di fasi che li costituiscono, sono in grado di ritenere quantità non indifferenti di metalli con cui vengono a contatto [1].

Le interazioni tra metallo e sedimento sono di diverso tipo e di diversa forza e, da un punto di vista ambientale, una corretta valutazione della contaminazione dei sedimenti richiede che la quantità totale dei metalli presenti sia divisa in almeno due gruppi: uno che include i metalli legati in maniera più labile e perciò pronti ad entrare nel ciclo biologico (del sistema acquatico), l'altro che include i rimanenti, più tenacemente legati, e perciò meno disponibili. Per realizzare tale suddivisione sono stati proposti diversi metodi che permettono la determinazione dei metalli nelle varie fasi del sedimento che sono definite dal metodo operativo utilizzato [2].

Sebbene questi tipi di studi diano informazioni che sono direttamente applicabili ai sistemi naturali, esiste la necessità di indagare le interazioni che si stabiliscono tra la superficie del sedimento e uno ione metallico in soluzione per capire e predire il comportamento dei metalli quando questi vengano in contatto con una fase solida. Ci sono molti studi in letteratura che trattano di quest'argomento [3,4], ma spesso sono basati su modelli semplici: per esempio una singola fase costituita da ossidi oppure la fase organica preventivamente estratta dal campione reale. Questi modelli risultano essere inadeguati per poter traslare i risultati ottenuti sui campioni reali.

Con lo scopo di contribuire allo studio di quest'argomento, in questo lavoro si è voluto sperimentare la possibilità di studiare le proprietà acido-base di un sedimento nel suo complesso mediante titolazioni potenziometriche del sistema eterogeneo sedimento soluzione.

Le prove di riproducibilità delle titolazioni, effettuate numerose volte su campioni contenuti 0.500 g di sedimento ($\phi < 63 \mu\text{m}$) dispersi in 200 ml di soluzione acida ($8 \times 10^{-3} \text{ M}$ in HCl e $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ in KNO_3) hanno mostrato che per $\text{pH} < 7$, il potenziale diventa stabile in 4-5 min, mentre per pH maggiori (fino a 10) è stato necessario attendere anche fino a 80 min per avere una deriva del potenziale inferiore a 0.5 mV ogni 10 min. Sono state eseguite numerose titolazioni su sospensioni contenenti da 0.250 fino a 4.000 g di sedimento in 200 ml di soluzione acida nell'intervallo di pH tra 2 e 10. Alla tecnica potenziometrica si sono affiancate altre informazioni relative alla composizione del sedimento (analisi elementare, spettroscopia IR), per proporre delle ipotesi attendibili sull'interpretazione dei dati potenziometrici. I dati sperimentali ottenuti hanno messo in evidenza che nel sedimento sono presenti dei siti di coordinazione in grado di legare il protone. I dati potenziometrici sono stati elaborati mediante il programma di calcolo STACO [5] considerando differenti ipotesi: a) esistenza di tre siti di protonazione ciascuno su una componente diversa del sedimento; b) tre siti di protonazione contenuti in un'unica componente del solido; c) tre siti di protonazione sono situati uno in una componente e due in un'altra. Per ciascuno dei tre siti si è calcolata una costante di protonazione: di queste una si pone in campo acido e due in campo basico. L'ultima ipotesi sembra più attendibile anche se le altre ipotesi non possono essere completamente trascurate.

[1] Honeyman, B. D.; Santschi, P. H., *Environ. Sci. Technol.*, 1988, 22, 862

[2] Forstner, U., in Baudo, R.; Giesy, J.; Muntau, H., (Eds) "Sediments: Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants", 1990, Lewis Publishers, Michigan (USA), pag.78

[3] Davies-Colley, R. J.; Nelson, P. O.; Williamson, K. J., *Environ. Sci. Technol.*, 1984, 18, 491

[4] Ephraim, J.; Marinsky, J. A., *Environ. Sci. Technol.*, 1986, 20, 367

[5] De Stefano, C., Mineo, P., Rigano, C.; Sammartano, S., *Ann. Chim. (Rome)*, 1993, 83, 243

Seconda Sessione Poster

2000 12 12 10:30 AM

SCI-DCA

USO DELLA CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE AD ALTA PRESSIONE PER LA DETERMINAZIONE DEI POLICLOROBIFENILI.

P. Abis, M. Caselli, L. Curri, A. Traini
Dipartimento di Chimica dell'Università di Bari

La cromatografia su strato sottile ad alta pressione (OPLC) presenta numerosi vantaggi rispetto sia alla classica cromatografia su strato sottile, che alla versione ad alta efficienza (HPT LC).

a) L'eliminazione della fase vapore sovrastante la lastra permette un controllo assoluto dei parametri con il risultato di una elevatissima riproducibilità nei valori degli R_f .

b) La velocità dell'eluente è costante durante l'intero sviluppo e può essere fissata al valore corrispondente alla migliore efficienza (minore altezza equivalente ad un piatto teorico).

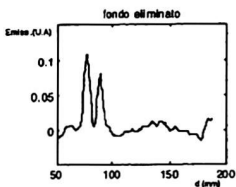
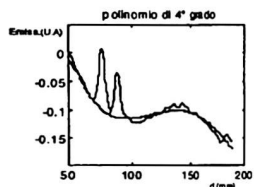
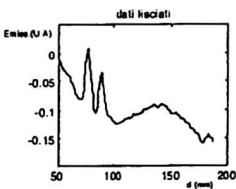
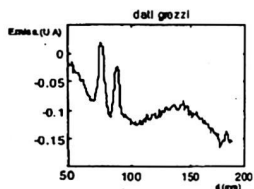


Fig 1 Cromatogramma relativo a 50 ng di Aroclor prima e dopo correzione del fondo

minare circa le possibilità di utilizzo dell'OPLC per l'analisi dei policlorobifenili (PCB). Standard di Aroclor 1232, Aroclor 1242 e Aroclor 1258 (SUPELCO) sono stati eluiti con miscele n esano/clorofornio. La determinazione quantitativa è stata effettuata per via fluorimetrica mediante un densitometro SHIMAZU CS 9001 PC. Lo spettro di eccitazione è stato registrato sulla stessa lastra dopo lo sviluppo. La lunghezza d'onda per la determinazione analitica è stata 40 nm. La tecnica della

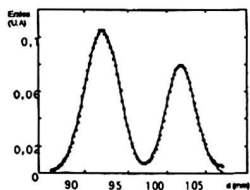


Fig 2: Fitting dei due picchi della Fig 1 mediante la somma di due Gaussiane:

$$I = h_1 \exp\left(-\frac{(d-d_{01})^2}{2\sigma_1^2}\right) + h_2 \exp\left(-\frac{(d-d_{02})^2}{2\sigma_2^2}\right);$$

$$h_1 = 0.106; h_2 = 0.08; d_{01} = 92.0; d_{02} = 101.8; \sigma_1 = 1.97; \sigma_2 = 1.89.$$

scansione a doppia lunghezza d'onda permette di ottenere una linea di base più stabile. Una ulteriore correzione del fondo è stata ottenuta mediante l'uso del calcolatore approssimando il fondo con un polinomio e sottraendolo dal cromatogramma. (vedi fig 1). I picchi così ottenuti sono delle Gaussiane i cui parametri possono essere ottenuti mediante "fitting".

c) Possono essere mantenute alte velocità di sviluppo (8-10 min/20 cm) pur con efficienza e risoluzione pienamente accettabili.

d) E' richiesto un basso consumo di eluente (5-6 ml per sviluppo).

e) La tecnica dello sviluppo continuo permette il recupero selettivo delle sostanze eluite che possono essere utilizzate per altre determinazioni analitiche (per es. spettro di massa).

f) La stretta somiglianza con l'HPLC permette di utilizzare l'OPLC come tecnica preliminare per l'individuazione delle condizioni ottimali. In questo poster viene descritta una ricerca preliminare

circa le possibilità di utilizzo dell'OPLC per l'analisi dei policlorobifenili (PCB). Standard di Aroclor 1232, Aroclor 1242 e Aroclor 1258 (SUPELCO) sono stati eluiti con miscele n esano/clorofornio. La determinazione quantitativa è stata effettuata per via fluorimetrica mediante un densitometro SHIMAZU CS 9001 PC. Lo spettro di eccitazione è stato registrato sulla stessa lastra dopo lo sviluppo. La lunghezza d'onda per la determinazione analitica è stata 40 nm. La tecnica della

scansione a doppia lunghezza d'onda permette di ottenere una linea di base più stabile. Una ulteriore correzione del fondo è stata ottenuta mediante l'uso del calcolatore approssimando il fondo con un polinomio e sottraendolo dal cromatogramma. (vedi fig 1). I picchi così ottenuti sono delle Gaussiane i cui parametri possono essere ottenuti mediante "fitting".

Un esempio è mostrato nella figura 2. Dai valori dei parametri è possibile calcolare l'altezza equivalente ad un piatto teorico che è stata trovata essere, nelle condizioni ottimali di velocità dell'eluente, intorno ai 40-45 μ praticamente, costante su tutta la lastra. Il limite di rivelazione è di qualche nanogrammo.

MESSA A PUNTO DI UN PROCEDIMENTO ANALITICO PER L'OTTENIMENTO E LA PURIFICAZIONE DELLA FRAZIONE "UMINA" DA SUBSTRATI ORGANICI E SUOLI

F. Adani

*Dipartimento di Fisiologia della Pianta Coltivata e Chimica Agraria, Università degli Studi di Milano,
Via Celoria, 2 - 20133 Milano (tel. 02 70630856, fax 02 2663057)*

La frazione organica in substrati organici, suoli ed acque, è stata oggetto di numerosi studi diretti a delucidare le sue molteplici interazioni con le componenti biotiche ed abiotiche degli ecosistemi. La letteratura è ricca d'informazioni sulle interazioni di natura chimica (con metalli, molecole organiche etc.) e biologica (attività diretta su vegetali, microorganismi etc.) (1).

Dal punto di vista chimico la frazione organica è costituita da tre componenti principali: acidi umici, acidi fulvici ed umina. Gli acidi umici sono la frazione solubile in soluzioni alcaline diluite ma precipitabile a $\text{pH} < 2$, gli acidi fulvici sono la frazione solubile in soluzioni alcaline diluite e non precipitabile in ambiente acido in qualsiasi condizione di pH e l'umina è la frazione insolubile in soluzioni alcaline diluite (2). La definizione è chiaramente insufficiente a caratterizzare chimicamente le tre frazioni, soprattutto in matrici complesse ricche di sostanze interferenti (proteine, carboidrati etc.) (3) ma è giustificabile in considerazione della eterogeneità e complessità strutturale del materiale. Gli acidi umici e fulvici, in virtù del loro più facile ottenimento in forma solubile sono stati oggetto di numerosi studi; la frazione "umina", ad elevato peso molecolare, insolubile sia in soluzioni acquose che in solventi organici, è stata invece meno caratterizzata nonostante rappresenti la frazione quantitativamente preponderante (4).

Il presente lavoro riguarda uno studio volto alla messa a punto di una procedura analitica per la purificazione, solubilizzazione e caratterizzazione della frazione "umina" ottenuta da matrici organiche naturali. Verranno descritte le procedure di purificazione e solubilizzazione messe a punto in questo lavoro ed i risultati ottenuti caratterizzando le frazioni ottenute sia chimicamente (analisi elementare, acidità, pesi molecolari etc.) che mediante spettroscopia IR e NMR.

In particolare le procedure di purificazione, che consistono in trattamenti sequenziali con diversi solventi, si sono dimostrate idonee all'isolamento di una frazione successivamente caratterizzabile con le comuni metodiche analitiche chimiche e spettroscopiche; la loro successiva solubilizzazione, in seguito all'inserimento di gruppi solfonici negli anelli aromatici, ha inoltre consentito una più approfondita caratterizzazione mediante spettroscopia NMR. I risultati ottenuti hanno permesso di trarre conclusioni circa la struttura chimica delle frazioni isolate.

1) W.S. WILSON, *Advance in Soil Organic Matter Research: the impact on agriculture and the Environment*, Edited by W.S. Wilson, Published by The Royal Society of Chemistry (1991).

2) M.H.B. HA YES, P. MacCARTHY, R.L. MALCOLM, R.S. SWIFT, *Humic Substances II - In search of Structure* - Edited by M.H.B. Hayes, P. MacCarty, R. L. Malcolm and R.S. Swift, - A Wiley Interscience Publication J. Wiley & Sons, 3 (1989).

3) F. ADANI, P.L. GENEVINI, F.TAMBONE, *Compost Science & Utilization*, 3 (2) (1995).

4) J.A. RICE and P. MACCARTHY, *Geoderma*, 43, 65-73 (1988).

CARATTERIZZAZIONE ANALITICA DI ALCUNI OLI UTILIZZATI QUALI LUBRIFICANTI DI TRAFILATURA

D. Atzei, D. De Filippo, G. De Filippo, A. Rossi.

Dipartimento di Chimica e Tecnologie Inorganiche e Metallorganiche,

Università degli Studi di Cagliari - via Ospedale 72 - 09124 Cagliari (Italy).

Introduzione

Gli oli lubrificanti utilizzati per la trafilatura dei metalli costituiscono una categoria di prodotti commerciali di grande interesse e sono stati oggetto di molti studi sia per chiarire il loro meccanismo d'azione sia per ottimizzarne la composizione.

Questi prodotti che, in generale, vengono classificati quali "emulsioni", "fluidi semisintetici" e "fluidi sintetici" devono assolvere ad una varietà di funzioni [1] fra le quali il controllo dell'attrito, lo smaltimento del calore prodotto durante l'attraversamento della gola di filiera [2-3], la capacità di formare un film adsorbito sul materiale trafilato in modo da esercitare un'azione protettiva anche ai fini dei processi di corrosione. Il film adsorbito inoltre deve poter essere rimosso facilmente per permettere successive lavorazioni del materiale. In questo lavoro sono stati analizzati cinque oli commerciali tra quelli di più largo uso per individuare i componenti che potrebbero essere attivi nel processo di inibizione della corrosione.

Parte sperimentale

Gli oli commerciali si presentano sotto forma di una emulsione fra una fase organica ed una acquosa. L'emulsione è stata risolta nelle due fasi mediante trattamento con acido (HCl o HNO₃ conc., 2 ml per 100 ml di emulsione) e successiva estrazione con CHCl₃ (100 ml di solvente per 100 ml di emulsione, 5 estrazioni).

La frazione solubile in cloroformio è stata così trattata: (1) evaporazione del solvente; (2) pesata del residuo e analisi; (3) separazione dei diversi componenti mediante cromatografia ascendente su strato sottile (TLC) su allumina neutra.

La frazione acquosa è stata portata a secco ed il residuo è stato pesato e, quindi, purificato mediante ricristallizzazione frazionata.

Le varie frazioni sono state sottoposte ad analisi CHN, IR, UV-Vis, NMR e gascromatografica. Per quest'ultima analisi gli acidi grassi presenti vennero preventivamente metilati in fiala chiusa con CH₃OH e H₂SO₄.

Risultati e Discussione

Gli oli lubrificanti per trafilatura esaminati in questo lavoro sono delle emulsioni stabili fra una fase acquosa ed una organica e possono essere distinti in due gruppi che differiscono, essenzialmente, per la proporzione fra le due fasi. Al primo gruppo appartengono quelli indicati con le lettere A, C, D ed E nei quali la fase organica rappresenta il 70% del peso totale; al secondo l'olio indicato con la lettera B nel quale la fase organica costituisce solo il 45% in peso.

L'analisi elementare degli estratti cloroformici indica che il rapporto atomico C:H è prossimo a 1:2; ciò costituisce una prima prova che i composti organici presenti sono essenzialmente molecole alifatiche a lunga catena.

L'analisi degli spettri IR fornisce le seguenti informazioni: 1) Dall'esame della regione 3050-2800 cm⁻¹, risulta evidente la presenza di gruppi -CH₃, -CH₂- e -CH= mentre sono assenti i segnali caratteristici dei composti aromatici. 2) I segnali presenti nelle regioni 3400-3100, 1650-1590 e a circa 1400 cm⁻¹ sono sensibili alla deuteroazione. Lo scambio isotopico provoca, nel campione A, lo spostamento dei segnali da 3358 e 3153 a 2494 e 2342 cm⁻¹ rispettivamente. L'entità di tale spostamento è quello previsto per i gruppi funzionali -OH e -OD (ν_{OH}/ν_{OD} teorico 1.35, trovato 1.36). La presenza di due diversi

segnali attribuibili alla vibrazione di stretching del gruppo funzionale -OH può essere dovuta alla presenza di legami ad idrogeno intermolecolari. 3) Nella regione $1350-1180\text{ cm}^{-1}$ è presente un gruppo di bande d'assorbimento caratteristico degli acidi grassi, ma scarsamente risolto (5 nei lubrificanti C ed E, 6 in tutti gli altri). Tale numero di bande è abbastanza indicativo della lunghezza della catena (4): infatti l'acido laurico (C12) presenta solo tre bande mentre nello spettro dell'acido eicosanoico (C21) ne sono presenti nove.

Gli acidi grassi che compongono la fase organica sono solo parzialmente esterificati. Ciò è dimostrato sia dalla titolazione degli acidi liberi che dalla presenza negli spettri IR delle risonanze dovute al gruppo funzionale -OH. Anche l'analisi degli spettri NMR conferma che la fase organica dei lubrificanti è essenzialmente costituita da acidi grassi. Dall'esame di tali spettri risulta che la glicerina è sostanzialmente assente. Per altro la risonanza a $3.60-3.66\text{ ppm}$, dovuta ai protoni del gruppo esterificante la funzione carbossilica, è un singoletto. Sembra dunque verosimile che nella miscela siano presenti esteri metilici degli acidi grassi. Negli spettri dei lubrificanti A, C, D ed E sono presenti dei segnali di media intensità a $3.25-3.29$, $3.85-3.87$ e $4.96-5.28\text{ ppm}$ che potrebbero essere attribuiti ai protoni di una ammina poliossidrilata. La trietanolamina (TEA) ha uno spettro $^1\text{H-NMR}$ abbastanza simile. L'eventuale presenza di una ammina poliossidrilata può essere stimata attorno al 5-6% del lubrificante. Nel lubrificante B sono anche presenti tracce di composti aromatici (risonanze a $7.36-7.39$ e a $7.84-7.87\text{ ppm}$).

Entrambi i lubrificanti A e B contengono derivati fosforici come risulta dalla presenza della banda caratteristica a 550 cm^{-1} negli spettri IR dei composti isolati dalla fase acquosa. Ciò è stato anche confermato da uno spettro $^{31}\text{P-NMR}$ su prodotti isolati dal lubrificante A: sono infatti risultati presenti sia esteri fosforici che una piccola quantità di acido fosforico libero. Il contenuto totale in fosforo in tale lubrificante è risultato dello 0.25% in peso. Anche il lubrificante B contiene prodotti ad elevata percentuale di fosforo; dalla fase acquosa è stato infatti isolato un precipitato di colore bianco in quantità corrispondente al 2.5-3.0% in peso del lubrificante tal quale; tale prodotto è verosimilmente costituito da sali di etilendiammonio di acidi polifosforici. Mediante TLC su allumina neutra gli estratti con CHCl_3 sono stati risolti in un minimo di 3 ed un massimo di 7 distinti componenti, a seconda dei diversi campioni esaminati. I dati $^1\text{H-NMR}$ e l'analisi CHN indicano che la frazione di testa del lubrificante B è una paraffina identificata come n-eptano. La sua concentrazione nel lubrificante B è di circa il 5.7%. L'analisi gas cromatografica ha consentito di individuare i diversi acidi grassi presenti ed ha messo in evidenza che la fase oleosa è essenzialmente costituita da acidi insaturi (oleico, linoleico e linolenico); la percentuale degli insaturi nella fase organica è risultata del 76% nel lubrificante A e dell'87% nel lubrificante B, con una forte prevalenza in entrambi di acido oleico.

Conclusioni

In questo lavoro sono stati caratterizzati analiticamente cinque oli lubrificanti per la trafilatura dei metalli. Si tratta di prodotti classificabili quali "emulsioni" fra una fase organica prevalentemente costituita da acidi grassi parzialmente esterificati e da una fase acquosa contenente esteri fosforici. L'emulsione è stabile nel tempo. I lubrificanti qui studiati possono essere distinti in due gruppi: A, C, D, E e B, per la differente proporzione fra le due fasi. Negli acidi grassi sono fortemente prevalenti i componenti insaturi e cioè acido oleico e linoleico insieme a modeste quantità di acido linolenico. Nel campione B sono presenti un 5-7% di paraffina insieme a tracce di composti aromatici e, verosimilmente, etilendiammina. La piccola quantità di azoto presente nel campione A può essere dovuta alla presenza di modeste quantità (4-5%) di un'ammina poliossidrilata, probabilmente trietanolamina.

[1] John A. Schey, "Triology in metalworking", Am.Soc. for metals, 1984

[2] G. Haemers and J. Mollet, *J.Elast. Plast.*, 10, 241 (1978)

[3] W.J. van Ooij, *Rubber Chem. Techn.*, 52 (3) 605 (1979)

[4] L.J. Bellamy, "The infrared spectra of complexes molecules", p.161 e seguenti, Methuen and Co. ed. London, 1966

ANALISI XPS DI LEGHE ANTIMONIO ZINCO.

D. Atzei, D. De Filippo, B. Elsener*, A. Rossi

Dipartimento di Chimica e Tecnologie Inorganiche e Metallorganiche, Università degli Studi di Cagliari - via Ospedale 72 - 09124 Cagliari (Italy).

*Institute of Materials Chemistry and Corrosion, Swiss Federal Institute of Technology, ETH Honggerberg, CH-8093 Zurich - Switzerland

Introduzione

L'analisi di superficie permette di ottenere informazioni sulla composizione, lo stato chimico degli elementi e lo spessore dei film sottili che si formano sulla superficie dei materiali. Le leghe Sb-Zn studiate in questo lavoro potrebbero essere utilizzate in alternativa all'ottone nella produzione di fili di acciaio rivestiti per pneumatici radiali [1]. In letteratura sono riportati risultati su Sb e Zn puri [2, 3], loro composti inorganici [2, 3] e leghe dello zinco [2] mentre non sono riportati risultati per leghe Sb-Zn. Lo scopo di questo studio era quello di mettere a punto un metodo di analisi di superficie per determinare la composizione e lo spessore del film superficiale di una serie di leghe Sb-Zn (5-25%).

Parte sperimentale

L'analisi XPS è stata effettuata con uno spettrometro ESCALAB MK II (VG Instr.) usando una sorgente di raggi-X MgK α (1253.6 eV) a 20 mA e 15 KV. L'abrasione ionica è stata effettuata con un cannone AG21 ($A_r = 10^4$ Pa).

La pressione residua nella camera d'analisi durante l'acquisizione dei dati sperimentali era inferiore a 5×10^{-7} Pa. Lo strumento era stato calibrato come riportato in [4]. Oltre alla scansione generale (0-1200 eV) vennero registrate anche le regioni ad alta risoluzione del Cls, Ols-Sb3d, Zn2p, ZnLMM. Per poter risolvere gli spettri XPS nelle loro componenti furono analizzati i seguenti standard [2]:

- ZnO (Alfa) e Sb₂O₃ (Carlo Erba RPE) in polvere analizzati sotto forma di pasticca montata sul portacampioni con scotch biadesivo.

-ZnO preparato a partire da zinco metallico pulito meccanicamente e ossidato all'aria in stufa a 373°K

- Zn: zinco metallico in fogli (Alfa) pulito meccanicamente fino ad 1 μ m ed eroso con ioni Ar⁺ e Sb antimonio metallico, tagliato dal materiale utilizzato per la fusione delle leghe.

Risultati e Discussione

I risultati dell'analisi XPS sono riassunti in tabella:

Materiale	Sb3d5/2	ΔE	rapporto	Zn2p	ZnLMM met	ZnLMM ox	Ols
Sb sputtered	528.0	9.4	1.5	-	-	-	-
Zn sputtered	-	-	-	1021.6	992.2	-	-
Sb ₂ O ₃ , polvere	530.4	9.4	1.5	-	-	-	530.9
ZnO, polvere	-	-	-	1021.8	988.4	-	530.9
SbZn sputtered	528.0	9.4	1.5	1021.7	991.5	-	-
SbZn mecc.pol.	528.1	9.4	1.5	1021.7	991.5	987.5	531.0

ed è in accordo sia con la bibliografia [3,5,6] sia con le sezioni d'urto teoriche [7]. Il segnale dell'antimonio dell'Sb₂O₃ ha mostrato un chemical shift pari a 2.4 eV in accordo con uno studio XPS su ossidi di antimonio [3]. Il problema della sovrapposizione dei segnali Sb3d5/2 (530.4 eV) e Ols (530.9 eV) è stato risolto con un programma di curve fitting che impone $\Delta E = 9.4$ eV e il rapporto tra le aree pari a 1.5. La distinzione tra zinco metallico e ossidato non è possibile sulla base del segnale

L'energia di legame del segnale Sb3d5/2 e la differenza di energia tra le due componenti Sb3d5/2 e 3d3/2 dell'antimonio puro dopo erosione ionica sono in ottimo accordo con la bibliografia [5], il rapporto tra le due aree è pari a 1.5

fotoelettronico Zn2p (chemical shift ca. 0.4 eV) pertanto si ricorre ai segnali Auger ZnLMM che mostrano invece un chemical shift di 3.8 eV [2]. Si è trovata una correlazione lineare tra le aree del segnale Zn2p e ZnLMM con un rapporto pari a 1.70 che permette di calcolare un "fattore di sensibilità interno" tra i due segnali.

Leghe SbZn

L'analisi XPS delle leghe SbZn dopo erosione ionica ha messo in evidenza che non c'è ossigeno disciolto nei campioni. L'energia di legame e il ΔE dell'Sb3d5/2 rimane costante e uguale a quello riportato in tabella. L'energia di legame del segnale Zn2p e di quello Auger ZnLMM rimangono ugualmente costanti per tutte le leghe.

L'analisi XPS dei campioni SbZn puliti meccanicamente mette in evidenza la presenza di Sb e Zn metallico e ossidato, il film di ossido è dunque inferiore a 5nm. Le energie di legame rilevate per le componenti metalliche (Sb e Zn) sono costanti e uguali a quelle trovate su campioni dopo erosione ionica (vedi tabella). L'energia di legame dell'Sb3d5/2 (ox), 530.4 eV, non varia con la composizione della lega. Dai dati ottenuti sullo standard e dalla bibliografia si può identificare lo stato chimico come Sb(III) [3]. La posizione del segnale O1s ottenuto dal curve fitting risulta costante a 530.9±0.2eV, l'FWHM di ca. 2.4 eV è maggiore di quella ottenuta per ZnO (1.8 eV) e suggerisce la presenza di O²⁻ e OH⁻ nel film formato dopo pulitura meccanica. I segnali ZnLMM (ox) delle leghe sono costanti a 987,6±0.2 eV e corrispondono allo Zn(II).

L'analisi quantitativa si basa sulle intensità integrate dei segnali Sb3d_{met} e Sb3d_{ox} e ZnLMM_{met} e ZnLMM_{ox}. La sezione d'urto del ZnLMM è stata calcolata dal valore di Scofield [7] corretto per il fattore di sensibilità sperimentale di 1.7. La composizione e lo spessore del film viene calcolata con un modello a tre strati [8], tenendo conto anche della contaminazione. L'analisi quantitativa per i campioni dopo erosione ionica è in ottimo accordo con la concentrazione di zinco nominale. Per i campioni puliti meccanicamente si nota un arricchimento di zinco ossidato nel film di ossido, la lega sotto il film (interfaccia) è invece depauperata di zinco rispetto alla concentrazione nominale.

Conclusioni

E' stato messo a punto un metodo di analisi qualitativa e quantitativa per le leghe Sb-Zn, che ha risolto sia i problemi della distinzione Zn_{met} e Zn_{ox} sia la sovrapposizione dei segnali Sb3d5/2 e O1s. L'analisi qualitativa mostra che lo stato chimico dell'Sb nel film di ossido è Sb(III), quello dello zinco Zn(II), e non si ha variazione con la composizione della lega. L'analisi quantitativa dei campioni che sono stati erosi è in ottimo accordo con la composizione nominale. I campioni puliti meccanicamente mostrano un arricchimento di Zn(II) nel film di ossido, la lega sotto il film è depauperata di zinco. Lo zinco viene ossidato preferenzialmente.

[1] D. Atzei, D. De Filippo and A. Rossi, Brevetto CNR (1995) - 00962421004

[2] D.De Filippo, A.Rossi, XI Congresso Nazionale di Chimica Analitica, Chia Laguna (Domus De Maria (Ca)) Settembre 1994.

[3] F.Garbassi, *Surface Interface Analysis*, 2,165 (1980)

[4] M.Seah, *Surf.Interf. Anal.*, 14 488 (1989).

[5] T. Birchall, J.A. Connor and I.H. Hillies, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2003, 1975.

[6] A.F.Orchard and G.Thornton, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1238 (1977).

[7] J.H.Scofield, *J. Electron Spectroscopy Relat. Phenom.*, 8,129 (1976).

[8] D.De Filippo, A.Rossi, B.Elsener, S. Virtanen, *Surf. Interf. Anal.*, 15, 668 (1990).

DETERMINAZIONE DI TRACCE DI FENOLI NELLE ACQUE MEDIANTE ACETILAZIONE DIRETTA E DISCHI DI ESTRAZIONE SU FASE SOLIDA

Bao Min-liang*, K. Barbieri**, D. Burrini**, O. Griffini** e F. Pantani*

* Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale, Università di Firenze.

** Laboratorio chimico-biologico dell'Acquedotto, Comune di Firenze.

La contaminazione delle acque, sia superficiali che del sottosuolo utilizzate per approvvigionamento idropotabile, da parte di composti fenolici originati da attività antropiche sta assumendo una sempre maggiore importanza ai fini della salvaguardia ambientale. Risulta quindi del massimo interesse il monitoraggio di queste sostanze che, pur in tracce, risultano spesso di elevata tossicità e comunque conferiscono alle acque sgradevoli odori e sapori. Ai livelli in cui i fenoli si ritrovano nelle acque si rende necessaria una pre-concentrazione prima della determinazione vera e propria. L'alta solubilità dei fenoli in acqua rende difficoltosa una loro estrazione diretta dal mezzo acquoso mediante estrazione liquido-liquido (LLE) o su fase solida (SPE) con cartucce di silice C_{18} o C_8 e resine XAD. Viene perciò indicata una previa derivatizzazione allo scopo di migliorare l'efficienza della estrazione e il responso cromatografico.

Per una estrazione su fase solida di composti organici da varie matrici sono stati di recente introdotti dischi di estrazione a membrana consistenti in particelle di silice alchil-modificate. Le peculiari caratteristiche di tali dischi li rendono preferibili alle usuali cartucce. Nel presente lavoro è stato messo a punto un metodo adatto alla determinazione di routine per 40 fenoli, inclusi anche alogeno- e nitro-fenoli. Il metodo poggia sulla diretta acetilazione del fenolo in acqua mediante anidride acetica, la successiva estrazione con dischi SPE e la determinazione mediante gas cromatografia / spettrometria di massa a trappola ionica (GC/ITD-MS).

Particolare cura è richiesta nella preparazione del campione. Operando con adatta workstation e utilizzando dischi di silice C_{18} o C_8 di 47 mm, sei campioni di 1 litro ciascuno dei fenoli acetilati possono essere estratti e concentrati contemporaneamente in un'ora e mezza. I risultati hanno indicato la scarsa possibilità di ritenzione su dischi C_8 , mentre impiegando i dischi C_{18} si sono ottenuti recuperi sempre superiori a 80 % ai livelli da 0,1 a 1 $\mu\text{g/l}$ di alchil-, alogeno- e nitro-fenoli, con l'unica eccezione del fenolo, recuperabile solo per circa il 50 %. L'aggiunta di sale alla soluzione acquosa fa aumentare notevolmente l'efficienza di estrazione, in particolare per fenolo e nitro-fenoli. In paragone con gli usuali metodi di estrazione (LLE o cartucce SPE) l'impiego della estrazione su fase solida mediante dischi C_{18} comporta una efficienza di estrazione sicuramente comparabile, ma una abbreviazione del tempo necessario di ben cinque volte. Utilizzando la tecnica GC/ITD-MS, sensibile e selettiva anche se di costo relativamente moderato, i limiti di rivelabilità sono stati ritrovati nel campo da 0,5 a 5 ng/l per il fenolo, gli alchil-fenoli e i fenoli alogenati, intorno ai 20 ng/l per i nitro-fenoli.

Il metodo messo a punto è stato sperimentato per analisi di acque potabili, acque superficiali e acque di scarico. I risultati mostrano che il metodo stesso appare adatto per analisi routinarie di fenoli a livello di tracce nei vari tipi di acque.

PARAGONE TRA IL METODO GASCROMATOGRAFICO EPA 515.1 MODIFICATO E QUELLO PER CROMATOGRAFIA LIQUIDA NELL'ANALISI DI PESTICIDI ACIDI IN ACQUA.

A. Berloni, P. Palma e F. Bruner

Centro di studi per la Chimica dell'Ambiente e le tecnologie strumentali avanzate c/o Istituto di Scienze Chimiche dell'Università degli studi di Urbino,

Piazza Rinascimento, 6 - 61029 Urbino ITALY tel. (0722) 4164 Fax (0722) 2754

La determinazione dei pesticidi clorurati acidi in acqua viene condotta, secondo il metodo ufficiale EPA 515.1, per via gas cromatografica utilizzando come modalità di preparazione del campione l'estrazione liquido-liquido. Le sostanze in esame, prima di essere iniettate, vengono derivatizzate con il diazometano quale agente metilante, e successivamente analizzate con un rivelatore a cattura di elettroni.

L'estrazione liquido-liquido viene sostituita per maggiore praticità e migliore resa di recupero del campione, in un sempre maggiore numero di casi dall'estrazione liquido-solido (SPE).

In questo lavoro è stata messa a punto una modifica del sistema ufficiale di analisi sostituendo all'estrazione liquido-liquido quella solido-liquido, eliminando in tal modo, o quantomeno riducendo, l'elevato consumo di solventi tossici e l'inevitabile perdita di campione dovuta a laboriosi processi di preconcentrazione. Recentemente, per i pesticidi non volatili, l'analisi GC o GC-MS è stata sostituita da quella LC (1,2,3)-LC-MS (4,5). In particolare buoni risultati sono stati ottenuti con il nostro gruppo in LC-MS utilizzando l'interfaccia "particle beam". E' stata quindi effettuata un'indagine comparativa tra i risultati ottenuti con il metodo ufficiale modificato come detto e quelli ottenuti con la stessa modalità di preparazione del campione, utilizzando come sistema cromatografico l'HPLC e l'HPLC-MS. Dall'analisi dei dati raccolti su campioni di acqua inquinata artificialmente è emerso che, indipendentemente dal sistema di analisi impiegato, le percentuali di recupero e le relative deviazioni standard sono migliori di quelle ottenute seguendo "in toto" la procedura ufficiale, con i vantaggi prima descritti.

1) Di Corcia A.; Marchetti M. *Anal. Chem.* 1991, 63, 580

2) Mangani F.; Crescentini G.; Palma P.; Bruner F. J.; *Chromatogr.* 1988, 452,

3) Mangani F.; Crescentini G.; Bruner F. *Anal. Chem.* 1981, 53, 1627

4) Cappiello A.; Famigliani G.; Bruner F. *Anal. Chem.* 1994, 66, 1416

5) Cappiello A.; Famigliani G.; Palma P.; Berloni A.; Bruner F. *Environ. Sci. Technol.* in press

SVILUPPO DI UNA APPARECCHIATURA PER MISURE DI FLUORESCENZA X IN REGIME DI RIFLESSIONE TOTALE BASATA SU UN ANODO ROTANTE DI 18KW DI POTENZA.

Mario Berrettoni#, Silvia Zamponi*, Silverio Sconocchia*, Roberto Marassi*
Dipartimento di Matematica e Fisica, Università di Camerino - Camerino, Italia
*Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Camerino - Camerino, Italia

La spettroscopia di fluorescenza X in regime di riflessione totale (TXRF) è una potente tecnica analitica che permette di determinare simultaneamente la concentrazione di più elementi al livello dei ppb con una sola esperienza della durata di circa 3000 secondi [1]. La TXRF differisce dalla più nota fluorescenza X a dispersione di energia per l'angolo di incidenza del fascio primario sul campione. In TXRF il fascio primario colpisce il campione con un angolo minore dell'angolo critico θ_c . Quando un fotone X colpisce il campione con un angolo minore di θ_c la sua penetrazione nel substrato diventa infinitesima e questo causa la totale assenza di background nel segnale di fluorescenza con un notevole aumento dei limiti di rilevabilità. Il segnale di fluorescenza aumenta anche a causa dell'instaurarsi di una onda stazionaria alla superficie del campione. Questa tecnica si applica a campioni costituiti da pochi μl di soluzione o da pochi μg e può essere utilizzata sui campioni nativi senza alcun trattamento, come nel caso di acque piovane o, dopo opportune manipolazioni, a tutta una serie di campioni quali i pigmenti di vernice di pitture, film sottili depositati su vari substrati, wafer di silicio per l'industria elettronica, sezioni di materiale biologico.

Noi abbiamo elaborato in collaborazione con l'Assing e la Forestal un manipolatore con tre gradi di libertà e una risoluzione angolare di 0.05" di arco. Come radiazione eccitante si è usata la $L\alpha_1$ dell'oro generata da un anodo rotante a 20 kV e 100 mA. La radiazione è stata monocromatizzata mediante un cristallo piano di Si(220) montato su di un cerchio di Rowland del diametro di 320 mm. L'affidabilità del manipolatore è stata verificata misurando la rocking curve di un cristallo singolo di Si (111).

La Fig. 1 mostra spettri di un campione costituito da 5 μg di Fe e 5 μg di Ni depositati su un substrato

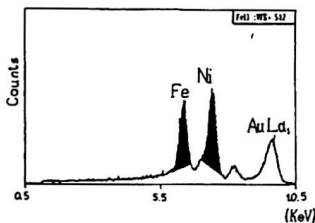


Fig.1
Spettro di fluorescenza in dispersione di energia in regime di riflessione totale.

di plexiglass su un'area di 0.5 cm^2 con un tempo di accumulo di 600 s. In Fig. 2 è mostrata l'area del picco di fluorescenza del ferro in funzione dell'angolo di incidenza.

L'andamento segue la prevista curva di efficienza della fluorescenza in regime di riflessione totale. L'ampio intervallo di θ per cui si osserva aumento del segnale è dovuto al non perfetto allineamento rispetto al fascio primario che incide su parti diverse del campione sempre al di sotto dell'angolo critico.

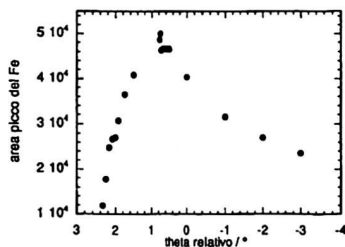


Fig.2
Area del picco di fluorescenza del ferro in funzione dell'angolo di incidenza del fascio primario X.

[1] R. Klockenkämper, J. Lnoth, A. Prange, and H. Schwenke, Anal. Chem. 64 115A (1992)

CABOSSILATI DI ALLUMINIO IN SOLUZIONE ACQUOSA. STUDIO DEL SISTEMA $Al(III)/N$ -2-IDROSSIETILIMMINODIACETATO/ H_2O MEDIANTE TECNICHE POTENZIOMETRICHE E SPETTROSCOPICHE

G. Giorgio Bombi e Andrea Tapparo

Università degli Studi di Padova Dipartimento di Chimica Inorganica Metallorganica ed Analitica
via Marzolo 1, 35131 Padova, tel. 049.8275219, fax 049.8275161.

Nel corso dell'ultimo decennio una notevole attività scientifica si è concentrata sulla biologia dell'alluminio, con l'obiettivo di studiare i meccanismi cellulari e molecolari attraverso i quali il metallo svolge la sua azione tossica. I risultati fin qui ottenuti, seppur importanti, non possono certo essere considerati soddisfacenti e ciò è anche ragionevolmente in relazione al fatto che lo sviluppo di adeguati modelli tossicologici è strettamente vincolato alla disponibilità di dati termodinamici e cinetici che consentano di definire la corretta speciazione dell'alluminio nelle particolari condizioni sperimentali adottate.

Il nostro gruppo di ricerca è da tempo impegnato in questo settore avendo realizzato studi di speciazione dell'alluminio in soluzioni acquose contenenti leganti di interesse biologico ed ambientale, mediante l'utilizzo di tecniche spettroscopiche (IR ed NMR) e, più limitatamente, potenziometriche (1).

Il presente lavoro nasce nell'ambito di un progetto di collaborazione con alcuni ricercatori della University of East-Anglia (U.K.) dove studi cristallografici e spettroscopici (2) sul sistema $Al(III)/N$ -2-idrossietiliminodiacetato/ H_2O avevano messo in evidenza la presenza in soluzione acquosa, soprattutto in prossimità della neutralità, di alcune specie significative non prevedibili sulla base dei dati termodinamici disponibili in letteratura (3).

Il sistema è stato pertanto studiato potenziometricamente in un intervallo di pH significativamente ampio (compreso fra 2 e 9) e adottando dei tempi relativamente lunghi per consentire il raggiungimento delle condizioni di equilibrio dopo ogni aggiunta di titolante (fino a 6 minuti). Ciò è stato reso possibile anche grazie alla messa a punto di un sistema automatico di controllo del titolatore e relativa acquisizione dei dati potenziometrici.

L'esame dei risultati ha consentito di identificare la presenza in soluzione (con conseguente determinazione della costante di formazione) di specie mononucleari a stechiometria 1:1, nonché di ipotizzare la formazione di alcune specie polinucleari, che ben si accordano con i dati spettroscopici precedentemente acquisiti.

1. B. Corain, A.A. Sheikh-Osman, R. Bertani, A. Tapparo, P.F. Zatta and G.G. Bombi. The aqueous solution state of α -hydroxocaroxylate complexes of aluminium(III): an IR and NMR approach. *Life Chem. Rep.*, 11 (1994) 103-109.
2. P.A. Jordan, N.J. Clayden, S.L. Heath, G.R. Moore, A.K. Powell and A. Tapparo. Defining speciation profile of Al^{3+} complexed with small organic ligands: the Al^{3+} Heidi system. *Coord. Chem. Rev.*, 151(1996) 00.
3. A. Napoli. Aluminum complexes of some N-substituted iminodiacetic acids. *Ann. Chim. (Rome)*, 74 (1984) 699-703.

APPLICAZIONI DI COLONNE CAPILLARI DEL TIPO GLOT (GRAPHITE LAYER OPEN TUBULAR) ALL'ANALISI AMBIENTALE.

F. Bruner, L. Lattanzi, P. Borghesi*

Centro di studio per la Chimica dell'Ambiente e le tecnologie strumentali avanzate clo Istituto di Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Urbino, Piazza Rinascimento 6 61029 Urbino ITALY
Tel. (0722) 4164 Fax (0722) 2754

* Centro Ricerche e Sviluppo Enichem Elastomeri Via Baiona 107111 Ravenna ITALY

Analisi di acque reflue

Nell'ambito delle tecniche analitiche per i microinquinanti organici, uno dei principali problemi è costituito dalla possibilità di effettuare analisi gascromatografiche dirette di campioni in matrici acquose, in particolare dei composti meno volatili.

L'impiego di colonne GLOT (Graphite Layer Open Tubular) per gascromatografia, consente di superare tale problema, in virtù della particolare natura della fase stazionaria impiegata, costituita da carbone grafitato ed idonee quantità di fasi liquide polari. La possibilità di variare il tipo di carbone e di fase liquida, che richiede una tecnologia alquanto complessa (1), permette di ampliare il loro campo di applicazione, relativamente al peso molecolare ed alla polarità delle sostanze che possono essere analizzate. Viene riportata l'analisi di acque reflue provenienti da impianti industriali di uno stabilimento chimico prima del trattamento di depurazione, a tale riguardo è stato eseguito uno studio comparativo di colonne GLOT e colonne capillari tradizionali operanti con fasi liquide, per ciò che concerne la stabilità dei due tipi di colonne in seguito a ripetute iniezioni di campioni acquosi.

Analisi BTX ed idrocarburi

Altro importante vantaggio delle colonne GLOT è insito nella tecnica cromatografica gas-liquido-solido (GLSC), della quale tali colonne si avvalgono, che consente di ottenere prestazioni ottimali in termini di efficienza e selettività (2-3); questo è di fondamentale importanza al fine di risolvere particolari problemi analitici relativi alla separazione dei componenti di miscele complesse e/o isomeri, con tempi di analisi molto rapidi (4).

A dimostrazione di questo fatto vengono riportate alcune applicazioni, come ad esempio l'analisi di una miscela di solventi polari, la separazioni di idrocarburi e BTX, sostanze che rivestono una particolare importanza nel monitoraggio dell'aria negli ambienti di lavoro.

Colonne GLOT in alluminio per analisi di ammine

Un'altra caratteristica peculiare delle colonne GLOT è di consentire l'eluizione lineare di composti polari; a tale scopo è stata effettuata un'analisi di alcune ammine alifatiche. Per questa particolare applicazione sono state impiegate colonne capillari (GLOT) in quarzo ricoperto da alluminio, il quale conferisce una maggiore resistenza meccanica, fattore importante al fine di evitare i danni provocati dai necessari trattamenti con soluzioni basiche della superficie interna delle colonne (5).

Infatti, le tradizionali colonne capillari in silice fusa ricoperta da polimide, sottoposte agli stessi trattamenti, mostrano gravi problemi di fragilità e sono quindi inutilizzabili.

1) F. Bruner, L. Lattanzi, Mangani, M. Attaran Rezaei *Chromatographia* 38, 98 (1994)

2) F. Bruner, P. Ciccioli, G. Crescentini, M. T. Pistolesi *Anal. Chem.* 45, 1851 (1973)

3) A. Di Corcia, A. Liberti *Advances in Chromatography* 14, 305 (1976)

4) L. Lattanzi, M. Attaran Rezaei *Chromatographia* 38, 114 (1994)

5) F. Bruner, L. Lattanzi, M. Attaran Rezaei *Chromatographia* (in corso di stampa)

VALUTAZIONE COMPARATIVA DI TENAX E CARBONE GRAFITATO PER IL CAMPIONAMENTO DI SOSTANZE ORGANICHE VOLATILI IN AMBIENTI DI LAVORO.

F. Bruner, A. R. Mastrogiacomo, E. Pierini, L. Sampaolo.

Centro di studio per la Chimica dell' Ambiente e le tecnologie strumentali avanzate c/o Istituto di Scienze Chimiche della Università degli Studi di Urbino

Piazza Rinascimento, 6 - 61029 Urbino Tel. (0722) 4164 - Fax (0722) 2754

Lo scopo del lavoro è quello di valutare le prestazioni di alcuni tipi di adsorbenti basati su neri di carbone grafitato (1) e polimeri porosi del 2,6 difenil-p-fenilene ossido (2) utilizzati nel campionamento di sostanze organiche volatili presenti negli ambienti di lavoro (3).

Questa ricerca è stata svolta nel quadro di una collaborazione (interlaborating comparison) fra 12 laboratori europei nel quadro di programmi di ricerca CEE.

La valutazione è stata effettuata su una lista di 12 composti rappresentativi delle principali classi di sostanze organiche.

Gli adsorbenti esaminati sono stati: Tenax TA, Tenax GR e tra i carboni grafitati il Carbpac B, il Carbotrap e il Carbograph. La valutazione è stata condotta esaminando il break-through volume (BTV) di ciascun composto per ogni adsorbente, calcolato sia con il metodo GC che con il metodo diretto (4-6). Nel metodo GC il BTV è stato determinato come volume di ritenzione dei vari composti utilizzando una colonna in vetro, 1m x 2 mm i.d. o 12 cm x 2 mm i.d. per i composti più pesanti, impaccata con l'adsorbente.

Il BTV è stato misurato anche con il metodo diretto, facendo passare un'atmosfera standard di composti organici, ottenuta mediante tubi di permeazione (5), attraverso un tubo di vetro metallo (12cm x2mm i.d.) contenente l'adsorbente e monitorando l'effluente con un FID.

Sono stati inoltre valutati i recuperi per desorbimento termico ottenuti utilizzando il desorbitor Thermal Tube Desorber 890 (prodotto da Dynatherm Analytical Instruments, Inc. per Supelco Inc., Bellefonte, Pa) collegato con il gas cromatografo. Sia il Tenax che il Carbone grafitato si sono dimostrati inadeguati per quel che riguarda il recupero dei composti più leggeri.

Allo scopo di ottenere una trappola valida per campionare contemporaneamente sostanze organiche di diversa volatilità e polarità si è testata una trappola multistrato contenente Tenax TA, Carbpac B e Carbograph 5. Quest'ultimo è un carbone grafitato con una superficie molto elevata (circa 560 m²/g), attualmente oggetto di studio nel nostro laboratorio. Le sue caratteristiche sono discusse in un'altra comunicazione presentata dal nostro gruppo di ricerca a questo congresso. I risultati sperimentali hanno dimostrato la validità e l'efficienza di tale trappola rispetto ai singoli adsorbenti con recuperi intorno al 100% e DSR del 2-3%, allargando così la possibilità di adsorbire un numero più elevato di sostanze di differente struttura chimica e peso molecolare.

1) F. Bruner in: *Theoretical Advancement in Chromatography and Related Separation Techniques*, eds. F. Dondi and Guiochon ASI-C 383 (p. 369-395)

2) B. Versino, M. de Groot and F. Gliss: *Report of the COST Project 64 B*, European Community, Brussels, 1975

3) F. Bruner, F. Mangani, A.R. Mastrogiacomo, E. Pierini, L. Sampaolo. XI Congresso nazionale di Chimica Analitica Cagliari, 12-16 settembre, 1994

4) P. Cicciole, G. Bertoni, E. Brancaloneoni, R. Fratarcangeli and F. Bruner, *J. Chromatogr.*, 126, 757, (1976)

5) G. Bertoni, F. Bruner, A. Liberti and C. Perrino; *J. Chromatogr.*, 203, 263, (1981)

6) R H. Brown and C. J. Purnell, *J. Chromatogr.*, 178, 79, (1979)

VALUTAZIONE DI UN NUOVO TIPO DI NERO DI CARBONE GRAFITATO PER IL CAMPIONAMENTO DI COMPOSTI ORGANICI BASSO-BOLLENTI.

F. Bruner, A. R. Mastrogiacomo.

Centro di studio per la Chimica dell' Ambiente e le tecnologie strumentali avanzate clo Istituto di Scienze Chimiche dell' Università degli Studi di Urbino

Piazza Rinascimento, 6 61029 Urbino - Tel. (0722) 4164 - Fax (0722) 2754

Un nuovo tipo di nero di carbone grafitato (560 m²/g) chiamato "Carbograph 5" è stato testato.

La capacità da parte di questo carbone di trattenere composti di diversa volatilità e polarità, ci fa pensare che potrebbe sostituire con maggiori vantaggi i materiali usati finora per questo scopo come il Carbosieve e il Carbone attivo. Quest'ultimo in particolare ha un alto potere adsorbente e il desorbimento viene effettuato mediante dibattimento del carbone attivo con un adatto solvente che, nella maggioranza dei casi, è il solfuro di carbonio. Tale metodo presenta il vantaggio di poter ripetere l'analisi dello stesso campione più volte. Esso presenta però alcuni inconvenienti dovuti sia alla natura dell'adsorbente che al metodo di estrazione. Infatti le sostanze molto volatili come il cloruro di vinile monomero, vengono coperte dal solvente su quasi tutte le colonne cromatografiche. Inoltre le sostanze volatili possono evaporare durante il processo di estrazione, mentre altre possono essere così fortemente adsorbite da non essere estratte dal solvente.(1)

L'impiego invece del "Carbograph 5", che è un nero di carbone grafitato, permette il rilascio delle sostanze adsorbite usando la tecnica del desorbimento termico che, per l'assenza nel cromatogramma del fronte del solvente, consente di visualizzare una più vasta gamma di sostanze.

Dati sperimentali hanno dimostrato che non si verifica decomposizione per il cloruro di vinile e per altri composti organici volatili.

L'acqua è poco trattenuta e non influenza i tempi di ritenzione di una miscela iniettata prima e dopo di essa in una colonna impaccata con "Carbograph 5".

La valutazione di questo adsorbente è stata effettuata mediante misure di BTV (break-through volume) calcolato con metodo diretto e indiretto (2-4) e desorbimento termico espresso in percentuale di recupero usando una trappola di vetro (11 cm x 3 mm i.d., 6 e.d.) contenente 300 mg di carbone.

Campionando, inoltre, con questo adsorbente una miscela contenente sostanze basso e alto bollenti si è visto che, nonostante la grande area superficiale non ci sono adsorbimenti irreversibili, perchè tutti i componenti della miscela sono stati rilasciati dopo il desorbimento termico.

1) F. Bruner, G. Bertoni and A. Brachetti Comunicazione presentata alla "Giornata di studio sugli inquinamenti atmosferici" Padova 17 Aprile 1978. Atti Convegno, Ed. Fiera di Padova, Sett. 1978, pp.83-96

2) P. Ciccioioli, G. Bertoni, E. Brancaleoni, R. Fratarcangeli and F. Bruner, J. Chromatogr., 126, 757, (1976)

3) G. Bertoni, F. Bruner, A. Liberti and C. Perrino; J. Chromatogr., 203, 263, (1981)

4) R.H. Brown and C. J. Purnell, J. Chromatogr., 178, 79, (1979)

UNA SEMPLICE METODOLOGIA DI CAMPIONAMENTO E ANALISI DI CFC NELL'ATMOSFERA DI ZONE REMOTE. DATI RECENTI RELATIVI A CAMPIONI PROVENIENTI DA BAIÀ TERRA NOVA (ANTARTIDE).

F. Bruner, M. Maione e F. Mangani

Centro di Studio per la Chimica dell'Ambiente e le Tecnologie Strumentali Avanzate presso l'Istituto di Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Urbino Piazza Rinascimento 6, 61029 Urbino

Vengono presentati i dati relativi alla concentrazione atmosferica di alcuni idrocarburi clorurati a basso peso molecolare ($C_1 - C_2$), di origine esclusivamente antropica, in campioni di aria prelevati in Antartide. I campioni sono stati prelevati utilizzando canister di acciaio inossidabile ed analizzati in gas cromatografia con rivelazione a cattura di elettroni. La grande sensibilità di questo tipo di rivelatore nei riguardi dei composti alogenati consente di poter effettuare un'analisi quantitativa dei composti di interesse, anche se presenti a livelli di concentrazione nell'ordine delle ppt, iniettando piccoli volumi di aria direttamente in colonna, senza ricorrere a nessuna tecnica di preconcentrazione.

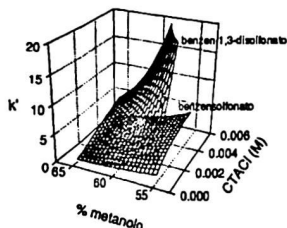
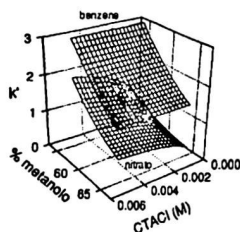
Tali dati vengono inoltre confrontati con quelli ottenuti nelle precedenti campagne antartiche (1-5). L'importanza di questi dati è in relazione al duplice ruolo rivestito da tali composti in problematiche di contaminazione ambientale globale.

1. G. Crescentini, M. Maione and F. Bruner, *Ann. Chim. (Rome)*, 81, 491-501 (1991)
2. G. Crescentini, M. Maione, F. Mangani, E. Sisti and F. Bruner, *Italian Research on Antarctic Atmosphere (3rd Workshop Porano, October 1990, Conference Proceedings, M. Colacino, G. Giovannelli and L. Stefanutti, Eds., Bologna, Italy 1992) pp 91-98.*
3. G. Crescentini, M. Maione and F. Bruner, *Italian Research on Antarctic Atmosphere, (4th Workshop Porano, October 1991, Conference Proceedings, M. Colacino, G. Giovannelli and L. Stefanutti, Eds., Bologna, Italy 1992, pp 205-213.*
4. F. Bruner, G. Crescentini M. Maione and F. Mangani, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 55, 311-318 (1994).
5. F. Bruner, M. Maione and F. Mangani, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* in press.

ELABORAZIONE DI UN MODELLO DI RITENZIONE PER ANALITI A DIVERSA CARICA IN CROMATOGRAFIA DI INTERAZIONE IONICA

Maria Concetta Bruzzoniti, Edoardo Mentasti, Giovanni Sacchero, Corrado Sarzanini
Università di Torino, Dipartimento di Chimica Analitica via P. Giuria 5, 10125 Torino.

Le teorie in grado di descrivere quantitativamente il comportamento cromatografico degli analiti in cromatografia ad interazione ionica includono approcci termodinamici [1,2] e stechiometrici [3,4]. I due metodi in realtà non sono in contrasto fra loro, in quanto i modelli stechiometrici, basati su equilibri di adsorbimento e di scambio ionico, utilizzano costanti di equilibrio che rappresentano e includono parametri termodinamici quali energia libera di adsorbimento delle molecole sulla fase stazionaria e il potenziale elettrostatico di superficie. In questo lavoro è stato elaborato un modello teorico per l'interpretazione del comportamento cromatografico di analiti a diversa carica in cromatografia ad interazione ionica. Il modello è stato derivato considerando il meccanismo di ritenzione come risultato di diversi



equilibri (di adsorbimento e di scambio ionico), utilizzando la definizione di capacità della colonna [4] e tenendo conto della possibile formazione, in fase stazionaria, di coppie ioniche cariche e neutre. L'equazione sviluppata presenta validità generale nell'applicazione e nella previsione del comportamento cromatografico di analiti a carica diversa (0, +1, -2, -1). Tale equazione descrive l'effetto delle concentrazioni del reagente di interazione ionica, del controione e del modificante organico in fase mobile sui fattori di capacità (k'). Il modello di ritenzione, già applicato al comportamento cromatografico di complessi (a carica -1 e -2) di ioni metallici con leganti azosolfonati [5], è stato esteso alla descrizione e alla previsione dei dati cromatografici di diverse classi di analiti: composti anionici inorganici (ione nitrito), organici (acidi benzeno e 4-toluensolfonico, 1-naftalensolfonico, 2-naftalensolfonico, 1,3-benzendisolfonico e 1,5-naftalendisolfonico), neutri (benzene e naftalene) e cationici (ione benzildimetil-esadecilammonio). L'equazione proposta è stata applicata ad un set di dati sperimentali (sono state studiate 23 diverse composizioni di eluente per ciascun analita) ottenuti in seguito a separazione, su colonna ottica a base silicea, utilizzando una fase mobile contenente cetiltrimetilammonio cloruro (CTACl) come

reagente di interazione ionica, cloruro (da NaCl) come controione e metanolo come modificante organico. Il disegno di esperimenti è stato programmato in modo da descrivere il comportamento cromatografico delle specie considerate in uno spazio multidimensionale (k' versus concentrazioni di CTACl, CH_3OH e NaCl). Le costanti di adsorbimento e di scambio ionico sono state calcolate, mediante calcolatore, utilizzando un metodo di regressione non lineare. L'errore medio tra i valori di k' sperimentali e calcolati applicando l'equazione proposta è del 13%; tale valore, confrontato con l'errore sperimentale (circa 5%), conferma l'applicabilità e la generalità dell'equazione sviluppata.

[1] J. Stahlberg *J. Chromatogr.*, 356 (1986) 231

[2] J. Stahlberg, A. Furang *Chromatographia*, 24 (1987) 783.

[3] Z. Iskandarani, D. J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, 54 (1982) 1065.

[4] Q. Xianren, W. Baeyens, *J. Chromatogr.*, 456 (1988) 267.

[5] O. Abollino, M. C. Bruzzoniti, E. Mentasti, G. Sacchero, C. Sarzanini, *Atti del Convegno HPLC '95, Innsbruck, Austria*, 28 Maggio-2 Giugno 1995, p. 267 (I).

ELETTROFORESI IN AMBIENTE STABILIZZATO PER LO STUDIO DI METALLI IN MATRICI SOLIDE

L. Campanella, C. Maggi, B.M. Petronio, A. Pupella

Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza" piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma

L'attenzione che si concentra sui metalli ed i loro composti, per gli effetti che il loro smaltimento produce sull'ambiente, è in continuo aumento anche in relazione al fatto che tali composti sono sempre più presenti nei processi industriali.

I problemi derivanti dalla presenza di metalli pesanti nell'ambiente sono sostanzialmente due: l'accumulo di composti tossici nei biosistemi ambientali ed il pericolo che da questi essi possano trasferirsi nella catena alimentare. I processi di trasporto e trasferimento possono avvenire con meccanismi diversi ed in entità differente a seconda della speciazione chimica dei metalli che riveste, quindi, un ruolo di fondamentale importanza per qualsiasi tipo di valutazione.

I metodi classici di studio per la valutazione della speciazione dei metalli si basano su comportamenti selettivi chimico-fisici (elettroattività, processi di membrana, solubilità).

In questo lavoro viene proposto un metodo alternativo da applicarsi a matrici solide (fanghi, terreni, sedimenti), basato sull'elettroforesi in ambiente stabilizzato, che utilizza come supporto inerte il campione stesso e che consente di identificare le varie forme presenti sulla base della carica e della mobilità elettroforetica, senza turbare lo stato del sistema in esame.

Ad una carota di campione, imbibita con un elettrolita inerte (KNO_3), viene applicato un campo elettrico, dopo processo elettroforetico, la carota viene frazionata in diverse zone (anodiche-catodiche). La quantità di metallo presente in ciascuna di esse è determinata mediante assorbimento atomico.

L'incremento o il decremento delle varie zone, confrontato con un campione al quale non è stato applicato il campo elettrico, permette di ottenere informazioni sulla natura della carica delle specie mobili che predominano e sulla mobilità del metallo stesso.

In base alle variazioni di pH che si verificano lungo la carota di campione si possono ottenere informazioni relative alla capacità tamponante del sistema in esame e all'effetto del pH sulla mobilità dei metalli.

Inoltre, caricando la carota prima del processo elettroforetico con una soluzione di metallo libero, è possibile studiare il ruolo che la matrice ha nei confronti di metalli provenienti da ambienti inquinati.

NUOVO METODO PER LA DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' ENZIMATICA DELL'ARGININOSUCCINATO LIASI MEDIANTE HPLC

S. Canepari, V. Carunchio, A.M. Girelli e A. Messina

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

L'argininosuccinato liasi (ASAL) è l'enzima che catalizza la scissione dell'L-argininosuccinato in L-arginina e fumarato.

La misura della sua attività rappresenta un indice altamente significativo nella diagnostica di alcune malattie epatocellulari ed è di gran lunga più specifico di altri parametri.(1) Attualmente però, la limitata affidabilità dei metodi analitici noti (2,3) non facilita il ricorso verso la richiesta di tale analisi nella fase della costruzione della diagnosi. Rappresenta quindi un significativo progresso la realizzazione di un nuovo metodo HPLC per la determinazione dell'attività enzimatica dell'ASAL nel siero, che oltre ad essere affidabile, risponda anche a caratteristiche di semplicità nella fase applicativa.

Il metodo proposto mediante HPLC si basa sulla determinazione diretta di uno dei due prodotti della reazione enzimatica, il fumarato, consentendo così di evitare procedimenti lunghi ed elaborati, oltre che permettere di individuare eventuali errori dovuti a reazioni secondarie. Il metodo risulta essere dotato di elevata precisione (RSD=2% a 20 U/L, RSD=4% a 1 U/L), ed è caratterizzato da elevata sensibilità tanto da permettere la determinazione delle variazioni di concentrazione di substrato e/o di prodotto dell'ordine di picomoli.

Il confronto tra il metodo HPLC e quello spettrofotometrico (3) verificato su campioni di siero mette in evidenza i vantaggi del primo ai fini del significato diagnostico, in quanto il metodo proposto, consentendo di stimare modeste variazioni dell'attività dell'ASAL, può segnalare anche casi di lievi patologie. Un ulteriore vantaggio derivante dell'impiego della HPLC è quello di poter seguire le concentrazioni del substrato e dei prodotti presenti nella miscela, mettendo così in evidenza eventuali reazioni secondarie o comportamento anomali. Tale prerogativa ha tra l'altro consentito di ottenere la standardizzazione della soluzione di ASA, altrimenti non possibile con i metodi convenzionali.

1) Takaoka K., Natelson S., Amer. J. Clin. Pathol. 47, 693 (1967)

2) Campanini R.Z., Tapia R.A., Sarnat W., Natelson S., Clin. Chem., 16, 44 (1970)

3) Haver E.A., Tamir H., Ratner S., Warner R.C., J. Biol. Chem., 240 3079 (1965)

IMPIEGO DELLA TECNICA HPLC-MS CON INTERFACCE PARTICLE BEAM ED IONSpray NELL'ANALISI DI FOSFOLIPIDI

M. Careri*, M. Dieci*, A. Mangia*, P. Manini*, A. Raffaelli**

* Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica.
Università di Parma - Viale delle Scienze, 43100 Parma

** Centro di Studio del CNR per le Macromolecole Stereordinate ed Otticamente Attive,
Via Risorgimento 35, 56126 Pisa

I fosfolipidi sono miscele complesse di diverse specie molecolari; essi infatti presentano differenti composizioni dei gruppi polari e delle catene di acidi grassi, il cui grado di insaturazione è uno dei parametri determinanti delle proprietà fisiche delle membrane biologiche.

La separazione delle specie molecolari di fosfolipidi è generalmente ottenuta in HPLC in fase inversa operando con un meccanismo di ritenzione solvofobica [1] mentre per la separazione di classi di queste sostanze sono stati proposti metodi HPLC in fase diretta [2,3]. Per quanto riguarda la rivelazione, quella spettrofotometrica UV presenta limitazioni legate alla scelta della fase mobile, a causa dell'assorbimento di queste specie a basse lunghezze d'onda con bassi valori di coefficiente di estinzione molare. Un sistema alternativo è rappresentato dal rivelatore light-scattering, che consente l'analisi di μg di fosfolipidi [3,4].

Sono state d'altra parte dimostrate le potenzialità della spettrometria di massa nel fornire informazioni strutturali utili per la caratterizzazione dei fosfolipidi, utilizzando in particolare il FAB come sistema di ionizzazione [5,6]. Inoltre le tecniche combinate LC-MS con sistemi di interfacciamento thermospray [7,8] ed electrospray [9,10] permettono di analizzare opportunamente effluenti LC senza derivatizzazione; gli esempi riportati riguardano prevalentemente applicazioni in ambito biologico.

Scopo del presente lavoro è quello di valutare l'applicabilità delle tecniche particle beam (PB) LC-MS ed ionspray (ISP) LC-MS per l'analisi di fosfolipidi; questi sistemi sono stati quindi impiegati per caratterizzare dal punto di vista strutturale le singole specie presenti ed ottenere ulteriori informazioni su matrici alimentari, quali la soia e derivati di soia

Sono stati considerati la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina e il fosfatidilinositolo; la separazione di queste classi è stata ottenuta in fase diretta, applicando un procedimento IUPAC [2] che prevede l'utilizzo di una colonna di silice e la seguente fase mobile: *n*-esano-2-propanolo-tampone acetato di ammonio 0.2 M, pH 4.2 (47:47:6).

Per quanto riguarda il sistema PB LC-MS, si è operato in ionizzazione chimica registrando il segnale degli ioni positivi (PICI) e degli ioni negativi (NICI) nell'intervallo 130-900 u; il flusso cromatografico è stato mantenuto a 0.8 ml/min.

Negli spettri di massa di ioni positivi dei fosfolipidi analizzati sono visibili, anche se con scarse abbondanze, gli ioni molecolari; più intensi risultano invece i segnali dei numerosi frammenti attribuibili alla rottura del legame fosfato-glicerolo ed al distacco degli acidi grassi esterificati nelle posizioni 1 e 2 del glicerolo. Negli spettri NICI mancano invece le informazioni relative agli ioni molecolari.

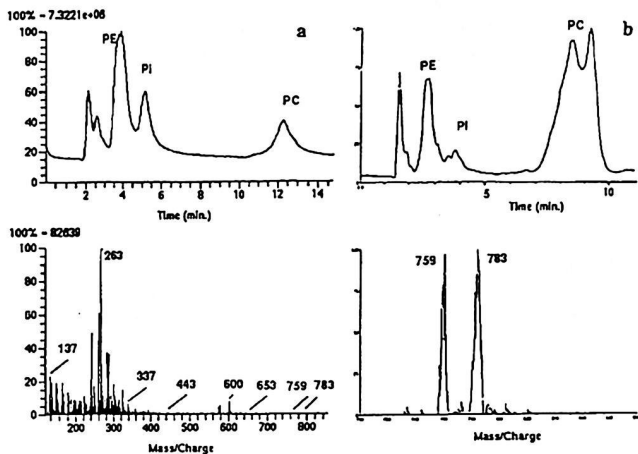
Sebbene la tecnica PB LC-MS non sia risultata molto sensibile nel caso dei fosfolipidi, le elevate quantità di questi, presenti nei campioni esaminati (lecitine, semi, granulato, farina, fibra, latte e formaggio di soia) hanno permesso ugualmente la caratterizzazione dei derivati della soia

Il sistema ISPLC-MS si è rivelato invece particolarmente adatto per la rivelazione e la caratterizzazione dei fosfolipidi. Gli spettri di massa, ottenuti registrando il segnale degli ioni positivi nell'intervallo 500-1000 u, mostrano intensi segnali dovuti agli ioni molecolari protonati, mentre sono praticamente assenti ioni di frammentazione. Si è operato con un flusso cromatografico di 1.0 ml/min con un rapporto di splitting di 1:30. Informazioni strutturali sono state ottenute mediante esperimenti MS/MS. In queste condizioni di elevata sensibilità e specificità è stato possibile rivelare una quantità pari a 40 pg di

fosfatidilcolina. Dal momento che la tecnica ionspray prevede una ionizzazione in fase liquida con desorbimento di ioni preformati, la risposta più intensa è stata osservata per la fosfatidilcolina, che è già presente in forma ionica; il fosfatidilinositolo, al contrario, presentando gruppi difficilmente ionizzabili, è scarsamente rivelabile con questa tecnica.

L'analisi dei campioni ha inoltre permesso di ottenere l'identificazione di un altro fosfolipide, la fosfatidilserina (PS), presente nella lecitina e nei semi di soia.

Nella seguente figura è mostrato un confronto tra i cromatogrammi ottenuti con i sistemi PB LC-MS (a) ed ISP LC-MS (b) per un estratto di un campione di lecitina di soia; sono riportati i relativi spettri di massa nel caso della fosfatidilcolina.



- [1] A. Cantafora, M. Cardelli and R. Masella *J. Chromatogr.*, 507 (1990) 339.
- [2] J.L. Beare-Rogers, A. Bonekamp-Nasner and A. Dieffenbacher, *Pure & Appl. Chem.*, 64 (1992) 447.
- [3] M.F. Caboni, S. Menotta and G. Lercker, *Chromatogr. A*, 683 (1994) 59.
- [4] P. Van der Meeren, J. Vanderdeelen, G. Huyghebaet and L. Baert, *Chromatographia*, 34 (1992) 557.
- [5] M.J. Cole and C.G. Enke, *Anal. Chem.*, 63 (1991) 1032.
- [6] K.A. Kayganich and R.C. Murphy, *Anal. Chem.*, 64 (1992) 2965.
- [7] H.-Y. Kim and N. Salem, Jr., *Anal. Chem.*, 58 (1986) 9.
- [8] H.-Y. Kim and N. Salem, Jr., *Anal. Chem.*, 59 (1987) 722.
- [9] H.-Y. Kim, T.-C. L. Wang and Y.-C. Ma, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 3977.
- [10] P.B.W. Smith, A.P. Snyder and C.S. Harden., *Anal. Chem.*, 67 (1995) 1824.

IMPIEGO DI SISTEMI DI IONIZZAZIONE IN FASE LIQUIDA E GASSOSA NELL'ANALISI DI VITAMINE IDROSOLUBILI MEDIANTE HPLC-MS

M. Careri, R. Cilloni*, A. Mangia*, P. Manini*, A. Raffaelli***

** Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica. Chimica Analitica. Clinica Fisica.
Università di Parma - Viale delle Scienze 43100 Parma*

*** Centro di Studio del CNR per le Macromolecole Stereordinate ed Otticamente Attive
Via Risorgimento 35, 56126 Pisa*

Al fine di verificare le possibilità di impiego di diversi sistemi di ionizzazione nell'ottenimento degli spettri di massa di eluati cromatografici, è stata presa in esame la classe delle vitamine idrosolubili; queste sostanze presentano gruppi funzionali che conferiscono differenti caratteristiche di polarità. Sono stati considerati sia sistemi di ionizzazione che operano in fase gassosa (particle beam ed APCI), sia direttamente sulla fase liquida (ionspray), in diverse condizioni sperimentali. In uno studio precedente, la tecnica particle beam LC-MS è stata applicata con eccellenti risultati all'analisi delle vitamine liposolubili [1].

Lo studio è stato effettuato sui seguenti composti: vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamine del gruppo B6 (piridossina, piridossale, piridossamina), vitamina PP (nicotinamide, acido nicotinic), vitamina C (acidi ascorbico e deidroascorbico), biotina, acido pantotenic. I metodi sviluppati sono stati inoltre utilizzati per l'analisi delle vitamine in prodotti alimentari; i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti utilizzando i rivelatori spettrofotometrici convenzionali.

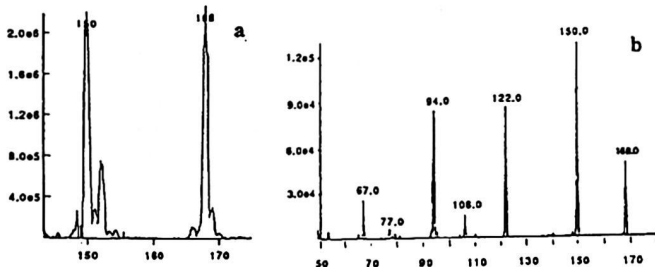
In una fase preliminare, è stato messo a punto un metodo di separazione cromatografica delle vitamine idrosolubili, tenendo conto delle esigenze richieste dall'impiego della spettrometria di massa come sistema di rivelazione; non è infatti possibile utilizzare nella fase mobile reagenti per la cromatografia di coppie ioniche, frequentemente impiegata per la separazione di questa classe di sostanze [2-4]. L'analisi cromatografica è stata effettuata operando in fase inversa con colonna narrow-bore Ultracarb ODS-5 (250 x 2.0 mm, 5 µm) ed eluizione in gradiente con una miscela metanolo/tampone formiato d'ammonio 0.02 M, pH 3.7, ad un flusso di 0.15 ml/min; è stata impiegata la rivelazione UV a lunghezza d'onda variabile.

Utilizzando il sistema particle beam LC-MS, la separazione è stata effettuata in ionizzazione chimica con acquisizione della corrente ionica totale degli ioni positivi (PICI) e negativi (NICI). Sono stati variati sia parametri dell'interfaccia PB che la temperatura della sorgente ionica dello spettrometro di massa; quest'ultimo parametro si è dimostrato critico ai fini dell'ottenimento di spettri di massa di buona qualità sia EI che CI; in tutte le condizioni di ionizzazione, sono stati ottenuti spettri di massa senza decomposizione delle sostanze alla temperatura di 200°C. La vitamina B2 non è risultata rivelabile mediante questo sistema, a causa della sua elevata polarità, mentre per l'acido pantotenic e l'acido deidroascorbico, che viceversa presentano problemi nella rivelazione spettrofotometrica, sono stati ottenuti segnali di elevata intensità. È stata inoltre osservata una marcata differenza nella risposta specifica delle sostanze nei due diversi modi di acquisizione del segnale.

Dopo aver valutato le possibilità di impiego del sistema PB LC-MS utilizzando diversi modi di acquisizione in fase gassosa per l'analisi delle vitamine idrosolubili, è stato studiato il comportamento delle medesime sostanze utilizzando una tecnica di ionizzazione in fase liquida API quale la ionspray. A seconda dei gruppi funzionali presenti nelle molecole dei composti in esame, si è operato registrando il segnale degli ioni positivi (PI) o negativi (NI). Come atteso, a causa del carattere "soft" della ionizzazione a pressione atmosferica, gli spettri ISP presentano scarsa frammentazione, ma consentono di evidenziare in ogni caso gli ioni quasi-molecolari degli analiti.

Poichè queste sostanze hanno pesi molecolari relativamente bassi, è stata verificata la possibilità di applicazione della ionizzazione APCI. È noto infatti come sistemi APCI risultino più idonei per analizzare composti a basso peso molecolare rispetto a sistemi di tipo electrospray/ionspray [5]. In

generale gli spettri APCI ottenuti per le vitamine sono risultati confrontabili con quelli ISP per quanto riguarda le informazioni strutturali; le abbondanze degli ioni quasi-molecolari sono comunque superiori negli spettri APCI rispetto a quelle degli spettri ionspray. La tecnica APCI é inoltre risultata applicabile all' acido deidroascorbico con buoni risultati in termini di qualità spettrale, mentre questa sostanza non é risultata rivelabile in condizioni ionspray. Al fine di ottenere ulteriori informazioni strutturali, é stata applicata la tecnica MS-MS nella modalit  Daughter Ion; la frammentazione che si ottiene mediante impiego di un triplo quadrupolo é altamente specifica e consente di discriminare per via spettrale anche composti con struttura e peso molecolare molto simili. E' in tal senso interessante il caso dei tre vitameri della vitamina B6, le cui masse molecolari differiscono di 1 u l' una dall' altra. In figura é riportato un confronto fra gli spettri APCI-MS (a) ed APCI-MS-MS (b) nel caso del piridossale.



E' stata infine impiegata la tecnica MRM (multiple reaction monitoring), registrando per ciascuna vitamina il segnale di un "daughter ion" significativo e del "parent ion" corrispondente allo ione molecolare protonato. L' elevata selettivit  fornita dagli spettri MS-MS é stata vantaggiosamente sfruttata per una analisi rapida di una miscela di analiti senza che sia richiesta la separazione cromatografica.

- [1] M. Careri, M.T. Lugari, A. Mangia, P. Manini, S. Spagnoli, Fresenius, J. Anal. Chem., 351(1995) 768.
 [2] G.W. Chase, W.O. Landen Jr., A.-G.M. Soliman, R.R. Eitenmiller, J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 76 (1993) 1276.
 [3] E. Barna, E. Dworschak, J. Chromatogr. A, 668 (1994) 359.
 [4] M.C. Gennaro, P.L. Bertolo, M.A. Baldo, S. Daniele, G.A. Mazzocchin, J. Liq.Chromatogr., 14 (1991) 115.
 [5] J. Slobodnik, B.L.M. van Baar, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 703 (1995) 81.

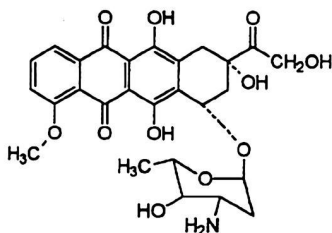
ANALYSIS OF DRUGS IN HUMAN PLASMA BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY: A COMPARISON OF DISC TO CARTRIDGE SOLID-PHASE EXTRACTION

Giuseppe Carlucci, Pietro Mazzeo

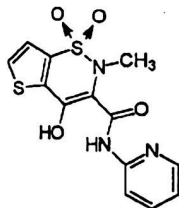
Dipartimento di Chimica, Ingegneria Chimica e Materiali

Università dell'Aquila - Via Vetoio - 67010 Coppito - L'Aquila

Conventional techniques used in therapeutic drugs monitoring involve the concentration of solutions of drugs isolated as extracts of blood or urine; this, however, can compromise the stability of the analyte. These procedures are commonly used to enhance analytical sensitivity or to remove a solvent incompatible with the subsequent instrumental analysis. The usual approach with dilute drug solutions obtained from liquid-liquid or solid-phase extractions is to evaporate the solvent under vacuum or a stream of nitrogen, with or without heating. The drug residue is then solubilized with an appropriate solvent and an aliquot is submitted to instrumental analysis. In this work, we present an alternative to solvent evaporation based on the use of solid-phase extraction microcolumns (SPEC) to provide a concentrated drug extract. SPEC microcolumns are unique solid-phase extraction devices consisting of glass fiber discs embedded with bonded silica. We report the extraction of two drugs, namely epirubicin (1), an anthracycline with antitumor activity, and tenoxicam (2), an antiinflammatory agent, from human plasma, using SPEC discs and SPE cartridges.



(1)



(2)

The extraction process and the comparison of the HPLC assays are described.

ENZYMATIC DETERMINATION OF GLUTATHIONE USING ELECTROCHEMICAL SENSOR BASED ON COBALT PHTHALOCYANINE SCREEN-PRINTED ELECTRODES.

M-A. Carsol, I. Pouliquen-Sonaglia, G. Lesgards

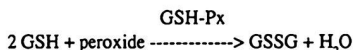
*Faculté des Sciences et Techniques d'Aix-Marseille III, Avenue Escadrille Normandie Niemen,
13397Marseille.*

M. Mascini

*Università degli Studi di Firenze Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologica e Chimica Analitica
Ambientale Sez: Chimica Analitica Via G. Capponi, 9, 50121 Firenze.*

Glutathione (GSH) has been determined with an electrochemical sensor. We compared different types of electrode material (screen-printed graphite, graphite epoxy resine) modified and the best results for analytical determination showed were obtained with cobalt phthalocyanine screen-printed graphite at a potential of 0,20 V vs ECS.

The analytical determination of GSH allowed to follow the oxidation of it by a peroxide (tertio butylhydroperoxide or hydrogen peroxide) catalysed by the enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px) in solution, according to:



Calibration curves of standard solutions, in the range of concentration from $1,24 \times 10^{-5}$ M to $5,5 \times 10^{-3}$ M using 0,05 M phosphate buffer-EDTA 0,005 M pH 7 were obtained.

This new procedure seems to be highly reproducibile and has the distinct advantage of fast response time, extended linearity to 100 μ M of glutathione and a detection limit of 0,08 μ M.

DETERMAZIONE DEGLI INDICI DI RITENZIONE DEI POLICLORODIFENILI MEDIANTE SERIE DI RIFERIMENTO RIVELABILI CON ECD

Gianrico Castello e Giovanni Testini

Universtà di Genova, Istituto di Chimica Industriale, Corso Europa 30, 16132 Genova, Italia

I 209 congeneri dei policlorodifenili (PCB) possono essere separati con diversi tipi di colonne capillari e determinati a concentrazioni assai piccole mediante il rivelatore a cattura di elettroni (ECD).

L'identificazione dei singoli composti è invece soggetta a notevole incertezza, per la scarsa disponibilità e l'alto costo della serie completa di isomeri da usare come standard di riferimento.

Essa è peraltro necessaria a causa della estrema differenza di tossicità dei vari isomeri.

Se il rischio legato alla loro presenza nell'ambiente viene valutato in base alla concentrazione totale non differenziata, le valutazioni sulla entità di una eventuale contaminazione possono essere molto diverse, considerando anche l'influenza della struttura del congenere sulla sua eventuale concentrazione biologica, degradazione metabolica, ecc.

La disponibilità in letteratura di numerose tabelle che riportano i tempi di ritenzione assoluti o relativi dei vari composti non è sufficiente a consentire una identificazione a causa della variabilità delle condizioni sperimentali di analisi.

L'uso generalizzato degli indici di ritenzione di Kováts, indipendenti dalla maggior parte di tali variabili, permetterebbe di utilizzare proficuamente i dati ottenuti da molti autori.

Le *n*-paraffine C₁₄ - C₂₉ coprono l'intervallo di eluizione dei PCB sulle colonne a bassa polarità usate più comunemente.

Sfortunatamente, il rivelatore ECD non è sensibile alle paraffine e l'uso come riferimento della serie omologa dei *n*-alcani non è agevole: è infatti necessario sostituire all'ECD un rivelatore ad ionizzazione di fiamma o collegare alla colonna due rivelatori in parallelo.

Gli ioduri alchilici lineari sono stati utilizzati come serie di riferimento ma nel caso specifico per coprire l'intero intervallo dei PCB è necessario disporre di *n*-ioduri fino a C₂₆, difficilmente reperibili. E' stata pertanto valutata la possibilità di utilizzare come serie di riferimento alcuni PCB a numero crescente di atomi di cloro scelti opportunamente, che presentano tra l'altro il vantaggio di consentire la contemporanea calibrazione quantitativa.

La serie a clorurazione crescente nota come DCMA (Dry Colour Manufacturer's Association) è facilmente reperibile in commercio.

Tuttavia i composti compresi in questi campioni standard (elencati in Tabella 1) non presentano un andamento lineare della ritenzione né in condizioni di analisi isoterma né a temperatura programmata (fig.1).

E' possibile ugualmente ricavare gli I di Kováts attribuendo ai vari termini della miscela DCMA i valori di I determinati tramite FID su concentrazioni elevate di miscela DCMA e *n*-alcani ed utilizzando per il calcolo una formula analoga a quella standard che però prevede intervalli reali e differenti tra loro anziché quelli arbitrari ed uguali tra gli I dei composti di riferimento.

Un risultato migliore può essere ottenuto utilizzando invece della miscela DCMA un'altra serie di PCB (Tabella 1) i cui valori di ritenzione presentano un andamento lineare in funzione del numero di atomi di cloro sia in analisi isoterma che con programmazione di temperatura su diverse colonne e indipendentemente dal valore considerato (tempi di ritenzione, ritenzioni relative all'ottaclo-ronaftalene OCN, indici di ritenzione) (fig.2).

La scelta dei PCB idonei per la preparazione di questa serie di riferimento tiene conto sia della loro tossicità che della loro disponibilità in commercio.

Tabelle e Grafici

Tabella 1. Numerazione IUPAC e struttura dei congeneri della serie di riferimento proposta e della miscela DCMA.

Miscela DCMA

1	2
11	3,3'
29	2,4,5
47	2,2',4,4'
121	2,3',4,5',6
136	2,2',3,3',6,6'
185	2,2',3,4,5,5',6
194	2,2',3,3',4,4',5,5'
206	2,2',3,3',4,4',5,5',6
209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'

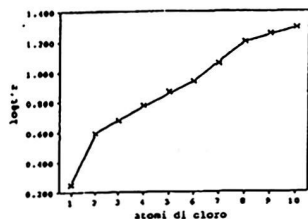


Figura 1. Log t' vs numero atomi di cloro
Colonna DB-S 30m x 0.32mm I.D. 0.25um spessore fase
Temperatura: da 180 a 250°C 8°C/min

Serie proposta

1	2
9	2,5
27	2,3',6
69	2,3',4,6
121	2,3',4,5',6
151	2,2',3,5,5',6
178	2,2',3,3',5,5',6
200	2,2',3,3',4,5,6,6'
207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'
209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'

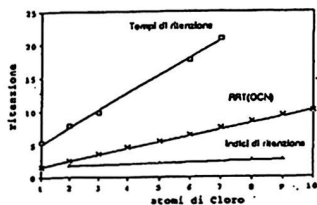


Figura 2. Serie di riferimento proposta.
Tr su colonna Apizon L in TPgr a due velocità
RRT(OCH) su colonna SE-54 in temperatura programmata
IR su colonna Dezi-410 in isotermia

SEPARAZIONE ED IDENTIFICAZIONE MEDIANTE RAPPORTI STRUTTURA/RITENZIONE SU COLONNE CAPILLARI A DIVERSA POLARITA' DI COMPOSTI AROMATICI VARIAMENTE SOSTITUITI

Gianrico Castello e Sonia Vezzani

Università di Genova, Istituto di Chimica Industriale, Corso Europa 30, 16132 Genova, Italia

A causa della loro tossicità, i composti aromatici costituiscono una notevole fonte di pericolo nel caso di loro dispersione nell'ambiente. L'elevato numero di possibili isomeri esistenti nel caso in cui sull'anello aromatico avvengano sostituzioni multiple da parte di radicali alchilici, alogeni, ossidrilici, ammino e nitro gruppi, rende talvolta difficile la separazione di miscele complesse ed il riconoscimento di tutti i composti presenti, spesso non disponibili come standard puri. La separazione gascromatografica di questi composti è stata studiata su colonne capillari gas-liquido a fase legata con diversa polarità e su colonne di carbone grafitizzato. La tabella 1 elenca le varie colonne utilizzate e la tabella 2 elenca i composti di riferimento. Oltre al numero, al tipo ed alla posizione dei sostituenti, sono stati calcolati e considerati i momenti dipolari, le tensioni di vapore alle temperature di analisi e valutati con diversi metodi di calcolo semiempirici la densità totale di carica ed il potenziale elettrostatico sia per la molecola isolata in fase gas che per la molecola singola del soluto in relazione ad un tratto della catena polimerica della fase stazionaria. Su fasi non polari l'eluizione è principalmente governata dalla tensione di vapore alla temperatura di analisi, ma una certa influenza può essere attribuita anche all'effetto del momento di dipolo, che invece gioca un ruolo notevole sulla interazione dei vari composti con fasi polari o di carbone grafitizzato.

Il comportamento delle varie serie omologhe in funzione del tipo di colonna e l'individuazione di rapporti tra la struttura ed il grado di sostituzione e i tempi e gli indici di ritenzione consentono di identificare composti non disponibili sotto forma di campioni standard, di prevederne il comportamento in diverse condizioni analitiche e di stabilire a priori in quali condizioni di analisi isoterma o con quale programmazione di temperatura si potrà ottenere la migliore risoluzione tra composti isomeri.

Tabella 1: elenco delle colonne capillari utilizzate

-SPB-1	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 0.25m spessore di fase fase: polidimetilsilossano
-Supelcowax -10	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 0.25,um spessore di fase fase: polietilenglicole
-DB-1	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 0.2511m spessore di fase fase: polidimetilsilossano
-DB-1	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 3.04m spessore di fase fase: polidimetilsilossano
-CLOT	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 1.311m spessore di fase fase: carbone grafitizzato modificato con: polietilenglicole ed acido tereftalico (16%)
-Column U	colonna capillare 30m x 0.32mm ID, 0.3m spessore di fase fase: carbone grafitizzato modificato con: polietilenglicole ed acido tereftalico (16%)

Tabella 2: composti di riferimento

benzene	anilina	fenolo
clorobenzene	2-cloroanilina	2-nitrofenolo
1,2-diclorobenzene	3-cloroanilina	4-nitrofenolo
1,3-diclorobenzene	4-cloroanilina	2-clorofenolo
1,4-diclorobenzene	2,3-dicloroanilina	4-clorofenolo
1,2,3-triclorobenzene	2,4-dicloroanilina	2,4-diclorofenolo
1,2,4-triclorobenzene	2,5-dicloroanilina	2,4,6-triclorofenolo
1, 3, 5-triclorobenzene	2, 6-dicloroanilina	pentaclorofenolo
1,2,3,4-tetraclorobenzene	3,4-dicloroanilina	nitrobenzene
1,2,3,5-tetraclorobenzene	3,5-dicloroanilina	2-cloronitrobenzene
1,2,4,5-tetraclorobenzene	2,3,4-tricloroanilina	3-cloronitrobenzene
pentaclorobenzene	2,4,5-tricloroanilina	4-cloronitrobenzene
esaclorobenzene	2,4,6-tricloroanilina	
	3,4,5-tricloroanilina	
	2,3,4,5-tricloroanilina	
	2,3,5,6-tricloroanilina	
	pentacloroanilina	

GC/MS DETERMINATION OF PLANAR PCB'S IN MUSSELS

S. Chiavarini, C. Ubaldi, A. Caricchia and R. Morabito

ENEA, Environmental Department, via Anguillarese 301, 00060 Rome, Italy

PCBs are a well known class of priority pollutants due to their extremely long environmental persistence, ubiquitary distribution and toxic potential against living organisms. Among adverse effects, liver damages, reproductive diseases, weight loss, immunotoxicity and teratogenicity are commonly reported. 209 PCBs congeners are possible and their biological activity (e.g. bioaccumulation behaviour, enzymatic induction potential, metabolic pathways etc.) vary according to specific structural properties. Particularly, some congeners are structurally similar to the planar molecule 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) and they exert a similar toxic action. The fundamental requirements for an effective interaction with the TCDD receptor are the presence on the biphenyl backbone of two para- and at least two meta- chlorine atoms with no ortho-chlorine atoms present. Planar congeners that fulfill these requirements are therefore CB 77, CB 126 and CB 169 while CB 81, despite of being a planar molecule, shows no TCDD-like activity because it is lacking one para- chlorine.

Planar PCBs are present at extremely low concentrations in the environmental compartments and their quantification requires complex and lengthy analytical protocols, similar to those adopted for PCDDs/PCDFs. The main difficulties arise from the need to treat a bigger than usual amount of sample and to separate the planar congeners from the bulk of PCBs. The latter task is frequently performed by HPLC fractionation or carbon column chromatography.

An analytical method for the determination of planar PCBs congeners in mussels have been recently developed in our laboratory. After extraction of 10 g of freeze-dried material, a first clean up is performed on a sulfuric acid impregnated silica column, followed by a fractionation on alumina and silica and a final separation on activated Florisil. The final determination is by GC/MS. ¹³C labeled internal standards of the planar congeners are added to the samples, allowing the accurate evaluation of recoveries (usually better than 80%). The overall performance of the method is excellent and, in particular, the separation step on Florisil leads to very clean solutions and interference-free chromatograms. The use of GC/MS appears to be imperative in order to benefit of the "isotope dilution" technique, as it is currently required for similarly difficult and complex determinations such as PCDDs/PCDFs analyses.

A detailed description of the analytical method will be given together with some data on concentrations and temporal trends of PCBs (both conventional and planar congeners) in mussels samples collected during a monitoring program in the La Spezia Gulf.

CARATTERIZZAZIONE DI PARTICELLE SOSPESE IN ACQUE NATURALI MEDIANTE SdFFF-ICP-MS E AAS

C. Contado, G. Blo, F. Fagioli, F. Dondi

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

R. Beckett

Water Studies Centre and Department of Chemistry, Monash University, Caulfield East, Victoria, Australia, 3145.

Le particelle colloidali sospese nelle acque naturali sono coinvolte in molti importanti processi chimico-fisici che caratterizzano un corpo idrico dal punto di vista geochimico ed ambientale [1]. La caratterizzazione di queste particelle colloidali è di fondamentale interesse a causa del loro ruolo determinante negli equilibri di interazione delle specie disciolte ed il conseguente trasporto degli inquinanti associati al particolato sospeso stesso[2]. La tecnica SdFFF è in grado di frazionare queste specie colloidali con un elevato grado di risoluzione e di fornire distribuzioni dimensionali delle particelle costituenti i campioni ambientali [3]. Tuttavia, per una completa caratterizzazione di questo materiale è fondamentale anche una conoscenza della sua composizione chimica.

La tecnica ICP-MS, per le sue prestazioni, è stata proposta come rilevatore specifico accoppiato alla SdFFF per caratterizzare il materiale particolato, frazionato in ben definiti range dimensionali [4,5]. Esistono tuttavia delle limitazioni all'uso dell'ICP-MS dovute in particolare alle varie interferenze isotopiche e agli alti costi della strumentazione.

In questo lavoro, viene presa in considerazione la tecnica AAS come alternativa all'ICP-MS per la caratterizzazione della composizione chimica delle specie frazionate. Tra gli elementi costituenti le particelle argillose si sono considerati Al e Fe. Il primo è un elemento maggiore mentre il secondo è un elemento minore: i vantaggi ed i limiti di questi due differenti sistemi di rilevazione sono stati valutati e confrontati.

[1] R. Beckett, in *The Role of Particulate Matter in the Transport and Fate of Pollutants*. B.T. Hart (Editor), Water Studies Centre, Chisholm Institute of Technology, Melbourne, (1986), p.113

[2] R. Beckett, D.M. Hotchin, B.T. Hart, *J. Chromatogr.*, 517, (1990), 435-447

[3] P. Reschiglian, L. Pasti, F. Dondi, *J. Chromatogr. Sci.*, 30, (1992), 217-227

[4] H.E. Taylor, J. R. Garbarino, D.M. Murphy and R. Beckett, *Anal. Chem.*, 64, (1992) 2036-2040

[5] D. M. Murphy, J. R. Garbarino, H.E. Taylor B.T. Hart and R. Beckett, *J. Chromatogr.*, 642, (1993), 459-467

SULLE CAPACITA' COMPLESSANTI DELL'ACIDO BENZEN-ESACARBOSSILICO

*Alessandro De Robertis, Concetta De Stefano, Claudia Foti, Ottavia Giuffrè e Silvio Sammartano
Dipartimento di Chimica Inorganica, Analitica e Struttura Molecolare dell'Università,
Salita Sperone 31, I-98166 S. Agata di Messina, Messina*

Ci siamo interessati alle capacità complessanti dell'acido mellitico (acido benzen-esacarbossilico) per una serie di motivi che rendono questo legante estremamente interessante come molecola modello "non banale" che può simulare caratteristiche parziali e locali di macromolecole naturali. Tra le caratteristiche più salienti ricordiamo: a) la sua alta solubilità (che rende possibile, e con semplici tecniche, lo studio di proprietà all'equilibrio); b) l'alta carica negativa abbastanza concentrata e ad alta simmetria (caso raro nelle molecole organiche; per avere simile densità di carica si deve ricorrere a molecole inorganiche, come i polifosfati o l'esacianoferrato); c) l'essere un probabile prodotto di ossidazione della materia organica naturale; d) l'essere completamente deprotonata ai normali valori di pH dei fluidi naturali.

Tenendo presente queste ed altre caratteristiche, in questi ultimi anni sono stati condotti i seguenti studi:

(i) Protonazione in differenti mezzi ionici:

Et_4NI ($I \leq 1\text{M}$); Me_4NCl ($I \leq 3\text{M}$), NaCl ($I \leq 5\text{M}$, KCl ($I \leq 3.5\text{M}$), LiCl ($I \leq 1\text{M}$).

(ii) Formazione di complessi con Ca^{2+} e Mg^{2+} ($I \leq 1\text{M}$).

Gli studi (i)-(ii) sono stati condotti con la tecnica pH-metrica.

(iii) Formazione di complessi di Na^+ e Ca^{2+} usando elettrodi iono selettivi (ISE-Na e ISE-Ca).

(iv) Formazione di complessi con ammine protonate (misure pH-metriche).

(v) Solubilità dei complessi del Ca^{2+} .

Caratteristica comune a tutti i sistemi investigativi è l'alto numero di specie che si formano in ambiente acido, numero che drasticamente si riduce in ambiente neutro-alcantino. Allo scopo di dare una visione d'insieme delle caratteristiche di questo legante rispetto alla complessazione, riportiamo nella Tabella ($I = 0$) alcuni dati quantitativi.

Reazione	log K	Reazione	log K
$\text{L}^{6-} + \text{H}^+ = \text{HL}^{5-}$	7.85	$\text{Mg}^{2+} + \text{L}^{6-} = \text{MgL}^{4-}$	6.4
$\text{HL}^{5-} + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{L}^{4-}$	6.45	$\text{MgL}^{4-} + 2\text{Mg}^{2+} = \text{Mg}_3\text{L}^{0}$	6.3
$\text{H}_2\text{L}^{4-} + \text{H}^+ = \text{H}_3\text{L}^{3-}$	5.09	$\text{Ca}^{2+} + \text{L}^{6-} = \text{CaL}^{4-}$	7.5
$\text{H}_3\text{L}^{3-} + \text{H}^+ = \text{H}_4\text{L}^{2-}$	3.47	$\text{CaL}^{4-} + 2\text{Ca}^{2+} = \text{Ca}_3\text{L}^{0}$	8.75
$\text{H}_4\text{L}^{2-} + \text{H}^+ = \text{H}_5\text{L}^{-}$	2.14	$\text{H}(\text{dea})^+ + \text{L}^{6-} = \text{H}(\text{dea})\text{L}^{5-}$	3.6
$\text{H}_5\text{L}^{-} + \text{H}^+ = \text{H}_6\text{L}^{0}$	0.92	$\text{H}_2(\text{en})^{2+} + \text{L}^{6-} = \text{H}_2(\text{en})\text{L}^{4-}$	6.8
$\text{Na}^+ + \text{L}^{6-} = \text{NaL}^{5-}$	3.06		
$\text{NaL}^{5-} + \text{Na}^+ = \text{Na}_2\text{L}^{4-}$	1.7	Specie insolubile	$\text{p}K_{s0}$
$\text{Na}_2\text{L}^{4-} + \text{Na}^+ = \text{Na}_3\text{L}^{3-}$	2.3	$\text{Ca}_2\text{H}_2\text{L}$	20.8
$\text{Na}_3\text{L}^{3-} + \text{Na}^+ = \text{Na}_4\text{L}^{2-}$	0.95	Ca_3L	25.5

STUDIO QUANTITATIVO SULLE INTERAZIONI DELL'ATP CON AMMINE ED AMMINOACIDI

Alessandro De Robertis, Concetta De Stefano, Claudia Foti, Antonio Gianguzza*, Ottavia Giuffrè e Silvio Sammartano

Dipartimento di Chimica Inorganica, Analitica e Struttura Molecolare dell'Università, Salita Sperone 31, I-98166 S. Agata di Messina, Messina.

*Dipartimento di Chimica Inorganica dell'Università, Via Archirafi 26, I-90123 Palermo.

L'importanza dell'ATP nelle reazioni biochimiche che presiedono al trasferimento energetico nelle cellule viventi, è cosa nota a tutti, come a tutti è noto che nella maggior parte delle reazioni enzimatiche cui partecipa l'ATP, la sua forma attiva è rappresentata dal complesso con il magnesio. Sarebbe quindi perdita di tempo, per il chimico che si occupa di speciazione di fluidi biologici, riaffermare ancora una volta l'interesse delle interazioni dell'ATP con i vari metalli (M) con cui può venire a contatto. Non sembra invece essere banale, nel senso che su ciò sono stati effettuati pochi studi quantitativi, mettere in evidenza come a fianco della reazione base $M^{2+} + ATP^{4-} = M(ATP)^{2-}$ [o come propongono alcuni anche $2M^{2+} + ATP^{4-} = M_2(ATP)^0$], possono avvenire anche un gran numero di reazioni equivalenti del tipo $H_2A^{2+} + ATP^{4-} = A(ATP)H_j^{(4-j)}$ dove al posto del catione metallico abbiamo una ammina protonata. Tenuto conto della relativa abbondanza di ammine naturalmente presenti nei fluidi biologici (tetrammina: spermina; triammina: spermidina; diammine: putrescina e cadaverina; ecc.), nonché di alcuni amminoacidi con doppia funzione amminica (come istidina e lisina), l'ultima reazione potrebbe avere un notevole interesse nel campo della speciazione dei fluidi biologici.

Un gran numero di studi è stato effettuato sulla formazione di complessi misti dell'ATP con altri leganti (in genere ammine o amminoacidi) ed uno ione metallico (in genere $M = Cu^{2+}$ o Zn^{2+}) del tipo $M(ATP)L^{(4-2+z)}$ (z = carica del secondo legante), senza però tenere conto della possibile formazione di specie miste senza il metallo. Spesso in tali studi un'accentuata extrastabilità veniva spiegata con una interazione diretta fra i due leganti. La formazione di complessi dell'ATP con altri leganti senza la mediazione del metallo è stata studiata usando come secondo legante solamente ammine macrocicliche (poliazacicloalcani), mentre leganti a basso peso molecolare non ciclici sono stati del tutto trascurati. Alcuni lavori sui complessi ATP-ammine macrocicliche sono di grande interesse [E. Kimura, M. Kodama, T. Yatsunami, JACS, 104 (1982) 3182; B. Dietrich, M.W. Hosseini, J.M. Lehn, Helv. Chim. Acta, 70 (1987) 1912; F.P. Schmidtchem, Chem. Ber., 114 (1981) 597].

Per quanto detto sopra abbiamo intrapreso un ampio studio sulle capacità di interazione dell'ATP con amminoacidi e con ammine a basso peso molecolare. Gli amminoacidi scelti sono stati l'istidina e la lisina, e le ammine prese in considerazione sono state: diammine (etilendiammina, putrescina, cadaverina e istamina), triammine (dietilentriammina e spermidina); tetrammine (trietilentetrammina e spermina), esammina (pentaetilenesammina). La tecnica utilizzata è stata quella potenziometrica con elettrodo a vetro. Per tutti i sistemi studiati (ammine) si è osservata la formazione di diverse specie miste del tipo $A(ATP)H_j^{(4-j)}$ con $j = 1..n+2$ (n = numero di amminogruppi) e, nel caso delle diammine anche della specie $A_2(ATP)H_4^0$.

Analogo comportamento si ha nei sistemi contenenti gli amminoacidi. La stabilità osservata è insospettabilmente elevata e paragonabile a quella dei complessi dell'ATP con i metalli alcalino-terrosi, quando il catione amminico è del tipo H_2A^{2+} [per la reazione $H_2A^{2+} + ATP^{4-} = A(ATP)H_2^{2-}$ si ha $\log K (I = 0) = 5.0, 4.9, 4.1$ e 4.5 per etilendiammina, trietilentetrammina, pentaetilenesammina ed istamina, rispettivamente, a fronte di $\log K (I = 0) = 5.26$ per il complesso $Ca(ATP)^{2-}$]. Come prevedibile, la stabilità aumenta rapidamente all'aumentare della carica sull'ammina e a parità di stechiometria i complessi delle ammine sono più stabili di quelli con gli amminoacidi. Il confronto con le ammine macrocicliche mostra che la stabilità delle ammine a catena aperta non è inferiore ed in alcuni casi è superiore.

ENANTIOSEPARAZIONE CROMATOGRAFICA SU SCALA PREPARATIVA DI FENOPROFEN MEDIANTE FASI STAZIONARIE CHIRALI BASATE SU ERGOT ALCALOIDI

F. Federici, S. Marchese, M. Sinibaldi

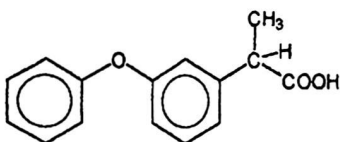
Istituto di Cromatografia, CNR - Area della Ricerca di Roma, C.P. 10, 00016 Monterotondo Stazione, Roma
A. Messina

Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza", P.le Aldo Moro 5, 000185 Roma
M. Flieger

Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Videnskà 1083, C-142 20
Prague 4, Czech Republic

Gli acidi 2-arilpropionici (profens) rappresentano una importante classe di farmaci anti-infiammatori non steroidali (2-APA-NSAID), che sono attualmente commercializzati come preparati racemici. È infatti noto che nei 2-APA-NSAID solo la forma (+)-(S) esibisce attività biologica (1). Recenti studi farmacodinamici hanno mostrato che l'isomero (R)- è soggetto ad una inversione chirale metabolica unidirezionale nel suo antipodo farmacologicamente attivo (2-3). L'uso di profens otticamente puri è perciò di rilevante importanza in quanto la riduzione del dosaggio di tali farmaci esclude l'eventualità di effetti tossici derivanti da meccanismi non-stereospecifici. Parallelamente, nuovi metodi enantioseparativi degli acidi 2-arilpropionici risultano di interesse sia per il controllo della purezza ottica durante i processi di produzione o per analisi farmacocinetiche routinarie, sia per la purificazione su scala preparativa di composti otticamente puri in quantità idonee per tests biologici, studi tossicologici, tests clinici e studi della struttura di addotti diastereoisomerici particolarmente complessi.

Nel presente lavoro viene riportato uno studio riguardante la separazione diretta su scala semipreparativa degli isomeri (R)- e (S)- da miscele racemiche di fenoprofen.



(R,S) fenoprofen

Lo studio è stato sviluppato utilizzando una fase stazionaria chirale ottenuta legando chimicamente a gel di silice (dimensioni delle particelle 10 μm , diametro medio dei pori 100 Å) l'1-allil-derivato dell'Ergot alcaloide (+) (5R,8S,10R)-terguride (4-7). Il confronto dei profili delle bande di eluizione dei due isomeri iniettati sia separatamente (*condizioni di non-competitività*) che come miscela racemica (*condizioni di competitività*) ha mostrato significative differenze. È stato infatti osservato che la produzione di una forma enantiomerica al 99 % di

purezza è di un ordine di grandezza più alta nelle condizioni di sovrapposizione delle bande di eluizione che in quelle di "bande adiacenti": corrispondenti cioè a situazioni prossime alla linearità di distribuzione del soluto tra le due fasi. La resa ed l'indice di produzione risultano sempre maggiori per l'enantiomero meno ritenuto, l'isomero (R)-.

I risultati ottenuti consentono alcune considerazioni generali.

Al fine di ottenere la purificazione su scala industriale dei componenti di una miscela binaria complessa, caratterizzata da un basso valore del coefficiente di selettività α , quale risulta in un racemato, occorre stabilire se la produzione di massime quantità del/i componente/i otticamente puri può giustificare perdite del composto iniziale.

Se tali perdite (in resa) ed un elevato sovraccarico della colonna sono consentiti dai costi dei prodotti iniziali, condizioni di sovrapposizione delle bande, con apparente perdita di risoluzione (nel senso analitico) e conseguente effetto di spostamento dell'enantiomero più ritenuto permettono di ottenere un enorme incremento dell'indice di produzione.

Poiché l'aumento dell'ordine di grandezza nella produzione è ottenuto semplicemente incrementando la quantità di campione, i costi dei componenti risultano costanti.

Al contrario, se il composto da purificare è di costo elevato in confronto a quello del processo cromatografico, occorre operare in *condizioni di non-competitività*, corrispondenti cioè a massimi valori di resa.

1. Y. Tanaka, Y. Shimomura, T. Hirota, A. Nozaki, M. Ebata, W. Takasaki, E. Shigehara, R. Hayashi, J. Caldwell, *Chirality*, 4 (1992) 342.
2. A.J. Hutt, J. Caldwell, *J. Pharm. Pharmacol.*, 35 (1983) 693.
3. W.S. Beck, G. Gisslinger, H. Engel, K. Brune, *Chirality*, 3 (1991) 165.
4. M. Flieger, M. Sinibaldi, L. Cvak and L. Castellani, *Chirality*, 6 (1994) 549.
5. L. Castellani, M. Flieger, L. Mannina, P. Sedmara, A.L. Segre and M. Sinibaldi, *Chirality*, 6 (1994) 543.
6. M. Sinibaldi, M. Flieger, L. Cvak, A. Messina and A. Pichini, *J. Chromatogr. A*, 666 (1994) 471.
7. L. Castellani, M. Flieger and M. Sinibaldi, *J. Liq. Chrom.*, 17 (1994) 3695.



Publ. Magn. 25, 15, 25

© 1994 SCI-DCA

SCI-DCA

**DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO DI Pb
NEL PARTICELLATO ATMOSFERICO RACCOLTO IN ANTARTIDE
NEL CORSO DELLE CAMPAGNE 1989/90 E 1990/91**

M. Galletti, M. Kuneshka**, I. Michetti*, L. Testa**

**ENEA-CRE Casaccia, AMB-SAF-MET, Via Anguillarese 301, 00060 Roma.*

***ENEA-CRE Casaccia, Progetto Antartide, Via Anguillarese 301, 00060 Roma.*

Le attività di monitoraggio ambientale presso la Stazione Italiana in Antartide, iniziate con la campagna 1986/87 e tuttoggi in corso, hanno lo scopo di controllare che le attività condotte durante le spedizioni non perturbino l'ambiente in modo significativo.

In questo lavoro faremo riferimento ai campioni di particolato atmosferico raccolti nel corso delle campagne 1989-1990 e 1990-1991.

Durante tali campagne è stato attivato un programma di monitoraggio che ha riguardato la raccolta del particolato in 5 stazioni: 4 poste nei quattro punti cardinali intorno alla base e la quinta in un'area decentrata rispetto alla base stessa. Inoltre, durante la campagna 1989/90 sono stati raccolti dei campioni di particolato dal camino di emissione dell'inceneritore dove vengono trattati i rifiuti prodotti dalla base cercando, per quanto possibile, di realizzare il prelievo in condizioni isocinetiche.

Questi filtri sono stati precedentemente analizzati mediante attivazione neutronica strumentale (INAA) ed i risultati sono riportati in bibliografia (Chiavarini et al., 1994).

L'analisi per attivazione neutronica risulta molto vantaggiosa essendo multielementare e non distruttiva; presenta però lo svantaggio di non poter determinare alcuni elementi o a causa di interferenze spettrali o perché questi non sono sensibili all'irraggiamento neutronico.

Questo ultimo motivo rende impossibile la determinazione del Pb e ciò costituisce un problema poiché tale elemento rappresenta un parametro importante negli studi di impatto ambientale. Pertanto, i campioni precedentemente analizzati mediante INAA, sono stati mineralizzati per poi procedere all'analisi del Pb con la tecnica ETA-AAS. Poiché i livelli di concentrazione di questo analita nel particolato antartico sono estremamente bassi, è stata dedicata una attenzione particolare alla corretta valutazione del bianco, non sempre trascurabile, e a tutte le fasi di pretrattamento dei campioni. Le concentrazioni di Pb sono state trattate statisticamente insieme a quelle di altri elementi determinati sugli stessi filtri in INAA al fine di stabilire la sua provenienza.

DETERMINAZIONE TRAMITE CROMATOGRAFIA A SCAMBIO IONICO DI SODIO, POTASSIO, CALCIO E MAGNESIO IN PRODOTTI LATTERO-CASEARI

Gambelli L., Santaroni P., Pizzoferrato L.

Istituto Nazionale della Nutrizione, via Ardeatina 546 - 00178 Roma

Introduzione

Sodio, potassio, calcio e magnesio svolgono funzioni di regolazione di importanti equilibri fisiologici come quello idrosalino ed acido-base che condizionano, tra l'altro, fenomeni elettro-fisiologici dei tessuti nervosi e muscolari indispensabili per gli scambi dei nutrienti a livello cellulare. E' importante evidenziare, al di là delle funzioni fisiologiche tradizionalmente riconosciute a questi elementi, le loro interazioni che permettono, ad esempio, l'omeostasi del sodio e del potassio anche in presenza di variazioni notevoli delle situazioni dietetiche ed ambientali. Calcio e magnesio, pur avendo funzioni simili nei processi di mineralizzazione e sviluppo dell'apparato scheletrico, si differenziano nel conferire caratteristiche specifiche al tessuto osseo nel suo insieme. I cationi inorganici sono molto diffusi negli alimenti e, in particolare, i prodotti lattiero-caseari rappresentano una fonte privilegiata di calcio e generalmente equilibrata degli altri cationi, anche se in alcuni casi non è da escludere la possibilità di una ingestione eccessiva di sodio conseguente ai procedimenti tecnologici di salatura ai quali possono essere sottoposti questi prodotti. La determinazione dei cationi inorganici negli alimenti viene generalmente effettuata con metodi spettroscopici di assorbimento atomico in fiamma e voltammetrici con elettrodi a ioni selettivi. In questo lavoro viene presentato un metodo cromatografico a scambio ionico che rappresenta una semplice, versatile e rapida alternativa per la separazione e quantizzazione di sodio, potassio, calcio e magnesio.

Parte sperimentale

I cationi sodio, potassio, magnesio e calcio sono stati analizzati utilizzando un cromatografo Dionex-Biologic corredato da una colonna Dionex CS12 Ion Pac (scambio cationico) e un rivelatore a conducibilità. I cationi sono stati separati mediante eluizione ad un flusso di 1ml/min con una fase mobile costituita da acido metilen-solfonico 20mM.

Per la preparazione dei campioni sono state impiegate e confrontate due metodologie estrattive:

-estrazione diretta (il campione è stato pesato, trattato con acido tricloroacetico e portato ad un volume noto con acido metilen-solfonico 20mM)

-incenerimento (il campione è stato pesato ed incenerito, le ceneri sono state riprese con acido metilen-solfonico 20mM).

Risultati e conclusioni

Il tracciato cromatografico che si ottiene sullo standard e sui campioni di formaggio fresco mostra picchi relativi ai cationi sotto analisi perfettamente risolti. La separazione cromatografica si completa in 12 minuti.

Le rette di taratura, valutate nelle condizioni di sensibilità (30 μ S) selezionate come le più opportune per i campioni da analizzare sono riportate in Figura 1. La risposta è perfettamente lineare nell'intervallo di concentrazioni considerato con coefficienti di correlazione variabili tra 0.989 e 0.999.

Il metodo cromatografico messo a punto è stato applicato ad un campione certificato di latte in polvere su cui è stata valutata precisione ed accuratezza.

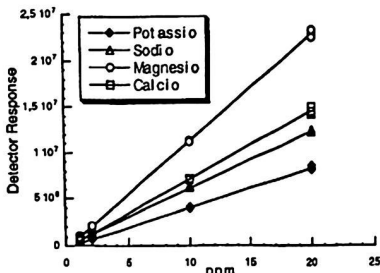


Figura 1 - Rette di taratura. Sul grafico sono riportati i dati singoli relativi a tre iniezioni per ogni concentrazione considerata.

tezza per entrambi le procedure di estrazione. I valori ottenuti risultano accettabili anche nel caso dell'estrazione diretta del campione.

Nella Tabella 1 sono riportati i livelli di sodio, potassio, magnesio e calcio in campioni di formaggio tipo Quark addizionato di banane, ananas, frutti di bosco e salmone.

Tabella 1 - Calcio, potassio, sodio e magnesio in campioni di prodotti tipo Quark. Confronto tra estrazione diretta ed incenerimento.

Quark addizionato di:		Sodio (mg/100g)	Potassio (mg/100g)	Magnesio (mg/100g)	Calcio (mg/100g)
Banana	ceneri	25.52±0.50	146.00±1.70	12.80±0.30	75.38±2.00
	estrazione	27.44±2.70	146.00±2.33	13.56±0.38	78.98±2.96
Ananas	ceneri	27.98±1.30	108.00±4.80	9.36±0.40	69.39±2.80
	estrazione	26.44±1.31	112.00±1.23	10.47±0.37	75.57±2.64
Frutti di bosco	ceneri	26.16±0.51	128.66±0.20	11.78±0.90	79.61±2.80
	estrazione	33.56±3.10	131.20±1.87	10.41±0.36	80.39±1.55
Salmone	ceneri	385.00±0.30	148.00±1.10	11.07±0.11	98.92±1.20
	estrazione	409.00±26.00	163.00±4.60	16.27±1.20	104.00±2.32

Le determinazioni effettuate sia mediante estrazione diretta sia dopo incenerimento risultano tra loro confrontabili.

In conclusione il metodo proposto consente una separazione cromatografica in 12 minuti su campioni preparati, nel caso dei prodotti lattiero-caseari, tramite estrazione diretta a freddo.

HPLC-ES-MS DEL DOLCIFICANTE ARTIFICIALE ASPARTAME E USO DI UN REATTORE FOTOCHIMICO POST-COLONNA

A.M. Gioacchini*, P. Bocchini**, A. Roda* e G. C. Galletti***

*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna.

**Centro di Studio per la Conservazione dei Foraggi, Consiglio Nazionale delle Ricerche, via F. Re 8, 40126 Bologna

***Istituto di Microbiologia e Tecnologia Agraria e Forestale, Università di Reggio Calabria, piazza S. Francesco 4, 89061 Gallina (RC).

L'accoppiamento tra high performance liquid chromatography e spettrometria di massa mediante interfaccia electrospray (HPLC-ES-MS) permette di ottenere spettri di massa di molecole polari o termolabili, dominati da ioni molecolari o quasi molecolari, positivi o negativi. Con tale tecnica di ionizzazione di tipo soft sono stati analizzati peptidi e composti fenolici in cromatografia in fase inversa.

L'aspartame è un metil estere del dipeptide fenilalanina-acido aspartico e rappresenta il più noto dei dolcificanti artificiali. La sua natura chimica è in linea di principio idonea all'analisi HPLC-ES-MS, che potrebbe fornire uno strumento di identificazione rapido e non ambiguo di questa molecola in prodotti alimentari e farmaceutici.

Questo lavoro presenta la messa a punto delle condizioni HPLC-ES-MS per la determinazione dell'aspartame e i risultati ottenuti dall'analisi di tre bevande dietetiche.

Lo spettro di massa ES-MS di aspartame standard, registrato dopo loop injection con fase mobile acqua/metanolo (70/30 v/v, pH=3.01 per acido acetico) a 3.05 KV di energia di ionizzazione, è dominato dallo ione $[M+H]^+$ (m/z 295). È visibile anche uno ione di bassa intensità a m/z 588 dovuto all'addotto $[M+M]^+$. Con la stessa fase mobile (flusso 0.3 ml/min) l'aspartame viene eluito da una colonna C-18 (7 cm x 0.46 mm i.d.) dopo circa 22 minuti.

Mediante ES-MS si è cercato, inoltre, di trarre indicazioni circa la natura della molecola dell'aspartame dopo irradiazione all'uscita della colonna HPLC in un reattore fotochimico (beam boost) dotato di lampada UV con emissione continua a 254 nm. È noto che tale irradiazione modifica drasticamente le proprietà redox dell'aspartame, normalmente non ossidabile, rendendolo rivelabile con detector elettrochimico per ossidazione a + 0.80 V.

Dopo irradiazione è ancora presente una specie con ione quasi molecolare $[M+H]^+$ (m/z 295). Sono in corso ulteriori esperimenti per cercare di stabilire se questa molecola sia un isomero dell'aspartame e se vi siano altri prodotti d'irradiazione.

SEPARAZIONE DI Hg(II) E Pd(II) MEDIANTE ESTRAZIONE CON SOLUZIONI BENZENICHE DI DIBENZO-18-CROWN-6.

R. Giovannetti*, V. Bartocci^o, G. Perotti^o, G. Rastelli^o.

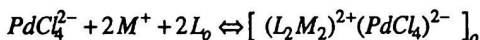
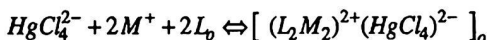
*Centro Interdip. Grandi Apparecchiature, P.le G. da Varano, Università degli Studi di Camerino, 62032 Camerino.

^oDipartimento di Scienze Chimiche, Via S. Agostino 1, Università degli Studi di Camerino, 62032 Camerino.

I leganti macrociclici contenenti eteroatomi sono importanti agenti complessanti per cationi, anioni e molecole neutre; questi composti vengono comunemente chiamati crowns e hanno una specificità complessante per i metalli alcalini che può essere vantaggiosamente utilizzata per estrazione di complessi anionici mediante la formazione di coppie ioniche tra il metallo alcalino e l'anione (1-4). Un ulteriore interesse per questi leganti deriva dal fatto che possono venire usati come modelli biochimici poiché talvolta mimano il comportamento di antibiotici macrociclici neutri presenti in natura come la valinomicina, la monactina, la nigericina e la enneatina (5).

In questo lavoro è stato studiato l'equilibrio di ripartizione dei clorocomplessi di Hg(II) e di Pd(II) con dibenzo-18-crown-6 (DB18C6) tra acqua e benzene allo scopo di verificare la possibilità di poter utilizzare questa tecnica per la determinazione selettiva di questi metalli da matrici reali.

L'estrazione di Hg(II) e Pd(II) da una fase acquosa in presenza di un eccesso dei cloruri di alcuni cationi (Li^+ , K^+ e $\text{NH}_4^+ = \text{M}^+$) con una soluzione benzenica di DB18C6 avviene secondo i meccanismi di associazione ionica così schematizzati:



Dopo ciascuna estrazione le concentrazioni dei metalli nelle fasi acquose venivano determinate mediante spettrometria I.C.P. operando con umidificatore di argon.

Le percentuali di estrazione aumentano sia con la concentrazione del crown che con quella dell'acido nella fase acquosa e dipendono dal tipo di catione utilizzato per la formazione delle coppie ioniche nonché dalla sua concentrazione.

Il potassio risulta il catione più efficace per l'estrazione date le sue dimensioni ioniche molto vicine a quelle del foro del DB18C6. Per una concentrazione di DB18C6 1.3×10^{-2} M, si ha, nel caso del mercurio la massima estrazione (85.6%) in presenza di HCl 4.5 M e KCl 0.9 M mentre, nel caso del palladio (99.8%), in presenza di HCl 0.9 M e KCl 3.54 M.

Operando in queste condizioni alla temperatura di 20 ± 0.2 °C e con diverse quantità di DB 18C6, è stato possibile calcolare le relative costanti di estrazione:

$$\log K_{\text{Hg(II)}} = 3,54 \pm 0,02 \quad \log K_{\text{Pd(II)}} = 5,02 \pm 0,02$$

Si può concludere quindi che, variando opportunamente le condizioni operative, è possibile ottenere un'estrazione selettiva del palladio dal mercurio.

1. D. B. Gomis, S. A. Jimeno, A. Sanz-Medel, *Talanta*, 29, 761, (1982).
2. H. Hoshima, H. Onishi, *Fresenius, J. Anal. Chem.*, 343, 287, (1992).
3. H. Hoshima, H. Onishi, *Anal. Chim. Acta*, 232, 287, (1990).
4. Z. Zhou, X. Zhang, *Acta Chim Sinica*, 46, 496, (1988).
5. W. Simon, W.E. Morf, and P.Ch. Meier, *Struct. Bonding* 16, 113-160, (1973).

EVIDENZA DI PROPRIETA' LEGANTI IN UNA MISCELA OLIGOPEPTIDICA PREPARATA MEDIANTE UNA TECNICA DI POLIMERIZZAZIONE A STAMPO MOLECOLARE

C.Giovannoli, C.Baggiani, G.Giraudi, A.Vanni

Dip.di Chimica Analitica, Università di Torino, via P.Giuria 5 - 10125 Torino - tel. 011-670762

Un importante obiettivo della chimica supramolecolare è la realizzazione di strutture in grado di imitare e riprodurre le interazioni host-guest caratteristiche di molte macromolecole di origine biologica, dovute in genere a meccanismi di riconoscimento molecolare altamente selettivi e specifici. Tali strutture possono essere ottenute attraverso la sintesi di complesse strutture organiche, la preparazione di librerie combinatoriali o la selezione di RNA leganti per evoluzione selettiva *in vitro*.

Una metodologia alternativa emergente consiste nella polimerizzazione templata, che permette la preparazione di macromolecole sintetiche con capacità legante selettiva nei confronti di specifici legandi. Le proprietà leganti di tali polimeri, definiti "a stampo molecolare", sono dovute a cavità di forma e carica elettrostatica complementari a quelle del legando, generate dalla presenza del legando stesso nella miscela di polimerizzazione. Recenti studi hanno dimostrato che tali polimeri sono in grado di agire da sistemi biomimetici capaci di simulare le proprietà leganti di un anticorpo o le proprietà catalitiche di un enzima.

Il presente lavoro ha inteso verificare se sia possibile utilizzare le tecniche di polimerizzazione templata per preparare miscele combinatoriali di oligopeptidi con capacità legante nei confronti di molecole modello quali l'estradiolo e il rosso fenolo. L'ipotesi di lavoro considerata consiste nel supporre che elevate concentrazioni di legando possano indurre una polimerizzazione orientata degli amminoacidi attraverso interazioni non covalenti con gli stessi, fino a portare alla formazione di sequenze oligopeptidiche con capacità specifiche di riconoscimento del legando stesso.

La strategia sfruttata per la sintesi della miscela di oligopeptidi consiste nel condurre la reazione di polimerizzazione di amminoacidi non ramificanti (gly, ala, leu, pro, phe, tyr, trp, ser, met, arg, his, gln, asn) in ambiente misto organico - acquoso, in presenza di N,N-dicicloesilcarbodiimide quale agente condensante. Allo scopo di verificare la presenza di eventuali legami aspecifici, la polimerizzazione è stata condotta in presenza e in assenza di legando. Le miscele di oligopeptidi sono state separate dalla molecola templata e dall'agente attivante per estrazione con solventi e/o scambio ionico e quindi caratterizzate mediante la determinazione del grado medio di polimerizzazione. La valutazione preliminare della capacità legante degli oligopeptidi ottenuti è stata effettuata sulle miscele purificate mediante titolazioni spettrofotometriche con il corrispondente legando e cromatografia di affinità con legando immobilizzato.

Mentre i risultati dalla cromatografia di affinità indicano che va scelta attentamente la struttura del legando da immobilizzare sulla fase stazionaria, il confronto tra titolazioni spettrofotometriche delle miscele di oligopeptidi preparate in presenza e in assenza di legando mostrano la presenza di un legame significativo nelle miscele preparate con la molecola templata.

STUDIO DELLE CONDIZIONI OTTIMALI PER LA MAPPATURA DI UN IDROLIZZATO TRIPTICO DI α -LATTALBUMINA BOVINA PER ELETTROFORESI CAPILLARE

C.Giovannoli., C.Baggiani, G.Giraudi, V.Leone*, A. Vanni, M.G.Giuffrida**

Dip.di Chimica Analitica, Università di Torino, via P.Giuria 5 - 10125 Torino -tel. 011-6707622

* Scuola di Specializzazione in Biotecnologie, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali,
Università di Torino

** Centro Studi Alimentazione Animali - CNR, via P.Giuria 7 - 10125 Torino -tel. 011-6505450

L'elettroforesi capillare si è dimostrata una tecnica efficace sia dal punto di vista analitico che preparativo per l'analisi di macromolecole proteiche. Tra le varie tecniche elettroforetiche, l'elettroforesi capillare zonale (CZE) è la più utilizzata sia per la sua semplicità di esecuzione che per la sua versatilità. Fra le diverse applicazioni della CZE in tale ambito, ottimi esiti sono stati raggiunti nella mappatura peptidica delle proteine, tecnica ampiamente utilizzata per l'identificazione delle medesime e per lo studio delle modificazioni strutturali, oltre che come passaggio preparativo nell'isolamento di frammenti peptidici da sottoporre ad analisi di sequenza.

La mappa peptidica di una proteina si ottiene per idrolisi enzimatica, in modo da frammentare la macromolecola in una serie di segmenti peptidici che forniscono un "pattern" proteico caratteristico. Affinchè una mappa peptidica in CZE possa essere considerata una informazione complementare a quella ottenibile in RP-HPLC, è necessario che vengano ottimizzate le condizioni sperimentali di analisi.

Tra i parametri sperimentali che hanno maggiore influenza sulla efficienza, sulla risoluzione e sulla selettività della separazione vanno considerati la concentrazione, la forza ionica e il pH del tampone, le proprietà chimico-fisiche degli ioni tamponanti, la presenza di additivi, il voltaggio operativo, la concentrazione della miscela peptidica e la forza ionica del campione.

Nel presente lavoro tali variabili sono state prese in considerazione per l'ottimizzazione della mappatura peptidica della α -lattalbumina bovina ottenuta idrolizzando con tripsina la proteina denaturata e determinando il pattern elettroforetico con un capillare da 24 cm x 25 μ m id. di silice fusa, funzionalizzato con un polimero lineare di poli(acrilammide).

CONTRIBUTO DELLA SPETTROSCOPIA NMR MULTINUCLEARE ALL'ANALISI DELL'INTERAZIONE METALLO PESANTE - HUMUS

Maria Grassi, Maurizio Moroni, A. Laura Bandini.

Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica ed Analitica, Università di Milano, Via Venezian 21, I-20133 Milano.

Giuseppe Gatti

clo Istituto di Scienze Chimiche, Università di Urbino, Piazza Risorgimento, I-61029 Urbino

La mobilità/immobilizzazione di metalli pesanti nell' ambiente dipende dalla possibilità di instaurarsi di legami ed interazioni tra tali metalli e le complesse matrici che compongono l'humus.

Quest'ultimo è costituito in buona parte da catene polimeriche contenenti anelli aromatici e gruppi polari (-COOH,-OH, NH etc.) che possono dare origine a reticolazione delle macromolecole attraverso legami secondari. Gli ioni metallici possono contribuire a tale processo aggregativo agendo da cross-linking tra catene. Noto che la spettroscopia NMR è particolarmente indicata per le indagini strutturali e dinamiche abbiamo tentato di analizzare per questa via una serie di molecole modello del tipo ML_2 (con $M = Cd, Pb, Hg$ e $L =$ acetato, tioacetato, salicilato, etc. Illustreremo di seguito i risultati preliminari delle misure fatte con l'osservazione dei nuclei $^{113}Cd, ^{207}Pb$, oltre ai tradizionali ^{13}C e 1H). Gli spettri 1H e ^{13}C (in soluzione) mostrano in tutti i casi osservati che esiste un'interazione tra i gruppi carbossilici, alcolici etc. ed il metallo. Tuttavia le piccole variazioni tra spettri di leganti in assenza e presenza di metallo e soprattutto la non osservazione di satelliti nel secondo caso, non consente di distinguere tra legame coordinativo metallo-legante o interazione secondaria.

Tale fenomeno infatti può essere spiegato da:

- legame salino ed interazione elettrostatica tra metallo e gruppi polari;
- formazione di complessi labili che si ionizzano/dissociano in solventi protici e polari;
- contributo sostanziale del meccanismo di rilassamento C.S.A. del metallo. Gli spettri ^{113}Cd e ^{207}Pb mostrano invece ragguardevoli variazioni per il chemical shift del metallo (in particolare per il piombo) ciò ad indicare che quest'ultimo è un probe molto sensibile a : tipo di legante, natura della coordinazione e geometria del sistema.

E' noto tuttavia che il chemical shift di alcuni nuclei risente considerevolmente dell'effetto solvente (soprattutto quando quest'ultimo è complessante: DMSO, DMF, etc.) e che in soluzione sono possibili equilibri dissociativi che, se veloci, portano all'osservazione di un unico segnale (quale media pesata delle risonanze in scambio). Un contributo sostanziale alla comprensione/esclusione di entrambi i fenomeni di cui sopra ci verrà da un confronto con misure analoghe allo stato solido, attualmente in corso. Data la molteplicità dei parametri in gioco e la limitatezza di dati (nostri e di letteratura) a riguardo, ulteriore sperimentazione si impone prima di trarre conclusioni sulla natura delle specie osservate. L' approccio ci sembra comunque promettente e degno di approfondimento.

SELECTIVE SOLID-PHASE EXTRACTION AND DETERMINATION OF N-PAHs IN THE PRESENCE OF PAHs IN THE URBAN STREET DUSTS

V.Librando () and M. Floridia*

Chemistry Department of Catania University, V.le Andrea Doria 6, 95100 Catania, Italy

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and their Nitro derivatives (N-PAHs) account for a great proportion of the genotoxicity in the atmosphere and in anthropogenic emissions. They are in fact the product of the incomplete combustion of different substances thus they are ubiquitous pollutants, their main source being diesel and petrol engine exhaust emission into the atmosphere, although a significant role is played by domestic heating emission, particularly fuel-oil types, and some industrial emissions. Considering their high molecular weight, they are adsorbed quickly after their formation onto atmospheric particulate with which they are found in association.

A routine method for the identification and quantification of PAH and Nitro-derivatives in urban street dusts has been developed. They are first purified and then separated by solid-phase extraction (SPE) using two absorbent phases in series. The procedure is fast and simpler and can separate the two classes of compounds which may then be determined by two different analyses GC/MS, reducing to a minimum the mutual interferences of compounds having close retention times. This proposed procedure is time-saving and uses a minimal amount solvent. Comparative study results with GC/NPD are also reported for Nitro-derivatives.

IMPIEGO DELLA TECNICA ACCOPPIATA CROMATOGRAFIA LIQUIDA/ SPETTROMETRIA DI MASSA NELLA DETERMINAZIONE DI COMPOSTI ALCHILSTANNICI IN ORGANISMI MARINI

Magi E, Rovelli A.

Istituto di Chimica Generale, Università di Genova - V.le Benedetto XV, 3 - 16132 - Genova

I derivati organostannici hanno svariate applicazioni ma il loro maggiore impiego viene fatto nell'industria delle vernici dove sono utilizzati come additivi anti-fouling per pitture di scafi marini. Queste pitture contengono fino al 20% di composto organostannico che viene rilasciato lentamente in mare restando attivo per un tempo che viene stimato in 1-2 anni. Studi tossicologici hanno evidenziato che l'attività biologica di questi composti è massima per i triorgano-sostituiti che risultano particolarmente tossici verso gli organismi marini.

Molte delle tecniche analitiche attualmente impiegate nella determinazione dei composti organostannici garantiscono una buona sensibilità e specificità ma non forniscono informazioni strutturali sull'analita. Tali informazioni possono essere indispensabili, quando si trattano campioni animali, per evidenziare trasformazioni o degradazioni dovute al metabolismo. Nel caso del tributilstagno (TBT) ad esempio, sembra che il composto venga metabolizzato dagli organismi nei suoi derivati di- e mono-sostituiti (DBT e MBT). L'impiego dell'accoppiamento LC/MS può risultare particolarmente efficace per ottenere informazioni in tal senso con il vantaggio, rispetto alla GC/MS, di non richiedere la derivatizzazione degli analiti. Abbiamo pertanto intrapreso lo studio dell'accoppiamento LC/MS mediante interfaccia "particle beam" nella determinazione di TBT, DBT e MBT, per valutare l'applicabilità di questa tecnica ad organismi marini come i mitili. Questi molluschi infatti, vengono spesso utilizzati come markers biologici e sono quindi utili indicatori di inquinamento ambientale.

Il "particle beam" è attualmente l'unica interfaccia LC/MS che consente di ottenere uno spettro di impatto elettronico confrontabile con le biblioteche spettri. Pertanto la prima parte del lavoro è consistita nell'ottimizzare l'interfaccia, sia ai fini della "bontà" dello spettro di massa ottenuto, sia ai fini della sensibilità. Viene presentato l'effetto di alcuni parametri che condizionano la nebulizzazione dell'eluente cromatografico, influenzando sull'efficienza del processo di separazione eluente-analita operato dal "particle beam". La quantità minima di composto organostannico che produce uno spettro attendibile è circa 600 ng. La sensibilità può essere notevolmente incrementata operando in SIR; in questo modo il TBT ha un limite di rilevabilità di 12 pmoli.

La separazione cromatografica è stata realizzata con una colonna tipo RP-18, utilizzando una miscela metanolo-acqua-acido acetico come eluente.

Particolarmente delicata è risultata la messa a punto della l'estrazione dei composti organostannici dai tessuti di mitilo, sia per ottenere un buon recupero degli analiti, sia per limitare le interferenze della matrice. Prendendo spunto dalla letteratura si è impiegato come agente estraente una soluzione di metanolo e tropolone (0.05%), introducendo uno step di purificazione-preconcentrazione mediante estrazione solido/liquido su florisisil.

I risultati sin qui ottenuti sono positivi e la tecnica accoppiata LC/MS con interfaccia "particle beam", senza sostituirsi ad altre tecniche indubbiamente più sensibili, può fornire un valido contributo nello studio dei composti organostannici negli organismi.

- Kadokami K. et al., J. Anal. At. Spectr., 1988, 3, 187

- Caricchia A.M. et al., Anal. Sci., 1991, 7, 1197

- Magi E., Frache R., Atti "Massa'95", Palermo 25-29/5/1995, pag.80

MICROESTRAZIONE IN FASE SOLIDA (SPME) CON FIBRE DI SILICE FUSA RICOPERTE DI CARBONE GRAFITATO: ANALISI GC E GC-MS DI MICROINQUINANTI ORGANICI NELL'ARIA ED IN MATRICI ACQUOSE.

F. Mangani, R. Cenciarini

Centro di studio per la chimica dell'ambiente e le tecnologie strumentali avanzate clo Istituto di Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Urbino, Piazza Rinascimento, 661029 URBINO Tel. (0722) 4164 - Fax (0722) 2754

La microestrazione in fase solida (SPME) è una tecnica preanalitica di recente introduzione che utilizza una sottile fibra di silice fusa ricoperta da una pellicola di fase stazionaria liquida (1,2) o da uno strato di adsorbente (3,4).

Quando la fibra viene messa a contatto con una matrice inquinata (liquida o gassosa) si crea un equilibrio tra il materiale che la ricopre e la concentrazione degli analiti presenti nella matrice. Terminato il campionamento, la fibra contenuta al posto del pistone nell'ago di una siringa da 5 μ L, viene introdotta nell'iniettore di un gascromatografo per il desorbimento termico e l'analisi dei microinquinanti organici campionati.

In questo lavoro sono presentati i risultati ottenuti usando per la SPME fibre di silice fusa ricoperte di carbone grafitato (Carbograph, Alltech). Per il ricoprimento delle fibre è stata utilizzata una sospensione omogenea di particelle submicroniche di Carbograph in opportuni solventi organici(5). Sono riportate curve di estrazione e di calibrazione relative ai microinquinanti organici presenti nell'aria ed in matrici acquose. Sono inoltre confrontate le caratteristiche e le prestazioni della fibra ricoperta di Carbograph con quelle della fibra ricoperta di polidimetilsilossano.

1) D. LOUCH, S. MOTLAGH, J. PAWLISZYN *Anal. Chem.*,64,1187,(1992)

2) C.L. ARTHUR, D.W. POTTER, K.D. BUCHOLTZ, S. MOTHLAG, J. PAWLISZYN *LC-GC*,5,8,(1992)

3) F. MANGANI, R. CENCIARINI, P. PALMA, F. BRUNER

3rd European Workshop on Mass Spectrometry in occupational Health Vienna, 15-17 Giugno, 1994

4) F. MANGANI, R.CENCIARINI, L. LATTANZI, P. PALMA XI Congresso nazionale di Chimica Analitica Cagliari, 12-16 Settembre, 1994

5) F. BRUNER, L. LATTANZI, F. MANGANI, M. ATTARAN REZAI *Cromatographia*,38,98,(1994)

STUDIO TERMOANALITICO DELL' INTERAZIONE ACQUA-MATRICE EMATICA E DELLE MODIFICAZIONI INDOTTE DA ANTICOAGULANTI E/O PATOLOGIE

S.Materazzi, R.Curini, M.A.Orru' e G.D'Ascenzo

Dip. Chimica - Università "La Sapienza" Roma

A.Fraioli

Ist. Idrologia Medica - Policlinico "Umberto I" Roma

L'importanza del ruolo dell'acqua negli eventi cellulari e nelle reazioni biochimiche ha portato ad approfondire gli studi sul suo comportamento fisico, biochimico e biologico soprattutto come sistema interattivo a livello delle reazioni biochimiche intra ed extra cellulari.

In letteratura tuttavia non appaiono studi relativi alle potenziali modificazioni indotte sul dato chimico analitico di sistemi biologici dovute a modificazioni dell' interazione acqua-matrice conseguenti sia ad evoluzioni endogene del sistema biologico stesso (patologie) sia a modificazioni esogene (interazione con farmaci).

Qualunque fenomeno che modifichi la percentuale di acqua legata ad elevata energia di legame con la matrice, e quindi non disponibile come sistema solvente, modificherà di conseguenza le concentrazioni degli analiti presenti nella fase liquida del sistema biologico.

Il dato chimico clinico da cui consegue la diagnosi si ottiene dall' analisi del sangue ovviamente addizionato di anticoagulanti. Di conseguenza una modificazione dell' interazione acqua-matrice ematica (sistema corpuscolato, sistemi proteici, lipoproteici, ecc.) determina una variazione della quantità di acqua disponibile come solvente e quindi una variazione delle concentrazioni plasmatiche degli analiti.

Il nostro studio ha preso in considerazione individui di sesso maschile, sani, di diversa età; i prelievi ed il trattamento dei campioni di sangue sono stati effettuati seguendo le procedure cliniche dei laboratori di analisi. E' stato quindi tracciato un profilo termooanalitico dell'assetto dell'acqua in pazienti sani.

Gli stessi individui sono stati sottoposti a terapia farmaceutica tipica dei cardiopatici (assunzione di aspirinetta) per verificare le modificazioni indotte.

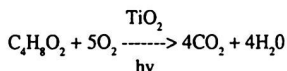
I risultati mostrano significativi spostamenti delle curve che implicano variazioni delle energie di interazione acqua-matrice ematica con conseguente variazione del rapporto acqua bulk / acqua legata. Lo studio sta approfondendo gli aspetti legati ad altre situazioni patologiche.

FOTODEGRADAZIONE DEL DIOSSANO MEDIATA DA TiO_2 : DETERMINAZIONE DEL MECCANISMO E IDENTIFICAZIONE DEI PRODOTTI

V. Maurino, C. Minero, M. Vincenti, P. Calza e E. Pelizzetti
Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino

Il diossano (I) è usato come solvente industriale in applicazioni simili ai solventi della classe dei cellosolve. La decontaminazione di sistemi acquosi contenenti diossano presenta notevoli difficoltà se effettuata tramite metodi convenzionali (biodegradazione, adsorbimento su carboni attivi), a causa della sua tossicità e solubilità in acqua. Si è investigata l'applicabilità di tecnologie di ossidazione chimica avanzate, in particolare la fotocatalisi mediata da TiO_2 e il trattamento con perossido di idrogeno, alla rimozione da acque contaminate di I, in concentrazioni dell'ordine della parte per milione. Gli esperimenti fotocatalitici con TiO_2 sono inoltre un sistema modello per le degradazioni abiotiche di sostanze organiche nell'ambiente.

Misure di diossido di carbonio generato e di carbonio organico totale indicano il raggiungimento della mineralizzazione completa secondo la reazione:



Il meccanismo di degradazione è stato studiato in dettaglio per mezzo di diverse tecniche analitiche (Purge and Trap - GC-FID, GC-CI-MS, IC) e con una nuova procedura di derivatizzazione sviluppata appositamente per la identificazione e determinazione di composti organici molto polari. È stato inoltre studiato l'effetto di diversi parametri sperimentali (pH, concentrazione di ossigeno, concentrazione di TiO_2 e di substrato e/o tipo di ossidante chimico).

I prodotti riscontrati nel primo stadio del processo degradativo sono di- e monoetilenglicole. La degradazione ulteriore porta alla formazione di svariati composti fra cui aldeide glicolica, acido glicolico, gliossale, acido ossalico, formaldeide, acido formico ed, infine, diossido di carbonio. Le evidenze sperimentali portano a concludere che il primo stadio del processo degradativo può essere definito come idrolisi fotocatalizzata, in quanto non comporta alcun cambiamento del numero di ossidazione formale di I.

DETERMINAZIONE DI Pb-210 IN SEDIMENTI MARINI MEDIANTE SEPARAZIONE CROMATOGRAFICA E CONTEGGIO DEL Bi-210

M.A. Meli, D. Desideri, F. Guerra, C. Testa
Istituto di Chimica Generale - Università di Urbino

In questo lavoro viene proposto un metodo di determinazione indiretta del Pb-210 che prevede: a) la separazione del figlio Bi-210 ($T_{1/2} = 5,02$ giorni) mediante una colonna cromatografica costituita da Microtene (polietilene microporoso) supportante della tri-ottil fosfina ossido (TOPO); b) il conteggio della sorgente con contatore beta a basso fondo.

Come è noto il Pb-210, che è un membro della serie radioattiva dell'U-238, ha un tempo di dimezzamento di 22,26 anni e può essere utilizzato quale indicatore di eventi geologici recenti con particolare riguardo ai processi di sedimentazione marina e lacustre.

Allo scopo di ottimizzare il recupero finale del bismuto e di ottenere la sua decontaminazione dal piombo e da altri interferenti stabili e radioattivi, si sono eseguiti tests preliminari utilizzando come traccianti Pb-210 in equilibrio con Bi-210 e misurando i due radionuclidi mediante scintillazione liquida. Il metodo suggerito è qui di seguito riportato.

2 g di sedimento, addizionati di 5 mg di Pb^{2+} e Bi^{3+} carriers vengono posti in muffola a 450 °C per 12 ore ed attaccati con acqua regia. Il residuo viene sottoposto a leaching con HCl 1 M; si filtra e si aggiungono 5g di idrazina solfato per la riduzione del Fe^{3+} che interferirebbe nella successiva estrazione del Bi^{3+} .

Si passa la soluzione, alla portata di 2 ml/min. su una colonna costituita da 4 g di Microtene-TOPO; si lava con HCl 3 M e quindi si eluisce il bismuto con HNO_3 8 M. Si elimina la soluzione nitrica mediante lenta evaporazione, quindi si riprende il residuo con HCl 1 M e si esegue la precipitazione del Bi^{3+} come Bi_2S_3 mediante tioacetamide al 4%. Si ottiene così un'adatta sorgente da sottoporre a conteggio beta con un contatore a basso fondo. Il conteggio deve essere ripetuto nell'arco di due settimane per seguire il decadimento del Bi-210.

La resa chimica media è risultata del 92%; il limite di rivelazione, per due grammi di sedimento, è pari a 19 Bq/kg.

Allo scopo di verificare l'affidabilità del metodo, è stato analizzato un sedimento fornito dall'IAEA con un valore certificato di Pb-210 (23,3 Bq/kg): il valore medio ottenuto da 8 analisi è risultato di $22,3 \pm 2,5$ (σ) Bq/kg confermando che il metodo è sufficientemente affidabile; inoltre il valore della deviazione standard è garanzia di un'accettabile riproducibilità.

Il metodo è stato infine applicato ad una carota di sedimento marino raccolta nel Mediterraneo Sud-Occidentale (Algeria). I valori di Pb-210 decrescono in funzione della profondità del sedimento fino a raggiungere un valore pressochè costante intorno al sedicesimo centimetro di profondità. Dal suddetto andamento è stata calcolata la velocità di sedimentazione.

DETERMINAZIONE DI COMPOSTI IDROFILICI IN TRACCIA IN MATRICE ACQUOSA MEDIANTE DERIVATIZZAZIONE CON CLOROFORMATI ALCHILICI E GC-MS.

*C. Minero, M. Vincenti, V. Maurino, M. Segà e E. Pelizzetti
Dipartimento di Chimica Analitica - Università di Torino*

La determinazione di composti organici a basso peso molecolare con funzionalità alcoliche, carbossiliche ed amminiche, eventualmente in combinazione, presenta numerose difficoltà, specie se essi sono a livello di traccia. L'assenza di gruppi cromofori, l'impossibilità di estrazione e la scarsa o nulla volatilità pregiudicano la determinazione per HPLC o per GC, a meno di ricorrere caso per caso a HPLC-MS e DCI- o FAB-MS. In generale, le tecniche di derivatizzazione risolvono i problemi di volatilità e incrementano la sensibilità di rivelazione, ma richiedono una manipolazione del campione sovente cospicua sia in termini di tempo che di costi. I più usati sono polialchilsilanizzanti (trimetilclorosilano, easametilsilazano ...), e alchilanti (alogenuri alchilici e arilici, diazoalcani). Le procedure risentono tuttavia in modo negativo della presenza di acqua.

E' stato dimostrato che la derivatizzazione direttamente in mezzo acquoso è possibile con i cloroformati di alchile. Tra questi, il cloroformato di esile porta ai migliori risultati analitici per molecole a basso peso molecolare [1]. I gruppi polari vengono trasformati in carbonati (gruppi alcolici, fenolici), esteri (gruppi carbossilici) e carbammati (gruppi amminici), con possibilità di derivatizzazione multipla. La procedura di derivatizzazione è molto rapida, è completa in pochi minuti e viene seguita da analisi per via GC-MS in ionizzazione chimica ioni positivi.

La procedura di derivatizzazione è stata migliorata per incrementare da una parte le rese di derivatizzazione (con un co-catalizzatore e con la ridefinizione delle condizioni operative) e dall'altra per evitare in campioni reali interferenze cromatografiche e spettrali in un range di massa sovente affollato (200-600 uma), incrementando il peso molecolare e contemporaneamente la volatilità e la specificità di risposta. E' stato sintetizzato e provato con successo il cloroformato di 2,2,3,3,4,4,5,5-ottafluoro-1-pentile. La rivelazione è effettuata in GC-MS ionizzazione chimica ioni negativi. La metodologia permette la determinazione quantitativa con linearità su 3 ordini di grandezza di acidi idrossicarbossilici, acido acetoidrossamico, idrossilammine, aminoalcoli, aminoacidi, aminofenoli e idrazina con limiti di rivelabilità da 0.3 a 3 ppb, con relativamente scarse influenze dei costituenti non derivatizzabili della matrice.

[1] C.Minero, M.Vincenti, S.Lago and E.Pelizzetti, *Fresenius J. Anal. Chem.* (1994) 350, 403-409.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI COMPONENTI DELL'AROMA DEI VINI PER ESTRAZIONE LIQUIDO-LIQUIDO SU SUPPORTO SOLIDO (SORBENT EXTRACTION)

Ivo Moret e Andrea Gambaro

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Venezia Dorsoduro 2137, 30123 Venezia

È stato condotto uno studio sulla determinazione quantitativa di componenti dell'aroma dei vini con il metodo dell'estrazione liquido-liquido su supporto solido. L'accuratezza è stata valutata utilizzando campioni di un vino a cui venivano aggiunti prima dell'analisi 4 componenti in quantità nota: decanoato di metile ($63 \mu\text{g l}^{-1}$), 9-decen-olo ($32 \mu\text{g l}^{-1}$), tridecanoato di metile ($61 \mu\text{g l}^{-1}$) e acido *trans* 2-esenoico ($249 \mu\text{g l}^{-1}$). Inoltre è stato eseguito un confronto tra i risultati analitici ottenuti con questo metodo e quelli ottenuti utilizzando l'estrazione liquido-liquido "classica" determinando 27 componenti dell'aroma in campioni di uno stesso vino.

La procedura messa a punto e utilizzata nell'estrazione liquido-liquido su supporto solido è stata la seguente. In un contenitore cilindrico (30 cm x 6 cm d.i.) con il fondo chiuso da un filtro di vetro a porosità 3 e riempito con 150 g di terra di diatomea (Hydromatrix, Analytichem Int. - U.S.A.) venivano versati 250 ml del campione di vino. Dopo 15 minuti venivano introdotti 200 ml di miscela estraente (pentano - diclorometano, 2:1 v/v). Dopo altri 10 minuti venivano raccolti per solo effetto di gravità ~100 ml di eluato contenente i composti estratti. L'eluato veniva ridotto per distillazione con una colonna di Vigreux al volume di 1 ml ed analizzato per gascromatografia con colonna capillare.

I risultati ottenuti indicano una buona accuratezza e ripetibilità della metodologia proposta come pure una buona concordanza con il metodo dell'estrazione liquido-liquido "classica". I maggiori vantaggi di questa metodologia rispetto a quella "classica" sono rappresentati dal fatto che non si formano emulsioni miscela estraente-vino e che i tempi di analisi vengono notevolmente ridotti.

PRESTAZIONI ANALITICHE E APPLICAZIONI BIOTECNOLOGICHE DI UNA STRUMENTAZIONE ULTRASENSIBILE PER L'ANALISI QUANTITATIVA DELL'IMMAGINE DI PROCESSI BIO- E CHEMILUMINESCENTI

P. Pasini, A. Roda, M. Musiani¹, G. Carrea², S. Girotti³, A. Suozzi⁴, M. Baraldini³

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, ¹Istituto di Microbiologia, ³Istituto di Scienze Chimiche, Istituto di Oncologia - Università di Bologna, ²Istituto di Chimica degli Ormoni - CNR, Milano

L'analisi dell'immagine della luce emessa da una reazione bio- o chemiluminescente rappresenta una delle tecniche analitiche più sensibili per la valutazione della distribuzione spaziale di biomolecole in tessuti, singole cellule e matrici polimeriche. Inoltre, l'intensità dell'emissione luminosa è proporzionale alla concentrazione di analita, il che permette di effettuare un'analisi quantitativa e, praticamente, di risolvere qualsiasi situazione analitica nella quale può essere utilizzato un sistema luminescente. Sono stati sviluppati substrati chemiluminescenti che consentono di determinare con elevata sensibilità molti enzimi, tra i quali la fosfatasi alcalina e la perossidasi. Tali enzimi, oltre a costituire analiti di interesse, vengono impiegati come marcatori in reazioni immunologiche e in reazioni di ibridazione, sia di tipo "dot blot" che "in situ", per la identificazione di sonde geniche; essi, inoltre, possono essere accoppiati ad altre reazioni enzimatiche consentendo la quantificazione di numerosi enzimi e substrati. Il continuo miglioramento nell'ambito dei substrati chemiluminescenti è stato accompagnato dallo sviluppo di dispositivi ultrasensibili di analisi di immagine in grado di quantificare e localizzare su una superficie bersaglio una reazione luminescente biospecifica associata ad un processo immunologico, ad una sonda genica, ad una reazione enzimatica.

Lo scopo di questo studio è quello di valutare le prestazioni analitiche di un apparato per l'analisi dell'immagine di bassi livelli luminosi basato su un sistema Saticon con intensificatore d'immagine, il luminografo LB-980 (EG&G Berthold), in termini di sensibilità, risoluzione spaziale, precisione, accuratezza. Il sistema è stato applicato alla rivelazione della fosfatasi alcalina e della perossidasi in soluzione usando diversi substrati chemiluminescenti; gli effetti delle dimensioni e della geometria del campione sono stati valutati criticamente. Mediante collegamento con microscopio ottico la fosfatasi alcalina è stata analizzata, oltre che in soluzione, come enzima presente in sezioni di tessuto, come molecola immobilizzata chimicamente su reti (100 fili/cm) o membrane di nylon e come marcatore per la rivelazione immunologica di sonde geniche.

E' stato possibile determinare quantità di circa 50 zeptomoli di fosfatasi alcalina su di una superficie di pochi mm² o in pozzetti microtitre, con una risoluzione di circa 125µm. Quando il sistema viene collegato con il microscopio ottico si ha un aumento della risoluzione fino a 0.4µm, permettendo così di localizzare analiti in tessuti e singole cellule.

INDAGINE PRELIMARE SUI COMPOSTI FENOLICI DELLE FOGLIE DI OLIVO (*OLEA EUROPAEA L.*) MEDIANTE SPETTROMETRIA DI MASSA IONSPRAY

Enzo Perri, Giovanni Sindona*, Andrea Raffaelli** e Piero Salvadori**

Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura, Rende (CS)

*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Calabria, Rende (CS)

**Centro di studio del CNR per le Macromolecole Stereordinate ed Otticamente Attive, Dip. di Chimica e Chimica Industriale, Università di Pisa, Pisa

Introduzione

Gli estratti di foglie di olivo sono stati studiati fin dagli inizi degli anni trenta per la loro azione ipotensiva (1). Tale interessante azione fisiologica ha motivato i primi studi sul "principio attivo" in essi contenuto e attribuito al suo principale costituente: l'oleuropeina, glucoside secoiridoide dal caratteristico sapore amaro.

In seguito, l'attenzione si è concentrata su altre attività biologiche (antiossidante, coronaro-dilatatore, ipoglicemica, anticolesterolemica, inibizione dell'aggregazione piastrinica) attribuite ad uno o a più composti contenuti in essi (2-3).

Le foglie di *Olea europaea L.*, benché caratterizzate da un elevato contenuto di oleuropeina, contengono numerosi composti fenolici (4), parte dei quali non sono stati ancora identificati. Pochi, infatti, e incompleti sono i lavori che hanno per oggetto la frazione fenolica delle foglie di olivo che si avvalgono delle più moderne tecniche di identificazione (5,3). Inoltre, appare più che mai opportuno riesaminare la composizione chimica dei composti fenolici fogliari alla luce delle recenti innovazioni nel campo della Spettrometria di Massa. Pertanto, è stato scelto l'abbinamento Cromatografia Liquida/Spettrometria di Massa (LC/MS) e, in particolare, la tecnica di ionizzazione ionspray (ISI) al fine di pervenire ad una rivelazione e caratterizzazione più rapida, completa e non ambigua di tali composti.

Materiali e metodi

Procedimento di estrazione dei composti fenolici

Sono state utilizzate foglie di olivo della "Carolea", la principale cultivar calabrese, in epoche ed età diverse. Il procedimento di estrazione prevedeva una triplice omogenizzazione delle foglie in metanolo, una filtrazione su imbuto con setto di vetro sinterizzato, una concentrazione degli estratti metanolici in evaporatore rotante a 35°C sotto flusso di azoto fino a consistenza sciropposa, e, infine, un lavaggio dello sciroppo sciolto in acetonitrile con esano in imbuto separatore. Gli estratti acetonitrilici sono stati nuovamente riportati a consistenza sciropposa e portati a volume con metanolo. *Cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC)*

La semplice analisi HPLC è stata effettuata con un cromatografo liquido Hewlett-Packard (HP) modello 1090 serie II e un rivelatore UV HP 1050 serie II, usando una colonna Carlo Erba Erbasil S 120 C18, 4,6 mm di d.i., 25 cm di lunghezza e particelle da 5 µm. La separazione era ottenuta grazie ad un gradiente acqua-metanolo. L'acqua era resa acida a pH=3.1 con acido acetico (1%).

Spettrometria di massa

Lo spettro di massa era acquisito mediante tecnica di ionizzazione ionspray (ISI) con uno spettrometro di massa Perkin Elmer Sciex API III Plus (Sciex Co, Thornhill, ONT, Canada). Gli spettri ISI sono stati ottenuti sia in modalità ioni positivi che in modalità ioni negativi. La soluzione stock di estratto è stata diluita 1:1 con acqua e iniettata nella sorgente ionspray mediante analisi "flow injection" (FIA).

Risultati e discussione

La complessità della composizione fenolica degli estratti metanolici delle foglie di olivo è illustrata efficacemente dalla figura 1, mostrante lo spettro di massa ISI di ioni positivi nell'intervallo m/z 100-

900. Benchè complesso, sono facilmente riconoscibili il picco a m/z 177, dovuto all'idrossitirosole e corrispondente allo ione $[M+H]^+$; gli ioni a m/z 379 e 401 dovuti all'aglicone dell'oleuropeina e corrispondenti, rispettivamente, allo ione $[M+H]^+$ ed $[M+Na]^+$; lo ione a m/z 433 dovuto all'apigenina-7-O-glucoside, corrispondente allo ione $[M+H]^+$; lo ione a m/z 449 corrispondente alla luteolina-7-O-glucoside protonata e gli ioni a m/z 541 e 563 corrispondenti, rispettivamente, allo ione $[M+H]^+$ ed $[M+Na]^+$ dell'oleuropeina. Nelle condizioni adottate, lo spettro di massa di ioni negativi è meno ricco di picchi ma anch'esso fonte di preziose informazioni; infatti, mostra ben visibili gli ioni negativi a m/z 377 e 539 corrispondenti allo ione $[M-H]$, rispettivamente, dell'aglicone, dell'oleuropeina e dell'oleuropeina.

Pertanto, questa indagine preliminare conferma l'utilità dell'applicazione della spettrometria di massa e, in particolare, della tecnica ISI, nello studio dei composti fenolici presenti nelle foglie di olivo, dischiudendo nuovi orizzonti nella caratterizzazione diretta o mediata dalla LC/MS di tali composti.

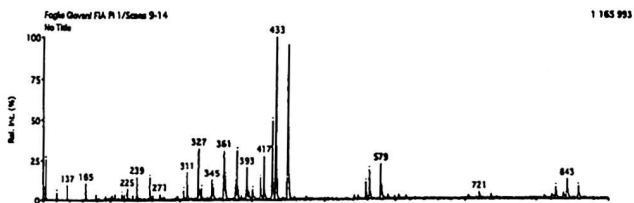


Figura 1. Spettro di massa ISI (ioni positivi) di un estratto metanolico di foglie di olivo della cultivar "Carolea".

1. Panizzi L., Scarpati M.L. e Oriente G. (1960) Gazz. Chim Ital. 90:1149-1485.
2. Ficarra P., Ficarra R., De Pasquale A., Monteforte M.T., Calabrò M.R. (1991) Il Farmaco, 46:803-815.
3. Romani A, Baldi A., Mulinacci N., Vincieri F.F. (1995) Atti II Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti, Giardini-Naxos 24-27 maggio, 505-514.
4. Le Tutour B. and Guedon D. (1992) Phytochemistry 31:1173-1178.
5. Gariboldi P., Jomlm G. e Verotta L. (1986) Phytochemistry, 25:865-869.

LA DETERMINAZIONE DEL POTENZIALE DI OSSIDORIDUZIONE DELLA COPPIA U(IV)-U(III) A 25 °C IN MEZZO HCl, NaCl (Cl⁻=3M)

Daniela Piazzese, Vincenzo Romano, Giuseppe Ruggirello e Roberto Zingales
Dipartimento di Chimica Inorganica dell'Università - Via Archirafi 26, 90123 Palermo

Proseguendo le ricerche sulla chimica in soluzione di specie iper- e/o ipo-ossidate, abbiamo intrapreso lo studio del potenziale redox della coppia Uranio (IV)-Uranio (III). Come ben noto, gli attinidi, a differenza dei lantanidi, presentano una varietà di stati di ossidazione che rende interessante la loro chimica, sia dal punto di vista fondamentale, sia dal punto di vista applicativo, specie per quel che riguarda i riflessi sui processi di produzione energetica e dei connessi problemi ambientali. Una notevole difficoltà nello studio di questi elementi è l'elevata radioattività da essi presentata. In tale ambito diventano convenienti tutte quelle metodiche che preparano ed analizzano le specie sotto studio, e ne misurano le proprietà *in situ*. Profittando della relativa non-pericolosità dei sali di Uranio, abbiamo pensato di utilizzarlo come sistema modello determinando il potenziale formale sopra menzionato. In particolare, alla preparazione per riduzione su platino con idrogeno dei sali di uranile, seguiva un'ulteriore riduzione elettrolitica su catodo di mercurio a formare miscele U⁴⁺, U³⁺ che, dosate *in situ* spettrofotometricamente, venivano quindi a costituire la soluzione S nella cella:

- Hg | S | Elettrodo a Vetro +

con S= U⁴⁺, U³⁺, H⁺, Na⁺, Cl⁻ (con [Cl⁻]=3 M).

La misura della f.e.m. di tale cella e la successiva conversione mediante la cella:

H₂ (1 atm) | NaCl, HCl, con [Cl⁻]=3M | E.V.

hanno fornito per il potenziale formale della coppia



a 25°C in mezzo HCl, NaCl (Cl⁻=3M), il valore di -663±3 mV in un largo intervallo di concentrazione delle specie coinvolte nell'equilibrio redox.

ENANTIOMERIC RESOLUTION OF UNDERIVATIZED AMINO ACIDS BY AFFINITY CHROMATOGRAPHY ON A DINAMICALLY COATED CHIRAL COLUMN

Maurizio Remelli, Francesco Dondi, Fernando Pulidori

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, via L. Borsari 46, 44100 Ferrara, Italia

The enantiomer resolution of racemic mixtures is one of the most interesting and growing fields in chromatography. A particular attention is focused on amino acid enantioseparation due to their fundamental importance in biochemistry, both from the preparative and the analytical points of view. In fact, enantiomeric pure products are requested for peptide synthesis. Moreover, amino acid chiral determination is of great importance in structure determination of many microbial products, such as polypeptide antibiotics, where the presence of D-amino acids is common. In both cases the separation of underivatized samples is advantageous. Among the different chiral chromatographic methods, the most used for this aim are Ligand-Exchange (CLEC) and affinity chromatography (with protein-based stationary phases).

A new chiral selector, Nⁿ-decyl-L-histidine (LNDH), has recently been used to prepare chiral stationary phases for CLEC, by means of the dynamic column coating procedure [1,2]. This method presents the great advantage that a commercial column, e. g. an RP-C₁₈ column, can be used to support the chiral selector and different chiral columns can be readily prepared from the same starting materials, if different column-coating conditions are used. LNDH has proved to be a good chiral selector for underivatized amino acid enantiomers, when a buffered mobile phase, containing the Cu^{II} ion, was used (CLEC mechanism).

In the present work preliminary results are presented on the use of LNDH as a chiral selector in affinity chromatography. A commercial RP-C₁₈ column has been dynamically covered with LNDH and an acetate buffer, containing no complexing ion, was employed as eluent. Racemic mixtures of underivatized amino acids have been resolved on this chromatographic system, under different experimental conditions. Good enantioselectivity values and relatively short analysis times, have been obtained for aromatic amino acid samples.

[1] M. Remelli, R. Piazza, F. Pulidori, *Chromatographia*, 32 (1991) 278.

[2] M. Remelli, P. Fornasari, F. Dondi, F. Pulidori, *Chromatographia*, 37 (1993) 23.

COLONNE CAPILLARI PER IL CAMPIONAMENTO DI INQUINANTI ORGANICI DISPERSI NELLE ACQUE

M.V. Russo, G. Goretti, D. Cutilli, E. Veschetti

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

Le tradizionali tecniche di arricchimento di un campione risolvono in modo parziale il problema della concentrazione dei microinquinanti, poichè restano più o meno inalterate tutte quelle procedure che possono introdurre artefatti nel sistema da analizzare, ciò è da imputare essenzialmente all'eccessiva manipolazione del campione.

Di recente sono state proposte tecniche alternative per il campionamento dei microinquinanti, infatti sono state impiegate colonne capillari con diametro interno (300 - 700 μm) e con spessore di fase stazionaria (0,4-7,0 μm) per campionare direttamente sostanze organiche disperse in acqua.

In genere il campione acquoso viene spinto all'interno del capillare dove gli analiti vengono adsorbiti dalla fase stazionaria. Gli inquinanti vengono, successivamente, desorbiti termicamente con una successiva rifocalizzazione criogenica all'estremità della colonna capillare; in alternativa il desorbimento può essere effettuato irradiando la superficie della trappola con una radiazione laser o più semplicemente eluendo con un piccolo volume di un opportuno solvente.

In questo lavoro è stata studiata la possibilità di connettere direttamente la colonna campionatrice con una colonna capillare analitica. Il sistema, dopo un lungo collaudo, ha dato una buona riproducibilità, fornendo recuperi maggiori del 98% per gli analiti studiati. Sono stati inoltre presi in esame quei fattori che possono essere correlati alla dispersione frontale del soluto adsorbito, come la velocità di campionamento, il diametro interno della colonna campionatrice, lo spessore di fase stazionaria, il volume di campione eluito, la natura e la concentrazione dei microinquinanti. I valori sperimentali misurati al variare delle caratteristiche della colonna campionatrice sono stati confrontati ed elaborati in termini di varianza, impiegando una relazione sviluppata da noi, partendo dal modello proposto da Sternberg, questi risultati sono in ottimo accordo con quelli teorici.

Il sistema studiato, quindi, permette il dosaggio di tracce di sostanze organiche presenti in campioni acquosi riducendo al minimo gli inconvenienti che derivano da una eccessiva manipolazione del campione e si è constatato che la non rifocalizzazione dei soluti non compromette in modo significativo l'efficienza della colonna campionatrice per sostanze poco solubili in acqua.

STUDIO ARCHEOMETRICO SULLE ORIGINI DELLA PRODUZIONE VETRARIA VENEZIANA

G. Scarponi, C. Turetta, G. Capodaglio, M. Verità*, S. Hreglich*

Università Ca' Foscari e *Stazione Sperimentale del Vetro di Murano, Venezia

La preziosità del vetro veneziano nel Medioevo e nel Rinascimento era dovuta, oltre che alla eccezionale abilità tecnica ed artistica raggiunta dai maestri vetrai, anche alla qualità dei vetri prodotti. In particolare le caratteristiche di purezza, trasparenza, decolorazione e colorazione dei manufatti vitrei della Repubblica Veneta erano superiori rispetto ad ogni altro centro vetraio dell'epoca.

Poco si conosce circa le origini della produzione vetraria veneziana e due ipotesi sono discusse. Da una parte si suggerisce un continuità con la tradizione vetraria romana; dall'altra si considera invece determinante l'influenza del Levante. È noto che la tecnologia romana e levantina si distinguevano principalmente per il tipo di fondente usato. Il natron, un carbonato sodico naturale del quale importanti giacimenti si trovano soprattutto in Egitto, era il fondente impiegato dalla vetraria romana, mentre le ceneri vegetali sodiche del tipo "allume catino", importate dal Levante, erano le uniche fonti di soda dei vetrai veneziani almeno a partire dal XV secolo. Le principali differenze di composizione tra i vetri ottenuti con il natron rispetto a quelli ottenuti con le ceneri vegetali riguardano principalmente il contenuto di ossido di sodio, superiore nei primi, e quello degli ossidi di potassio, magnesio e fosforo di cui sono più ricchi i secondi.

Allo scopo di fornire un contributo scientifico significativo per la conoscenza delle origini della tecnica vetraria veneziana è stato effettuato uno studio archeometrico su una serie di manufatti vitrei di origine romana (provenienti dagli scavi di Aquileia e Altino, I-V secolo, 20 reperti), di origine veneziana rinascimentale di sicura tecnologia levantina (XV-XVI secolo, 20 reperti) e di produzione veneziana medioevale di dubbia tecnologia (VIII-XIV secolo, 31 reperti). La composizione chimica dei reperti (SiO_2 , Al_2O_3 , Na_2O , K_2O , CaO , MgO , SO_3 , P_2O_5 , Cl , TiO_2 , Fe_2O_3 , MnO , CuO , Sb_2O_3 , PbO , SnO_2) è stata determinata mediante microanalisi ai raggi X e i dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi delle componenti principali.

I risultati hanno evidenziato che la prima componente principale mette in luce l'effetto del fondente usato; essa è quindi capace di differenziare i vetri di origine romana dagli altri in funzione della loro composizione chimica. La seconda componente principale è legata principalmente alla concentrazione di impurezze presenti sia nel fondente sia nel vetrificante che venivano usati.

Il diagramma di dispersione dei dati sulle prime due componenti principali mette in luce l'esistenza nell'area veneta di un periodo di transizione, compreso tra il IX e il XII secolo, in cui i manufatti vitrei erano prodotti sia con il natron sia con ceneri vegetali sodiche. In tale periodo quindi sembra esservi stata una transizione da una materia prima tipica della produzione vetraria romana ad un nuovo fondente di importazione levantina che diverrà in seguito il solo fondente utilizzato nella produzione vetraria muranese e che costituirà uno dei segreti dell'eccezionale qualità e fama raggiunte dal vetro veneziano a partire dal XV secolo.

MICROSINTESI ED ANALISI GC-MS: UN UTILE ABBINAMENTO PER L'IDENTIFICAZIONE DI COMPOSTI

Alberto Sturaro, Giorgio Parvoli, Rocco Rella e Lucio Doretti
Ufficio Sicurezza e Prevenzione del CNR., Corso Stati Uniti 4, 35020 Padova

La determinazione qualitativa degli analiti è un'esigenza irrinunciabile in chimica analitica per poter trarre delle conclusioni verosimili sul campione e sulla sua storia. La tecnica GC-MS offre molteplici opportunità per l'identificazione di composti incogniti. Questi sistemi analitici danno la possibilità di interpretare lo spettro di massa e di usare la ricerca di libreria per ottenere in tempo reale una lista di composti che hanno lo spettro più somigliante. Tuttavia, nessuna delle risposte ottenute dalla libreria sono da considerare esaurienti in quanto eventuali composti con alto peso molecolare danno luogo ad un ampio numero di specie isomeriche ed isobariche i cui spettri, non sono tutti riportati in questi archivi. Una sicura identificazione presuppone che le risposte strumentali del GC-MS quali, tempo di ritenzione e spettro di massa del composto di riferimento di nota struttura, siano identiche a quelle rilevate per la specie incognita, nelle stesse condizioni sperimentali. Il composto di riferimento non sempre è disponibile in commercio. La sua acquisizione, necessaria per identificare il picco incognito, può essere tentata seguendo due vie: a) uso di impurezze presenti in prodotti commerciali e b) microsintesi da effettuare direttamente in laboratorio. E' importante perciò scegliere con cura, nel primo caso, i prodotti che possono contenere l'analita come specie minore. Spesso la relazione che lega un composto alle impurezze che lo accompagnano è semplice: la sintesi del composto principale può dare isomeri, omologhi inferiori o superiori e prodotti di degradazione termica od ossidativa. Se questo metodo operativo non è applicabile, non resta che passare alla sintesi del composto. La classica procedura prevede l'utilizzo di non trascurabili volumi di solvente, fasi operative laboriose ed inquinanti, tempi lunghi di esecuzione con produzione di eccessive quantità di prodotto. Il superamento di questi aspetti limitanti può avvenire solo modificando la maniera di condurre l'eventuale sintesi. Partendo dalle informazioni trovate in letteratura su una specifica ricetta, si può intervenire riducendo drasticamente le quantità dei reagenti ed eliminando il solvente, se non indispensabile per ottenere una fase liquida in un particolare ambiente di reazione. I reagenti con l'eventuale catalizzatore vengono messi in una fiala di vetro, successivamente saldata a fuoco e sottoposti alle condizioni di sintesi riportate in letteratura. Dopo raffreddamento, il grezzo di reazione può essere estratto con un solvente organico, diluito o concentrato a seconda delle necessità. L'analisi GC-MS, nelle condizioni sperimentali già applicate sul campione, permetterà di verificare se esiste una completa sovrapposizione delle risposte strumentali tra il composto di sintesi e quello incognito. La validità di questo approccio è stata dimostrata risolvendo problemi di interesse ambientale collegati a casi reali incontrati nella nostra attività di ricerca.

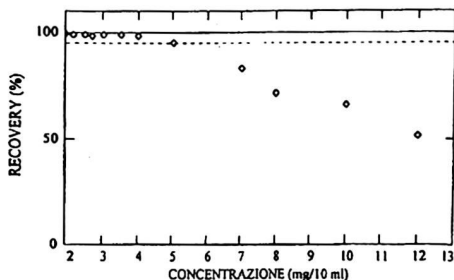
SULLA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELL'ETILVANILLINA SOSTANZA AROMATIZZANTE ARTIFICIALE AD IMPIEGO LIMITATO NEI PRODOTTI DOLCIARI

F. Tateo, G. Cantele, M. Bononi

DIFCA - Sezione di Chimica Analitica Agroalimentare ed Ambientale Facoltà di Agraria - Università degli Studi di Milano

Fra le sostanze aromatizzanti artificiali il cui impiego in vari prodotti dolciari è soggetto a limitazioni e per le quali è prevista una lista positiva (1) ai sensi dell'Allegato VII al D.M. 25.01.92, n.107, l'etilvanillina ricopre una posizione di particolare importanza per molteplicità di impieghi e dimensioni di consumo. Il Metodo UNICHIM n. 754 per la determinazione dell'etilvanillina nel cioccolato, (2) pubblicato dall'Associazione per l'Unificazione nel Settore dell'Industria Chimica (UNI), prevede una serie molto elaborata di ripetute estrazioni prima dell'operazione di concentrazione che precede la determinazione gascromatografica. All'elaborata manualità fa riscontro anche una difficile valutazione del recovery, fluttuante in funzione della varietà di matrici a cui il metodo va applicato (caramelle, confetti, lievito artificiale, cioccolato, crema di marroni, confetture e canditi, biscetteria, budini, zucchero a velo, gelati). In questa nota si considera l'opportunità di adottare il criterio di estrazione e concentrazione per adsorbimento in fase solida e si valutano le condizioni ottimali entro le quali il metodo può ritenersi preferibile a quello prima citato, sia in termini di efficienza analitica sia per maggior semplicità operativa. Esperienze preliminari (3) sono state eseguite per studiare il comportamento di vari analiti a diversa funzione organica in fase di adsorbimento e desorbimento su microcolonna Sep Pak Silica (Millipore). Le prime considerazioni emerse sono state quelle relative alla evidente opportunità di limitare il volume della soluzione di analita (in esano) percolato sul materiale adsorbente: le rese di adsorbimento sono risultate condizionate, a parità di quantità assoluta di analita, dal volume di soluzione in cui questo risulta solubilizzato. Le esperienze di recupero per desorbimento hanno dimostrato che, nel caso dell'analita etilvanillina, si ha desorbimento completo eluendo con 3 frazioni da 1 ml di etanolo 96%. L'analita viene completamente eluito nella seconda frazione se si opera in modo tale che la quantità assoluta da adsorbire su microcolonna non superi i valori deducibili dal grafico "concentrazione/recovery" più oltre riportato. Il metodo di isolamento dell'etilvanillina può essere riassunto in tre fasi: 1) estrazione in Soxhlet (30-60 ml di esano) dalla matrice, 2) concentrazione in rotavapor (a 10 ml) della soluzione esanica derivata dall'estrazione, 3) percolazione dell'estratto concentrato su fase solida e desorbimento con 3 ml di EtOH 96%.

Per la preparazione del campione ai fini dell'analisi gascromatografica si opera nel seguente modo: l'eluato



Distribuzione dei valori di recovery di etilvanillina, in funzione della concentrazione dell'estratto in esano derivato dall'operazione di estrazione e percolato su Sep Pak Silica

derivato dal desorbimento, dopo addizione di 0,1 ml di ottanolo a conc 0,2 g/100 ml (standard interno), si diluisce a 10 ml con EtOH 96%. La soluzione così ottenuta viene direttamente utilizzata per l'analisi GC/MS.

La Figura mostra che, a parità di volume di soluzione esanica percolata in microcolonna (10 ml), si ottiene un recovery non inferiore al 95% per quantità di etilvanillina non superiori a 5 mg.

Il volume di esano da utilizzare in Soxhlet può essere convenientemente compreso fra 30 e 60 ml, in funzione della concentrazione presumibile di etilvanillina nel prodotto da analizzare. Si impiegheranno 60 ml nel caso in cui la concentrazione nel campione non superi 50 ppm, nel qual caso si sottoporranno ad estrazione ca. 40 grammi di matrice. Nell'altro caso estremo, ove la concentrazione raggiunga 200-900 ppm, si sottoporranno ad estrazione rispettivamente 20 o 5 grammi ca. di matrice con 30 ml di esano. In ogni caso l'estratto finale si dovrà concentrare in rotavapor a ca. 10 ml: le esperienze hanno dimostrato che le % di recovery si riducono sensibilmente quando si utilizzano volumi maggiori di esano. Così operando, la quantità di vanillina da far adsorbire in microcolonna non supera comunque i 5 mg.

La determinazione quantitativa può essere agevolmente eseguita in SIM, considerando per l'etilvanillina come ioni caratteristici: m/e 137 (100), 138 (28) ed [M+] 166 (35), e per l'ottanolo (standard interno) gli ioni m/e 56 (100), 69 (70), 70 (65), 84 (42).

1) G.U. del 17.02.92 (suppl.ord.), Serie Generale n.39.

2) Manuale N. 155 UNICHIM (Ed. 1988), MU 754.

3) Tesi di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari di N. Brunelli (Relatore F. Tateo) Università degli Studi di Milano, aa 1991-92.

UNA SEMPLICE METODICA PER DETERMINARE IL CONTENUTO IONICO IN NANO-VOLUMI DI CAMPIONE MEDIANTE CROMATOGRAFIA IONICA

Rosanna Toniolo, Nicola Comisso e Gino Bontempelli

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Udine via Cotonificio 108, 33100 UDINE

Gilberto Schiavon

CNR - IPELP, corso Stati Uniti 4, 35020 PADOVA

La determinazione di analiti in piccoli volumi di campione, dell'ordine dei nano-litri (nl), risulta essere sempre una operazione molto difficoltosa. In particolare, queste difficoltà si incontrano nell'analisi chimico-clinica dove si è spesso costretti ad operare con campioni di volume molto ridotto (10-200 nl) come ad esempio nelle determinazioni relative al trasporto di ioni nel sistema renale, allorchè il campione deve essere prelevato ricorrendo a tecniche di micropuntura o di microperfusione di tubuli isolati.

Per queste analisi in nano-volumi è stata sviluppata una serie di metodologie le quali prevedono in genere la diluizione del campione originario assieme ad una sua considerevole manipolazione, così da comportare errori non trascurabili dovuti principalmente a contaminazione.

Noi proponiamo qui una semplice metodica alternativa che è utilizzabile in tutti quei casi nei quali il campione può essere analizzato con una delle tante tecniche di iniezione in flusso. Le sue prestazioni sono state valutate usando come campioni delle soluzioni sintetiche di NaCl in acqua Milli-Q, in nano-volumi delle quali è stato determinato il contenuto di ioni Na⁺ mediante cromatografia ionica.

A questo scopo, nano-volumi di campione sintetico erano prelevati mediante un micro-campionatore/iniettore dotato di ago con $l = ca. 5 \text{ cm}$ ed il cui orifizio di uscita aveva un diametro di circa $5 \mu\text{m}$. I campioni così prelevati, che occupavano l'ago solo parzialmente, venivano quindi trasferiti totalmente o solo in parte (a seconda del volume che si desiderava impiegare) in tubicini di materiale plastico trasparente (copolimero etilene-tetrafluoro etilene) di lunghezza pari a 5-7 cm e con \varnothing_{int} noto e compreso tra 100 e 200 μm che erano preliminarmente dotati alle due estremità di guarnizione e vite di collegamento alla valvola di iniezione al cromatografo ionico. Tale trasferimento veniva effettuato introducendo l'estremità terminale dell'ago per ca. 2 mm all'interno di una delle due estremità del tubicino in plastica, con l'ausilio di un microscopio.

Ciascun volume così trasferito, che occupava nel tubo un tratto lineare di lunghezza compresa tra 0.5 e 8 mm, veniva accuratamente misurato valutando con un catometro la distanza tra i due menischi.

L'errore in queste misure volumetriche era principalmente dovuto alla incostanza del diametro interno ($\pm 4\%$) e alla incertezza delle misure catometriche ($\pm 5 \mu\text{m}$) e risultava incidere in misura % variabile con il volume prelevato. Tale percentuale variava nelle nostre misure da ca. il 7% per $V = 10 \text{ nl}$ a ca. il 4% per $V = 160 \text{ nl}$. Il tubicino plastico trasparente contenente il nano-volume di campione prelevato veniva quindi collegato come "loop" alla valvola di iniezione di un cromatografo ionico DIONEX 2000i.

Veniva quindi registrato il corrispondente cromatogramma utilizzando le condizioni riportate in Tabella.

CONDIZIONI CROMATOGRAFICHE ADOTTATE

Fase stazionaria	Precolonna CG12 (5 cm) piu' colonna di separazione CS12 (25 cm)
Fase mobile	Acido metansolfonico 0.020 M in H ₂ O Milli-Q
Flusso	1 ml min ⁻¹
Temperatura	Ambiente
Sistema di rivelazione	Conduttimetrico a 100 $\mu\text{S f.s.}$ con soppressore elettrochimico CSRS-1 alimentato con H ₂ O in continuo
Volume iniettato	10 - 160 nl

I risultati ottenuti analizzando sia volumi diversi della medesima soluzione (0.05 M NaCl) che volumi confrontabili di soluzioni a diversa concentrazione (0.001-0.1 M NaCl) indicano una buona correlazione ($r = 0.998$) tra aree dei picchi e nmol introdotte oltre che un soddisfacente accordo tra queste ultime e le quantità trovate ($\pm 5\%$).

Sulla base di tali risultati è possibile concludere che la metodica qui proposta ben si presta all'analisi di nano-volumi di campioni soprattutto perchè non ne prevede la diluizione, operazione che comporta una loro inevitabile contaminazione. Tale metodica può ovviamente essere estesa non solo alla determinazione cromatografica di altri analiti ionici o non ionici (scegliendo opportunamente eluente e fase stazionaria), ma anche a qualsiasi specie determinabile con tecnica di analisi per iniezione in flusso (FIA).

RETENTION MECHANISM OF LANTHANIDE BOPTA COMPLEXES IN ION-INTERACTION CHROMATOGRAPHY.

Sergio Zappoli*, Carlo Tomba**, Federica Govoni*, Sonia Canipari**, Fulvio Uggeri**, Pier Lucio Anelli**
 *Università di Bologna, Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali, Viale Risorgimento 4, 40136 Bologna.
 **Bracco S. p.A - Centro Ricerche Milano, Via Egidio Folli 50, 20134 Milano

The Gd complex of 4-carboxy-5,8,11-tris(carboxymethyl)-1-phenyl-2-oxa-5,8,11-triazatridecan-13-oic acid (BOPTA) (1) shows interesting properties as contrast agent for its properties and it is performing advanced clinical trials.

The need for analytical method allowing the assay of Gd complex, free Gd, and free ligand, stimulated the researches to study the chromatographic behaviour of such substances.

In preliminary studies, extended to all the lanthanide's series (2), a split of the analytical peak in two distinct peaks has been observed; such a split has been observed to depend on the nature of the ion-interaction reagent (IIR) and on the atomic number of the lanthanide ion.

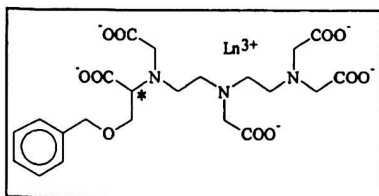


Figure 1. Structure of $\text{Ln}(\text{BOPTA})_2^{2-}$ complex.

In this communication a model for the retention mechanism of LnBOPTA will be presented and the nature of the compounds determining the splitting of analytical peak will be discussed. The retention model for the LnBOPTA complexes (Fig.1) was developed considering the existence of two different elution mechanisms: ion-exchange and ion-pair partitioning. A straightforward equilibrium treatment gives the following equation as the retention model:

$$k' = K_{IE} \cdot \left[\frac{[\text{OA}^+]_s}{[\text{Cl}^-]_m + b \cdot [\text{OA}^+]_m} \right]^{y_{IE}} + K_{IP} \cdot [\text{OA}^+]_m^{y_{IP}}$$

where the subscripts s and m indicate stationary and mobile phase respectively, OA is the IIR used (n-octylamine), K_{IE} is a constant term characterising the ionic exchange, K_{IP} is a constant term characterising the ion-pair partitioning, y_{IE} is the number of charges involved in the ionic exchange, y_{IP} is the number of charges involved in the ion-pair equilibrium, and b is a factor accounting for the contribute of n-octylamine to the ionic strength of the mobile phase.

To validate the model, experimental retention data of three LnBOPTA complexes (Ce(III), Gd(III) and Lu(III)) were obtained at nine different eluent compositions. The eluent compositions were defined by using a two factor central composite design (3).

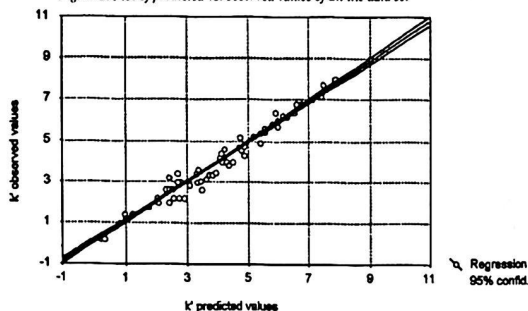
An additional set of data was obtained varying the ionic strength and maintaining constant at 0.1 M the n-octylamine concentration.

Experimental data of k' were used to fit equation 1. Considering $y_{IE} = y_{IP} = 1$ and $b = 0.45$ was found to give the best regression coefficient R result in term of explained variance.

In Table 1 the result of the fitting are given and in Fig. 2 is shown the observed versus predicted values plot for all the retention data obtained. The proposed

Table 1. Equation 1 parameters and regression coefficient R.			
$\text{Ln}(\text{BOPTA})$ peak	K_{IP}	K_{IE}	R
Lu II	20.6	$7.4 \cdot 10^5$	0.988
Lu I	15.4	$6.3 \cdot 10^5$	0.978
Gd II	17.4	$5.8 \cdot 10^5$	0.974
Gd I	13.5	$5.5 \cdot 10^5$	0.974
Ce I-II	13.9	$5.2 \cdot 10^5$	0.988

Figure 2. Plot of predicted vs. observed values of all the data set



more, differently charged substances. Peak splitting is likely due to the chromatographic separation of a distereoisomer mixture, arising from the chiral carbon atom in the ligand structure and the disposition of the ligand around the lanthanide ion.

model well described the retention behaviour of all the lanthanides investigated. All the peaks are eluted with a mechanism involving both ion-exchange and ion-pair partition and the charges involved in the equilibria are the same for all the ions and for each peak considered. This observation leads to the conclusion that the splitting, when it occurs, should not be due to the retention of two, or

1. Felder, E.; Uggeri, F.; Fumagalli, L.; Vittadini, G., Paramagnetic chelates useful for MRI Imaging. U.S. Patent 4,916,246, April 10, 1990; IT 19236A, Jan. 30, 1986
2. Tomba, C.; Anelli, P.L.; Canipari, S.; Uggeri, F. Proc. of the XVII Intern. Sym. Colum.Liq Chrom. Hamburg, 1993, Vol 2, p.201.
3. Liu, H.; Cantwell, F.F. Anal. Chem., 63 (1991)993-1000.
4. Box G.E.P., Hunter W.G., Hunter J.S., Statistic for experimenters, J.Wiley Sons, New York 1978

CAPILLARY ZONE ELECTROPHORESIS SEPARATION OF CHIRAL ORGANIC ACIDS BY MEANS OF β -CYCLODEXTRIN DERIVATIVES

O.Zerbinati, F.Trotta, G.Giraudi, C.Giovannoli, C.Baggiani*

Dip.di Chimica Analitica, Università di Torino, via P.Giuria 5 - 10125 Torino - tel. 011-6707618

**Dip.di Chimica Inorganica, Fisica e dei Materiali, Università di Torino, via P.Giuria 7-10125 Torino - tel.011-6707550*

Capillary electrophoresis (CE) has become a powerful separation technique during the past decade because of its separation efficiency and high resolution. Enantiomeric separations are important subjects of interest in many fields, including the pharmaceutical and medical ones. Chiral separation by capillary zone electrophoresis (CZE) a relatively recent technique, has been performed easily by adding chiral compounds to the buffer solution. High resolution is achieved within a short time. Chiral separations are based on very specific interaction that occur between chiral analytes and the enantiomeric buffer component, thus different analytes may require different chiral buffers for resolution.

The limited solubility of β -cyclodextrin in water is one of the major drawbacks in the use of this compound as chiral additive for CZE. In this study new β -cyclodextrin derivatives (both charged and uncharged) have been tested as chiral additives for the CZE separation of chiral organic acids. The results obtained for the separation of enantiomers of different substances with a 24 cm x 25 μ m i.d. polyacrylamide-coated capillary are presented and the influence of the substituent type and the substitution degree of, β -cyclodextrin on the separation are discussed.

DETERMINAZIONE COMPUTERIZZATA DELLO ZOLFO NELLE BENZINE MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA CAPILLARE CON RIVELATORE FOTOMETRICO.

Leilio Zoccolillo, Raffaella Hanel, Andrea Magri
Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza",
P.le A. Moro 5, 00185 Roma - Tel. 06-49913327; Fax 06-490631

La determinazione dello zolfo nelle benzine è importante per il controllo degli impianti di raffinazione, per i danni ai catalizzatori delle marmite catalitiche e per l'inquinamento ambientale (SO_2 o H_2SO_4 nei gas di scarico).

Il metodo ufficiale per la determinazione del contenuto di zolfo nelle benzine è l'ASTM D1552-83 che consiste nella combustione della benzina in corrente di ossigeno e la successiva titolazione della SO_2 sviluppata. Questo metodo, sebbene ampiamente diffuso, è lungo e laborioso.

La tecnica strumentale più adatta quale alternativa al metodo ASTM è senza dubbio la gascromatografia accoppiata al rivelatore fotometrico (FPD)^{1,4}; quest'ultimo, infatti, anche se presenta degli inconvenienti quali una risposta esponenziale con la concentrazione e un effetto quenching dovuto alla componente idrocarburica della matrice, è comunque relativamente economico, robusto e adeguato per molte applicazioni.

Oltre all'FPD sono stati proposti, per la misura di composti solforati, altri rivelatori specifici quali il rivelatore ad emissione atomica (AED)^{5,6} e il rivelatore a chemiluminescenza (SCD)⁷⁻¹³. Questi ultimi danno una risposta lineare con la concentrazione e presentano un ridotto effetto quenching ma sono molto costosi, sofisticati e richiedono analisti altamente specializzati.

Questo lavoro riporta un metodo computerizzato per la determinazione dello zolfo nelle benzine mediante gascromatografia capillare con rivelatore FPD. La benzina viene iniettata nel gascromatografo tale e quale e dopo la registrazione del cromatogramma il contenuto di zolfo (mg/L) è fornito direttamente da un integratore munito di scheda basic (o da un personal computer) in cui è stato inserito l'algoritmo della retta di calibrazione. Viene impiegata una retta di calibrazione in cui la concentrazione è espressa direttamente in zolfo, per cui non è necessaria l'identificazione dei numerosi composti solforati presenti nella matrice. La retta di calibrazione è stata corretta per l'effetto quenching dovuto alla frazione idrocarburica della matrice. La metodologia è stata validata con una benzina a contenuto noto di zolfo e risulta molto accurata, riproducibile, rapida e automatizzabile.

- (1) S.S. Brody, J.E. Chaney, *J. Gas Chromatogr.*, 4, 42 (1966).
- (2) S.O. Farwell, C.J. Barinaga, *J. Chromatogr. Sci.*, 24, 483 (196).
- (3) M. Dressler, *Selective Gas Chromatographic Detectors*, Journal of Chromatography Library, Elsevier: Amsterdam, Vol.36 (1986).
- (4) H.V. Drushel, *J. Chromatogr. Sci.*, 21, 375 (1983).
- (5) P.C. Uden, Y. Young, T. Wang, Z. Cheng, *J. Chromatogr.*, 468, 319 (1989).
- (6) B.D. Quimby, J.J. Sullivan, *Anal. Chem.*, 61, 1027 (1990)
- (7) J.K. Nelson, R.H. Getty, J.W. Birks, *Anal. Chem.*, 55, 1767 (1983).
- (8) S.A. Nyarady, R.M. Barkley, R.E. Sievers, *Anal. Chem.*, 57, 2074 (1985).
- (9) W. Bruening, F.J.M. Concha, *J. Chromatogr.*, 142, 191 (1971).
- (10) J.S. Gafney, D.J. Spandau, T.J. Kelly, R.L. Tanner, *J. Chromatogr.*, 347, 121 (1985).
- (11) R.L. Benner, B.H. Stedman, *Anal. Chem.*, 61, 1268 (1989).
- (12) J.W. Birks, *Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography*, VCH Publishers: New York, 1989.
- (13) R.L. Shearer, D.L. O'Neal, R. Rios, M.D. Baker, *J. Chromatogr. Sci.*, 28, 24 (1990).

ANALISI DI PESTICIDI ORGANOFOSFATI A LIVELLO DI SUB-PICOGRAMMO MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA-SPETTROMETRIA DI MASSA A IONIZZAZIONE CHIMICA NEGATIVA

L. Zoccolillo, L. Amendola, I. d'Harmant François, T. Leone
Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", P.le Aldo Moro 5, 00185 Roma Tel. 06-49913327;
Fax 06-490631

I pesticidi organofosfati sono largamente impiegati in agricoltura e in ambito domestico (più del 50% del consumo totale di pesticidi). Dal punto di vista ambientale essi presentano dei vantaggi rispetto ai pesticidi clorurati in quanto sono più facilmente biodegradati e in genere non danno prodotti di degradazione pericolosi.

Per la determinazione dei pesticidi organofosfati nelle varie matrici viene impiegata normalmente la gascromatografia (GC) accoppiata a rivelatori selettivi quali il rivelatore a cattura di elettroni (ECD), il rivelatore ad azoto-fosforo (NPD), il rivelatore fotometrico (FPD) e la spettrometria di massa sia a impatto elettronico (EI) che a ionizzazione chimica positiva (PCI) e negativa (NCI). Negli ultimi tempi è stata impiegata anche HPLC dato che alcuni pesticidi organofosfati sono termolabili (1). La GC-MS-NCI è in sostanza la tecnica più interessante per selettività e sensibilità (2-3); essa è stata finora impiegata quale tecnica ausiliaria di conferma.

Questo lavoro riporta uno studio riguardante l'impiego della GC-MS-NCI per l'analisi dei pesticidi organofosfati. Lo studio preliminare riguarda la ricerca delle condizioni operative ottimali e la scelta degli ioni m/z più adatti per l'analisi quali e quantitativa, ottenuti in differenti condizioni di gas ionizzante. Nella metodologia è previsto l'impiego di pesticidi marcati come standard interni.

I primi risultati sono interessanti in quanto, per una serie di composti organofosfati, si ottengono ottimi cromatogrammi in corrente ionica totale (TIC), (scansione 145-400 m/z), con quantità iniettate inferiori a ng.

In Figura 1 è mostrato un tipico NCI-TIC di una miscela di 7 pesticidi organofosfati ottenuti con un GC-MS 5989 Hewlett-Packard con Chemstation HP59940A.

Gli spettri NCI ottenuti hanno almeno due masse specifiche per ciascun pesticida mediante le quali è possibile con la tecnica SIM (single ion monitoring) confermare

la natura del composto e abbassare il limite di rivelazione a frazioni di pg.

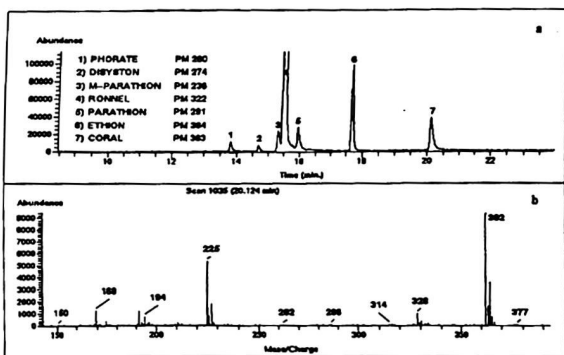


Fig.1 GC-MS-NCI di pesticidi organofosfati.

a) TIC di una miscela di 7 pesticidi. Colonna HP5 (Crosslinked 5% PMMeSilicone), lunghezza 30m, diametro interno 0,25 mm, 0,25 μ m spessore di fase fissa. Gas di trasporto: He. Temperatura: 60°C per 0 min., 20°C/min. fino a 100°C, 100°C per 5 min., 15°C/min fino a 280°C, 280°C per 5 min. Iniezione: con colonna*. Campione: 1 μ l di el-cisano concentrato 1 ng di ciascun composto.
b) Spettro del picco n° 7 (Coral)

- 1) S. Lacorte, D. Barcelò, Anal. Chim. Acta 296, 223 (1994).
- 2) S. Lacorte, C. Molina, D. Barcelò, Anal. Chim. Acta 281, 71 (1993).
- 3) G. Durand, D. Barcelò, Anal. Chim. Acta 243, 259 (1991).
- 4) L. Zoccolillo, L. Amendola, G.A. Tarallo, Int. J. Environ. Anal. Chem. in press.

... ..	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

Indice degli Autori

... ..	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

Handwritten text, possibly a signature or name, appearing as "Handwritten text".

A

P. Abis	P54
O. Abollino	B14
M. Aceto	B14
F. Achilli	P47
M. Adami	A2
G. Adami	P42, P43
F. Adani	P55
L. Aiello	P9
L. Alberotanza	P2
L. Alfei	P5
C. Amatore	PL3
L. Amendola	P106
A. Amine	A5
P.L. Anelli	P104
R. Antiochia	P1
C. Armanino	P2
D. Atzei	P56, P57

B

F. Bachechi	B10
F. Baffi	P22
C. Baggiani	B11, P3, P84, P85, P105
E. Baldini	A17
M.A. Baldo	B18
A.L. Bandini	P86
M. Bao	P58
M. Baraldini	PL1, P95
L. Barazzoni	P47
C. Barbante	A11
P. Barbieri	P42, P43
K. Barbieri	P58
E. Barbolani	P4, P48, P49
G. Barison	A1
V. Bartocci	P5, P83
S. Becagli	P6, P39, P48
R. Beckett	P76
S. Bellandi	P7

P. Benetti	A8
M. Berrettoni	P60
A. Berloni	P59
G. Blo	P76
C. Bocchi	B6, P8
P. Bocchini	P82
G.G. Bombi	P61
M. Bononi	P102
G. Bontempelli	P103
P. Borghesi	P62
F. Botrè	P31
F. Bruner	B3, P59, P62, P63, P64, P65
M.C. Bruzzoniti	P66
D. Burrini	P58

C

A. Cagnini	P36
S. Caimi	A9
S. Calissardi	P47
P. Calza	P91
L. Campanella	TR4, P9, P10, P11, P12, P67
S. Canepari	P68
S. Canipari	P104
G. Cantele	P102
G. Capodaglio	P100
M. Cappelloni	P44
A. Capiello	B3
I. Carelli	P15
M. Careri	B6, P8, P69, P70
A.M. Caricchia	P75
G. Carlucci	P71
E. Carnovale	P25, P44
S. Caroli	A9
G. Carrea	P95
M.A. Carsol	P72
G.P. Cartoni	TR2, P13
V. Carunchio	P68
I.G. Casella	B15

M. Caselli	P54
A. Casnati	P8
C. Casolino	A6
G. Castello	P73, P74
T.R.I. Cataldi	B15
G. Cecchet	A8
R. Cenciarini	P89
D. Centonze	B15, P27
P. Cescon	A11
S. Chiavarini	P75
L. Ciavatta	P14
R. Cilloni	P70
F. Coccioli	P13
C. Colapicchioni	P9
P. Coletto	P3
M.M. Collinson	B17
M.P. Colombini	A18, P20
N. Comisso	P103
C. Contado	P76
F. Contegno	A16
C. Coppi	P36
M.S. Cosio	P28
F. Costantini	P38
C. Creminisi	A5
G. Crescentini	P10, P11
C. Crescenzi	B5
G. Cuffari	P45
R. Curini	P90
L. Curri	P54
A. Curulli	P15
D. Cutilli	P99

D

G. D'Ascenzo	P90
I. d'Harmant François	P106
A. Daconi	A17
E. Dalcanale	B2
S. Daniele	B18

P.G. Daniele	P53
G.E. DeBenedetto	A3, P16
D. De Filippo	P56, P57
G. De Filippo	P56
C. de le Pezuela	P19
A. De Robertis	A13, P77, P78
C. De Stefano	A13, P77, P78
M. De Crema	P47
M. Del Carlo	P17, P36, P37
D. Desideri	A12, P92
P.G. Desideri	P30
E. Desimoni	TR5
A. Di Corcia	B5
G. Di Lullo	P25
M. Dieci	P69
F. Dondi	TR1, P40, P76, P98
L. Doretta	A1, P101
G. Drava	A6

E

B. Elsener	P57
------------------	-----

F

F. Fagioli	P23, P76
G. Famigliani	B3
A. Fava	P47
G. Favaro	P18
G. Favero	P12
M. Favotto	B13
F. Federici	P79
A. Felinger	P40
S. Fenu	A2
D. Ferrara	A1
S. Ferraro	B8, P38
M. Ferretti	P4
M. Fiorani	P18
M. Flieger	B10, P79
M. Floridia	P87

V. Fogacci	B9
V. Forastiero	B15
M. Forina	PL2, A6, P19
C. Foti	A13, P77, P78
R. Frache	A14
A. Fraioli	P90
R. Fuoco	A18, TR3, P20
S. Furlanetto	A7

G

M. Galletti	P80
G.C. Galletti	P82
A. Gambaro	P94
L. Gambelli	P81
D. Gastaldi	A15
G. Gatti	P86
M.C. Gennaro	B7
M. Genova	P24
G. Geri	P41, P52
D. Giacosa	B7
A. Gianguzza	A13, P78
T. Giersch	P32
M. Ginepro	A15
A.M. Gioacchini	PL1, P82
R. Giovannetti	P5, P83
C. Giovannoli	P84, P85, P105
G. Giraudi	B11, P3, P84, P85, P105
A.M. Girelli	P68
S. Girotti	PL1, P95
O. Giuffrè	P77, P78
M.G. Giuffrida	P85
G. Goretti	P99
F. Govoni	P104
E. Grandi	P33
M. Grassi	P86
P. Gratteri	A7
O. Griffini	P58
F. Groppi	B6

M. Grotti	A16, P21
F. Guerra	P92
P. Guerriero	A4
G. Guilbault	P32
P. Guidotti	P41
M. Gulmini	P53
M. Gusteri	P5

H

R. Hanel	P107
B. Hock	P32
S. Hreglich	P100

I

C. Ianni	P22
M. Iuliano	P14

J

R. Jasionowska	P13
----------------------	-----

K

J. Korf	P34
M. Kuneshka	P80

L

S. Lanteri	P2, P19
F. Laschi	P46
L. Lattanzi	P62
R. Lazzaroni	B4
R. Leardi	A16, P21
T. Leone	P106
V. Leone	P85
L. Lepri	P30
G. Lesgards	P72
V. Librando	P87
C. Locatelli	P23
G. Loglio	P39
L. Lora	A1

G. Lorenti	P31
S. Lorusso	P24
I. Losito	A10
M. Lucarini	P25

M

C. Maccà	B16
C. Maggi	P67
L. Maggi	P26
E. Magi	P88
F. Magno	B17
A.D. Magri	P1
A. Magri	P107
M. Maione	P65
C. Malitesta	P27
F. Mangani	P65, P89
A. Mangia	PL5, B6, P69, P70
P. Manini	B6, P69, P70
S. Mannino	P28
R. Marassi	P60
S. Marchese	P79
F. Marra	A18
G. Marrazza	P29, P35
F. Marrone	A13
C.R. Martin	A4
M. Martino	A13
M. Martuscelli	B15
M. Mascini P17, P29, P32, P35, P36, P41, P52, P72
F. Masi	P30
A.R. Mastrogiacomo	P63, P64
S. Materazzi	P90
V. Maurino	B2, P91, P93
F. Mazzei	P31
P. Mazzeo	P71
R. Mazzeo	P24
G.A. Mazzocchin	A4, B18
M. Mecatti	P41, P52

M.A. Meli	A12, P92
D. Melucci	B12, P23
E. Mentasti	B14, P66
A. Messina	B10, P68, P79
F. Messineo	B13
I. Michetti	P80
S. Militerno	P10
C. Minero	B2, P91, P93
G. Minghetti	P46
M. Minunni	P32
R. Morabito	P75
G. Moraglio	B11
I. Moret	P94
L.M. Moretto	A4
G. Mori	B6, P8
M. Moroni	P86
L. Morselli	P33
D. Moscone	P34
M. Mozzoni	B8
B. Muscatello	A18
M. Musiani	P95

N

D. Nardelli	A2
C. Nicolini	A2
S. Nidasio	A8

O

P. Olivieri	P33
C. Oppo	P7
M.A. Orru'	P90
G. Ostacoli	A15, P53

P

S. Palanti	P35
I. Palchetti	P36
G. Palleschi	A5, P1, P15
P. Palma	P59

S. Palmas	P51
F. Palmisano	P16, P27
F. Pantani	P7, P58
R. Pantani	P21
G. Papeschi	P37
G. Parvoli	P101
P. Pasini	PL1, P95
P. Passamonti	B8, P38
P. Pastore	B17
B. Pavoni	B13
E. Pelizzetti	B2, P91, P93
G. Perotti	P83
E. Perri	P96
M. Pesavento	A17
B.M. Petronio	P67
G. Pezzatini	P39
D. Piazzese	P97
G. Piccardi	P6, P48, P49
E. Pierini	P63
M.C. Pietrogrande	P40
S. Pinzauti	A7
L. Piras	A2
L. Pizzoferrato	P81
A.M. Polcaro	P51
B.M. Poli	P41, P52
E. Polise	P31
A. Ponticelli	P47
F. Porcelli	P31
R. Porto	P14
I. Pouliquen-Sonaglia	P72
N. Pratesi	P37
S. Predonzani	P43
A. Profumo	A17
S. Pucci	B4
F. Pucciarelli	B8, P38
D. Puleo	P45
F. Pulidori	P98
A. Pupella	P67

R

S. Raccanelli	B13
A. Raffaelli	B4, P69, P70, P96
D. Ramires	P13
A. Raineri	P8
G. Rastelli	P83
E. Reisenhofer	P42, P43
R. Rella	A1, P101
M. Remelli	P98
P. Reschiglian	B12, P23
C. Riolo	A17
P. Rivaro	A14
D. Rivetti	P43
S. Rizzi	A15
A. Roda	PL1, P82, P95
V. Romano	P97
C. Roselli	A12
N. Rossi	P23
A. Rossi	P56, P57
A. Rovelli	P88
S. Ruggeri	P44
G. Ruggirello	P97
A. Ruis	P19
M.V. Russo	P99
E. Russo	P47
V. Ruvolo	P45

S

L. Sabbatini	PL4
G. Sacchero	P66
P. Salvadori	B4, P96
S. Sammartano	A13, P77, P78
M.P. Sammartino	P11, P12
L. Sampaolo	P63
R. Samperi	B5
G. Sanna	P46
P. Santaroni	P81
A. Sardi	A2

M. Sartore	A2
C. Sarzanini	B14, P66
E. Sassi	P47
L. Scarciglia	P34
G. Scarponi	A11, P100
G. Schiavon	P103
S. Sconocchia	P60
R. Seeber	B9, P46
M. Sega	P93
A.L. Segre	B10
O. Senofonte	A9
G. Sindona	P96
M. Sinibaldi	B10, P79
P. Skladal	P32
T. Soldi	A17
A. Sturaro	P101
Y. Su	P11
A. Suozzi	P95

T

A. Tapparo	P61
F. Tateo	P102
A. Tenore	P16
L. Testa	P80
C. Testa	A12, P92
G. Testini	P73
N. Tirone	P45
M. Tomassetti	P9, P11, P12
C. Tomba	P104
D. Tonelli	B9
R. Toniolo	P103
A. Torazzo	P53
G. Torsi	B12, P23
A. Traini	P54
P. Trincerini	A8
O. Trischitta	P15
F. Trotta	B11, P105
C. Turetta	A11, P100

U

C. Ubaldi	P75
R. Udisti	P4, P6, P48, P49
F. Uggeri	P104
P. Ugo	A4
D. Uncini	P49
R. Ungaro	P8

V

M.T. Valentini Ganzerli	P26
R. Valtancoli	B12
A. Vanni	B11, P3, P84, P85
M. Verità	P100
E. Veschetti	P99
S. Vezzani	P50, P74
M. Vincenti	B2, P91, P93
A. Viola	P51
G. Volpe	P41, P52

W

R.M. Wightman	B17
---------------------	-----

Z

C.G. Zambonin	B1
P.G. Zambonin	P27
S. Zamponi	P60
S. Zappoli	P104
V. Zelano	A15, P53
O. Zerbini	P105
R. Zingales	P97
L. Zoccolillo	P106, P107
M. Zunino	A2

Finito di stampare nel mese di settembre 1995 da:
CALLIGRAPH srl - LUCCA
Tel. 0583/490800

SCI-DCA

