

**UNITECH**  
COSPECT



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI MILANO



**2° SSM**

**Seminario di Spettrometria di Massa**  
**Dipartimento di Chimica**  
**UNITECH COSPECT**

**21-22 giugno 2018**

**Aula C03 via Mangiagalli 25 - MILANO**

Giornata di studio dedicata all'applicazione della spettrometria di massa in campo ambientale, farmaceutico, alimentare, clinico.

L'evento è articolato in una giornata e mezza e contiene due sessioni poster.

E' previsto un premio per il miglior poster.

Comitato scientifico

Alessandro Caselli

Ermelinda Falletta

Rita Annunziata

Enrico Caneva

Laura Prati

Comitato organizzatore

Alessandro Caselli

Ermelinda Falletta

Manuela Gilberti

Enrico Caneva



Società Chimica Italiana  
Divisione di Spettrometria  
di Massa

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

  
**PerkinElmer**  
For the Better

*Corso di Dottorato in Chimica*  
*Corso di Dottorato in Chimica Industriale*

**Waters**  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

 **SHIMADZU**  
Excellence in Science

## Programma (21-06-2018)

8:30-9:30 Registrazione partecipanti

9:30-9:45 Apertura dei lavori (Autorità)

9:45-10:30 Donatella Caruso (UNIMI)- Scoprire il metabolismo con la spettrometria di massa (O1)

10:30-11:15 Simone Cristoni (ISB Srl)- Spettrometria di massa e medicina personalizzata (O2)

11:15-10:40 *Coffee break*

11:40-12:10 Simona Scarpella (Waters)- Introduzione della dimensione di mobilità ionica in esperimenti di spettrometria di massa nella separazione di strutture isomere (O3)

12:10-12:45 Sessione Poster

**12:45-14:00 Pranzo libero**

14:00-14:45 Ivano De Noni (UNIMI)- La Spettrometria di massa applicata alla scienza del latte (O4)

14:45-15:30 Fabio Gosetti (UNIUPO)- Studio del rilascio di distruttori endocrini da parte di dispositivi medici mediante on-line SPE UHPLC-MS/MS (O5)

15:30-15:45 *Coffee break*

15:45-16:30 Paola Brizio (ISZTo)- Determinazioni multielementari e speciazione mediante ICP-MS per la tutela del consumatore (O6)

16:30-17:15- Pierpaolo Nebuloni (Thermo Fisher)- FTMS Orbitrap: Spettrometria di Massa ad altissima risoluzione nei diversi ambiti applicativi (O7)

## Programma (22-06-2018)

9:00-9:45 Concetto Puglisi (CNR-Catania)- Caratterizzazione di sistemi polimerici complessi mediante spettrometria di massa (O8)

9:45-10:30 Maria Antonietta De Gregorio (ARPA Lombardia)- GC/MS: un valido strumento per la speciazione degli idrocarburi nell'analisi dei soil gas (O9)

10:30-10:50 *Coffee break*

10:50-11:35 Sessione Poster

11:35-12:10 Claudio Ghilardi (Shimadzu)- Identificazione e quantificazione di pesticidi tramite MRM Spectrum Mode (O10)

12:10-12:50 Alessandro Baldi Talini (Perkin Elmer)-Contaminanti in matrici alimentari (latte, prodotti caseari, vino) analizzati per LC/MS-MS (O11)

12:50-13:15 Premiazione poster e chiusura lavori

## **Contributi orali**

## O1

### LA METABOLOMICA E LA SPETTROMETRIA DI MASSA

**Donatella Caruso & Nico Mitro**

**Dip. Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Unitech OMICs**

Con “Metaboloma” si intende il profilo dei metaboliti a basso peso molecolare presenti in cellule, tessuti, organi e fluidi biologici. I metaboliti generati possono essere visti come il prodotto finale dell'espressione genica e/o dell'attività enzimatica, che definiscono così il fenotipo biochimico di un sistema biologico nel suo insieme, compreso l'uomo. Il Metaboloma, valutato sui fluidi biologici di un uomo riflette la sua storia, compresa l'età, il sesso, lo stile di vita, lo stato nutrizionale, le interazioni con l'ambiente, possibili stati patologici, l'effetto di terapie farmacologiche. La valutazione qualitativa e quantitativa di un consistente numero di metaboliti, come quelli determinabili mediante la tecnica della spettrometria di massa in fluidi biologici è in grado di fornire, con una accettabile probabilità, la “fotografia” dello stato biochimico di un organismo, fornendo informazioni sulle interrelazioni tra i diversi processi metabolici che definiscono lo stato fisiopatologico in termini sistemici o organo specifici. In altre parole, mentre il genoma e il proteoma suggeriscono un possibile modo di funzionamento del sistema, il metaboloma dà la rappresentazione reale del sistema. Lo studio del metaboloma, analogamente a quanto avviene per gli altri *omics*, è definito “metabolomica”, considerata tra le dieci tecnologie emergenti.

L'avvento delle discipline “omiche” ha rivoluzionato il modo di pensare degli scienziati ed il loro modo di fare ricerca: nel secolo XVIII i sistemi biologici erano paragonati alla meccanica di un orologio, nel XIX secolo alle macchine termodinamiche, nel XX secolo ai computer digitali ed oggi, nel secolo governato dal world-wideweb, i sistemi biologici sono rappresentati come “network”. E' pertanto prevedibile che nei prossimi anni, la lettura complementare delle informazioni derivanti dalle discipline omiche, quali appunto la metabolomica, la genomica funzionale e la proteomica, avrà un fortissimo impatto sulla ricerca in campo farmacologico, nella diagnostica, nella terapia e in un'ampia gamma di biotecnologie.

Durante il seminario saranno presentate alcune applicazioni nella ricerca biomedica, in particolare negli studi per la ricerca di nuovi indici metabolici integrati per la comprensione di meccanismi alla base di patologie umane, come ad esempio diabete e malattie degenerative del sistema nervoso.

## **O2**

### **SPETTROMETRIA DI MASSA E MEDICINA PERSONALIZZATA**

**Simone Cristoni**

**Ion Source & Biotechnologies Srl**

La medicina personalizzata stà divenendo fondamentale per la prevenzione delle malattie degenerative.

Il numero di soggetti affetti da diverse patologie è in progressivo, aumento e la prevenzione è un tema cruciale.

Sono state sviluppate piattaforme di spettrometria di massa monitorare i cicli metabolici primari che possono portare allo sviluppo delle malattie degenerative.

Queste ultime si basano su studi di ricerca ampiamente riconosciuti dalla comunità scientifica internazionale.

Nel corso del seminario saranno mostrati gli approcci più promettenti per supportare la prevenzione delle malattie degenerative.

### O3

## INTRODUZIONE DELLA DIMENSIONE DI MOBILITÀ IONICA IN ESPERIMENTI DI SPETTROMETRIA DI MASSA NELLA SEPARAZIONE DI STRUTTURE ISOMERE

Simona Scarpella

Waters Italy

Dal 2006 ad oggi, l'utilizzo della dimensione di mobilità ionica inserita all'interno di spettrometri di massa ad alta risoluzione di Waters si è evoluta portandone la misura come parametro di routine (accanto a massa accurata e frammentazione) nella caratterizzazione di composti noti e non noti (analisi target e untarget).

La mobilità ionica presente negli spettrometri Synapt e Vion ha ampliato le capacità analitiche introducendo la dimensione di mobilità ionica in tutte le modalità di acquisizione possibili con uno spettrometro ibrido Q-TOF. (vedi tabella)

	Tof Mode	HDMS Mode
Quan / Qual	<b>MS<sup>E</sup></b> Global analysis - All the ions all the time	<b>HDMS<sup>E</sup></b> Global analysis - All the ions all the time <b>Selectivity</b> - IMS separated targets <b>Peak capacity</b>
Discovery	<b>FastDDA</b> Speed - Smarter MS/MS switching	<b>HD-DDA</b> Speed - Smarter MS/MS switching <b>Sensitivity</b> - up to 10x increase (WE)
Targeted Quan	<b>Tof-MRM</b> <b>Sensitivity</b> - up to 10x (TE) <b>Radar</b> - full scan data ( <i>m/z</i> )	<b>HD-MRM</b> <b>Sensitivity</b> - up to 10x (WE) <b>Selectivity</b> - IMS separated targets <b>HD Radar</b> - full scan data ( <i>m/z</i> , dt)

In ambito farmaceutico, verrà riportato un esempio di identificazione di strutture isomere di metaboliti riconosciuti solo grazie alla loro diversa mobilità ionica, poichè coeluiscono in cromatografia. In particolare, l'esempio si riferisce all'analisi dei metaboliti del noto nefadozone acquisito in HD-DDA.

In ambito sicurezza alimentare, l'utilizzo della TWIMS (Travelling Wave Ion Mobility MS) ha consentito la costruzione di database di CCS (Collisional Cross Section), parametro estrapolato dalla misura di mobilità ionica interna. Il valore di CCS è strettamente correlato alla struttura della molecola incognita o da identificare, ad esempio, in matrici complesse. Il valore di CCS è indipendente dalle condizioni analitiche utilizzate così come dalla matrice in cui vengono effettuate le misure. Come esempio, viene riportato un lavoro pubblicato in ACA nel 2018 relativo all'analisi di micotossine (Università degli Studi di Parma, Prof.ssa Chiara Dall'Asta et al.).

Da ultimo, nell'applicazione ambientale, viene riportato un esempio di caratterizzazione di PFOS isomeri strutturali grazie all'utilizzo del gas di mobilità CO<sub>2</sub>, possibile solo su Synapt con analisi di tipo HDMS<sup>E</sup>

**LA SPETTROMETRIA DI MASSA APPLICATA ALLA SCIENZA DEL LATTE**

**Ivano De Noni**

**Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente**

**Università degli Studi di Milano**

Il latte è uno dei pochissimi costituenti della dieta umana la cui sola funzione in natura è quella di essere un alimento. Per questo, il latte possiede una grande importanza antropologica, ma anche una rara complessità (bio)chimica e fisica. Nonostante ciò, questa complessità resta ancora qualcosa di sorprendente, soprattutto quando rapportata alle modificazioni e interazioni che avvengono a carico dei micro- e macrocomponenti del latte durante i diversificati processi di lavorazione. Per molto tempo questi fenomeni sono stati studiati soprattutto in sistemi modello con risultati spesso non direttamente estrapolabili al latte e ai suoi derivati, sia per la loro maggior complessità che per l'impossibilità di riprodurre le condizioni di processo proprie dei trattamenti su scala industriale.

L'introduzione della spettrometria di massa nella scienza del latte ha aperto nuove possibilità di indagare gli stessi fenomeni in prodotti reali e, soprattutto, di individuare le modificazioni e le interazioni determinate da fattori genetici, fisiologici e tecnologici. Il risultato applicativo è sorprendente se paragonato a quanto ottenibile con altre tecniche analitiche tradizionalmente utilizzate per monitorare gli stessi fenomeni. Di fatto, con la spettrometria di massa è oggi possibile identificare e monitorare fenomeni in grado di cambiare le proprietà le proprietà nutrizionali e funzionali del latte e dei suoi derivati.

In questa prospettiva, sono presentate alcune delle attuali applicazioni della spettrometria di massa nell'ambito della *dairy science* con particolare riferimento alla caratterizzazione di componenti funzionali/bioattivi, all'identificazione di modifiche a carico della componente proteica, e alla tracciabilità e autenticità dei prodotti lattiero-caseari.

## STUDIO DEL RILASCIO DI DISTRUTTORI ENDOCRINI DA PARTE DI DISPOSITIVI MEDICI MEDIANTE ON-LINE SPE UHPLC-MS/MS

**Fabio Gosetti**

F. Gosetti<sup>1</sup>, B. Bolfi<sup>1</sup>, M. Manfredi<sup>1</sup>, E. Robotti<sup>1</sup>, F. Ferrero<sup>2</sup>, G. Bona<sup>2,3</sup>, E. Marengo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Università del Piemonte Orientale, Viale Teresa Michel, 11 – Alessandria

<sup>2</sup>Ospedale Maggiore della Carità, Cso Mazzini, 18 – Novara

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli, 17 – Novara

Gli interferenti endocrini (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs) sono sostanze esogene che possono perturbare e mimare l'effetto degli ormoni endogeni, interferendo ed influenzando il normale sviluppo dell'organismo ed impedendo così la sintesi e il metabolismo degli ormoni e dei loro recettori [1]. Inoltre, gli effetti di questi composti chimici non vengono solo circoscritti alla vita adulta della persona, ma possono anche passare alle future generazioni dal probabile meccanismo di eredità epigenetica [2].

Differentemente dagli adulti, i bambini non sono esposti solo alle specie chimiche tossiche presenti nell'ambiente, ma possono essere anche esposti indirettamente agli EDCs durante la loro vita intrauterina. Generalmente, gli EDCs tendono ad essere altamente lipofili e possono accumularsi facilmente nelle riserve lipidiche all'interno dell'organismo. L'apparato riproduttivo sotto-sviluppato e il sistema immunitario possono venire esposti durante la vita fetale e post-fetale ad inusuali concentrazioni di questi composti che non possono essere facilmente metabolizzati o escreti durante le fasi dello sviluppo [3]. In aggiunta, alcuni studi riportano una possibile correlazione tra l'esposizione chimica a EDCs e parti pretermine.

Questo studio riguarda lo sviluppo e la validazione di un nuovo metodo analitico per la determinazione di 25 EDCs appartenenti a differenti classi chimiche (5 parabeni, 2 bisfenoli, 2 alchilfenoli, 1 antibatterico, 11 composti perfluorurati, 3 ftalati e 1 adipato) potenzialmente rilasciati dai dispositivi medici durante le terapie ospedaliere. Lo scopo ultimo del lavoro sarà quello di analizzare campioni di plasma bambini nati prematuri e ricoverati presso il reparto di Neonatologia dell'Ospedale Maggiore di Novara per verificare un possibile accumulo di queste sostanze.

Le analisi sono state condotte mediante un sistema SPE online direttamente interfacciato con un UHPLC-MS/MS. Sono state testate diverse cartucce SPE e colonne cromatografiche, al fine di ottenere le migliori condizioni di separazione degli analiti, fattore di pre-concentrazione, valori di LOD e LOQ, volume di iniezione e contropressione del sistema.

I valori di LOD variano da 0.1 pg/mL per il perfluorobutil solfonato a 14.9 pg/mL per il bisfenol A. I valori di recupero sono sempre maggiori di 85% e il tempo di analisi è inferiore a 9 minuti.

Il primo step dello studio è stato l'identificazione di un possibile rilascio di EDCs da parte dei dispositivi medici e il successivo accumulo di EDC nel plasma dei neonati durante le terapie a cui questi piccoli pazienti devono essere sottoposti. Infatti, i neonati prematuri hanno bisogno di intensive cure mediche e devono essere alimentati solamente mediante soluzioni parenterali attraverso tubicini, cateteri intravenosi, ed altri dispositivi medici per almeno 2-3 mesi.

La simulazione del rilascio è stata condotta anche sulle siringhe e sugli aghi a farfalla (comunemente noti come "butterfly") utilizzando soluzioni fisiologiche (3 soluzioni di differenti case produttrici) per lo stesso tempo di contatto dei prelievi di sangue. Per quanto riguarda i cateteri, le simulazioni del rilascio sono state condotte esternamente con soluzione fisiologica ed internamente con la soluzione parenterale per due settimane di contatto, lo stesso tempo di permanenza dei cateteri all'interno del corpo dei neonati.

I risultati mostrano la presenza di alcuni EDCs sia nella soluzione fisiologica che nei dispositivi medici comunemente impiegati durante l'ospedalizzazione. Lo studio è tuttora in corso ed altri campioni di plasma verranno raccolti e sottoposti ad analisi.

[1] S. Shekhar, S. Sood, S. Showkat, C. Lite, A. Chandrasekhar, M. Vairamani, S. Barathi, W. Santhosh, *Gen. Comp. Endocrinol.* 241 (2017) 100-107.

[2] M.K. Skinner, M. Manikkam, C. Guerrero-Bosagna, *Reprod. Toxicol.* 31 (2011) 337-343.

[3] T.T. Schug, A. Janesick, B. Blumberg, J.J. Heindel, *127* (2011) 204-215.

**DETERMINAZIONI MULTIELEMENTARI E SPECIAZIONE MEDIANTE ICP-MS PER  
LA TUTELA DEL CONSUMATORE**

**Paola Brizio**

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta**

L'Unione Europea si colloca al primo posto a livello mondiale per la tutela della sicurezza dei consumatori, degli animali e dell'ambiente dai rischi associati alla catena alimentare.

I rigorosi controlli necessari a garantire che alimenti e mangimi siano sicuri, di elevata qualità e conformi alle rigorose norme dell'UE devono pertanto essere effettuati lungo l'intera catena agroalimentare.

Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZS) costituiscono una struttura sanitaria integrata, unica in Europa e nel mondo, e rappresentano un importante strumento operativo di cui dispone il Servizio Sanitario Nazionale per accertare la salubrità dei prodotti di origine animale e vegetale destinati al consumo animale ed umano, nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti.

Il laboratorio Contaminanti Ambientali è un presidio analitico dell'IZSTO che si occupa di determinare la presenza di metalli tossici ed oligoelementi in alimenti e mangimi nell'ambito dei piani ufficiali di controllo e di attività di ricerca.

L'utilizzo di una tecnica multielementare quale l'ICP-MS ha permesso di ridurre notevolmente i tempi di analisi dei campioni ufficiali, consentendo un tempestivo e puntuale intervento delle autorità preposte in caso di superamento dei tenori massimi previsti dalla legislazione vigente. Tale strumentazione ha consentito inoltre di acquisire dati sui tenori di metalli tossici, oligoelementi e terre rare in mangimi e alimenti oltre a matrici più particolari quali alghe e plankton.

Recentemente è stata inoltre sviluppata una metodica di speciazione dell'arsenico mediante HPLC-ICP-MS, capace di discriminare tra le forme inorganiche ed organiche dell'elemento. Tale tecnica è stata applicata, oltre che alle analisi di controllo ufficiale, allo studio di campioni di ricerca (riso e pesce di acqua dolce e salata) al fine di approfondire le conoscenze sull'argomento ed acquisire dati utili all'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) per la valutazione del rischio correlato all'esposizione.

**LA FTMS ORBITRAP: SPETTROMETRIA DI MASSA AD ALTISSIMA RISOLUZIONE NEI  
DIVERSI AMBITI APPLICATIVI**

**Pierpaolo Nebuloni**

**Thermo Fisher Scientific**

La chimica analitica ha notevolmente beneficiato degli sviluppi nel campo della spettrometria di massa. L'elevata risoluzione, l'accuratezza della misura e le sensibilità offerte dai moderni spettrometri di massa sono essenziali nell'affrontare le esigenze analitiche in numerosi ambiti di ricerca così come nella prassi dei laboratori di routine. Sebbene la trappola Orbitale sia giustamente considerata come uno dei più recenti analizzatori, le sue radici risalgono ad esperimenti condotti nel 1923 da parte K. H. Kingdon (Research Laboratory, General Electric Company). In questo lavoro, Kingdon riuscì a far orbitare gli ioni intorno ad un filo caricato, teso all'interno di una lattina. Alla fine del secolo scorso Alexander Makarow affrontò e superò moltissime difficoltà e nel 2005 fu presentato il primo prodotto commerciale.

Ai giorni nostri, la trappola orbitale ha raggiunto una larghissima diffusione in molteplici ambiti di ricerca. La strumentazione basata su questa tecnologia si è affermata saldamente nel campo della proteomica e della metabolomica. Inoltre, la trappola orbitale ha guadagnato forte popolarità anche in aree come la bionalisi, la biofarmaceutica, l'antidoping, la tossicologia, la sicurezza alimentare e l'analisi ambientale. La presentazione riguarderà le ultime novità tecnologiche e lo stato dell'arte dei vari modelli di spettrometri di massa che utilizzano questa tecnologia.

## CARATTERIZZAZIONE DI SISTEMI POLIMERICI COMPLESSIN MEDIANTE SPETTROMETRIA DI MASSA

Concetto Puglisi

CNR - Istituto per i Polimeri, Compositi e Biomateriali, Via Paolo Gaifami, 18 – 95126

Catania, Italy

[concetto.puglisi@cnr.it](mailto:concetto.puglisi@cnr.it)

La spettrometria di massa comporta la formazione di ioni nella fase gassosa e la bassa volatilità delle macromolecole ha precluso la diffusione della Spettrometria di Massa (MS) nell'analisi di sistemi polimerici. Ciononostante, informazioni strutturali significative possono essere ottenute dagli spettri di massa di macromolecole non volatili attraverso metodologie di degradazione termica e di ionizzazione EI e CI. Le due tecniche più utilizzate sono la pirolisi diretta nello spettrometro di massa (DPMS) e la pirolisi accoppiata alla gas cromatografia e alla MS (Py-GC/MS).

Con la DPMS i polimeri vengono introdotti nella sorgente di ionizzazione tramite la sonda ad inserimento diretto e la temperatura viene aumentata gradualmente fino a quando si verificano reazioni di degradazione termica. Uno specifico vantaggio di questa tecnica è che la pirolisi viene eseguita sotto alto vuoto a livello di  $\mu\text{g}$ , in modo che i prodotti di pirolisi sono rapidamente volatilizzati/ionizzati, con bassi tempi di residenza, riducendo la probabilità di reazioni secondarie, consentendo la rilevazione di prodotti quasi primari.

Con la Py-GC/MS il riscaldamento del polimero si ottiene attraverso un filamento o con una microfornace inseriti nel sistema di iniezione di un gas cromatografo. I prodotti volatili ottenuti per evaporazione/degradazione vengono separati attraverso una colonna gas cromatografica e identificati con lo spettrometro di massa.

Verranno illustrate alcune applicazioni quali meccanismi di degradazione termica di polimeri, determinazione di attivi e plastificanti in compound polimerici e determinazione di polietilene in formulazioni biodegradabili a base di poliesteri e amido.

L'introduzione della tecnica di desorbimento/ionizzazione laser assistita da matrice "Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI)" ha consentito il desorbimento e la ionizzazione di molecole molto grandi come biopolimeri e polimeri sintetici, anche in miscele complesse, e che se associato ad un analizzatore a tempo di volo il range di massa rivelabile è teoricamente infinito (praticamente circa 300.000 dalton). Il processo MALDI produce ioni quasi-molecolari a carica singola con frammentazione ionica trascurabile, mediante la cattura di un protone o di uno ione metallico (solitamente litio, sodio, potassio). Il polimero viene disciolto in un solvente appropriato e

miscelato con una soluzione della matrice per ottenere un rapporto molare tra macromolecola e matrice di 1:100-1:50.000. Nel caso di un polimero insolubile viene miscelato con la matrice allo stato solido. L'elevata accuratezza di massa e l'elevata risoluzione di massa degli spettri MALDI consentono la determinazione strutturale diretta delle specie contenute in ciascun campione di polimero, fornendo informazioni sulla massa dei singoli oligomeri, delle unità ripetitive, dei gruppi terminali, della presenza di unità cicliche, innestate e ramificate. Il MALDI è anche una tecnica ottimale per la determinazione della massa molare (MM) nel caso di polimeri con distribuzione della massa molare stretta, mentre con polimeri polidispersi emergono problemi. In alternativa, la cromatografia a permeazione di gel (GPC) può essere combinata "off-line" con il MALDI, consentendo la determinazione della massa molecolare assoluta per polimeri ad ampia polidispersione.

Verranno illustrati alcuni esempi riguardanti lo studio di sistemi polimeri sottoposti a degradazione termica, termo e foto-ossidativa, la determinazione della sequenza e della composizione in copolimeri ottenuti mediante processi di miscelazione reattiva di polimeri.

**GCMS: UN VALIDO STRUMENTO PER LA SPECIAZIONE DEGLI IDROCARBURI  
NELL'ANALISI DEI SOIL GAS**

**Maria Antonietta De Gregorio**

Maria Antonietta De Gregorio, Emanuela Mongini, Pasquale Robles, Laura Clerici,  
Pierluisa Dellavedova

**ARPA Lombardia, Settore Laboratori, U.O. Laboratorio di Milano,  
sede laboratoristica di Milano**

Nell'ambito della bonifica di siti contaminati, il Testo Unico Ambientale D.Lvo 152/2006, ha introdotto l'applicazione dell'analisi di rischio (AdR) sanitaria e ambientale che definisce le CSR (concentrazione soglia di rischio).

Lo strumento attraverso cui viene condotta l'analisi di rischio è il modello concettuale del sito.

In base alle diverse modalità di esposizione, l'AdR si applica a diversi percorsi tra cui il più critico è sicuramente la *Vapor Intrusion*: la migrazione di sostanze volatili dal suolo/sottosuolo/acqua di falda in ambienti aperti (outdoor) o chiusi (indoor).

La caratterizzazione e definizione della *Vapor Intrusion* risulta più precisa da misure dirette di matrici aeriformi provenienti da siti contaminati, secondo le diverse linee di evidenza (soil gas, flux chamber e aria ambiente) che, dunque, costituiscono il nuovo comparto ambientale emergente.

Ad oggi il metodo di campionamento più impiegato per l'analisi delle diverse linee di evidenza è quello indiretto, che prevede la captazione dell'inquinante su opportuni substrati e il successivo desorbimento mediante estrazione con solvente.

Gli idrocarburi rappresentano i principali inquinanti dei diversi comparti ambientali di siti in bonifica, suolo e falda che costituiscono, a loro volta, le sorgenti secondarie delle matrici aeriformi.

Questi rappresentano una classe numerosa ed eterogenea di composti organici, costituita da: alifatici lineari, ramificati, ciclici, saturi, insaturi, aromatici.

A causa delle diverse caratteristiche tossicologiche delle frazioni idrocarburiche, sono stati sviluppati degli approcci per la loro classificazione (MADEP e TPHCWG). Risulta, pertanto, di primaria importanza per gli enti di controllo e i laboratori di analisi sviluppare metodi analitici di speciazione delle diverse componenti idrocarburiche (alifatiche e aromatiche).

In uno scenario bibliografico molto poco generoso per la caratterizzazione analitica delle matrici aeriformi il settore laboratori di ARPA Lombardia ha recentemente messo a punto un metodo per la determinazione e speciazione degli idrocarburi nei soil gas [1].

Durante il talk verrà descritto come la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa rappresenta un valido strumento che permette, attraverso lo studio e l'attenta valutazione degli spettri di massa, l'individuazione degli ioni più caratteristici e diagnostici per l'identificazione e la quantificazione delle diverse frazioni idrocarburiche.

Verrà, inoltre, dimostrata, in termini di riproducibilità, la validità del metodo empirico sviluppato, sperimentalmente verificata su campioni reali e di riferimento per confronto con metodi alternativi presenti in letteratura ma di difficile applicazione alle diverse tipologie di supporti di captazione.

Si dimostrerà come la semplicità e la velocità del metodo sviluppato lo rendono un valido strumento per la speciazione del contenuto idrocarburico nei diversi comparti ambientali (suolo e acque) e nelle matrici aeriformi secondo le diverse linee di evidenza dei siti in bonifica.

[1] L. Clerici, E. Mongini, P. Robles, P. Dellavedova, M. A. De Gregorio, *GC/MS: A Valid Tool for Soil Gas Hydrocarbons Speciation*, International Journal of Analytical Mass Spectrometry and Chromatography, 3, **2015**, 54-62.

**O10**

**IDENTIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE DI PESTICIDI TRAMITE MRM  
SPECTRUM MODE**

**Claudio Ghilardi**

**Shimadzu Italia**

Nell'ambito della sicurezza alimentare, l'analisi degli inquinanti ambientali come erbicidi, pesticidi, rodenticidi, richiede metodi analitici sempre più performanti in quanto le normative vigenti presentano limiti massimi accettabili che tendono ad essere sempre più bassi. Inoltre il mercato richiede analisi rapide per via del grande numero di campioni a cui il laboratorio va in contro.

Per venire incontro alle esigenze analitiche, le metodiche sviluppate devono essere applicabili a diverse matrici possibilmente con lo stessa preparativa del campione. Così facendo però si possono creare delle problematiche durante l'analisi in spettrometria di massa che possono portare ad avere risultati falsi-positivi o falsi negativi.

Al fine di aumentare la sicurezza nell'identificazione degli analiti e di conseguenza anche della loro quantificazione, la normativa SANTE stabilisce determinati criteri che devono essere soddisfatti (come tempo di ritenzione, rapporto tra le aree dello ione quantificatore e qualificatore). Nel caso in cui questi criteri non riescano ad essere rispettati la stessa normativa prevede l'aggiunta di altri criteri o addirittura il rifacimento dell'analisi.

In questa presentazione si vuole illustrare una possibile soluzione al problema tramite l'aggiunta di un criterio: la conferma spettrale in libreria tramite tecnologia LC-MS/MS.

In particolare vengono illustrate due diverse vie per tale conferma: la prima, denominata Merged Product Ion Scan, prevede la costruzione di uno spettro di massa tramite product ion scan a tre diversi valori di energia applicati alla cella di collisione.

La seconda via invece prende il nome di MRM Spectrum Mode con la quale lo spettro di massa viene ottenuto grazie a un numero maggiore di eventi MRM riferiti ad un determinato analita.

**O11**

**CONTAMINANTI IN MATRICI ALIMENTARI (LATTE, PRODOTTI CASEARI, VINO)**

**ANALIZZATI PER LC/MS-MS**

**Alessandro Baldi Talini**

**Perkin Elmer**

Control of food safety is done under stringent regulations and requires instrumentation that matches demand of sensitivity, and stability and at the same time is designed for data intense and high throughput analysis.

Liquid chromatography/ mass spectrometry has become one of the most important technology for the analysis of persistent organic pollutants like pesticides or antibiotics.

Due to the variability of the matrix, food safety analysis requires different sample preparation and analytical approaches. During this presentation, we will discuss analysis of several contaminants in matrix like milk, wine, coffee, potato chips and we will describe how analytical challenges can be overcome with novel instrument design and easy to use software. Analysis of pesticides, antibiotics, acrylamide will be described, providing in some cases a full method validation information, showing how instrument stability and robustness is critical to reach high laboratory efficiency and decrease analytical uncertainty.

## **Contributi poster**

## P1

### METODO UPLC-MS-MS CON DILUIZIONE ISOTOPICA PER L'ANALISI DI MELATONINA, TRIPTOFANO E METABOLITI INDOLICI CORRELATI. APPLICAZIONI PILOTA A MATRICI COMPLESSE DI ORIGINE VEGETALE ED UMANA.

<sup>1</sup>Rita Paroni, <sup>1</sup>Michele DeiCas, <sup>1</sup>Jessica Rizzo, <sup>1</sup>Federico Calvi, <sup>2</sup>Giovanni Mistraletti, <sup>1</sup>Michele Samaja, <sup>3</sup>Marcello Iriti, <sup>1</sup>Federico Maria Rubino

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Salute, <sup>2</sup> Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia.

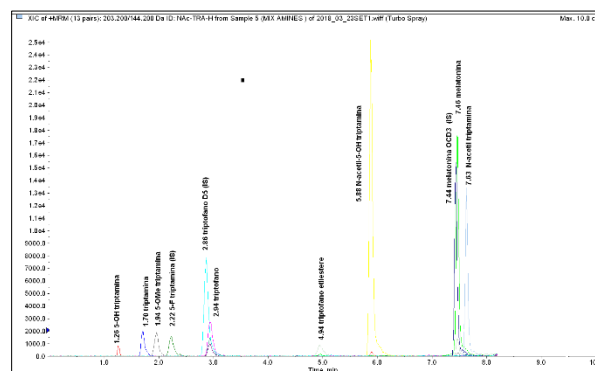
**RAZIONALE.** La melatonina (MLT) è un potente neuroormone prodotto in tracce dal triptofano nella ghiandola pineale dei mammiferi e coinvolto in molte funzioni fisiologiche: la regolazione dei ritmi circadiani di sonno-veglia, l'immunostimolazione, la difesa antiossidante e dai tumori (1). Le piante producono MLT con funzioni simili: aumentare la resistenza allo stress, regolare i ritmi circadiani, promuovere la germinazione e la maturazione. Anche lieviti come *Saccaromyces cerevisiae* e altri ceppi producono MLT durante la vinificazione. Lo scopo della ricerca è ottimizzare una procedura analitica per identificare e quantificare l'insieme dei metaboliti indolici del triptofano (indoloma) in matrici complesse vegetali e animali, per selezionare microrganismi alto-produttori di MLT per l'alimentazione, misurare la farmacocinetica di MLT somministrata secondo diverse vie e formulazioni farmaceutiche a confronto con un kit ELISA e studiare l'indoloma plasmatico di soggetti sottoposti a deregolazione dei cicli di buio-luce.

**MATERIALI E METODI.** L'analisi impiega un sistema di cromatografia liquida – spettrometria di massa composto da un cromatografo Dionex UltiMate® 3000 LC Systems (con autocampionatore, pompa binaria e termostato) e da uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo AB Sciex 3200 QTRAP®. La colonna UPLC è una Agilent Zorbax® Bonus-RP 80A Amide (3x100 mm; 3,5 µm). Come standard interni sono utilizzati la 5-F-Triptamina per tutti gli indoli, il D<sub>5</sub>-Ar-Triptofano e la OCD<sub>3</sub>-MLT per i rispettivi analiti. La separazione cromatografica è ottenuta con un gradiente di acido formico allo 0,1% e formiato di ammonio 5 mM in acqua (A) e acido formico 0,1% in metanolo (B), flusso 0,4 ml / min, volume di iniezione 10 µl, tempo totale di analisi 10 min. La preparazione dei campioni impiega la precipitazione delle proteine con acetonitrile - 0,1% acido formico e la SPE con cartucce Supelco HybridSPE-Phospholipid (30mg, 1 ml).

### RISULTATI.

La scelta delle transizioni analitiche e delle condizioni strumentali ottimali è stata ottenuta con lo studio preliminare mediante infusione in modalità di ionizzazione positiva di 11 composti (soluzioni singole, ~0,8 nM). Sono state misurate, con la funzione Ramp del software Analyst, le curve del Declustering Potential (DP) dello strumento (intervallo di  $\Delta V$  tra 0 e 70-90 V) e le curve di abbondanza dei frammenti in funzione dell'energia di collisione (curve di breakdown nell'intervallo di  $\Delta V$  tra 0 e 50-70 V). Tutte le elaborazioni sono state eseguite, a partire dai dati del software Analyst esportati come file .txt, in fogli di calcolo personalizzati (2), che calcolano i valori dei potenziali strumentali corrispondenti alla resa massima dei frammenti ionici identificati come reporter analitici, che sono stati poi utilizzati nel metodo finale.

Il metodo cromatografico sviluppato separa e analizza 11 composti indolici in 10 min, con curve di calibrazione lineari ( $R^2 > 0,998$ ) nei due intervalli utili di concentrazione 0,012-1,25 ng (curva bassa) e 1,25-10 ng (curva alta). La presenza di triptofano ad elevate concentrazioni (69,7 e 18,4 µg/ml, rispettivamente) in terreni YPD e YNB utilizzati per la



fermentazione di lieviti è stata confermata, mentre tutti gli altri indoli ricercati sono risultati assenti. In estratti metanolici di farina di semi di soia è stato misurato triptofano libero (2,72 e 3,12 mg/g) e sono state identificate tracce di N-acetil-5OH-Triptamina (0,16 e 0,16 µg/g) e di MLT (5,65 e 0,95 µg/g). Questo metodo ha inoltre consentito di quantificare MLT nel plasma per lo studio di diverse formulazioni farmaceutiche e per la valutazione dei suoi ritmi circadiani nell'uomo.

1. Lionella Palego, Laura Betti, Alessandra Rossi, Gino Giannaccini. *Journal of Amino Acids* Volume 2016, Article ID 8952520, 13 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8952520>
2. Rubino et al., *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22(23), pp. 3935–3948. doi: 10.1002/rcm.3810.

## Decomposizione di ioni precursore mediante collisione in condizioni iso-energetiche: aspetti teorici e applicazioni *proof-of-principle* nelle tecnologie di analisi “omica”.

**Federico Maria Rubino**

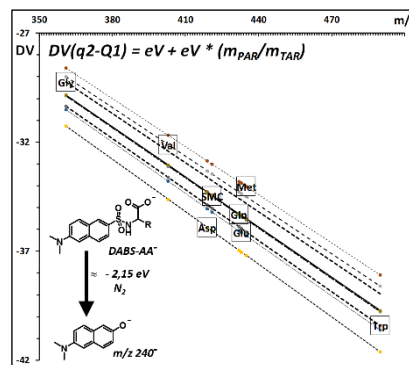
LaTMA, Laboratorio di Tossicologia e Metabolomica Analitica, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, v.A. di Rudinì 8, I-20142 Milano

La decomposizione di ioni precursore poliatomici condotta per collisione a energia variabile su gas-bersaglio stazionario in un quadrupolo a sola radiofrequenza (q2) rappresenta la tecnica sperimentale di maggiore utilità nelle applicazioni strutturali e analitiche della spettrometria di massa. La funzione empirica che rappresenta la variazione della resa/intensità di ogni specifico frammento ionico al variare dell'energia di collisione (curva di *breakdown*) fornisce indicazioni utili sia nelle applicazioni analitiche della spettrometria di massa tandem (valore del potenziale di collisione corrispondente alla massima resa di uno specifico frammento), sia nell'estrazione di informazioni termodinamiche, quale l'energia di soglia per la decomposizione, per lo studio degli ioni gassosi isolati.

La massima conversione dell'energia traslazionale dello ione in energia interna vibrazionale che può causare la decomposizione dello ione ( $E_{CM}$ ) è definita, per ciascun valore della caduta di potenziale della cella di collisione (q2) rispetto al quadrupolo iniettore (Q1) e in relazione alla massa del gas-bersaglio ( $m_{TAR}$ ) e dello ione precursore ( $m_{PRE}$ ), dalla nota relazione:  $E_{CM}(eV) = DV(q2-Q1) * m_{TAR}/(m_{TAR}+m_{PRE})$  (Eq. 1). Ne consegue che, per depositare la medesima quantità di energia interna ( $E_{CM}$ ) su ioni precursore di massa crescente, è necessario incrementare progressivamente, e in modo non-lineare, l'entità della caduta di potenziale (q2-Q1). Il riarrangiamento algebrico dell'Eq. 1 consente di linearizzare la funzione, e di calcolare il valore della caduta di potenziale (q2-Q1) necessaria per attivare al medesimo livello di energia interna, o effettiva, precursori ionici con valori diversi e crescenti di m/z.

La possibilità che contemplano alcuni software per la gestione dei parametri operativi degli spettrometri di massa a triplo quadrupolo di modulare il potenziale inter-quadrupolo nel corso della scansione dell'asse m/z consente di far sperimentare a precursori ionici con differente m/z il medesimo valore di energia effettiva di collisione. In particolare, per sistemi organici micro-eterogenei, quali la maggior parte delle bio-molecole strutturali, le specie ioniche molecolari vanno incontro a una varietà limitata di vie di frammentazione principali, la cui energia critica lungo la coordinata di reazione rimane apprezzabilmente costante al variare della complessità o dimensione molecolare dello ione precursore. Questa modalità innovativa di impiego dello spettrometro di massa a triplo quadrupolo consente, specialmente se accoppiata alle scansioni degli ioni precursore e delle perdite neutre, di far avvenire una specifica via di frammentazione essenzialmente con la medesima efficienza frazionaria, indipendentemente dalla massa molecolare del precursore.

Per verificare la pratica implementazione dei principi sopra esposti alla messa a punto di metodi di analisi multicomponente, quali quelli che trovano applicazione nella caratterizzazione “omica” di campioni biologici, sono state studiate mediante spettroscopia collisionale le vie principali di frammentazione di alcune classi di piccole molecole di interesse biologico, e sulla base dei valori di energia di frammentazione ottenuti per una serie di composti omologhi o analoghi di sostanze organiche di interesse biologico, sono stati predetti i valori di potenziale di collisione ottimali per la misura di altri termini della serie. Per verificare l'essenziale costanza del valore di energia critica, per ciascun termine, assunto come riferimento, è stato misurato il valore di  $DV_{max}$  nella curva di



*breakdown*, e tale valore è stato ricalcolato per altri composti analoghi o omologhi, e confrontato con quello sperimentalmente ottenuto.

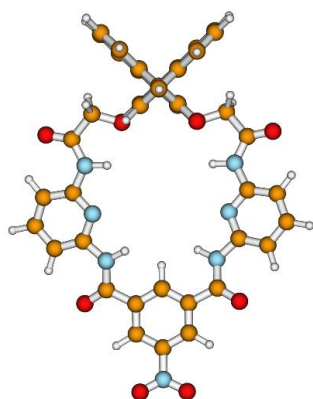
Tra i sistemi esaminati vi sono nucleosidi glicosilati, tioeteri della serie mercapturica, lipidi della serie ceramidica, amminoacidi naturali derivatizzati con cromofori per l'analisi HPLC (v. esempio). Nei casi esaminati la variabilità del risultato del calcolo si mantiene inferiore all'ampiezza "naturale" del massimo della curva di *breakdown* della corrispondente transizione (ordinariamente dell'ordine di 3-6 DV), e costituisce quindi una stima del valore di massimo utilizzabile per l'ottimizzazione del parametro strumentale anche in assenza di standard di riferimento.

## SPECTROSCOPIC DISCRIMINATION OF DIASTEREOMERIC COMPLEXES INVOLVING AN AXIALLY CHIRAL RECEPTOR

Antonello Filippi\*, Caterina Frascchetti, Laura Guarcini, Costantino Zazza, Tadashi Ema, and Maurizio Speranza

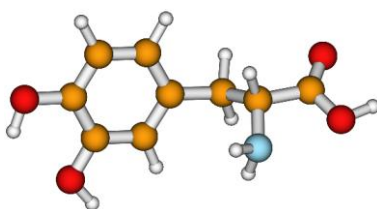
\* [antonello.filippi@uniroma1.it](mailto:antonello.filippi@uniroma1.it) - Sapienza-Università di Roma, P.le Aldo Moro, 185 – Roma 00185

Different stability and reactivity of diastereomeric aggregates reflect the number and intensities of the interactions between the chiral species involved, as well as the role of solvation on the specific configuration-dependent interactions in the aggregates and on their evolution into products. Therefore investigating diastereomeric aggregates in the gas phase, that is, in the absence of any perturbing solvent effects, helps to understand the mechanism of chiral

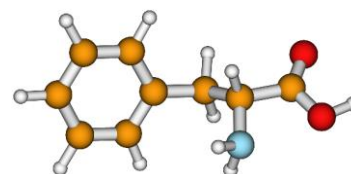


**R**

recognition through detailed knowledge of the structure of the chiral receptor, as well as of the size- and shape-specific noncovalent interactions in its aggregate with a chiral molecule.



D-dopa



D-phenylalanine

Studying of charged, diastereomeric, non-covalent complexes is complicated because any difference in their structure and stability arises from the combination of interactions (namely, dispersion or repulsion interactions, charge transfer, and conformational effects) much weaker than the dominating electrostatic ones (e.g. proton and hydrogen bonding). Thus, IRMPD spectroscopy often reveals the same spectral features for ionic diastereomeric complexes,[1-3] sometimes with small differences in the band intensities.[4] Only in rare cases have been discerned clear IRMPD spectral differences for proton-bound diastereomeric complexes involving receptors with three-dimensional chiral cavities.[5,6]

Herein, we focus on ESI-IRMPD-MS analysis of diastereomeric complexes of the axially chiral receptor **R** with the enantiomers of phenylalanine and dopa, which differ each other by the presence of two OH substituent on the aromatic ring in the latter.

[1] H. B. Oh, C. Lin, H. Y. Hwang, H. Zhai, K. Breuker, V. Zabrouskov, B. C. Carpenter, F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 4076–4083.

[2] X. Kong, C. Lin, G. Infusini, H. B. Oh, H. Jiang, K. Breuker, C. C. Wu, O. P. Charkin, H. C. Chang, F. W. McLafferty, *ChemPhysChem* 2009, 10, 2603 – 2606.

[3] X. L. Kong, I. A. Tsai, S. Sabu, C. C. Han, Y. T. Lee, H. C. Chang, S. Y. Tu, A. H. Kung, C. C. Wu, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 4130–4134; *Angew. Chem.* 2006, 118, 4236–4240.

[4] D. Scuderi, K. Le Barbu-Debus, A. Zehnacker, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2011, 13, 17916–17929.

[5] A. Filippi, C. Frascchetti, S. Piccirillo, F. Rondino, B. Botta, I. D'Acquarica, A. Calcaterra, M. Speranza, *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 8320–8328.

[6] S. S. Lee, S. Park, Y. Hong, J. Lee, J. H. Kim, D. Yoon, X. Kong, S. Lee, H. B. Oh, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017, 19, 14729–14737.

**TOWARDS THE CONTINUOUS PRODUCTION OF SUPPORTED METAL NANOPARTICLES IN  
CONTINUOUS FOR APPLICATIONS IN CATALYSIS**

**S. Cattaneo<sup>a,b</sup>, N. Dimitratos<sup>a</sup>, S. J. Freakley<sup>a</sup>, M. Sankar<sup>a</sup>, L. Prati<sup>b</sup>, G. J. Hutchings<sup>a</sup>**

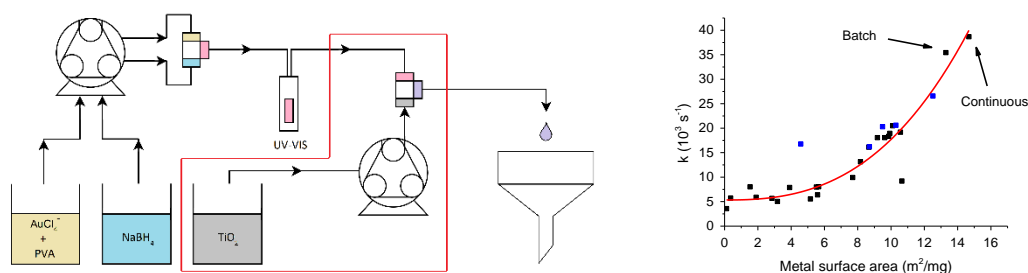
<sup>a</sup>*Cardiff Catalysis Institute, Cardiff University, Cardiff, CF10 3AT, United Kingdom*

<sup>b</sup>*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano, Via C. Golgi 19, 20133, Milano, Italy*

*\*Corresponding author: CattaneoS@cardiff.ac.uk*

Metal supported nanoparticles are commonly produced chemically by batch methods, such as deposition-precipitation, impregnation or sol-immobilisation<sup>1</sup>. All these techniques, however, suffer from some common problems like inhomogeneous mixing of the reactants, inhomogeneous heat transfer, and difficult scale-up, and these problems may lead to differences in terms of nanoparticles dimension from one batch to another or broad particle size distributions<sup>2</sup>. To overcome these problems, microreactors have been proposed as alternative technique for the production of metal colloids in continuous systems; although they can provide better mixing and heat transfer, they are often difficult to fabricate, expensive and hard to scale-up<sup>3</sup>.

We report a semi-continuous millifluidic apparatus (Figure 1a) that combines the advantages of both batch and microflow techniques, in order to produce stable monometallic nanoparticles with a very small dimension (2-3 nm) and narrow size distribution. The catalysts as prepared were thoroughly analysed with UV-Vis, DLS and HRTEM, and finally tested for nitrophenol reduction, a model reaction very sensitive to changes in nanoparticles dimension and thus suited to highlight and emphasise structure-activity relationships<sup>4</sup>. By using Au as a test metal we optimised several operational parameters, such as flow rate, reactor length, reactor geometry and concentration of PVA, NaBH<sub>4</sub>, and Au. The reactor geometry, in particular, was studied by designing and printing custom-made connections and reactors with different shapes; a stereolithography 3D printer was employed for this purpose. Finally, we integrated a stream of support suspended in water to the as prepared Au colloid (Figure 1, red box) in order to produce the whole catalyst in a continuous process. Smaller nanoparticles were produced compared with both the semi-continuous and the batch-benchmark catalysts, and this is also confirmed by the catalytic tests (Figure 1b). It is obvious that the immediate supporting of the Au colloid onto the TiO<sub>2</sub> is beneficial, probably because of two effects, the absence of stirring that makes more difficult any agglomeration phenomena and the immediate removal of the NaBH<sub>4</sub> remained in solution that can no longer interact with the PVA.



**Figure 1:** (a) Scheme of the continuous setup for the production of supported metal nanoparticles and (b) correlation between nanoparticle dimension and catalytic activity for the nitrophenol reduction reaction.

## References

1. M. Sankar *et al.*, *ACS Nano* **2012**, 6, 6600-6613.
2. J. Wagner *et al.*, *Nano Lett.* **2005**, 5, 685-691.
3. S. E. Lohse *et al.*, *ACS Nano* **2013**, 7, 4135-4150.
4. C. Linn *et al.*, *Molecules* **2013**, 18, 12609-12620.

## DETECTION, IDENTIFICATION AND MONITORING OF HIGHLY HAZARDOUS CHEMICAL WARFARE AGENTS BY MASS SPECTROMETRY: ON-FIELD VS. IN-LAB APPROACH

M. Guidotti<sup>1,2</sup>, M. C. Ranghieri<sup>1,2</sup>, A. Rossodivita<sup>3</sup>, V. Sanese<sup>2</sup>

1- *ISTM-CNR Istituto di Scienze e Tecnologie Molecolari, Milano, Italy*

2 – *Unità Operativa CBRN, Corpo Militare ACISMOM, Milano, Italy*

3 – *ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano, Italy*

The use of hazardous chemical warfare agents, CWAs, in criminal acts or for warfare purposes may pose a real threat to the life of professionals and first responders (fire-fighters, military, police forces, emergency health service, etc.) involved in civil protection and emergency management actions [1]. Pre-hazard precautions as well as detection, identification and monitoring measures are the best options to prevent exposure and any form of contact between the toxic agent and the operator. In addition, not only the recent alleged use of CWA in the war scenario of the Middle East or the growing threat of dispersion of toxic compounds in terrorist attacks, but also the constant risk of accidental release of hazardous industrial materials in major emergency situations have stressed the key role of an early and effective on-site detection of potentially harmful agents [2].

In this aim, a prompt and advanced detection capability is crucial to get information about the potential risk, to identify the nature and the concentration of the contaminant, to provide a mapping of the hazardous areas and to define the protection and decontamination requirements. Along with simple, although effective, manual and conventional detection systems, a broad variety of electronic and/or automatic hand-held detectors based on mass spectroscopy are available on the market for first responders who are expected to operate in a potentially contaminated and hazardous environment.

The communication will present a critical brief review of the most widely-known systems and apparatuses for the use on the field at an incident site, with a special emphasis on light-weight deployable gas-chromatograph mass-spectrometry (on-field GC-MS) instruments and ion mobility spectroscopy (IMS) detectors. The particular aspects and differences between compact, portable instruments and conventional in-lab desktop ones will be highlighted. A comparison between civil-oriented detectors, for fire brigade, civil protection or emergency medical system units and military-oriented apparatuses will be outlined. Some technical aspects of more complex integrated detection methods, such as the reconnaissance VBR NBC vehicle, in use by the Italian Armed Forces, will be treated as well.



Advanced portable detector, based on IMS technology for the identification of toxic industrial materials and CWAs



Identification of an unknown sample by hand-held GC-MS apparatus in a potentially hot zone



Military-oriented reconnaissance armoured VBR NBC vehicle equipped with detection and identification instruments for chemical, biological and radiological hazardous agents

### References:

1. M. Guidotti, F. Trifirò, *Toxicol. Environ. Chem.*, 98(9) (2015) 1018-1025.
2. J. Krykorkova, T. Capoun, *Toxics*, 2 (2014) 247-257.

**MASS SPECTROMETRY-BASED METABOLOMICS: CONVERGENCE OF SNF1/AMPK AND METHIONINE METABOLISM TO CONTROL MITOCHONDRIAL RESPIRATION**

Farida Tripodi<sup>1</sup>, Andrea Castoldi<sup>1,2\*</sup>, <sup>2\*</sup>, Raffaele Nicastro<sup>1,#</sup>, Veronica Reghellin<sup>1,η</sup>, Cristina Airoidi<sup>1,2</sup>, Ermelinda Falletta<sup>3</sup>, Elisa Maffioli<sup>4</sup>, Pasquale Scarcia<sup>5</sup>, Luigi Palmieri<sup>5</sup>, Lilia Alberghina<sup>1,2</sup>, Gennaro Agrimi<sup>5\*\*</sup>, Gabriella Tedeschi<sup>4\*\*</sup>, Paola Coccetti<sup>1,2\*\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano-Bicocca, Milan, Italy

<sup>2</sup>SYSBIO, Centre of Systems Biology, Milan, Italy

<sup>3</sup>Department of Chemistry, University of Milan, Milan, Italy

<sup>4</sup>DIMEVET - Dipartimento di Medicina Veterinaria- Università degli Studi di Milano

<sup>5</sup>Department of Biosciences, Biotechnology and Biopharmaceutics, University of Bari, Italy

ermelinda.falletta@unimi.it

Mass spectrometry-based metabolomics has become increasingly popular in biology and molecular medicine. Analysis of the key metabolites in biological fluids has become an important part of improving disease diagnosis. In this context, chromatography coupled with mass spectrometry represents a valid tool to characterize and quantify numerous compounds present in biological matrices. In the present work, we have explored the role of methionine metabolism on cellular functions of a prototrophic yeast strain during exponential growth phase and determining how this affects the metabolic state upon *SNF1* deletion.

We cultured yeast cells in the presence of [U-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>] glucose (a mixture of 80% (w/w) unlabelled and 20% (w/w) uniformly labeled) and determined steady-state isotopic labelling from which important intracellular flux partitioning ratios were calculated [1]. Then, a metabolic flux analysis was performed integrating these intracellular flux ratios, consumption and secretion rates (Fig. 1C) in a yeast model of central carbon metabolism to obtain network-wide absolute fluxes [1,2].

On the base of the obtained results, we have uncovered a novel function for Snf1/AMPK as a negative regulator of aerobic respiration and TCA cycle activity in methionine condition. These data provide new insights into mitochondrial metabolism and extends our understanding of how nutrient can influence cell fate in concert with Snf1/AMPK activity.

[1] Blank, L.M., and Sauer, U. (2004). TCA cycle activity in *Saccharomyces cerevisiae* is a function of the environmentally determined specific growth and glucose uptake rates. *Microbiology* 150, 1085–1093

[2] Zamboni, N., Fischer, E., and Sauer, U. (2005). FiatFlux--a software for metabolic flux analysis from <sup>13</sup>C-glucose experiments. *BMC Bioinformatics* 6, 209.

**STUDIO DELLA STABILITÀ DEGLI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI NEL PARTICOLATO ATMOSFERICO IN SEGUITO ALL'ANALISI DELLA COMPOSIZIONE ELEMENTARE MEDIANTE TECNICA XRF**

V. Gianelle,<sup>a</sup> U. Dal Santo,<sup>a</sup> A. Ballarin,<sup>b</sup> M. A. De Gregorio,<sup>b</sup> I. Rocchi,<sup>b</sup> L. Clerici,<sup>b</sup>

<sup>a</sup>U.O. C.R.M.Q.A – Settore Monitoraggi Ambientali

<sup>b</sup>U.O. Laboratorio di Milano – sede Laboratoristica di Milano – Settore Laboratori ARPA Lombardia, via Rosellini, 17, 20124 – Milano

Il particolato atmosferico è una sospensione di particelle liquide e solide aventi differenti caratteristiche chimiche, fisiche, geometriche e morfologiche. È possibile classificare tale inquinante a seconda delle sue proprietà chimico-fisiche o delle sue dimensioni. Si distinguono due frazioni importanti: il PM10 e il PM2.5 che sono costituiti da particelle selezionate da sistemi di prelievo rispondenti alle curve di efficienza riportate nella norma EN12341-2014 e aventi una efficienza di raccolta pari al 50% rispettivamente per particelle con diametro aerodinamico di 10 µm e 2.5 µm. Le particelle appartenenti al PM2.5 sono in grado di penetrare fin negli alveoli polmonari. La cosiddetta frazione “coarse”, ovvero le particelle appartenenti al PM10 ma non al PM2.5, penetra nella parte toracica del nostro sistema respiratorio ma non raggiunge le regioni più profonde. La tossicità del particolato atmosferico è legata principalmente alla sua composizione chimica in relazione all'adsorbimento di agenti chimici presenti in atmosfera quali, ad esempio, metalli e microinquinanti tra cui IPA, PCB e diossine. È ormai chiaro, infatti, che la sola concentrazione di massa del PM10 o del PM2.5 è un indice insufficiente per comprendere i fenomeni di inquinamento da polveri in atmosfera, le loro sorgenti, il loro destino ed infine gli eventuali effetti negativi del particolato sull'uomo, sulle cose e sull'ambiente.

Il particolato aerodisperso deve essere considerato, quindi, non come un inquinante dalle caratteristiche ben definite, come accade per la gran parte degli inquinanti gassosi, ma piuttosto come una miscela polidispersa di inquinanti.

A causa della complessità della composizione del particolato e della necessità di conoscerne le sorgenti, in alcuni siti è talvolta necessaria la determinazione della composizione chimica per i campioni di PM raccolti su filtro, ad esempio quantificando le concentrazioni dei vari elementi (Al, Si, Fe, etc.) e di particolari composti organici come gli IPA.

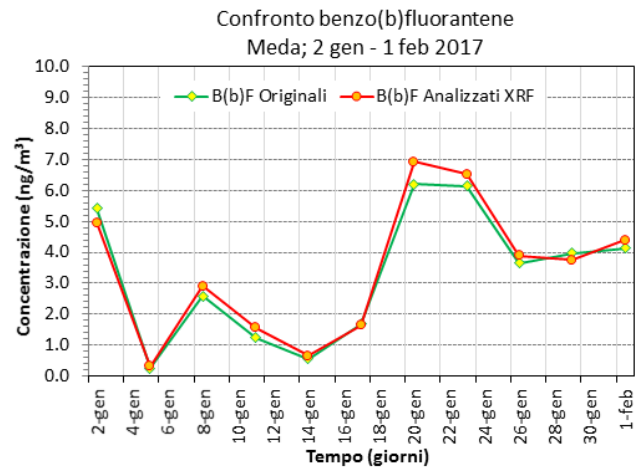
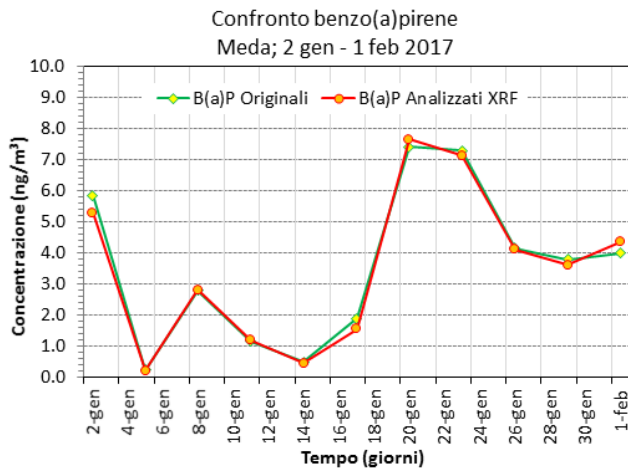
Gli elementi con  $Z > 11$  sono determinati mediante spettrometria a fluorescenza X (XRF), tecnica non distruttiva, gli IPA vengono determinati secondo metodo UNI EN 15549:2008, che prevede l'estrazione con solvente e la determinazione quali-quantitativa mediante tecnica GC-MS.

Durante l'analisi XRF il campione viene sottoposto a raggi X in condizioni di vuoto a una temperatura di circa 40°C per circa un'ora. Questo potrebbe comportare la perdita degli IPA più volatili, rendendo impossibile la loro analisi sullo stesso filtro. Si renderebbe allora indispensabile un doppio campionamento per tutti i siti in cui è necessaria l'informazione combinata di elementi e IPA, con ricadute su costi e tempi.

Di fronte a tale necessità, l'ottimizzazione di tempi e risorse nella caratterizzazione chimica del particolato atmosferico depositato su filtro, è stato effettuato uno studio sinergico che ha visto coinvolti i due settori di ARPA Lombardia, CRMQA e Settore Laboratori, al fine di verificare la bontà delle procedure tecnico-analitiche messe in atto dalle parti coinvolte, per la caratterizzazione completa della composizione chimica del particolato depositato su filtro.

Prioritariamente si è cercato in letteratura la tensione di vapore in funzione della temperatura per gli IPA di interesse, per valutare teoricamente le perdite aspettate. Il risultato dello studio ha messo in luce che le perdite aspettate per le condizioni di lavoro dell'XRF sono molto contenute per il benzo(a)pirene ma potrebbero essere significative, fino al 60%, per il benzo(b)fluorantene.

Si è quindi passati alla fase sperimentale: un gruppo di filtri campionati sono stati divisi in due parti mediante una fustella. Una delle metà di ciascun filtro è stata subito sottoposta alla determinazione degli IPA mentre la parte complementare è stata prima sottoposta ad analisi XRF per la determinazione della composizione elementare e successivamente anch'essa sottoposta alla determinazione degli IPA. Un risultato dello studio sperimentale relativo al benzo(a)pirene e al benzo(b)fluorantene è riportato nelle figure seguenti.



I risultati suggeriscono che:

- ✓ l'eventuale errore introdotto dal sistema utilizzato per il sezionamento del filtro non risulta rilevabile;
- ✓ il tempo di permanenza del campione nella camera in vuoto dell'XRF è assolutamente insufficiente per il verificarsi delle condizioni di saturazione degli IPA considerati dalla normativa;
- ✓ i risultati analitici di laboratorio mostrano un'ottima ripetibilità
- ✓ non si ha alcuna perdita significativa di IPA a seguito dell'analisi mediante XRF, in accordo con quanto previsto dall'analisi teorica delle tensioni di vapore per gli IPA formati da oltre quattro anelli.

**APPLICAZIONE DELLA TECNICA GC-MS PER LA DETERMINAZIONE DEGLI IDROCARBURI  
POLICICLICI AROMATICI NEL PARTICOLATO ATMOSFERICO DEPOSITATO SU FILTRO.  
MESSA A PUNTO E VERIFICA SECONDO ISO/IEC 17025:2005 DEL METODO UFFICIALE UNI EN  
15549:2008**

A. Ballarin, M. A. De Gregorio, I. Rocchi, L. Clerici, P. Dellavedova

U.O. Laboratorio di Milano – sede Laboratoristica di Milano – Settore Laboratori

ARPA Lombardia, via Rosellini, 17, 20124 – Milano

Si definisce “inquinamento atmosferico” uno stato di alterazione delle naturali condizioni dell’aria per introduzione in atmosfera di agenti inquinanti di origine sia naturale (es. eruzioni vulcaniche) che antropica (es. traffico veicolare, sistemi di riscaldamento, etc.). I principali inquinanti aerodispersi possono essere classificati in due gruppi: inquinanti primari e secondari.

Tra i principali inquinanti ricordiamo: PM10, PM2.5, IPA (idrocarburi policiclici aromatici), benzene, ozono (O<sub>3</sub>), biossido di azoto (NO<sub>2</sub>), monossido di carbonio (CO), ammoniaca (NH<sub>3</sub>), etc.

Particolarmente rilevante e di crescente interesse per la comunità scientifica è la problematica legata al particolato atmosferico (PM): una sospensione di particelle liquide e solide aventi differenti caratteristiche chimiche, fisiche, geometriche e morfologiche.

È possibile classificare tale inquinante a seconda delle sue proprietà chimico-fisiche o delle sue dimensioni. Si distinguono due frazioni importanti: il PM10 e il PM2.5, che sono costituiti da particelle selezionate da sistemi di prelievo rispondenti alle curve di efficienza riportate nella norma UNI EN 12341:2014 e aventi una efficienza di raccolta pari al 50% rispettivamente per particelle con diametro aerodinamico di 10 µm e 2.5 µm. La tossicità del particolato atmosferico è legata principalmente alla sua composizione chimica in relazione all’adsorbimento di agenti chimici presenti in atmosfera, quali ad esempio metalli e microinquinanti tra cui IPA, PCB (policlorobifenili) e diossine.

Tra i “*Principi e Finalità*” recitati dall’art.1 comma [1] del D.Lvo 155/2010, che recepisce la direttiva europea 2008/50/CE relativa alla qualità dell’aria ambiente e per un’aria più pulita in Europa, al punto b) vi è: “*valutare la qualità dell’aria ambiente sulla base di metodi e criteri comuni su tutto il territorio nazionale*”. Al comma [2] l’art. 1 recita ancora: “*ai fini previsti dal comma [1] il presente decreto stabilisce al punto e): “i valori obiettivo per le concentrazioni nell’aria ambiente di arsenico, cadmio, nichel e benzo(a)pirene*. E ancora, in attuazione all’art.6 del D.Lvo 155/2010 al punto b) è prevista la misurazione delle concentrazioni nell’aria di IPA diversi dal benzo(a)pirene: benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene, benzo(j)fluorantene, benzo(k)fluorantene, indeno(1,2,3-cd)pirene, al fine di verificare la costanza dei rapporti nel tempo e nello spazio tra il benzo(a)pirene e gli altri IPA di rilevanza tossicologica. Il decreto, inoltre, all’art.17 dispone che le determinazioni siano effettuate sotto regime di accreditamento secondo la norma ISO/IEC 17025, applicando il metodo di riferimento UNI EN 15549:2008, come riportato nell’allegato VI del decreto.

In ottemperanza a quanto definito dalla normativa vigente in materia di qualità dell’aria, il settore laboratori di ARPA Lombardia ha lavorato alla messa a punto e verifica dei metodi ufficiali per la determinazione degli IPA sopra indicati compreso il benzo(e)pirene che, essendo tra gli IPA più inerti in presenza di ozono e altri ossidanti, può fornire una stima indicativa della reattività atmosferica mediante rapporto con il benzo(a)pirene.

Sono state, dunque, affrontate e risolte durante la messa a punto e verifica tutte le criticità tecnico-analitiche legate al trattamento di una matrice complessa come il particolato atmosferico in tutto il campo di applicazione definito dal metodo di riferimento, garantendo il limite di legge definito solo per il benzo[a]pirene, pari a 1 ng/m<sup>3</sup>, con il raggiungimento dei relativi LOQ pari a 1/10 del Valore Limite esteso a tutti gli altri IPA.

Si tratta di valori estremamente bassi che hanno comportato la definizione e ottimizzazione di procedure analitiche di gestione di piccoli volumi che, se da un lato permettono il raggiungimento di sensibilità adeguate allo scopo e conformità al quadro normativo, dall'altro enfatizzano effetti, quali quello legato alla matrice, di complicata gestione analitica e tecnica, intrinseca del metodo.

Tutte le criticità sopra riportate sono state superate grazie all'impiego della spettrometria di massa. Infatti, a differenza delle altre tecniche analitiche previste dal metodo UNI EN 15549:2008, la possibilità di eseguire acquisizioni SIM (selected ion monitoring) mode ha permesso di migliorare significativamente il rapporto segnale/rumore, garantendo da una parte elevate sensibilità, fino al raggiungimento di valori di LOQ pari a 1/10 del valore di riferimento, dall'altra di abbattere parte dell'effetto matrice e di altri interferenti. Inoltre, la verifica dei rapporti isotopici dei diversi frammenti garantisce elevata specificità con una determinazione quali-quantitativa del tutto univoca degli inquinanti target.

La messa a punto e verifica del metodo è stata eseguita secondo quanto definito dalle principali linee guida europee EURACHEM, valutando: linearità nel campo di applicazione definito e richiesto dal metodo ( $0.04 \div 20\text{ng/m}^3$ ), Limite di determinazione (LOD), Limite di quantificazione (LOQ), bontà dei bianchi, precisione e accuratezza mediante analisi di Materiale di Riferimento Certificato (CRM). Le prestazioni ottenute sono state, quindi, confrontate con i criteri di accettabilità definiti e imposti dal metodo ufficiale e dalla normativa vigente con ottimi risultati di compatibilità, restituendo un dato associato a un'incertezza stimata pari a quella definita, come obiettivo di qualità, dal D.Lvo 155/2010. Gli ottimi risultati raggiunti hanno permesso, quindi, al Settore Laboratori di intraprendere per tale prestazione l'*iter* di accreditamento secondo ISO/IEC 17025:2005 in ottemperanza a quanto disposto dalla normativa vigente in materia di Qualità dell'Aria.

**PHENOLIC PROFILE OF DIFFERENT TABLE GRAPE VARIETIES CHARACTERIZED BY  
HPLC/DAD/ESI/MS**

Francesca Colombo<sup>1</sup>, Simone Biella<sup>1</sup>, Chiara Di Lorenzo<sup>1</sup>, Luca Regazzoni<sup>2</sup>, Luis Peres de Sousa<sup>3</sup>, Luigi Bavaresco<sup>4</sup>, Antonella Bosso<sup>5</sup>, Giancarlo Aldini<sup>2</sup> and Patrizia Restani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milan, Italy; E-Mails: [simonebiella@me.com](mailto:simonebiella@me.com); [chiara.dilorenzo@unimi.it](mailto:chiara.dilorenzo@unimi.it); [francesca.colombo1@unimi.it](mailto:francesca.colombo1@unimi.it); [patrizia.restani@unimi.it](mailto:patrizia.restani@unimi.it)

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, via Mangiagalli 25, 20133 Milan, Italy; E-Mails: [luca.regazzoni@unimi.it](mailto:luca.regazzoni@unimi.it); [giancarlo.aldini@unimi.it](mailto:giancarlo.aldini@unimi.it)

<sup>3</sup> Instituto Politecnico de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6155, 7800-295, Beja, Portugal; E-mail: [luis.peres@ipbeja.pt](mailto:luis.peres@ipbeja.pt)

<sup>4</sup> Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica del Sacro Cuore, via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza, Italy; E-mail: [luigi.bavaresco@unicatt.it](mailto:luigi.bavaresco@unicatt.it)

<sup>5</sup> Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura – Centro di Ricerca per l'Enologia, via Micca 35, 14100 Asti, Italy; E-mail: [antonella.bosso@entecra.it](mailto:antonella.bosso@entecra.it)

### **Abstract**

In the past few years, epidemiological studies have shown the role of phenolic compounds present in fruits and vegetables, as a part of the Mediterranean diet, in preventing chronic diseases. Grapes is one of the most important sources of phenolic compounds among fruits. The antioxidant activity of grapes has been positively correlated with the phytochemical profile and content of anthocyanins, flavonols, flavan-3-ols and phenolic acids [1]. As a consequence, the phenolic profile characterization represents the first step to establish a correlation between grape consumption and the possible positive effects on health.

Table grapes market and, in parallel, the interest in promoting non-fermented beverages are rapidly growing, also due to a general trend in discouraging the alcohol abuse/misuse observed also among young people.

The aim of this study was the characterization of the phenolic profile of 16 different varieties of table and wine grapes using a High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) coupled with electrospray ionization mass spectrometric (ESI-MS) method. LC-MS technique is a useful screening technique for the identification of biologically active metabolites in natural sources.

The UV spectral data, fragmentation patterns and chromatographic behaviors were compared with the information from the scientific literature or on-line databases.

Among the 59 compounds identified (18 flavonols, 16 flavan-3-ols and 25 anthocyanins) epicatechin, procyanidin B2, malvidin-3-glucoside and quercetin were the most abundant. Our results confirm that table grapes show an interesting phenolic profile, representing a good source of healthy compounds.

### **References**

1. **Aubert** C, Chalot G. (2018) *Chemical composition, bioactive compounds, and volatiles of six table grape varieties (Vitis vinifera L.)*. Food Chem. **1**:524-533.

**MASS SPECTROMETRY: AN USEFUL TOOL FOR MECHANISTIC STUDIES**Paolo Sonzini,<sup>a</sup> Caterina Damiano,<sup>a</sup> Daniela Intrieri<sup>a</sup><sup>a</sup>*Department of Chemistry, University of Milan, Via C. Golgi 19, 20133 Milan (Italy).**E-mail:* [paolo.sonzini@studenti.unimi.it](mailto:paolo.sonzini@studenti.unimi.it).

Metal porphyrin complexes represent a very powerful class of molecules which mediate a spectrum of critical functions in a variety of biological systems. Learning from Nature, chemists have been using porphyrins for various purposes and their chemo-physical properties can be fine-tuned either by introducing substituents on the skeleton or changing the nature of the central metal atom and axial ligands.

In prof. Gallo's group, metal-porphyrin complexes have been extensively employed as catalysts to promote the synthesis of high added value compounds such as cyclopropanes and aza-compounds.

In order to improve the performance of our catalytic systems, it is mandatory to validate the underlying reaction mechanisms by using several analytical techniques.

Thus, **Mass Spectroscopy** represents an important analytical method which allows us to determine the molecular mass and even the elemental composition of reaction components by using very small amounts of substance.

In this poster we report some examples which underline the importance of mass spectroscopy as an essential tool to shed some light on the catalytic pathway for defining the reaction mechanism.

**References**

1. Carminati D.M., Intrieri D., Damiano C., Caselli A. and Gallo E. "Ruthenium Porphyrin-Catalyzed Synthesis of Oxazolidinones by Cycloaddition of CO<sub>2</sub> to Aziridines" *Manuscript in preparation*
2. Carminati, D. M., Intrieri, D.; Caselli, A.; Le Gac, S.; Boitrel, B.; Toma, L.; Legnani, L.; Gallo, E., *Chemistry A European Journal*, **2016**, 22(38), 13599-13612.
3. Intrieri, D.; Caselli, A.; Ragaini, F.; Macchi, P.; Casati, N.; Gallo, E., *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2012**, 2012(3), 569-580.
4. Intrieri, D.; Caselli, A.; Ragaini, F.; Cenini, S.; Gallo, E., *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2010**, 14(8), 732-740.

**PHOTOELECTROCATALYTIC DECONTAMINATION OF WASTEWATER FROM EMERGING ORGANIC POLLUTANTS: DETECTION OF TRANSFORMATION PRODUCTS BY HIGH-RESOLUTION MASS SPECTROMETRY (LC-HRMS)**

S. Murgolo<sup>1</sup>, S. Franz<sup>2</sup>, E. Falletta<sup>3</sup>, H. Arab<sup>2</sup>, M. Bestetti<sup>2</sup>, G. Mascolo<sup>1</sup>

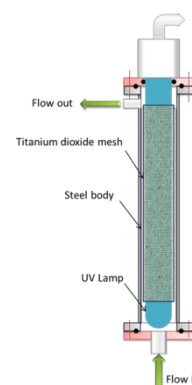
<sup>1</sup> CNR-IRSA, Bari (Italy); <sup>2</sup> Department of Chemistry, Materials and Chemical Engineering “G.Natta“, Politecnico di Milano, Milano (Italy); <sup>3</sup> Department of Chemistry, Università degli Studi di Milano, Milano (Italy)

[ermelinda.falletta@unimi.it](mailto:ermelinda.falletta@unimi.it)

In the last years the release of organic pollutants into the environment, in particular through wastewater, represents a growing problem. A large part of these pollutants belongs to the category of the emerging organic contaminants and are still unregulated or in process of regularization.

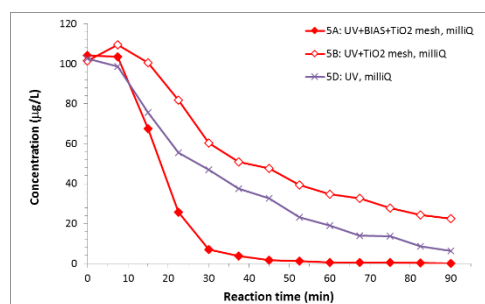
They are potentially dangerous for human health and living organisms and for this reason their degradation is a huge challenge for the enhancement of the water quality.

Among the different approaches that can be used in this regard, advanced oxidation processes represent new and very promising technologies. In the present study, a new electrochemical photocatalytic process based on the use of photoactive TiO<sub>2</sub> coatings directly grown on titanium wire meshes was developed and employed for carbamazepine removal from wastewater. Carbamazepine is one of the most important contaminants of emerging concern (CECs) that along with other pollutants, e.g. flame-retardants, plasticizers perfluoroalkyl substances and so on, are increasingly being detected at low levels in wastewater, and consequently there is concern that these compounds may have an impact on aquatic life of water bodies where the treated wastewater is disposed of. The process was carried out in a laboratory-scale tubular photocatalytic reactor (Fig.1) working in semi-batch mode under electrical polarization of the catalyst. The UV source consisted of a 30 W UV-C lamp emitting at 254 nm.



**Fig. 1:** Photocatalytic reactor

In the first part of the work, it was investigated carbamazepine removal from synthetic water spiked with the target contaminant at concentration in the range of 100 µg/L. It was observed that after 45 minutes of treatment the residual carbamazepine concentration was below the limit of quantification (LOQ) and that the decay follows pseudo first order kinetics (Fig. 2). It is clear that the innovative photocatalytic process shows the highest efficiency in the carbamazepine removal if compared to the other investigated approaches: UV only and UV+TiO<sub>2</sub> meshes. In fact, the electrochemical photocatalysis approach leads to an evident speed up



**Fig. 2:** Carbamazepine removal from synthetic water.

of the degradation reaction and at the same time to a complete target pollutant removal after 45 minutes. The innovative photocatalytic set-up shows important advantages in terms of costs and ease of use. In the second part of the work, a real water matrix (secondary effluent of the municipal WWTP Nosedo, Milan, Italy) was employed in which carbamazepine was again spiked. The detection of transformation products of investigated CECs was performed by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) analyses by employing a non-target analysis approach based on the processing of accurate MS and MS/MS data by open source databases and software.

The goal of this work is the detection of a wide range of transformation products (ranging from medium polar to very polar and ionic) of both carbamazepine and other CECs present in the wastewater at trace level during the treatment.

**METABOLIC FLUX ANALYSIS OF CENTRAL CARBON METABOLISM IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

R. Milanesi<sup>1</sup>, L. Lombardi<sup>1</sup>, F. Tripodi<sup>1,2</sup>, E. Falletta<sup>3</sup>, G. Agrimi<sup>4</sup> and P. Coccetti<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano-Bicocca, Milan, Italy

<sup>2</sup>SYSBIO, Centre of Systems Biology, Milan, Italy

<sup>3</sup>Department of Chemistry, University of Milano, Milan, Italy

<sup>4</sup>Department of Biosciences, Biotechnology and Biopharmaceutics, University of Bari, Italy

Investigating cellular metabolism has a long-standing history in biology. Altered cellular metabolism contributes to several diseases including cancer, metabolic syndromes as well as neurodegenerative diseases. Thus, intracellular metabolism has led to important insights in biomedical research.

Quantitative knowledge of intracellular fluxes is pivotal for a comprehensive characterization of the metabolic rewiring in different conditions. The complexity of metabolism requires a systems-level analysis of the underlying networks and *in vivo* metabolite fluxes must be inferred indirectly from measurable quantities in <sup>13</sup>C experiments.

Currently, <sup>13</sup>C metabolic flux analysis (<sup>13</sup>C-MFA) is the preferred tool for quantitative characterization of metabolic phenotypes and has become an essential component of metabolic engineering research.

Thus, we investigated carbon metabolism as a function of nutritional conditions and in different genetic background by using budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism. Cells were cultured in the presence of [U-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>] glucose and intracellular flux ratios, consumption and secretion rates were integrated in a model of yeast central carbon metabolism using both Fiat Flux and INCA software, to obtain network-wide absolute metabolic fluxes.

Our results predicted specific metabolic rewiring and an increased TCA cycle usage under some nutritional conditions. Remarkably, these findings were validated by *in vivo* studies which extended our mechanistic understanding on cellular metabolism.

**AZO-DYES REMOVAL FROM WATER MATRIX BY PANI-BASED MATERIALS.  
EVALUATION OF DYES DECOMPOSITION AND POLYMER STABILITY BY LCMS TECHNIQUE**

C. Cionti, E. Falletta, C. Della Pina, D. Meroni, S. Ardizzone

Department of Chemistry, Università degli Studi di Milano, Milano (Italy)

[carolina.cionti@studenti.unimi.it](mailto:carolina.cionti@studenti.unimi.it)

The progressive growth of world population and industrialization have produced a number of emerging problems, *e.g.*, environmental pollution, that threaten human health and life quality.

Large amounts of dyes are annually produced and applied in many industrial fields, such as textile, paper mill, leather, pharmaceutical, food and so on. The dye annual production has been estimated to be over  $7 \times 10^5$  tons, fifteen percent of which is lost during the dyeing processes. Dyes and pigments are typical wastewater pollutants that may present eco-toxic hazards and potential bioaccumulation dangers and hence, their removal has become an important objective. Even though numerous approaches have been developed to face this emergence, the large part is not effective in strong conditions and/or are based on expensive systems. Here, we propose the use of highly porous composites based on  $\text{TiO}_2$  nanoparticles (NPs) embedded in polyaniline matrices. The materials were prepared by an environment friendly synthetic approach, properly characterized (FT-IR, UV-vis, XRPD, BET, SEM, GPC) and used as active materials in methyl orange (MO) removal showing 97% MO removal in 20 minutes. LCMS analyses carried out on the reaction mixture during materials preparation coupled with FT-IR investigation allow to evidence that polymer growth occurs on  $\text{TiO}_2$  NPs surface, whereas not oligomers or any intermediates were detected in aqueous solution.

As reported in the literature [1], incomplete dye degradation results in hazardous colorless aromatic amine intermediates that are teratogenic in nature. The presence of these and other by-products in solution and on the surface of adsorbent materials were analyzed by LCMS.

The results demonstrated that during MO removal from water matrix it doesn't undergo degradation phenomena. In addition, LCMS analyses demonstrated the high stability of the composites even after subsequent recycles. In fact, only traces of oligomers were observed and properly identified.

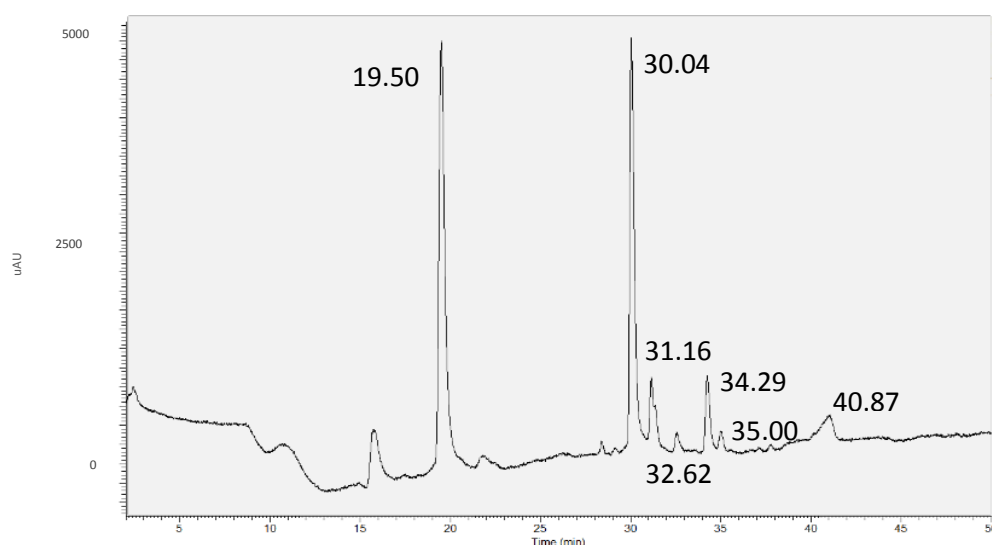


Fig. 1: Chromatogram of PANI-TiO<sub>2</sub> release in water solution.

**DETERMINAZIONE DI ACIDI ALOACETICI LUNGO LA FILIERA DI POTABILIZZAZIONE CON  
TECNICA IC-MS/MS  
AD INIEZIONE DIRETTA**

*Maria Bocina, Maurizio Politi, Martino Fungi<sup>1</sup>, Michele Castiglioni<sup>2</sup>, Luca Rivoira<sup>2</sup>, Maria  
Concetta Bruzzone<sup>2</sup>*

*1 Centro Ricerche SMAT, Corso Unità d'Italia, 235/3, 10127 Torino*

*2 Dipartimento di Chimica, Università di Torino, via P. Giuria 7, 10125 Torino*

Gli acidi aloacetici (HAAs) sono sottoprodotti che si formano durante i processi di potabilizzazione delle acque in seguito alla reazione tra la materia organica naturale delle acque e i disinfettanti a base cloro. Se nelle acque sono inoltre presenti ioni Br<sup>-</sup>, da tale reazione si può avere la formazione sia di acidi aloacetici bromurati, clorurati che misti. In presenza di ioni I<sup>-</sup>, dovuta ad esempio ad infiltrazioni di acque marine in zone costiere, è inoltre possibile la formazione di acidi aloacetici iodurati, recentemente definiti "emergenti"<sup>1</sup>. Gli HAAs possono favorire l'insorgenza e la propagazione di tumori<sup>2</sup>; sono inoltre citotossici e genotossici. Tra gli HAAs, gli iodurati presentano caratteristiche di tossicità maggiori rispetto ai congeneri bromurati e clorurati<sup>3</sup>. Con la norma D/DBP 1998, l'US EPA ha definito le massime concentrazioni di HAAs ammissibili nelle acque potabili<sup>4</sup>, stabilendo il limite di 60 µg/L come somma degli acidi monocloro-, diclorotricloro, monobromo- e dibromo- acetico. In Europa (98/83/EC) e in Italia (DL 31/2001), la concentrazione massima ammissibile degli HAAs non è regolamentata, anche se gli HAAs sono inclusi nella lista delle sostanze da monitorare nella revisione della normativa europea relativa alle acque destinate al consumo umano, con un valore di parametro pari a 80 µg/l per la somma dei nove congeneri Br<sup>-</sup> e Cl<sup>-</sup> derivati.

Lo scopo di questo lavoro è stato l'ottimizzazione di un metodo basato sulla cromatografia ionica con spettrometria di massa a triplo quadrupolo, per la determinazione degli acidi monocloro (MCAA), monobromo (MBAA), monoiodio (MIAA), dicloro (DCAA), dibromo (DBAA), bromodichloro (BDCAA), bromocloro (BCAA), dibromocloro (DBCAA), trichloro (TCAA), tribromo (TBAA) -acetico lungo la filiera di potabilizzazione delle acque.

Il metodo prevede l'utilizzo di un cromatografo ionico ICS 5000 (Thermo Fisher Scientific), accoppiato ad un rivelatore di massa a triplo quadrupolo ENDURA (Thermo Fisher Scientific) attraverso interfaccia di tipo electro-spray ionisation (ESI). Sulla base del metodo EPA 557 (che include anche il bromato), è stata impiegata una colonna AS24 (2x250mm, Thermo Fisher Scientific), impostando un gradiente KOH (0.3 mL/min).

Il lavoro di ottimizzazione è stato articolato in tre fasi: (i) ottimizzazione dei valori di radio frequenza delle lenti e di collision energy mediante infusione; (ii) verifica della separazione cromatografica tra i nove HAAs congeneri Br<sup>-</sup> e Cl<sup>-</sup> derivati e l'emergente MIAA con ottimizzazione dei tempi di commutazione della Divert Valve; (iii) validazione mediante valutazione della linearità, dei limiti di rilevabilità e quantificazione e della ripetibilità intraday ed interday, in presenza di 100 mg/L NH<sub>4</sub>Cl per bloccare la neoformazione di HAAs.

L'ottimizzazione dei parametri strumentali ha consentito di ottenere una tecnica robusta con livelli di LOD (14-416 ng/L), LOQ (0.042-1.3 µg/L) e di ripetibilità adeguati. Il metodo è attualmente impiegato in una campagna di monitoraggio nelle acque captate, trattate e distribuite da SMAT, che non hanno al momento evidenziato criticità. Il metodo si presta a nuove implementazioni con l'aggiunta di ulteriori acidi aloacetici emergenti (es. iododerivati).

#### BIBLIOGRAFIA

1. Chen, C.-Y.; Chang, S.-N.; Wang, G.-S. Journal of chromatographic science 2009, 47, (1), 67-74.
2. IARC <https://www.iarc.fr/> (2017).

3. Komaki, Y. Toxic effects on model mammalian cells by monohalogenated disinfection byproducts: Haloacetic acids and haloacetonitriles University of Illinois at Urbana-Champaign, 2014.
4. US EPA Table of Regulated Drinking Water Contaminants. <https://www.epa.gov/ground-water-anddrinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>.