

## Abstract

La spettrometria di massa (MS) è una tecnica di rilevamento potente che è diventato molto importante in diverse discipline chimiche per la rilevazione sia di piccole molecole (inquinanti ambientali, piccoli metaboliti) e sia di grandi biomolecole (proteine, peptidi). Il "cuore" dello spettrometro di massa è l'analizzatore, che utilizza campi elettrici o magnetici, o la combinazione di entrambi, dalla regione in cui sono prodotti ad un rivelatore, dove si produce un segnale che viene amplificato. Questo elemento separa gli ioni in fase gassosa secondo i loro valori  $m/z$  (rapporto massa carica)

La MS è usata soprattutto accoppiata alla cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) o alla ultra cromatografia liquida ad alta prestazione (UHPLC) con un'interfaccia di ionizzazione a pressione atmosferica (API) tra la MS e LC. La più importante tecnica API è la ionizzazione elettrospray (ESI), con una vasta gamma di applicazioni che va da piccole molecole alle grandi molecole, come le proteine o polimeri.

Le matrici complesse, quali i campioni ambientali, i fluidi biologici, e gli estratti alimentari o di tessuti, di solito non sono compatibili con la rivelazione MS senza effettuare una preparazione del campione. In fatti, la matrice complessa potrebbe contenere sostanze che possono amplificare o ridurre il segnale del rivelatore per l' analita selezionato rispetto al segnale dello stesso composto in una soluzione standard. L' ESI è la tecnica di ionizzazione in cui questo fenomeno è più comune perché nel processo ESI gli ioni competono per la ionizzazione e il desorbimento. L'effetto matrice si osserva nell' ESI quando i composti co-eluiscono con l'analita di interesse: questo riguarda la sensibilità, la linearità, l'accuratezza, la precisione e il limite di rilevazione (LOD).

Inoltre, il composto d'interesse o i composti d'interesse sono spesso presenti in concentrazioni inferiori ai limiti di rilevazione e richiedono una fase preliminare di concentrazione. Pertanto, il primo passo di un'analisi è solitamente un certo tipo di pretrattamento del campione per migliorare sia la selettività e sia la sensibilità della rilevazione. Per questo scopo sono disponibili molte tecniche, la scelta delle quali dipende principalmente dallo stato fisico del campione, ad esempio l'estrazione in fase solida (SPE) è utilizzata per campioni liquidi e l'estrazione con liquidi ad alta pressione per campioni solidi. La preparazione adeguata del campione è fondamentale per l'analisi MS, perché la qualità e la riproducibilità dell' estrazione del campione e la preparazione ha un impatto significativo sui risultati dati dagli strumenti MS.

Nei progetti di ricerca di questo Ph.D. sono stati valutati i miglioramenti ottenuti con la seguenti tecniche di estrazione:

- Estrazione solido-liquido con pH controllato mediante acqua subcritica per l' estrazione di composti con solubilità molto bassa
- Estrazione in fase solida mediante polimeri a stampo molecolare(MIPs) per estrarre selettivamente una classe di composti naturali dalle bevande

- Estrazione in fase solida (SPE) mediante carbone grafítico poroso (PGC) accoppiato con la rilevazione LC / MS per estrarre composti anionici da campioni di acqua ambientali

Per quanto riguarda l' estrazione solido-liquido, l'acqua ad elevata temperatura è stata utilizzata come liquido di estrazione per analiti non polari. L' estrazione con acqua calda ad alta pressione (PHWE, nota anche come l' estrazione con acqua sub-critica) è attualmente considerata una delle recenti tecniche di estrazioni più interessanti. Purtroppo l' applicabilità di questa tecnica potrebbe essere limitata dalla bassissima solubilità in acqua dei composti d' interesse, anche ad alte temperature. In questo studio si è cercato di dimostrare l' applicabilità della PHWE regolando il pH dell' acqua, utilizzata in estrazione, per l' estrazione di curcumina (che ha bassissima solubilità in acqua) dai rizomi di curcuma non trattati.

Al fine di migliorare la selettività di estrazione in fase solida è stato preparato un polimero a stampo molecolare, usando il (E) -resveratrolo come molecola stampo e tale MIP è stato valutato per l' analisi di composti polifenolici in matrici complesse, quali le bevande naturali e alcoliche.

La valutazione cromatografica del polimero mostra un' elevata selettività per il (E) -resveratrolo e i suoi analoghi strutturali, come quercetina ed altri flavonoidi. È stato sviluppato e dunque un metodo di analisi basato sull' estrazione mediante polimeri a stampo molecolare (MISPE) e sulla HPLC accoppiata a rivelatore UV ed in seguito è stato validato per la determinazione di (E) -resveratrolo e quercetina in campioni di vino e succhi di frutta. La capacità di legame specifico del MIP è stata stimata come 80 mg g<sup>-1</sup> di polimero dal test della cartuccia. Il pretrattamento del campione MISPE permette un' ottima pulizia del campione, diminuendo enormemente il numero di analiti co estratti potenzialmente composti interferenti. Nelle condizioni descritte, estraendo campioni di 2 mL si ottiene un estratto pulito in cui il (E) -resveratrolo e la quercetina potevano essere facilmente identificati a livelli di concentrazione di, rispettivamente, 1,5 e 7,0 mg L<sup>-1</sup>.

Infine, le caratteristiche peculiari del carbone grafítico poroso sono state sfruttate per sviluppare un metodo per la determinazione di acidi perfluoroalchilici (PFAS). Questi composti a causa della loro capacità di persistere nell' ambiente, di bioaccumulo e di interferire con il sistema endocrino sono considerati "inquinanti emergenti". È stato anche dimostrata la loro mutagenicità, cancerogenicità e teratogenicità negli animali. La possibilità di utilizzare il PGC per l' estrazione in fase solida in linea e come fase stazionaria in LC di questi composti è stata valutata in combinazione con la spettrometria di massa tandem per ottenere informazioni strutturali e / o ottenere una migliore selettività e sensibilità per scopi quantitativi. La procedura analitica ottimizzata è stata applicata all' analisi di campioni reali, quali le acque potabili e sotterranee.