

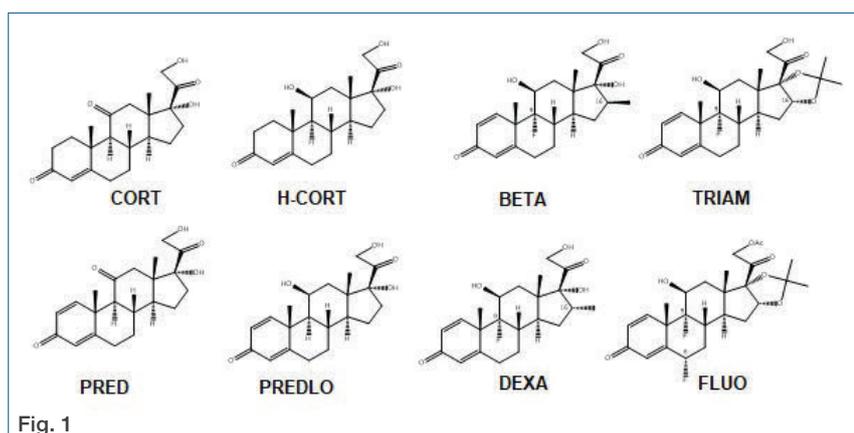


FRANCESCA MERLO

DIPARTIMENTO DI CHIMICA, UNIVERSITÀ DI PAVIA  
FRANCESCA.MERLO02@UNIVERSITADIPAVIA.IT

# HA-C@SILICA PER SPE DI GLUCOCORTICOIDI

**Un nuovo materiale a base di carbonio ottenuto dalla pirolisi di acidi umici su silice (600 °C) è utilizzato come fase adsorbente per la preconcentrazione di glucocorticoidi (GCs) presenti a livelli di ng L<sup>-1</sup> in acque di fiume e in acque dopo trattamento in depuratore. Dopo SPE, con recuperi quantitativi e fattori di arricchimento pari a 4.000 e 1.000 rispettivamente, i GCs sono determinati in HPLC-ESI-MS/MS.**



ziali interferenti endocrini (EDCs, acronimo inglese per *Endocrine Disrupting Chemicals*), per cui il loro monitoraggio nelle acque ambientali è necessario e attuale, visto anche il non completo abbattimento dagli impianti di depurazione [1-3]. Il presente elaborato, che riassume il lavoro di tesi magistrale, svolto presso i laboratori di Chimica Analitica del Dipartimento di Chimica (Università di Pavia), si pone come obiettivo la messa a punto di un me-

**N**egli ultimi decenni molti studi in campo analitico si sono concentrati sulla determinazione di contaminanti emergenti, una vasta classe di composti che rappresentano una minaccia per l'ambiente e per la salute umana. In questa categoria rientrano farmaci e prodotti per la cura personale (definiti PPCPs dall'acronimo inglese *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), la cui diffusione e conseguente immissione nell'ambiente, sia tal quali sia sotto forma di metaboliti, è in continuo aumento.

Tra questi vi sono i glucocorticoidi (GCs), ormoni steroidei prodotti dalle ghiandole surrenali, che agiscono a livello multiplo sulla risposta immunitaria e per questo sono estensivamente usati in campo medico per la cura di diverse patologie e, in passato, in campo veterinario come promotori di crescita, pratica oggi bandita dalla direttiva 96/22/EC. Essendo derivati steroidei, i GCs sono poten-

to metodo estrazione in fase solida (SPE) seguita da LC-ESI-MS/MS per la determinazione in acque ambientali a pH nativo di otto GCs (Fig. 1): Cortisone (Cort), Idrocortisone (H-Cort), Prednisone (Pred), Prednisolone (Predlo), Betametasona (Beta), Dexametasone (Dexa), Triamcinolone Acetonide (Triam), Fluocinolone Acetonide Acetato (Fluo).

Poiché i GCs sono presenti nelle acque ambientali a livello di ng L<sup>-1</sup>, nuovi materiali adsorbenti che garantiscano buona efficienza di preconcentrazione e facilità di preparazione, un ridotto costo e anche possibilità di riutilizzo sono oggi oggetto di studio di molti gruppi di ricerca.

In questo lavoro, si è preparata *ex novo* una fase carboniosa per SPE, sfruttando come supporto la silice micrometrica e utilizzando come fonte di carbonio gli acidi umici (HA, acronimo inglese per *Humic Acids*), ubiquitariamente distribuiti in natura e facilmente reperibili in commercio a basso costo.

La Divisione di Chimica dell'Ambiente e dei Beni culturali ha assegnato il Premio di Laurea a Francesca Merlo, per la tesi "Acidi umici pirolizzati su silice per estrazione in fase solida di glucocorticoidi da acque ambientali e successiva determinazione in HPLC-MS/MS".



Fig. 2

La procedura seguita per preparare HA-C@silica prevede l'immobilizzazione di HA su silice micrometrica (*silica*) e successiva pirolisi in atmosfera di azoto a 600 °C (Fig. 2).

Il materiale adsorbente sintetizzato *ex novo* è stato caratterizzato tramite diverse tecniche. La TGA ha permesso di individuare l'effettiva quantità di carbonio presente nel materiale, che è risultata essere pari al 2,5% in peso. Dall'analisi SEM non si sono individuate strutture carboniose ben definite in HA-C@silica, ma solo particelle maggiormente frammentate rispetto alla silice pirolizzata nelle medesime condizioni ma in assenza di HA. L'analisi composizionale puntuale raccogliendo gli elettroni *backscattered* (BSE) ha messo in evidenza come i rapporti Si/C e Si/O diminuiscono nel caso di HA-C@silica, indice della presenza di sostanza organica derivante dagli acidi umici. La misura dell'area superficiale ottenuta dalla BET è risultata di 279 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, a fronte di 550 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> per la silice commerciale. L'analisi XPS mostra, in seguito alla pirolisi, una diminuzione dei gruppi C-C, un aumento del C sp<sup>2</sup> e la presenza di gruppi ossigenati (-C=O, -COOH): si tratta, pertanto, di un materiale a fase mista [4]. Le prove preliminari sono state eseguite in HPLC-UV su campioni di acqua di rubinetto (150-500 mL) arricchiti a 5-10 µg L<sup>-1</sup>, utilizzando cartucce da 3

mL contenenti 200 mg di HA-C@silica. Una singola frazione da 2,5 mL di MeOH, ridotti in flusso di azoto a 0,25 mL, consente l'eluizione quantitativa dei GCs. Prove in parallelo su silice pirolizzata in assenza di HA (campioni di controllo) non evidenziano alcun adsorbimento degli analiti. Questi risultati mettono in evidenza il ruolo chiave della fase carbonio ottenuta a partire da HA nell'adsorbimento dei GCs. Il metodo è stato, quindi, messo a punto in HPLC-MS/MS, con quantificazione in modalità MRM (*Multiple Reaction Monitoring*), che garantisce la selettività. Si è lavorato su campioni di acqua di fiume (500-1000 mL) arricchiti nell'intervallo 1-400 ng L<sup>-1</sup> e su effluenti di un depuratore urbano (250 mL) nell'intervallo 15-60 ng L<sup>-1</sup> (Fig. 3). Un'accurata quantificazione è stata ottenuta mediante calibrazione esterna, con soluzioni standard preparate in matrice (*matrix matched calibration*), nell'intervallo di concentrazione 15-90 µg L<sup>-1</sup> per la matrice fiume (R<sup>2</sup>>0,9984) e 5-60 µg L<sup>-1</sup> per la matrice depuratore (R<sup>2</sup>>0,9995), ottenendo recuperi percentuali compresi tra 80-125% (RSD<15%; n=4) per l'acqua di fiume e 79-126% (RSD<18%; n=3) per le acque in uscita dal depuratore. Il metodo garantisce alti fattori di arricchimento (EF=4.000 per il fiume e EF=1.000 per depuratore) e recuperi quantitativi in entrambe le matrici anche a livelli di pochi ng L<sup>-1</sup>, concentrazioni tipiche delle acque ambientali.

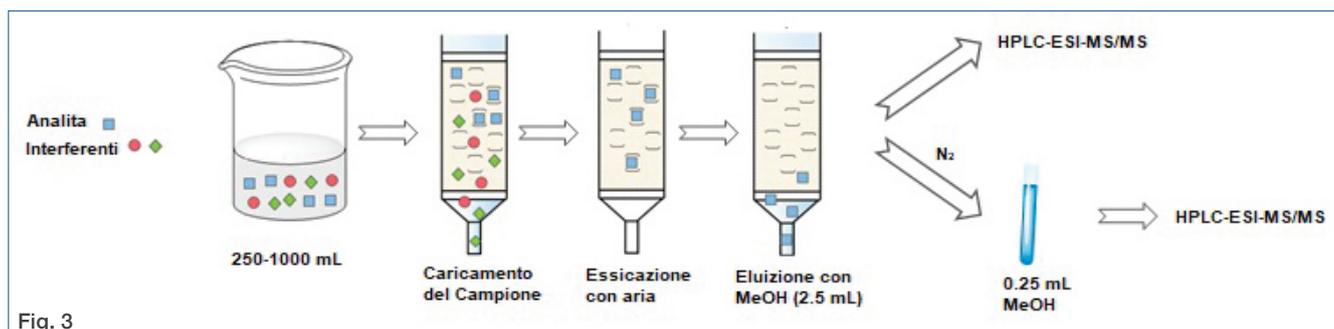
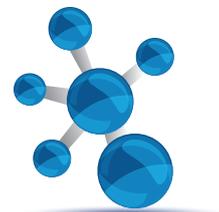


Fig. 3



La riproducibilità della preparazione di HA-C@silica è stata verificata tramite prove di recupero su tre lotti preparati in tempi diversi (500 mL acqua di fiume arricchiti con 400 ng L<sup>-1</sup> di ciascun GCs); si ottengono recuperi quantitativi per tutti i GCs e RSD inferiori al 7%.

I limiti di quantificazione del metodo (MQLs) ottenuti per i diversi GCs sono compresi tra 0,009-0,48 per l'acqua di fiume e 0,06-3 ng L<sup>-1</sup> per le acque di depuratore.

Il metodo analitico è stato applicato all'analisi di campioni di acque ambientali (fiume Tanaro, Scrivia, Ticino e acqua del depuratore di Pavia campionata prima del trattamento UV), dove i GCs sono stati trovati in concentrazioni da 0,2 a 18,7 ng L<sup>-1</sup>. Tale metodo analitico si dimostra idoneo per il monitoraggio di questi inquinanti nelle acque ambientali.

Rispetto ai metodi presenti in letteratura per la determinazione dei GCs in acque ambientali, il metodo proposto mostra diversi vantaggi in termini sia economici sia analitici (recuperi quantitativi, alti fattori di arricchimento e possibilità di riutilizzo della cartuccia anche per tre estrazioni consecutive) [4].

## BIBLIOGRAFIA

- [1] EEC Council Directive No. 96/22/EC, *Off. J. Eur. Commun.*, L 1996, **125**.
- [2] P. Herrero, F. Borrull *et al.*, *J. Chromatogr. A*, 2012, **1224**, 19.
- [3] Y. Kitaichi, A. Miyamoto, K. Uchikura, *J. Health Sci.*, 2010, **56**, 547.
- [4] A. Speltini, F. Merlo *et al.*, *J. Chromatogr. A*, 2018, **1540**, 38.

### HA-C@SILICA for SPE of Glucocorticoids

A new carbonaceous material obtained by the pyrolysis of humic acids onto silica (600 °C) was applied as sorbent phase for preconcentration of glucocorticoids (GCs) at the concentration level of ng L<sup>-1</sup> from river water and wastewater treatment plant effluent. After SPE, achieving quantitative recovery and high enrichment factors (4,000 and 1,000 respectively) GCs are determined by HPLC-ESI-MS/MS.

## ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

La *Chimica e l'Industria* è una rivista di scienza e tecnologia e di informazione per i chimici.

Nella rubrica "Attualità" ospita articoli o comunicati brevi su argomenti di interesse rilevante per tutti coloro che operano nella chimica, richiesti dalla redazione o ricevuti come lettere al direttore.

Nella sezione "Science and Technology" pubblica in inglese monografie scientifiche di chimica, ingegneria chimica e tecnologie farmaceutiche, concordate o richieste dal comitato scientifico o dalla redazione.

Nella sezione "Chimica e..." ospita articoli in italiano o in inglese di carattere applicativo, tecnologico e informativo per tutti i settori rilevanti della chimica.

Tutti gli articoli saranno sottoposti al giudizio di almeno un referee.

## TESTI

I testi possono essere trasmessi via e-mail, completi di tabelle e figure, con chiara indicazione dei nomi degli autori, scrivendo per esteso anche il nome di battesimo, gli Istituti o Enti presso i quali svolgono la loro attività e relativo indirizzo. Va allegato inoltre un breve riassunto del testo sia in italiano sia in inglese (max 300 battute).

I testi dovranno essere contenuti in non più di 30.000 battute per quanto riguarda la sezione "Science and Technology", e non più di 20.000 battute per quanto riguarda la sezione "Chimica e...". Il numero complessivo di tabelle e figure non dovrebbe essere superiore a 10 per la sezione "Science..." e a 5 per la sezione "Chimica e...". Tutti gli articoli dovranno essere corredati di un'immagine esplicativa dell'argomento da poter utilizzare come foto di apertura.

Il titolo non dovrà essere lungo più di 30 battute.

Immagine, schemi, figure vanno inviate in formato jpg, tiff o gif in file separati. Si raccomanda di uniformare la lingua delle immagini a quella del testo;

I richiami bibliografici (non più di 30-35), da citare all'interno del testo, devono essere numerati progressivamente, con numeri arabi tra parentesi quadre. La bibliografia va riportata in fondo al testo secondo gli esempi:

[1] D.W. Breck, *Zeolite Molecular Sieves*, J. Wiley, New York, 1974, 320.

[2] R.D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, 1976, **32**, 751.

[3] U.S. Pat. 4.410.501, 1983.

[4] *Chemical Marketing Reporter*, Schnell Publ. Co. Inc. (Ed.), June 15, 1992.

[5] G. Perego *et al.*, *Proceedings of 7<sup>th</sup> Int. Conf. on Zeolites*, Tokyo, 1986, Tonk Kodansha, Elsevier, Amsterdam, 129.

La redazione invita inoltre gli Autori ad inviare in allegato (fuori testo) con gli articoli anche fotografie o illustrazioni relative al contenuto, sia di tipo simbolico sia descrittivo, per migliorare l'aspetto redazionale e comunicativo (la direzione se ne riserva comunque la pubblicazione).

Tutto il materiale deve essere inviato per e-mail a: dott. Anna Simonini, [anna.simonini@soc.chim.it](mailto:anna.simonini@soc.chim.it)