



SELETTIVO, SOSTENIBILE, INTELLIGENTE: L'EVOLUZIONE DELLA SCIENZA DELLA PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

L'attività legata al "Premio Giovane Ricercatore" 2025 riguarda lo sviluppo di strategie innovative per la preparazione del campione, basate su approcci selettivi, sostenibili e automatizzati.

La preparazione del campione rappresenta ancora oggi il passaggio più critico dell'intera procedura analitica. Nonostante i grandi progressi strumentali compiuti negli ultimi decenni, essa rimane il fattore limitante in termini di tempo, riproducibilità e affidabilità dei risultati. Errori introdotti in questa fase compromettono irrimediabilmente l'accuratezza dell'analisi, rendendo indispensabile lo sviluppo di strategie di preparazione del campione sempre più selettive, rapide, sostenibili e compatibili con piattaforme analitiche avanzate [1]. Nel corso della mia attività di ricerca, svolta presso il Dipartimento di Chimica dell'Università di Roma La Sapienza, all'interno di un gruppo multidisciplinare inizialmente guidato dal prof. Aldo Laganà, mio tutor di dottorato, e successivamente sotto la supervisione della prof.ssa Anna Laura Capriotti, attuale tutor di ricerca, le mie ricerche si sono concentrate sull'evoluzione della preparazione del campione. Tale attività è stata declinata in approcci capaci di rispondere alle sfide poste da matrici complesse e analiti eterogenei. Le tecniche sviluppate spaziano dall'impiego di cromatografia bidimensionale e ad esclusione dimensionale, fino a materiali innovativi quali polimeri a impronta molecolare (MIP), idrogel e sistemi di microestrazione in fase solida (SPME), sia off-line sia on-line. Le prime ricerche affrontate durante il mio percorso di dottorato hanno riguardato lo studio dei peptidi bioattivi, molecole di crescente interesse nei settori nutraceutico, alimentare e diagnostico. Questi composti, costituiti da brevi sequenze amminoacidiche, sono inattivi nel-

la proteina nativa ma possono esprimere importanti attività biologiche una volta rilasciati, come effetti antiossidanti, antipertensivi e antinfiammatori. La complessità delle miscele peptidiche rende tuttavia indispensabile l'adozione di strategie di preparazione del campione altamente selettive. Utilizzando microalghe come fonte proteica sostenibile, sono stati sviluppati protocolli di estrazione e digestione enzimatica seguiti da una purificazione mediante cromatografia liquida bidimensionale ortogonale. Le frazioni bioattive, selezionate attraverso saggi funzionali, sono state analizzate tramite nanoHPLC-MS/MS, consentendo l'identificazione di centinaia di sequenze peptidiche e la successiva selezione di peptidi ad alta probabilità di bioattività mediante approcci in silico [2]. Parallelamente, è stata affrontata una delle sfide analitiche più complesse della peptidomica: l'analisi dei peptidi corti (di-, tri- e tetrapeptidi). La loro elevata polarità, la difficoltà di ionizzazione e i limiti bioinformatici dei database proteomici tradizionali richiedono strategie dedicate. Un approccio non mirato basato su UHPLC-HRMS, combinato con purificazione mediante in-tip SPME a meccanismo HILIC e separazioni cromatografiche complementari (C18 e carbone grafittico poroso), ha permesso la caratterizzazione efficace di questi composti in campioni di latte vaccino [3]. L'integrazione di liste di inclusione e agenti super-caricanti ha ulteriormente migliorato la sensibilità del metodo. L'importanza della preparazione del campione emerge con evidenza anche nello studio di ingredienti funzionali, come i semi di canapa. La

A Carmela Maria Montone è stato conferito il premio "Giovane Ricercatore" 2025 dalla Divisione di Chimica Analitica della SCI.

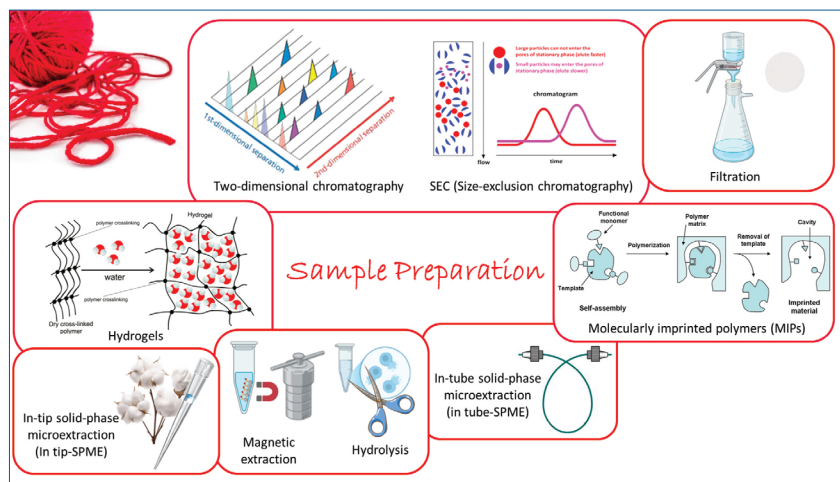


Fig. 1 - Il filo conduttore che lega le attività della dott.ssa Montone è la preparazione del campione sviluppata in maniera sempre più innovativa per risolvere problematiche analitiche

separazione selettiva dei peptidi a catena corta da quelli medio-lunghi mediante cromatografia ad esclusione dimensionale e ultrafiltrazione ha evidenziato come la frazione di peptidi corti presenti una bioattività significativamente superiore, aprendo la strada a nuove applicazioni nutraceutiche e brevettuali [4]. Dopo il dottorato, argomento di interesse è stata la determinazione di contaminanti alimentari, in particolare la patulina nei succhi di mela. Per superare i limiti dei metodi convenzionali, è stato sviluppato un MIP idrofilo basato su un *dummy template* in grado di garantire elevata selettività in ambiente acquoso e una separazione efficace dall'interferente 5-idrossimetilfurfurale. Il materiale è stato caratterizzato dal punto di vista morfologico e termodinamico e applicato con successo a campioni reali mediante SPE dispersiva accoppiata a HPLC-DAD e UHPLC-MS [5]. La preparazione del campione riveste un ruolo cruciale anche nell'analisi delle modificazioni post-traduzionali, in particolare dei glicopeptidi. In questo contesto, sono stati sviluppati idrogel magnetici a base di AMPS come nuovi materiali di arricchimento selettivo. Grazie a un disegno sperimentale Box-Behnken, è stato possibile ottimizzare la composizione del materiale, ottenendo elevate prestazioni in termini di selettività e riproducibilità. L'approccio ha dimostrato una superiorità significativa rispetto a materiali convenzionali come il cotone in-tip SPME [6]. Negli ultimi anni, l'evoluzione della preparazione del campione si è orientata verso sistemi on-line completamente automatizzati, in grado di ridurre l'intervento umano e

migliorare la produttività. L'impiego della in-tube SPME con colonne monolitiche funzionalizzate ha consentito lo sviluppo di metodi robusti per l'analisi dell'estradiolo in siero umano e per la determinazione simultanea di pesticidi polari e apolari in campioni di birra. L'integrazione on-line con LC-MS/MS ha permesso di ottenere elevata sensibilità, ridotti consumi di solvente e un impatto ambientale complessivamente accettabile, valutato mediante lo strumento AGREE [7, 8].

In conclusione, la chimica analitica sta vivendo una profonda trasformazione, in cui la preparazione del campione non è più un semplice passaggio preliminare, ma un elemento strategico dell'intero processo analitico. Metodi selettivi, sostenibili, automatizzati e intelligenti rappresentano la nuova frontiera, aprendo la strada a applicazioni sempre più affidabili in ambito alimentare, ambientale e clinico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] H. Kataoka, A. Ishizakia, K. Saitoa, *Anal. Methods*, 2016, **8**, 5773.
- [2] C.M. Montone, A.L. Capriotti *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, **410**, 3573.
- [3] C.M. Montone, A.L. Capriotti *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2019, **411**(15), 3395.
- [4] A. Cerrato, C. Lammi *et al.*, *Food Research International*, 2023, **163**, 112219.
- [5] C. Cavaliere, A. Cerrato *et al.*, *Microchimica Acta*, 2023, **190**, 485.
- [6] A. Cerrato, C. Cavalier *et al.*, *Analytica Chimica Acta*, 2023, **1245**, 340862
- [7] A. Cerrato, S.E. Aita *et al.*, *Analytical Chemistry*, 2024, **96**(11), 4639.
- [8] S. Piovesana, S.E. Aita *et al.*, *Analytica Chimica Acta*, 2024, **1329**, 343231.

Selective, Sustainable, Smart: Evolving the Science of Sample Preparation

The research activity related to the "Young Researcher Award" 2025 focuses on the development of innovative sample preparation strategies based on selective, sustainable, and automated approaches.