

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO

CL in BIOTECNOLOGIE

Anno Accademico 2022/2023

CHIMICA ANALITICA

Preparazione del Campione

Processo Analitico



- Cosa?



Individuare il target dell'analisi:

- Piccole molecole
 - Polari
 - Apolari
 - Anfotere
- Grandi molecole:
 - Proteine
 - Amido

- Dove?



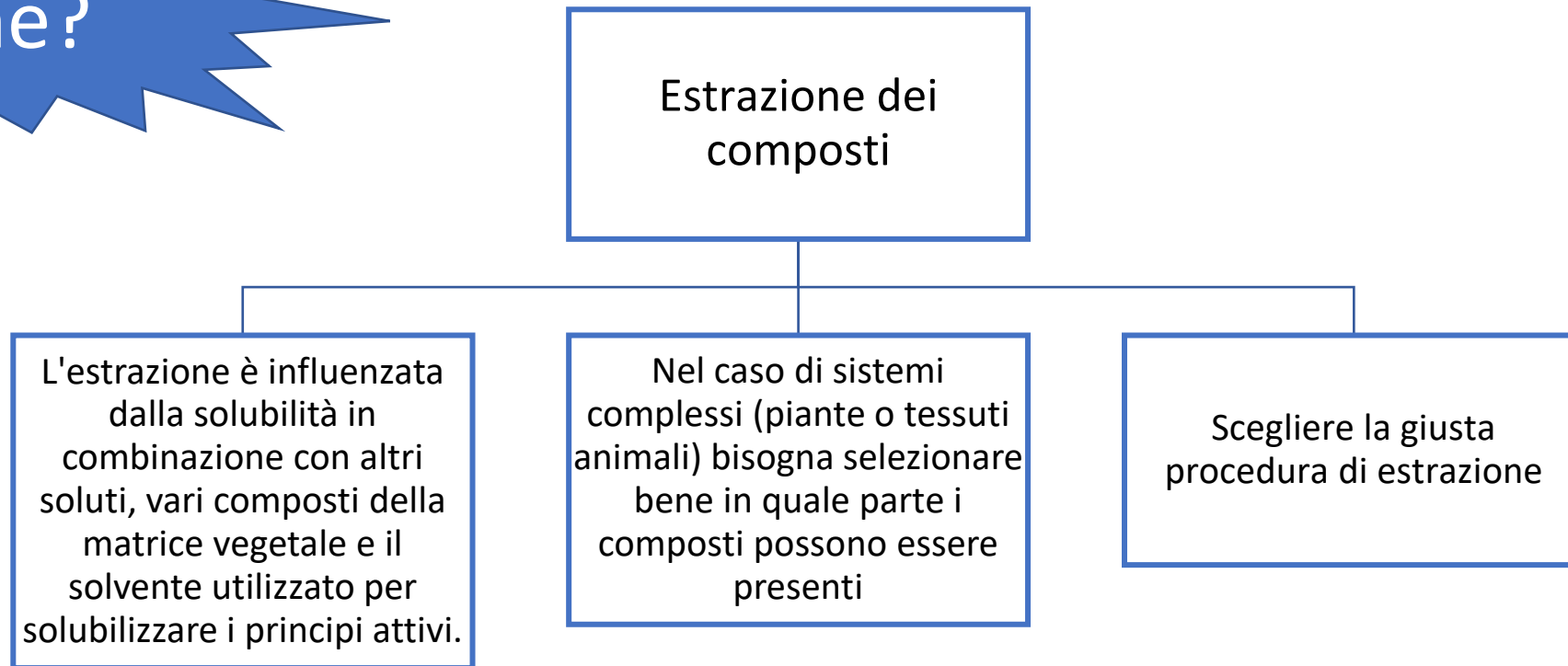
La matrice dove può trovarsi

- Come?

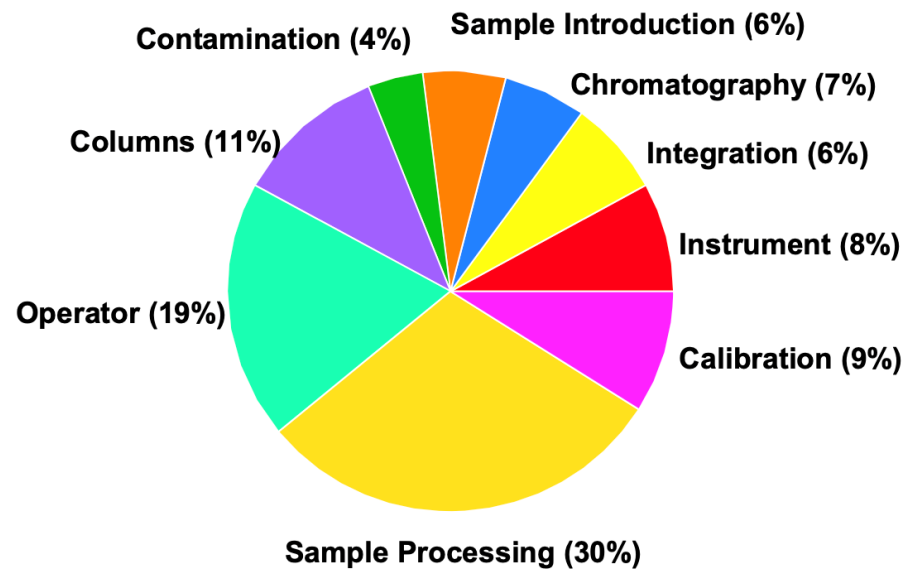


La tecnica di estrazione più efficiente

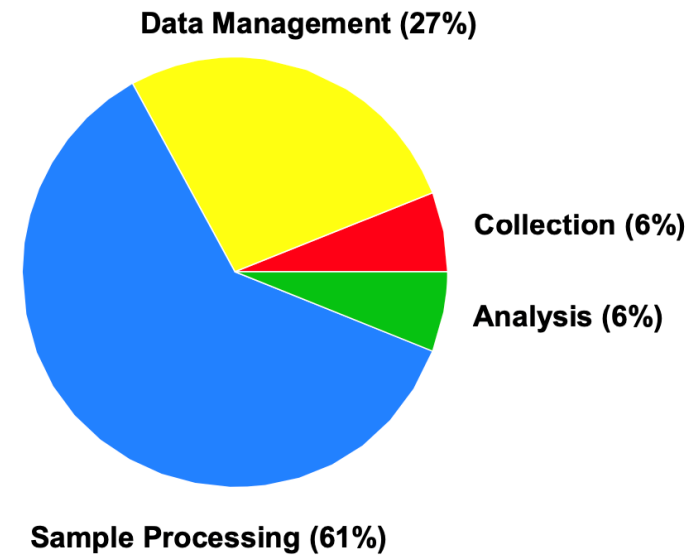
Come?



Sources of Error Generated and Time Spent During a Typical Chromatographic Analysis



Sources of Error



Time Spent

Metodologia o scelte strategiche

❖ Natura del quesito analitica

- Analisi qualitative e/o quantitative
- Analisi di tracce
- Analisi multicomponente

❖ Natura del campione

- Matrice solida, liquida o gassosa
- Matrice semplice o complessa
- Interazioni analiti-matrice
- Concentrazione presunta degli analiti nella matrice

❖ Natura dell'analita

- Proprietà chimico fisiche
- Reattività
- Rivelabilità Analitica

❖ Strumentazione analitica disponibile

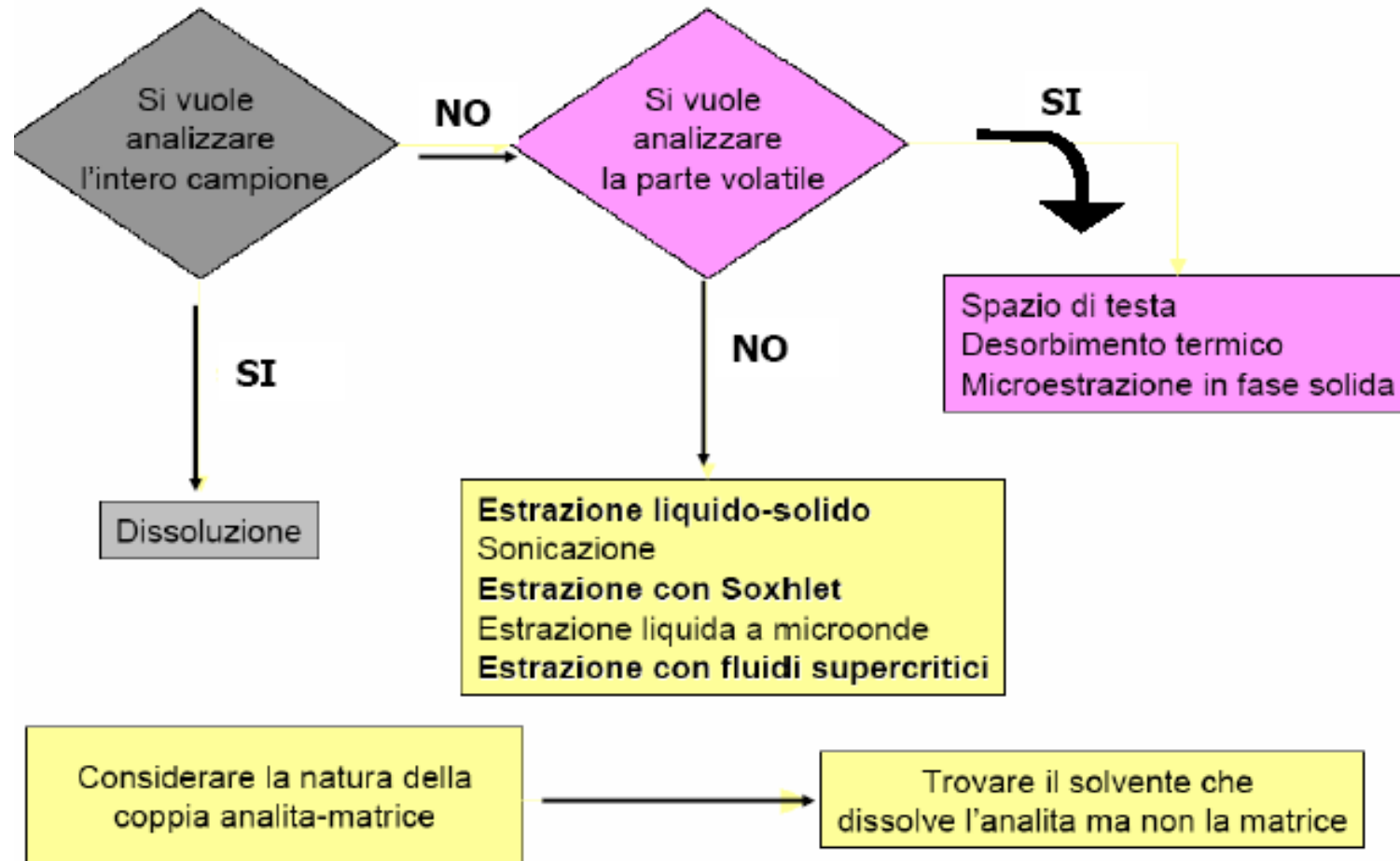
- Non tutte le tipologie di estrazioni sono compatibili con tutte le strumentazioni
- Valutare la sensibilità dello strumento

Preparazione del campione

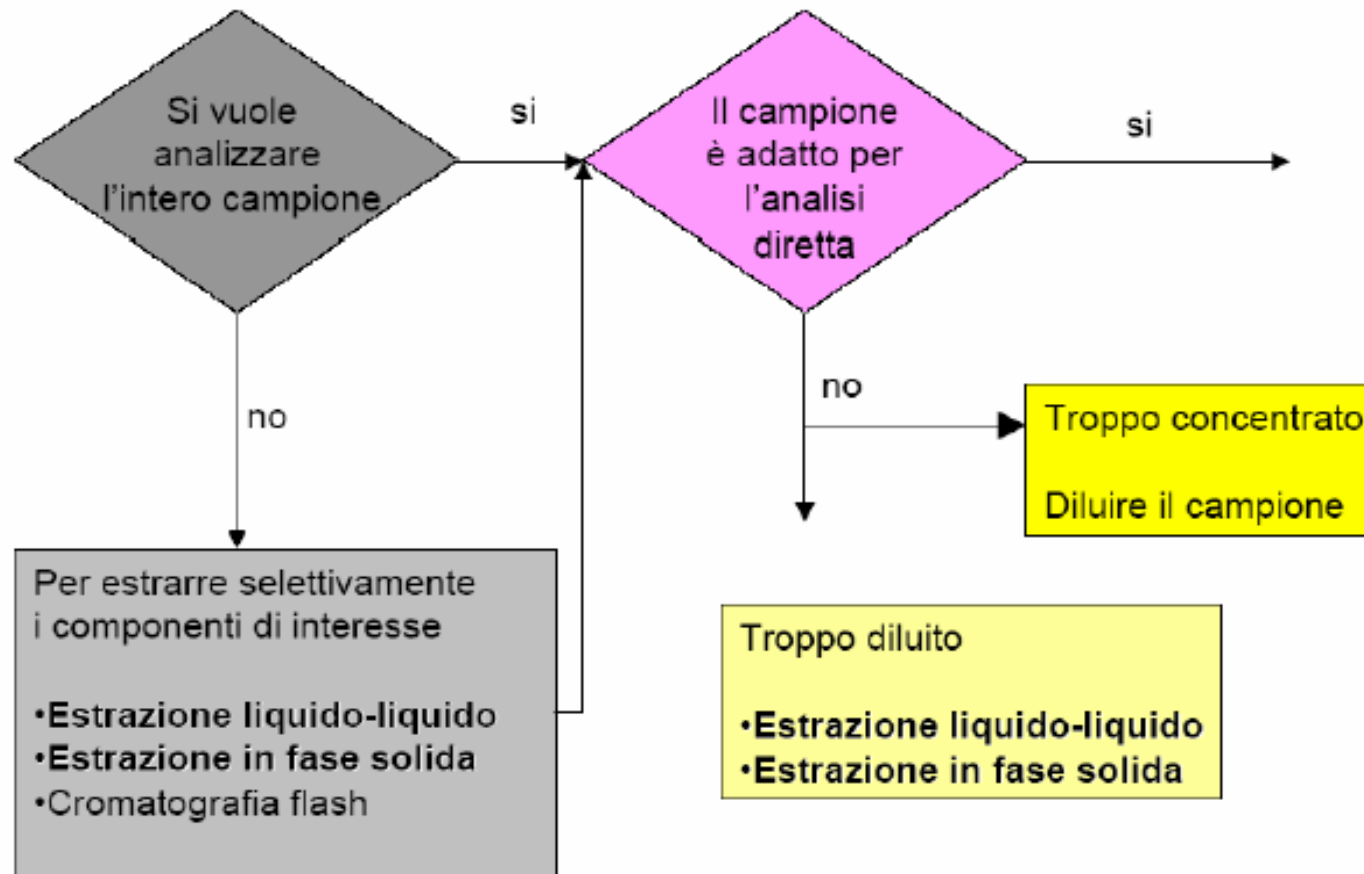
Prepare il campione = renderlo adatto alla tecnica analitica prescelta

- Solvente e pH
- Concentrazione
- Forma molecolare rilevabile
- Assenza di interferenze

Campione solido



Campione liquido



Tipologia di estrazione



Estrazioni convenzionali



Estrazioni non convenzionali

Estrazioni convenzionali

- ❖ Estrazione liquido-liquido (LLE)
- ❖ Estrazione liquido-solido (dissoluzione)
- ❖ Estrazione liquido-solido continua (Soxhlet)
- ❖ Estrazione in fase solida (SPE)
- ❖ Microestrazione in fase solida (SPME)

Estrazioni non convenzionali

- ❖ Estrazione accelerata con solvente (ASE)
- ❖ Estrazione assistita da ultrasuoni (UAE)
- ❖ Micro estrazione liquido-liquido dispersiva (dLLME)
- ❖ Estrazione in fase solida miniaturizzata (μ SPE)
- ❖ Microestrazione tramite fase adsorbente (MEPS)
- ❖ Estrazione tramite solventi eutettici
- ❖ Polimeri ad imprinting molecolare

Estrazione liquido-liquido (LLE)

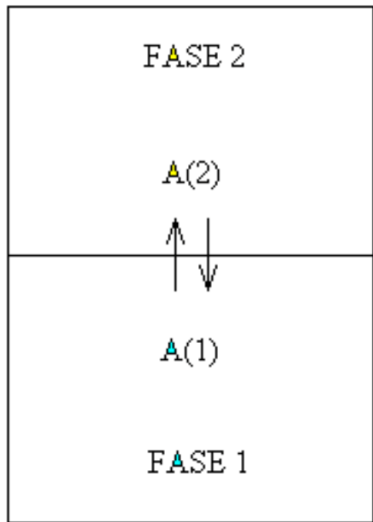
Questa tecnica si basa sulla distribuzione del soluto tra due liquidi essenzialmente non miscibili di cui uno solitamente è un solvente organico, l'altro una soluzione acquosa. All'equilibrio, un solute che sia solubile in entrambe le fasi sarà distribuito tra le due in una proporzione fissa secondo un coefficiente di ripartizione o distribuzione **K**.

$$K = \frac{C_o}{C_a}$$

Nella separazione liquido liquido (due fasi liquide non miscibili), il componente in esame si trasferisce da una fase all'altra più delle sostanze interferenti. L'estrazione con solventi è una delle tecniche più utilizzate per la sua semplicità strumentale e operativa. È sufficiente un imbuto separatore e l'operazione, che richiede generalmente in pochi minuti, può essere applicata sia a impurezze presenti in tracce che ai costituenti principali.

Mediante tale tecnica è possibile

- ❖ L'identificazione di una sostanza sulla base di un parametro P chiamato coefficiente di ripartizione
- ❖ L'arricchimento di un componente
- ❖ Separazione
- ❖ Lo studio di equilibri in soluzione.



All'equilibrio i **potenziali chimici*** del soluto A nelle due fasi saranno uguali pertanto:

$$\mu_{A(1)} = \mu_A$$

$$\mu_{A(1)} = \mu_{A(1)}^0 + RT \ln a_1 = \mu_{A(1)}^0 + RT \ln [A]_1 \gamma_1$$

$$\mu_{A(2)} = \mu_{A(2)}^0 + RT \ln a_2 = \mu_{A(2)}^0 + RT \ln [A]_2 \gamma_2$$

Dall'uguaglianza dei potenziali si ottiene la costante di ripartizione ed il **coefficiente di ripartizione, P**:

$$\mu_{A(1)}^0 + RT \ln a_1 = \mu_{A(2)}^0 + RT \ln a_2$$

$$e^{\frac{\mu_{A(1)}^0 - \mu_{A(2)}^0}{RT}} = \frac{a_2}{a_1} = K$$

$$K = \frac{[A]_2 \gamma_2}{[A]_1 \gamma_1}$$

$$P = K \frac{\gamma_1}{\gamma_2} = \frac{[A]_2}{[A]_1}$$

* Il **potenziale chimico** della specie "A" rappresenta la variazione di energia libera del sistema per aggiunta di una mole di sostanza "A" fissate le quantità degli altri componenti, e a T e p costante. Misura pertanto il contributo molare all'energia libera del componente A aggiunto ad una miscela.

Separazione dei costituenti di una miscela tra 2 solventi miscibili tra di loro:

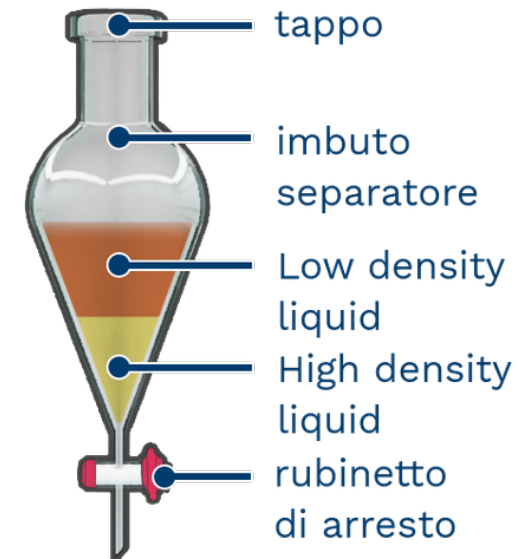
- ❖ La tecnica si basa sulle caratteristiche chimiche delle sostanze da separare
- ❖ Può separare sostanze con più punti di ebollizione vicini (non separabili per distillazione)

Il grado al quale i composti (organici o inorganici) si distribuiscono tra 2 liquidi non miscibili tra loro differisce enormemente. Queste differenze possono essere sfruttate per scopi analitici per separare interferenti

Coefficiente di distribuzione

Costante di equilibrio che descrive la distribuzione tra due solventi non miscibili

$$A_{(acq)} \rightleftharpoons A_{(org)} \quad P = \frac{[A]_{org}}{[A]_{acq}}$$



Estrazione solido-liquido

Estrazione da campione solido (finemente triturato) con solvente

Solvente polare → Componenti polari

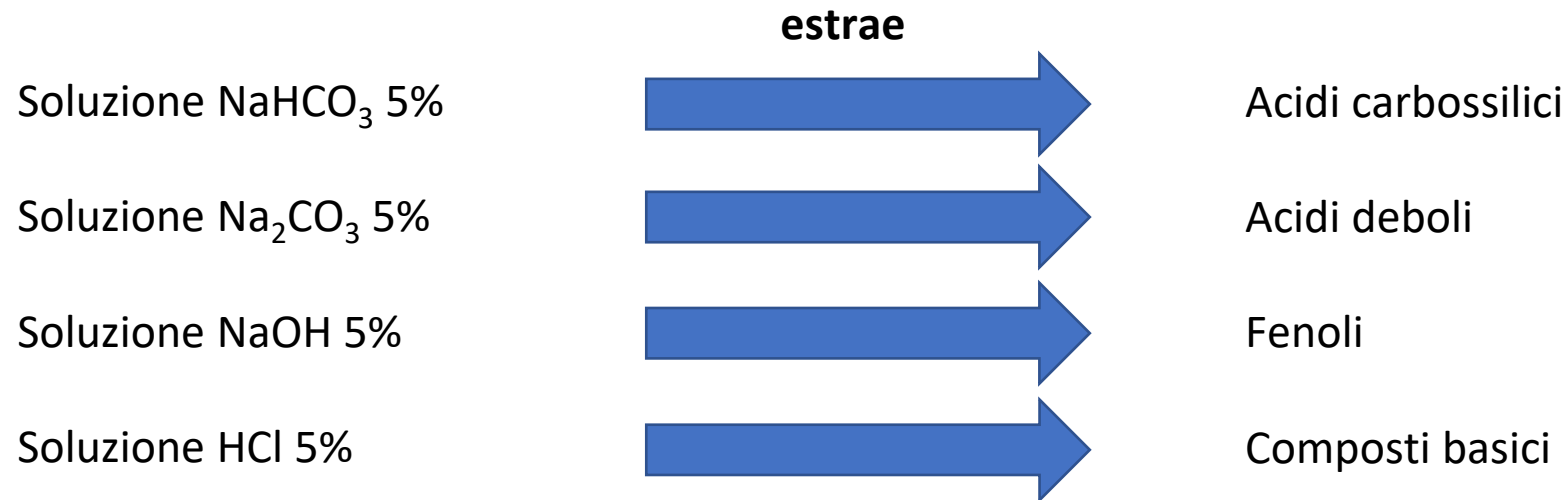
Solvente apolare → Componenti apolari

All'estrazione segue una fase di separazione del solido dal liquido

- ❖ Filtrazione
- ❖ Decantazione
- ❖ Centrifugazione

Estrazione con solventi chimicamente attivi

Si usano sostanze che reagiscono chimicamente con il compost da estrarre attraverso l'aggiustamento dei parametri chimici come pH e forza ionica:

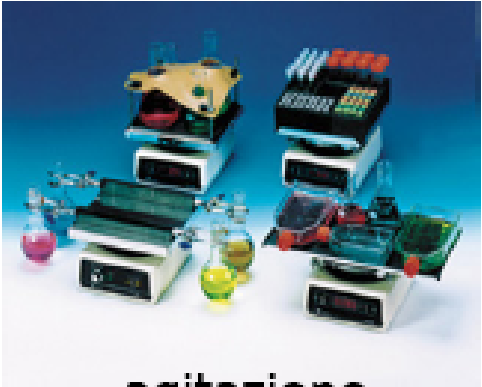




omogeneizzazione



Contenitore con campione



agitazione



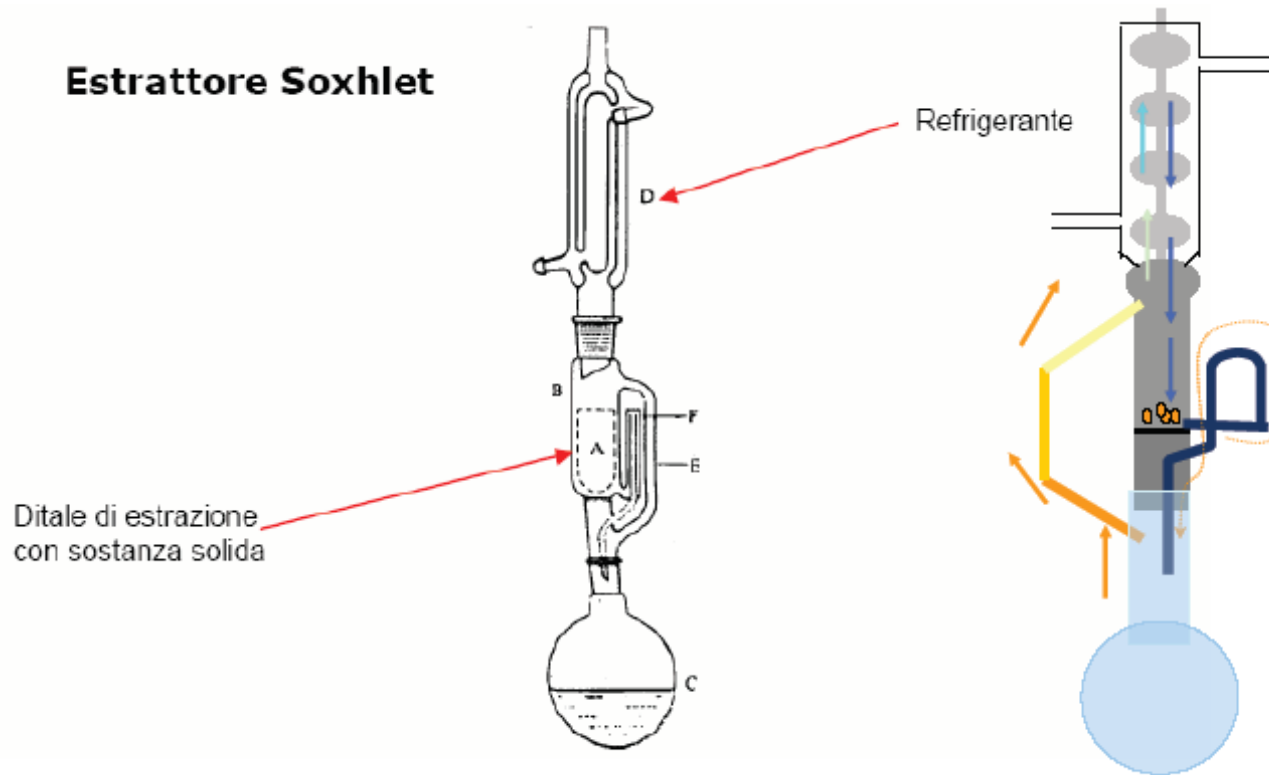
Evaporazione



filtrazione

Estrazione solido-liquido continua (Soxhlet)

Estrattore Soxhlet



In una tecnica di estrazione la viscosità si oppone al passaggio del solvente verso gli strati più interni del campione solido.

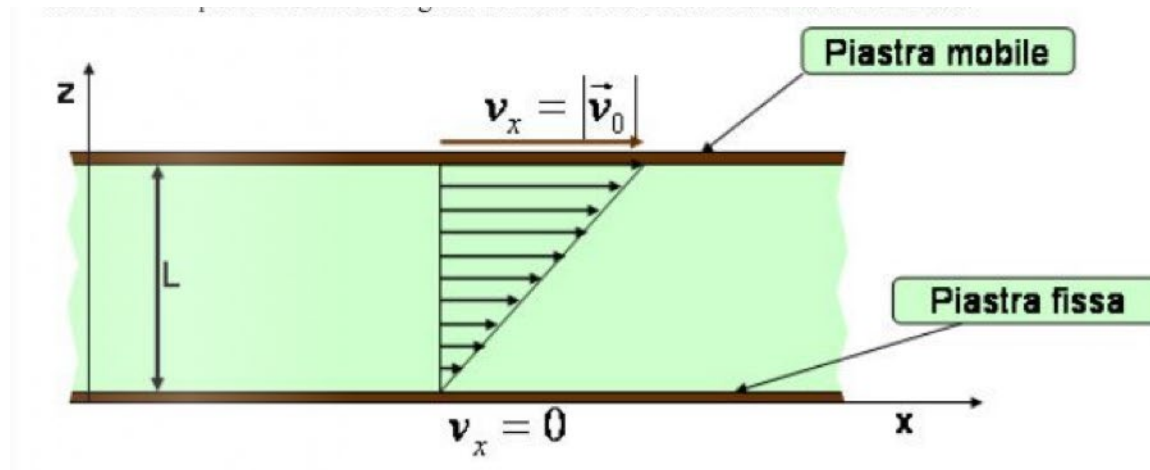
Ridurre la viscosità del solvente, a parità di polarità, è un obiettivo

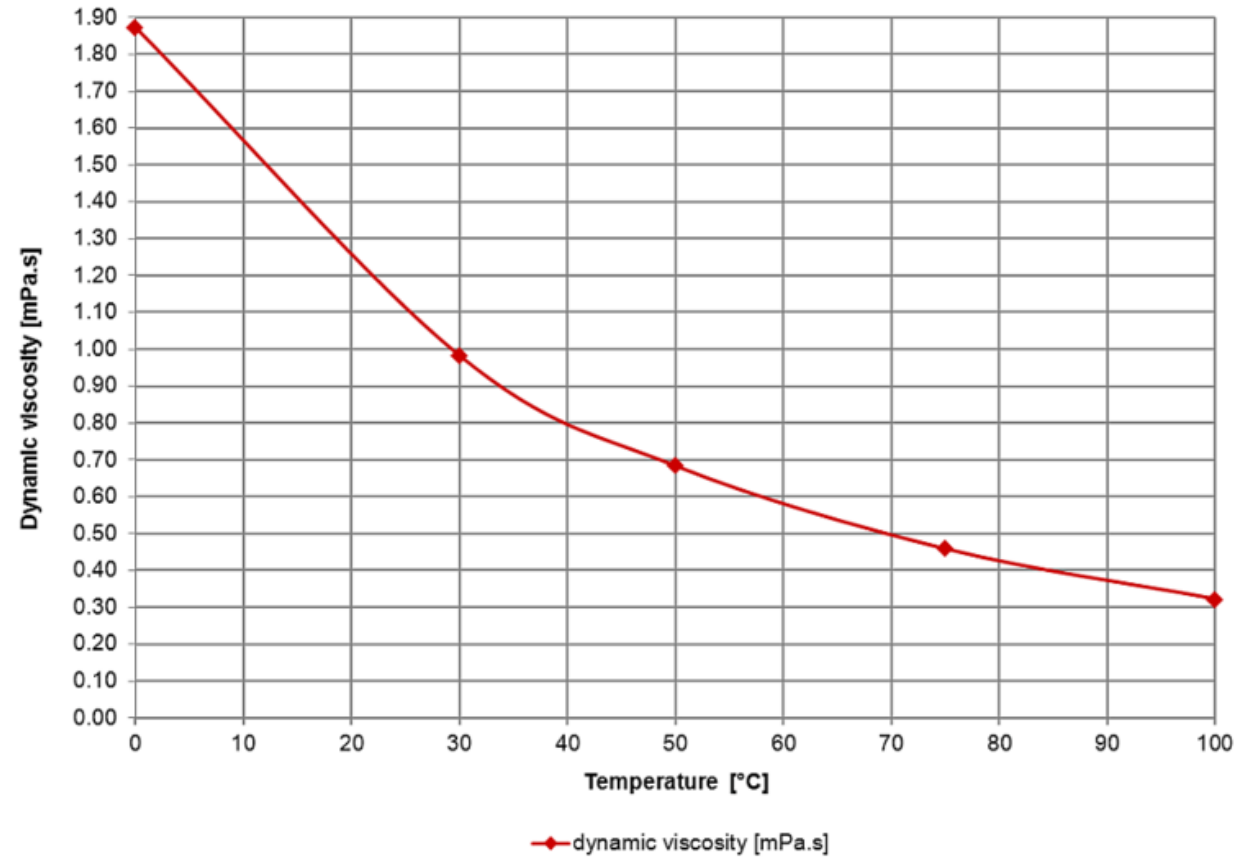
La viscosità può essere ridotta aumentando la temperatura

Limiti: ebollizione del sovente, stabilità termica degli analiti, stabilità termica del campione

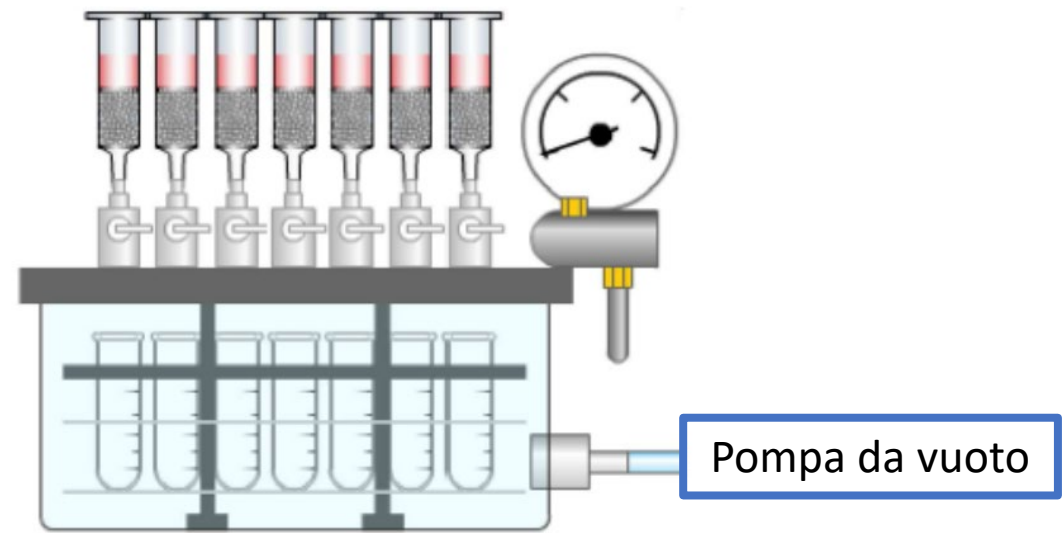
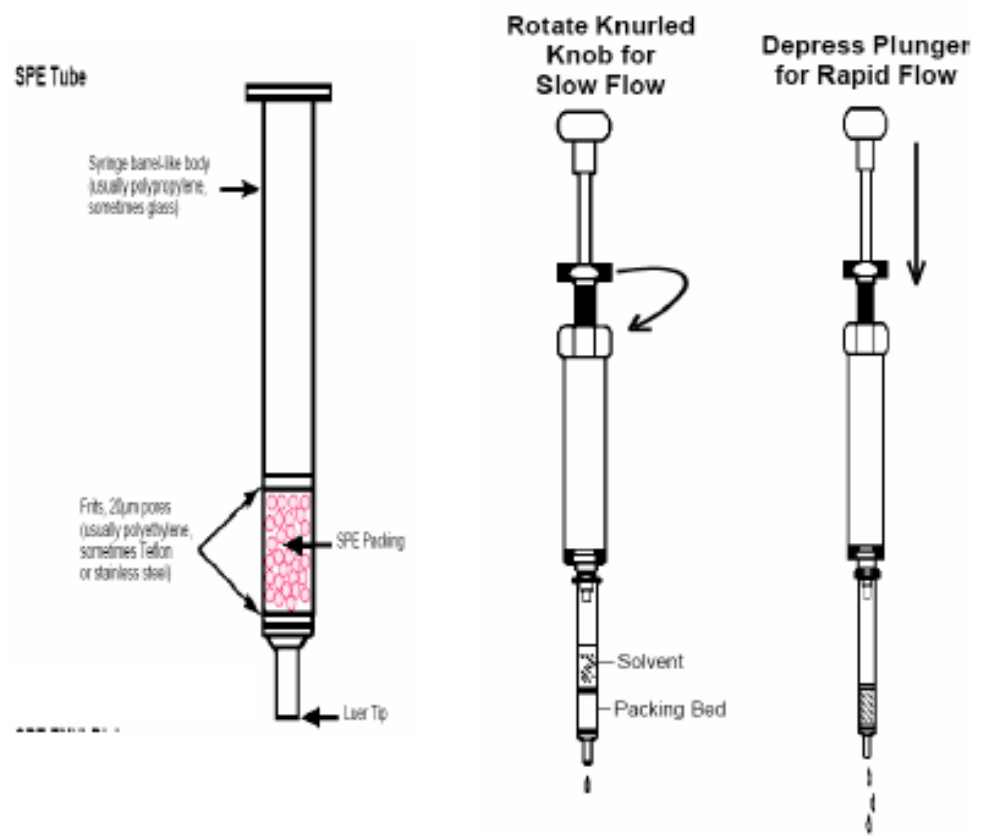
Viscosità: La viscosità rappresenta l'attrito interno.

È chiaramente visibile nei fluidi ed esprime la maggiore o minore facilità di scorrimento di uno strato rispetto a un altro adiacente. La viscosità può essere considerata anche come un indice della resistenza alle deformazioni.





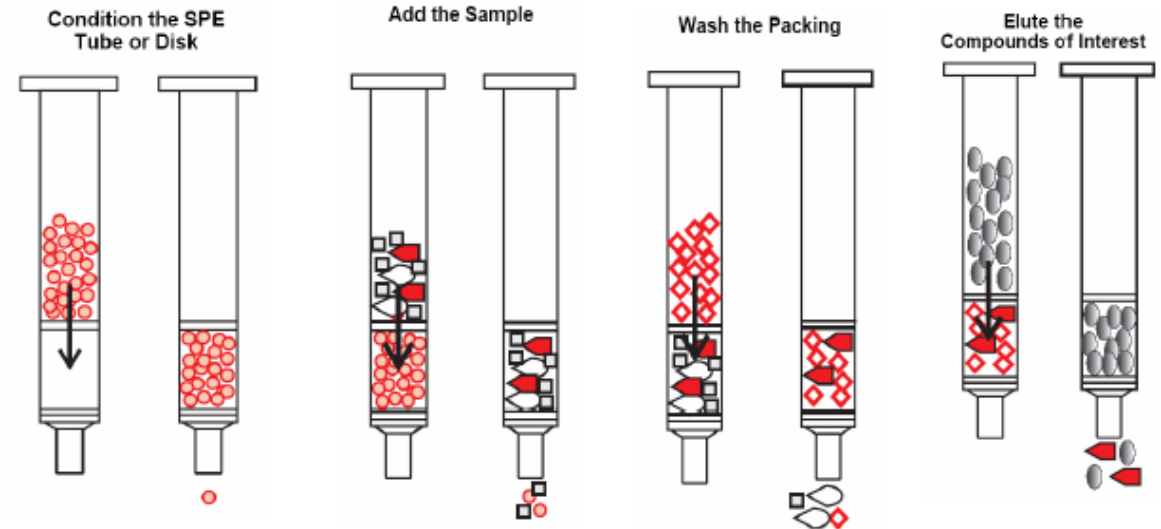
Estrazione in fase solida (SPE)



Le tecniche preparative di estrazione in fase solida (SPE) sono ormai ampiamente diffuse in campo alimentare, in risposta alla crescent domanda di metodi pratici e veloci, ma anche altamente selettivi.

Per le analisi degli alimenti si possono indicare tre principali aree di applicazione:

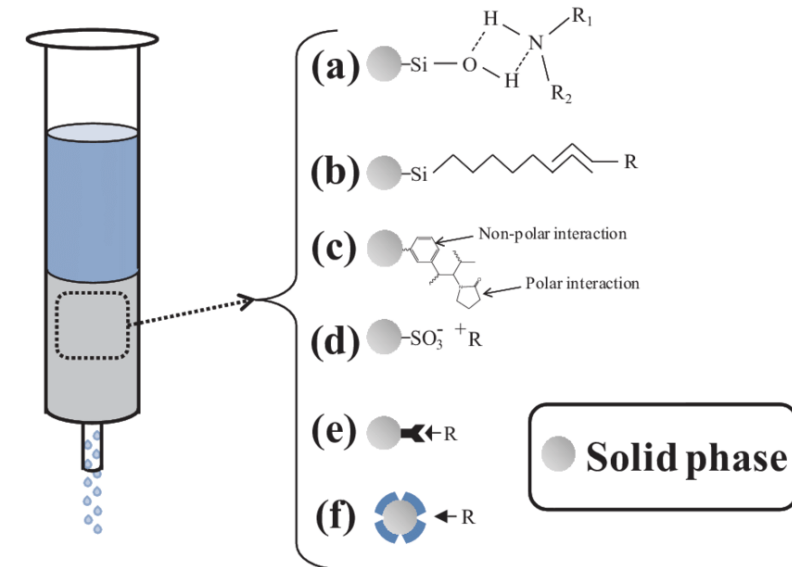
- ❖ Analisi di additive (dolcificanti artificiali, coloranti, aromi, ecc.)
- ❖ Analisi di sostanze nutritive (carboidrati, vitamine, colesterolo, acii, organici, lipidi, ecc.)
- ❖ Analsi di residui (pesticide, erbicidi, tossine)



L'estrazione in fase solida SPE viene condotta su colonnine preimpaccate, disposte su accessori di aspirazione; questa unisce l'organizzazione razionale di serie multiple di campioni, al concetto di selettività e diminuzione di solvente da utilizzare.

Le colonnine SPE con impaccamenti silica-legati forniscono una selezione di principi estrattivi che può essere suddivisa, per tipo di ritenzione, in 4 classi di colonnine:

- ❖ Polari (fase normale)
- ❖ Apolari (fase inversa)
- ❖ Scambio ionico (ion exchange)
- ❖ Immunoaffinità (IA-SPE)



Meccanismo di estrazione in fase inversa

Le fasi non polari sono le più utilizzate. In particolare la C18, è spesso la prima ad essere provata si cerca di sostituire la LLE con quella SPE.

In molte applicazioni la colonna SPE è impiegata come *filtro chimico* che rimuove gli interferenti non polari.

La stessa Colonna può essere utilizzata per estrarre composti polari da matrice lipofila oppure viceversa.

Per composti eccessivamente lipofili però può avere problem nel rilascio degli analiti.

Meccanismo di estrazione in fase normale

Le colonnine polari (cianopropil, diol, silica, ammonopropil) sono tipicamente usate per interagire con composti polari disciolti in solvent organico non polare (etilacetato, n-esano, ecc.). Del resto, l'omogenizzazione della matrice e la sua estrazione con solvent organico sono condizioni spesso ricorrenti, e che già predispongono l'analita al meccanismo dell'estrazione polare.

Le fasi polari offrono possibilità di ritenzioni selettive quali legami di tipo dipole-dipole (CN) o ponti idrogeno (Diol, ammino) ed anche una riproducibilità nella qualità di queste interazioni

Meccanismo di estrazione in scambio ionico

Le colonnine scambiatrici si sono rivelate molto utili nella preparazione all'analisi di campioni di pesticidi, erbicidi, tossine, ecc., che solitamente contengono un gruppo funzionale ionizzabile. In particolare lo scambio ionico, ha una enorme potenzialità avendo un meccanismo che porta ad un'elevata selettività e quindi ad un'elevata pulizia degli estratti.

Si possono perciò estrarre con questo meccanismo sia composti basici (fasi a scambio cationico) che composti acidi (fasi a scambio anionico), sia da matrici acquose ma anche, in molti casi, da solventi organici come metanolo o diclorometano. Le fasi legate coprono un range di scambiatori ed anionici deboli e forti:

SAX = Strong Anion eXchange

SCX = Strong Cation eXchange

WAX = Weak Anion eXchange

WCX = Weak Cation eXchange

L' SPE ad immunoaffinità si basa sulle interazioni che si formano tra una sostanza ed il relativo ligando (da ciò si deduce l'importanza di conoscere le caratteristiche chimico fisiche della sostanza in esame), ma in determinate condizioni deve essere possibile il rilascio per far tornare in soluzione l'analita.

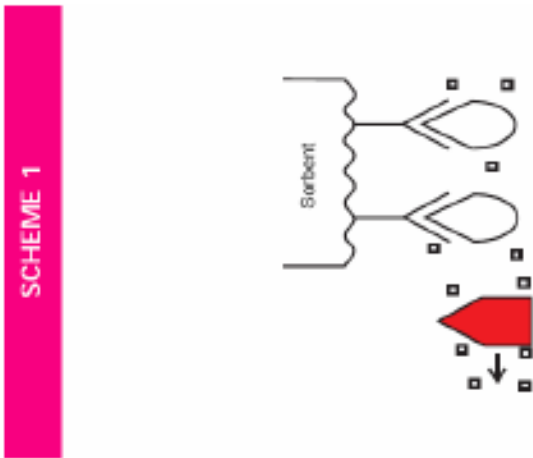
La estrazione in fase solida di affinità è utile nella separazione delle biomolecole, sfruttando ad esempio il legame selettivo tra un enzima e il suo substrato, tra ormoni e recettori, o tra antigeni e anticorpi (in questo caso si usa il termine immunoaffinità).

In campo alimentare è molto utilizzata per l'estrazione di micotossine da alimenti.

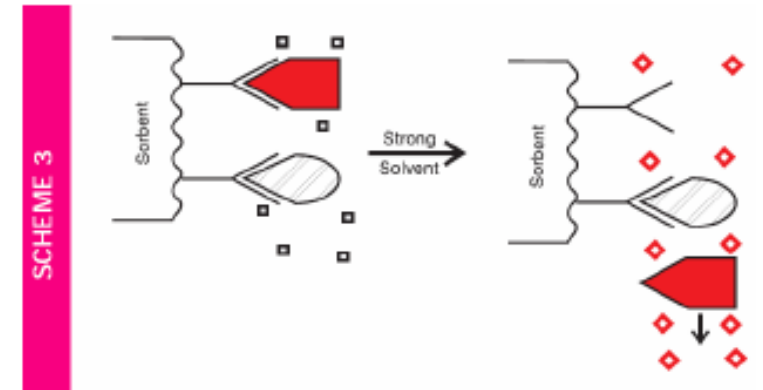
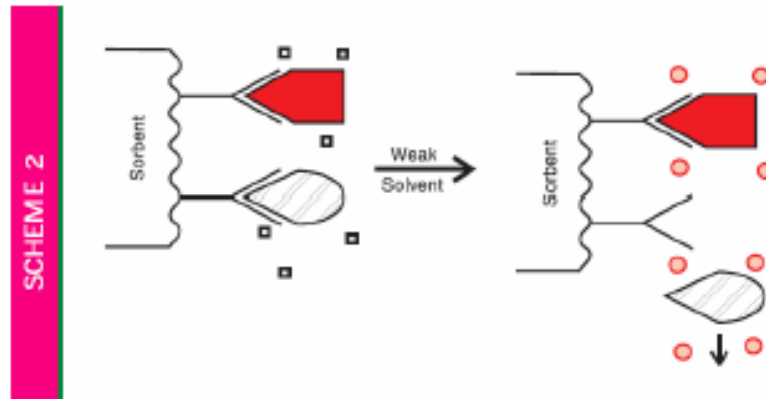
La fase stazionaria solida (di solito composta da cellulosa, gel di agarosio o di agarosio-acrilammide) deve quindi avere le seguenti caratteristiche:

- ❖ contenere molti ligandi specifici per il composto;
- ❖ deve essere stabile;
- ❖ deve avere solo deboli interazioni con il composto, in modo da non comprometterne l'eluibilità;
- ❖ deve avere buone capacità di flusso;

Ritenzione di interferenti



Ritenzione di analita



Pretrattamento del campione prima del passaggio in SPE

Latte: generalmente si usa SPE in fase inversa o a scambio ionico. Il campione può essere diluito con acqua o con metanolo (max 1:2). Alcune procedure possono richiedere di precipitare le proteine (trattamento acido con HCl H₂SO₄ o acido tricloroacetico). Dopo la precipitazione, centrifugazione e utilizzo del surnatante in SPE

Vino, birra e bevande acquose: queste possono essere processate senza pretrattamento, ad eccezione di una diluizione per portare etanolo <8% se si lavora in fase inversa. Se necessario rimuovere solidi sospesi per filtrazione.

Succhi di frutta: queste possono essere processate senza pretrattamento, ad eccezione di una centrifugazione per separare eventuali solidi, se i succhi sono particolarmente viscosi possono essere diluiti con acqua o tampone per aggiustare il pH.

Carni e pesce: l'alimento viene omogeneizzato con solvente acquoso o miscela idroalcolica, può essere necessaria una digestione acida della componente proteica e, per lavorare in fase inversa, una saponificazione dei lipidi. Il campione viene centrifugato e il surnatante usato in SPE. Nel caso di estrazione con solventi apolari si può lavorare in fase normale.

Estrazione con fasi solide di campioni alimentari

Matrice	Analiti separati	Gruppo funzionale ed eluente
Formaggi, oli, margarine, maionese	Antiossidanti e conservanti	Scambio cationico, alcol isopropilico
Frutta, verdure, succhi	proantocianidine	C18, acetone + acqua e ac. acetico
pane	bromati	C18
Carne, uova	antibiotici	Cationico forte, tampone citrato (pH 4)
Cibi conservati e trattati	zuccheri	Amminopropil, acetonitrile e acqua (4:1)

Estrazione di sostanze volatili

Analisi che a temperatura pressione ambiente si trovano in fase gassosa o in equilibrio tra fase gassosa e un'altra (soluzione, solida, dispersione)

Lo spazio di testa indica la porzione di gas in equilibrio con una fase liquida o solida all'interno di un contenitore ermeticamente chiuso

Lo spazio di testa è influenzato dalla temperatura a cui è tenuto il campione

Il raggiungimento delle condizioni di equilibrio dello spazio di testa sono soggette a una cinetica che varia con la temperatura, la composizione della matrice e la concentrazione dell'analita e il volume del contenitore porta campione.

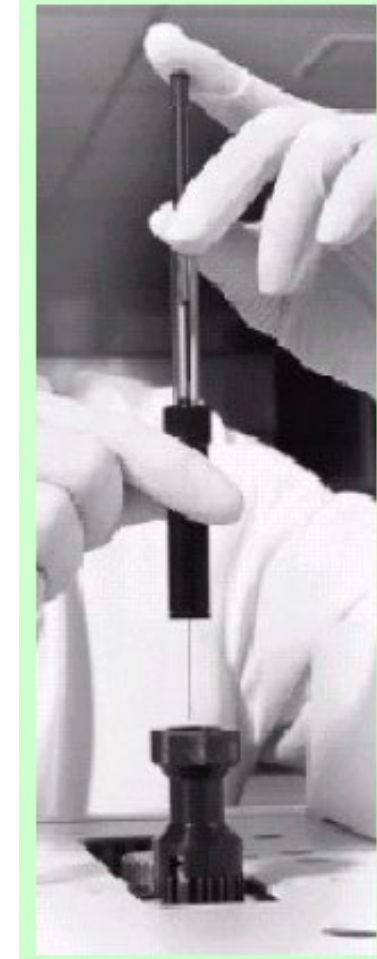
SPME (Microestrazione in fase solida)

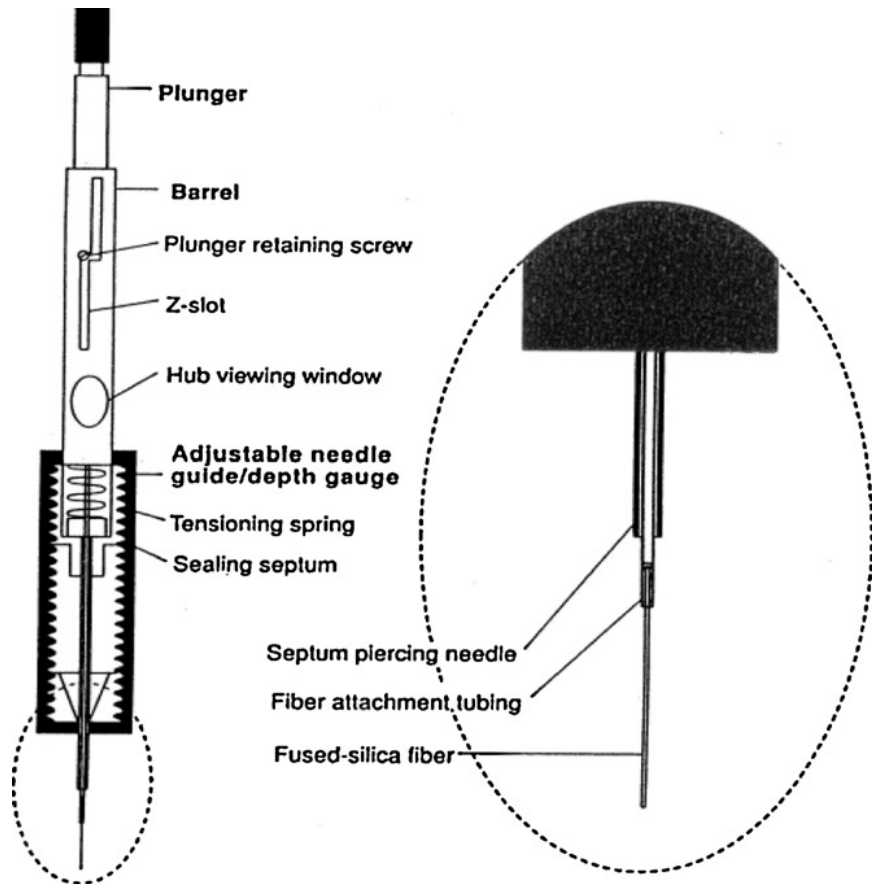
E' una tecnica che sfrutta il potere adsorbente di una fibra di silice fusa ricoperta da una fase stazionaria (polimero) appropriate.

E' una tecnica: economica, rapida, senza l'utilizzo di solventi (solvent-free), utile per l'estrazione di composti organici da soluzioni acquose o solidi a livelli inferiori del ppb (in trace).

La fibra è applicata all'estremità di un capillare che può scorrere all'interno dell'ago di una siringa, e lo scorrimento della fibra viene comandato da un opportuno dispositivo .

L'SPME per l'estrazione di analiti volatili può poi essere accoppiata sia ad un GC che ad un HPLC.



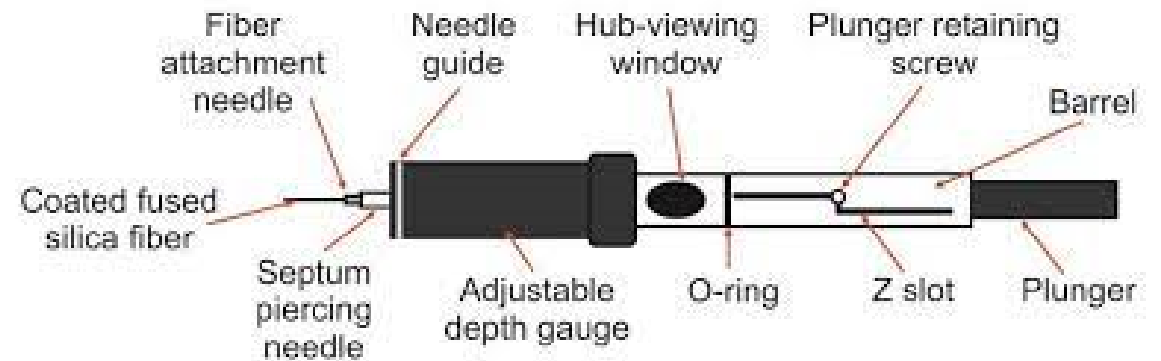


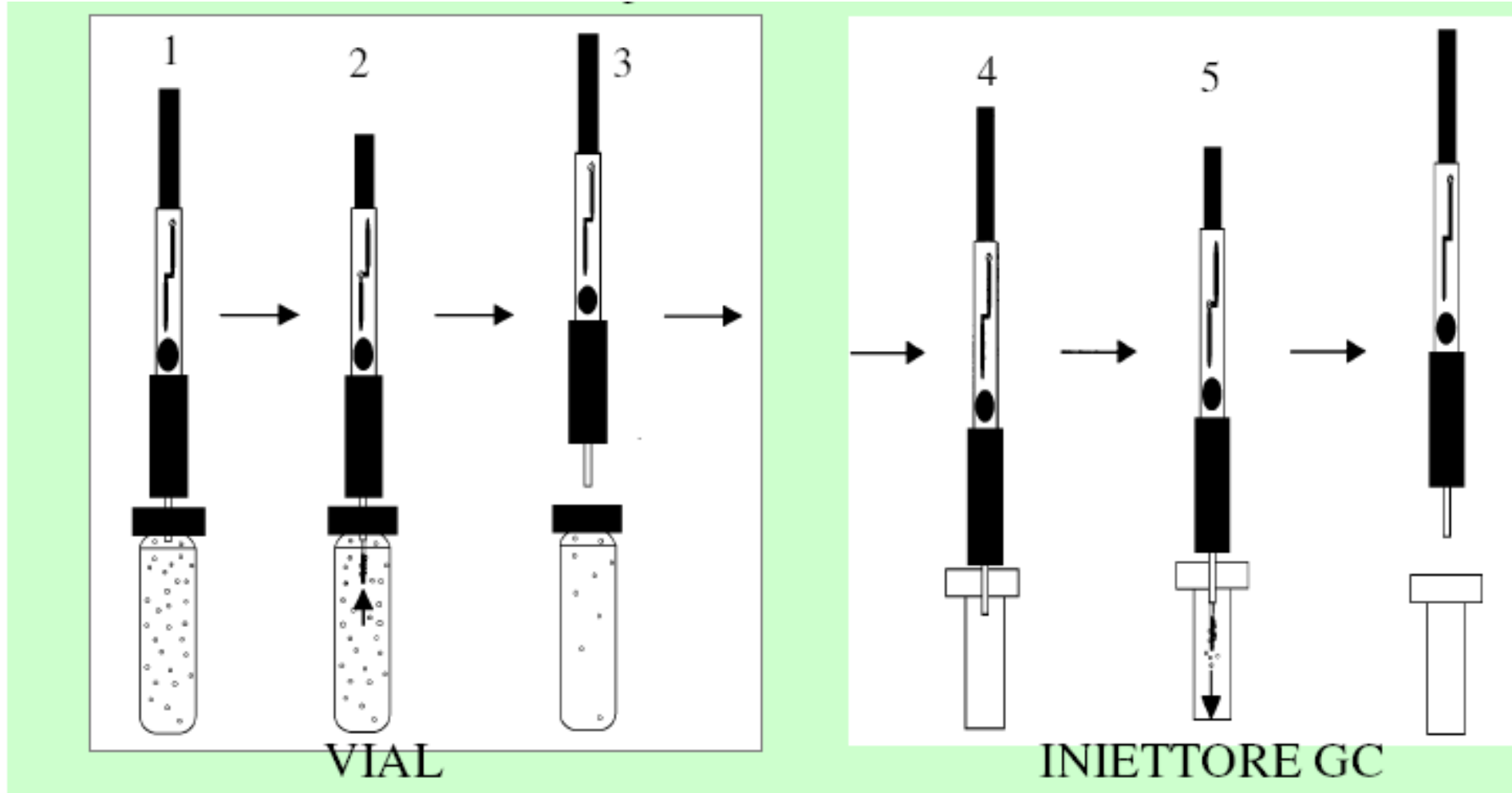
La fibra in silice fusa è contenuta all'interno di un ago che serve a forare il setto del contenitore porta campione

La fibra è fatta muovere nell'ago tramite un sistema di molle

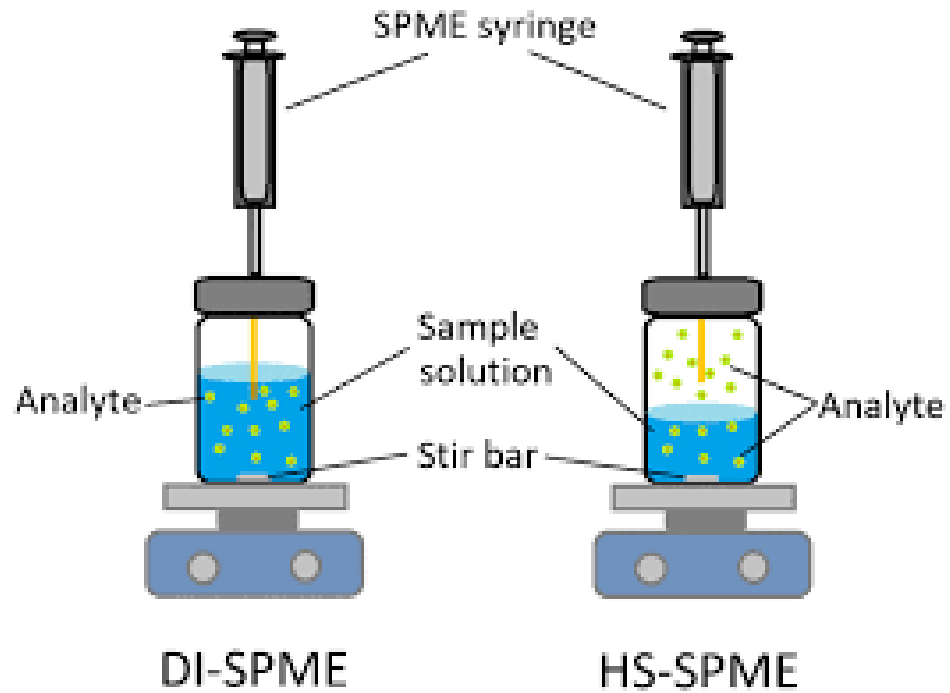
Nella porzione terminale della fibra è contenuto il materiale assorbente.

La fibra serve da supporto a tale materiale

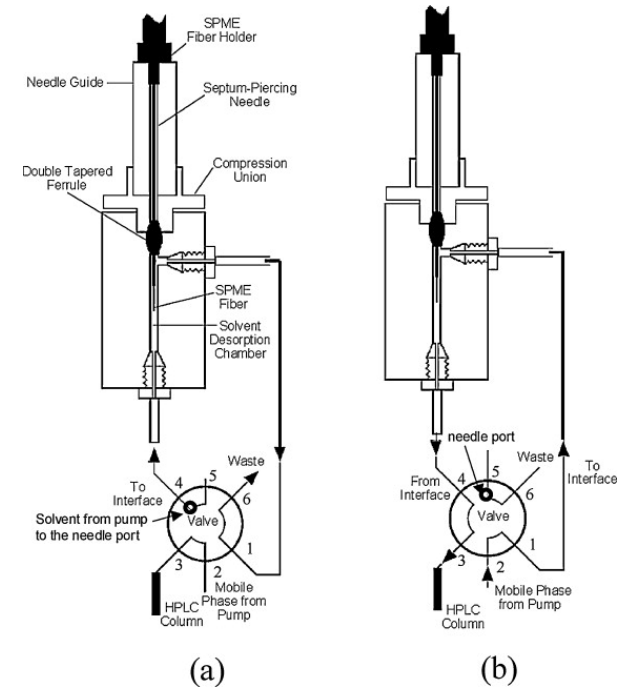
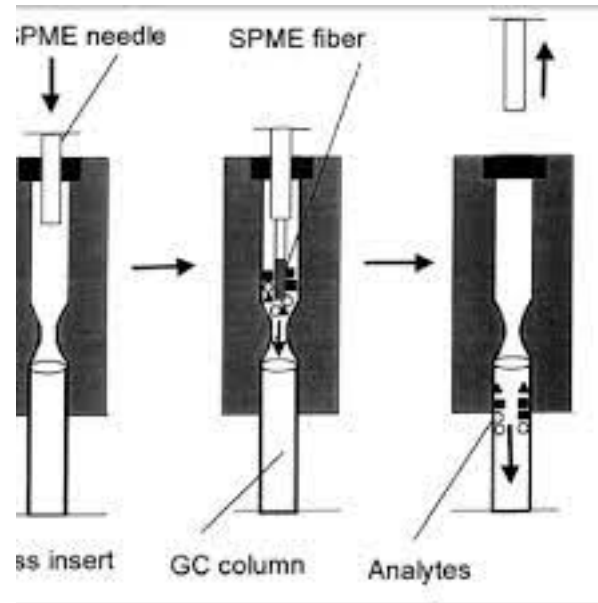




Assorbimento



Desorbimento



La fase di isolamento dei volatili da una matrice mediante SPME



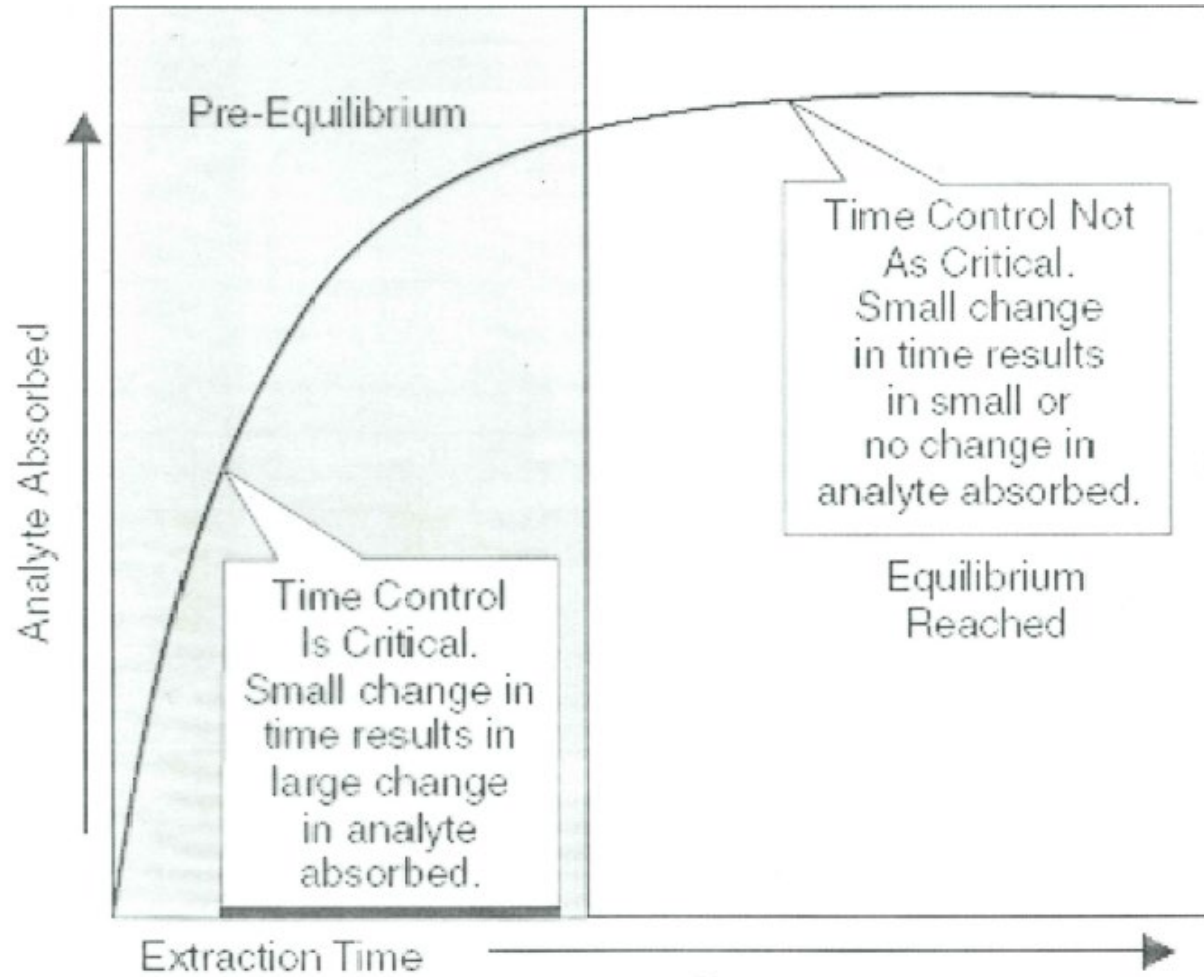
Spazio di testa statico:

Si introduce nello spazio di testa del campione, cioè immersa nella fase vapore sovrastante il campione, che è chiuso in un contenitore grazie ad un setto a tenuta nel quale l'ago del sistema può entrare. Possibilità di studiare campioni solidi, soluzioni, inoltre l'equilibrio di adsorbimento è più veloce



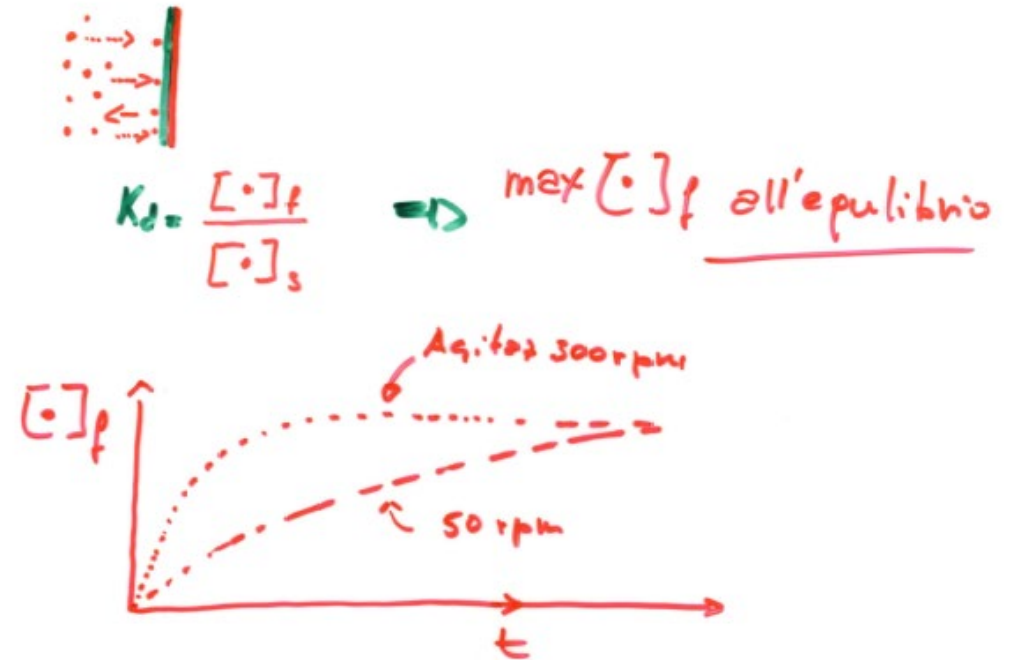
Per Immersione:

La fibra è completamente immersa nella matrice liquida; I tempi sono più lunghi dell'adsorbimento ed è utilizzabile per meno tipologie di campione



Ottimizzazione SPME

- Scelta delle modalità di estrazione
- Scelta della fase di rivestimento
- Ottimizzazione dell'estrazione
 - Tempo
 - Agitazione
 - pH
 - Temperatura
 - Sali
- Ottimizzazione del desorbimento



Tempo



Sali

L'uso dei sali favorisce l'estrazione per alcune tecniche SPME

Agitazione

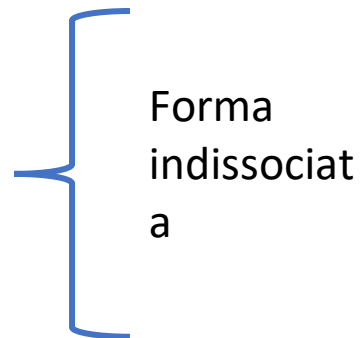
- Accelera il trasferimento di analita alla fibra
- Agitazioni troppo elevate portano ad una riduzione della riproducibilità

pH

Analiti acidi



Analiti basici



Temperatura

↑ Velocità di estrazione

↓ Kd



Tipi di fase stazionaria:

- Non-bounded → Solventi organici polari (EtOH, MeOH, ACN)
- Bounded → Solventi apolari
- Partially crosslinked → Solventi organici polari
- Highly crosslinked → Solventi organici polari

➔ **Principio: “il simile scioglie il simile”**

Polydimethylsiloxane (PDMS) ➔ apolare
- termodinamicamente stabile (circa 300°C)

Polycrylate (PA) ➔ mediamente polare

Divinylbenzene (DVB) + carboxen }
+ carbowax } Intermedi

↑ k_{th} ➔ ↑ eq. time, ↑ capacity, ↑ elos time.

Desorbimento

■ Termico

- spessore della fibra
- tempo nell'iniettore
- tempo di iniezione

■ Con solvente

- dinamico (per analiti poco trattenuti e fibre con spessore sottile)
- statico (per fibre con spessore maggiore)

Tipi di fibre SPME

Fasi	Diametro film(µm)	Tipo di film	Polarità	Volume fase(m³)
PDMS	7	Omogeneo	Apolare	26×10^{-12}
PDMS	30	Omogeneo	Apolare	132×10^{-12}
PDMS	100	Omogeneo	Apolare	612×10^{-12}
PDMS/DVB	65	Poroso	Polare	357×10^{-12}
Carboxen/ PDMS	75	Poroso	Polare	436×10^{-12}
Carbowax/ DVB	65	Omogeneo	Polare	357×10^{-12}
PA	85	Omogeneo	Polare	521×10^{-12}



Estrazioni convenzionali

- ❖ Estrazione liquido-liquido (LLE)
- ❖ Estrazione liquido-solido (dissoluzione)
- ❖ Estrazione liquido-solido continua (Soxhlet)
- ❖ Estrazione in fase solida (SPE)
- ❖ Microestrazione in fase solida (SPME)

Estrazioni non convenzionali

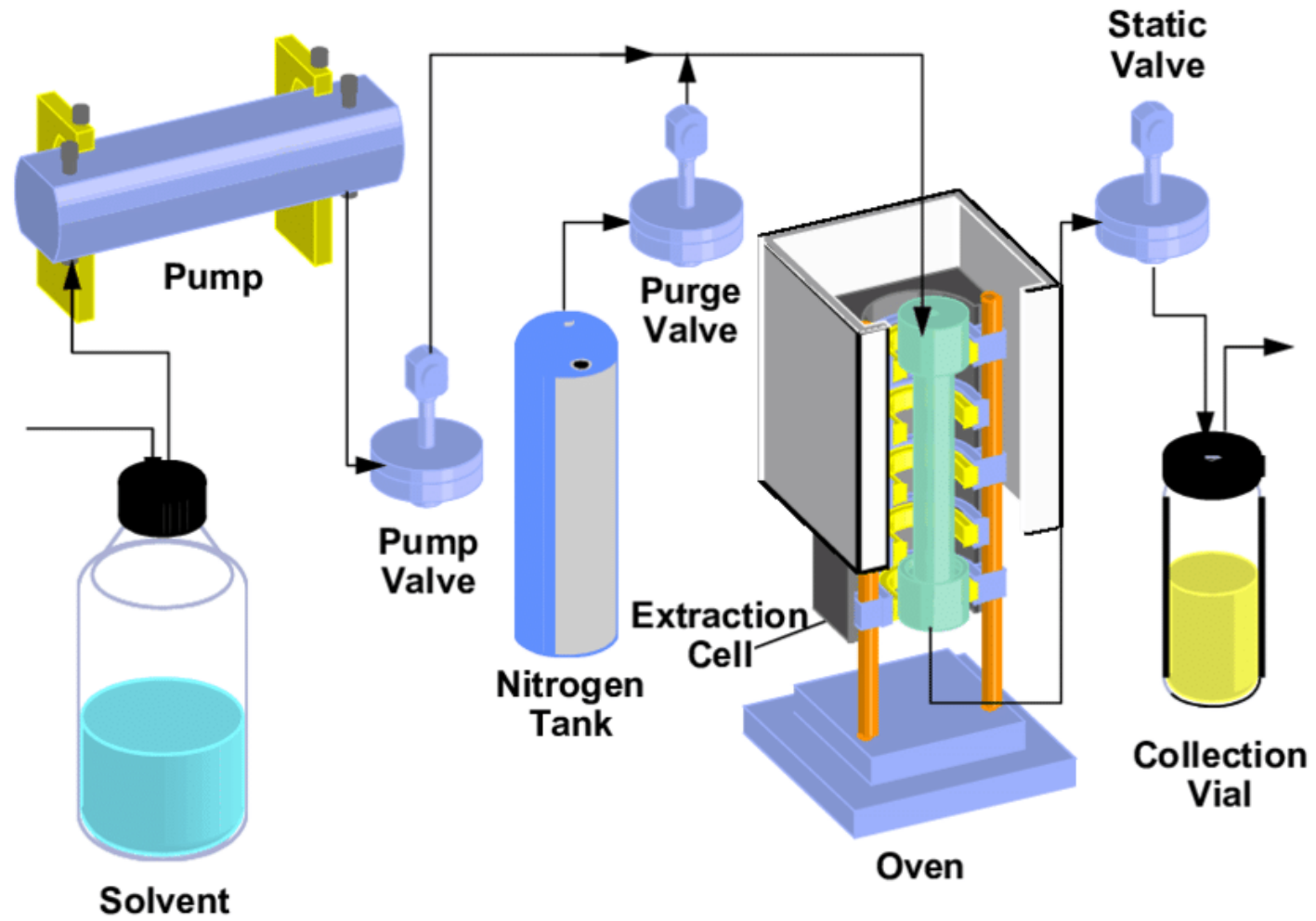
- ❖ Estrazione accelerata con solvente (ASE)
- ❖ Estrazione assistita da ultrasuoni (UAE)
- ❖ Micro estrazione liquido-liquido dispersiva (dLLME)
- ❖ Estrazione in fase solida miniaturizzata (μ SPE)
- ❖ Microestrazione tramite fase adsorbente (MEPS)
- ❖ Estrazione tramite solventi eutettici
- ❖ Polimeri ad imprinting molecolare

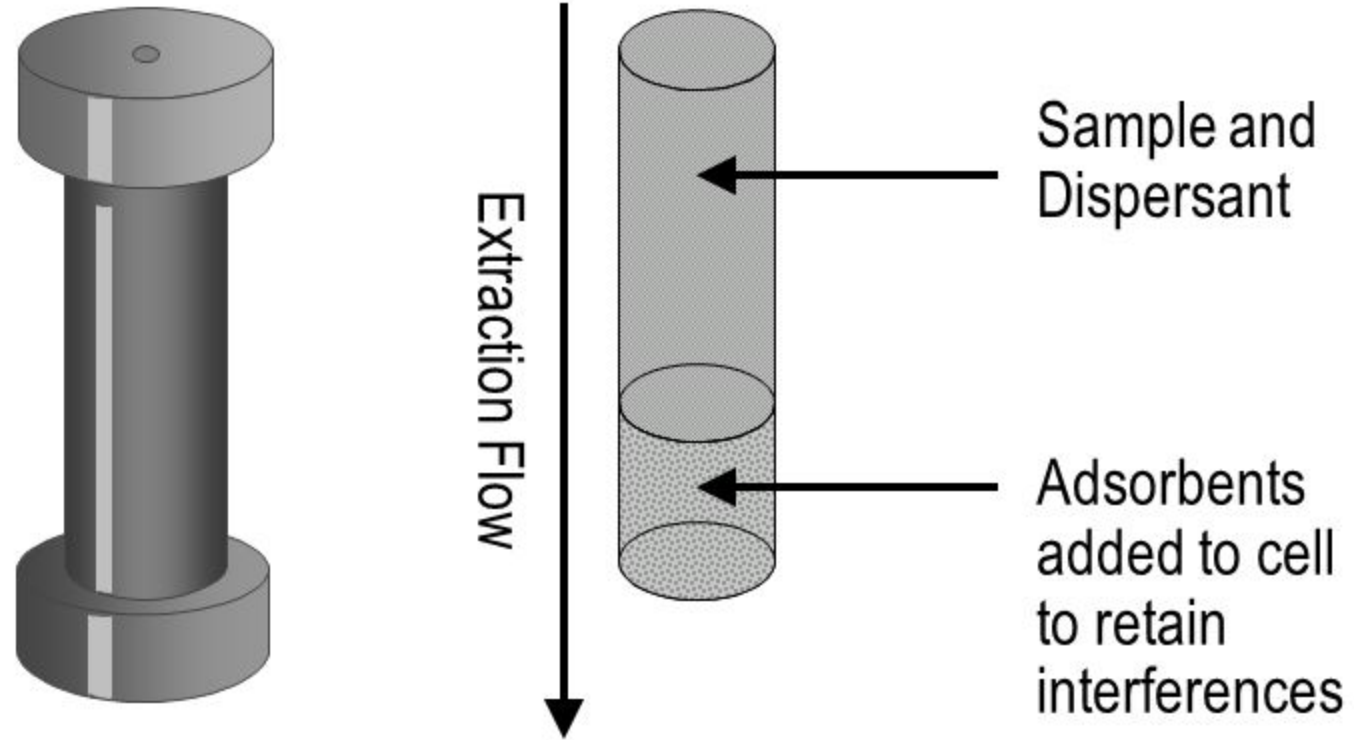
Estrazione accelerata con solvente (ASE)

L'estrazione con solvente tradizionale, pur garantendo ottime prestazioni, presenta alcuni inconvenienti tra cui i tempi lunghi di trattamento, le elevate quantità di solvente utilizzato e la scarsa adattabilità all'automazione. Per questo motivo, sono state sviluppate alcune varianti.

Nell'estrazione pressurizzata o accelerata con solvente (PSE o ASE) si utilizza un solvente in condizioni sub-critiche, nelle quali l'efficienza di estrazione è molto maggiore. Si lavora in recipiente chiuso, pressurizzato e termostatato. Ciò consente di ridurre i tempi di estrazione e la quantità di solvente necessaria; inoltre è possibile automatizzare il processo

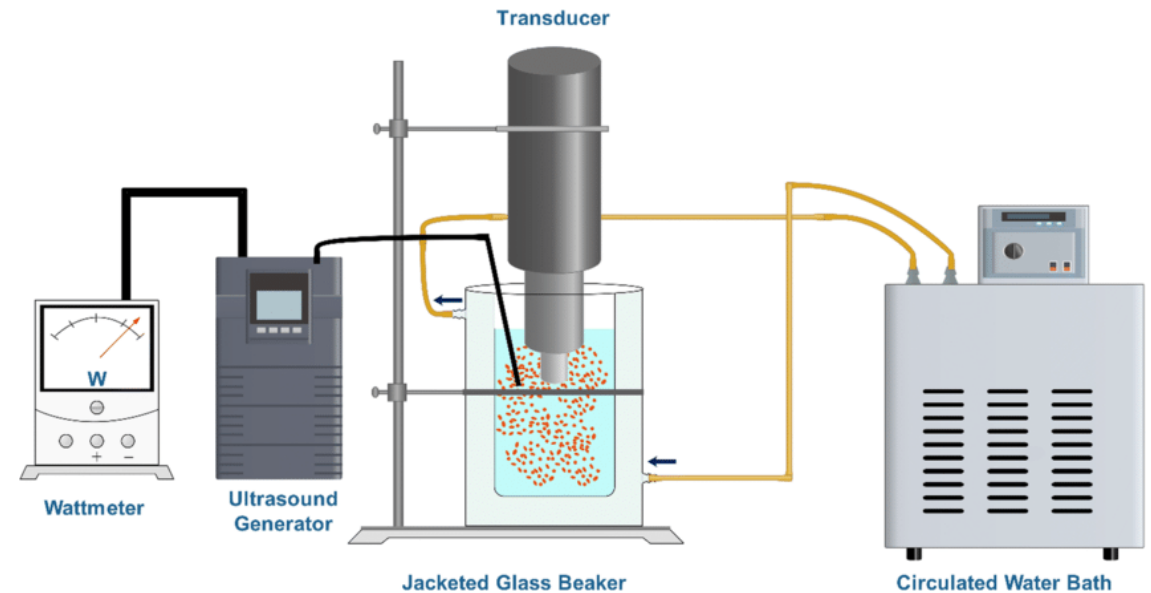




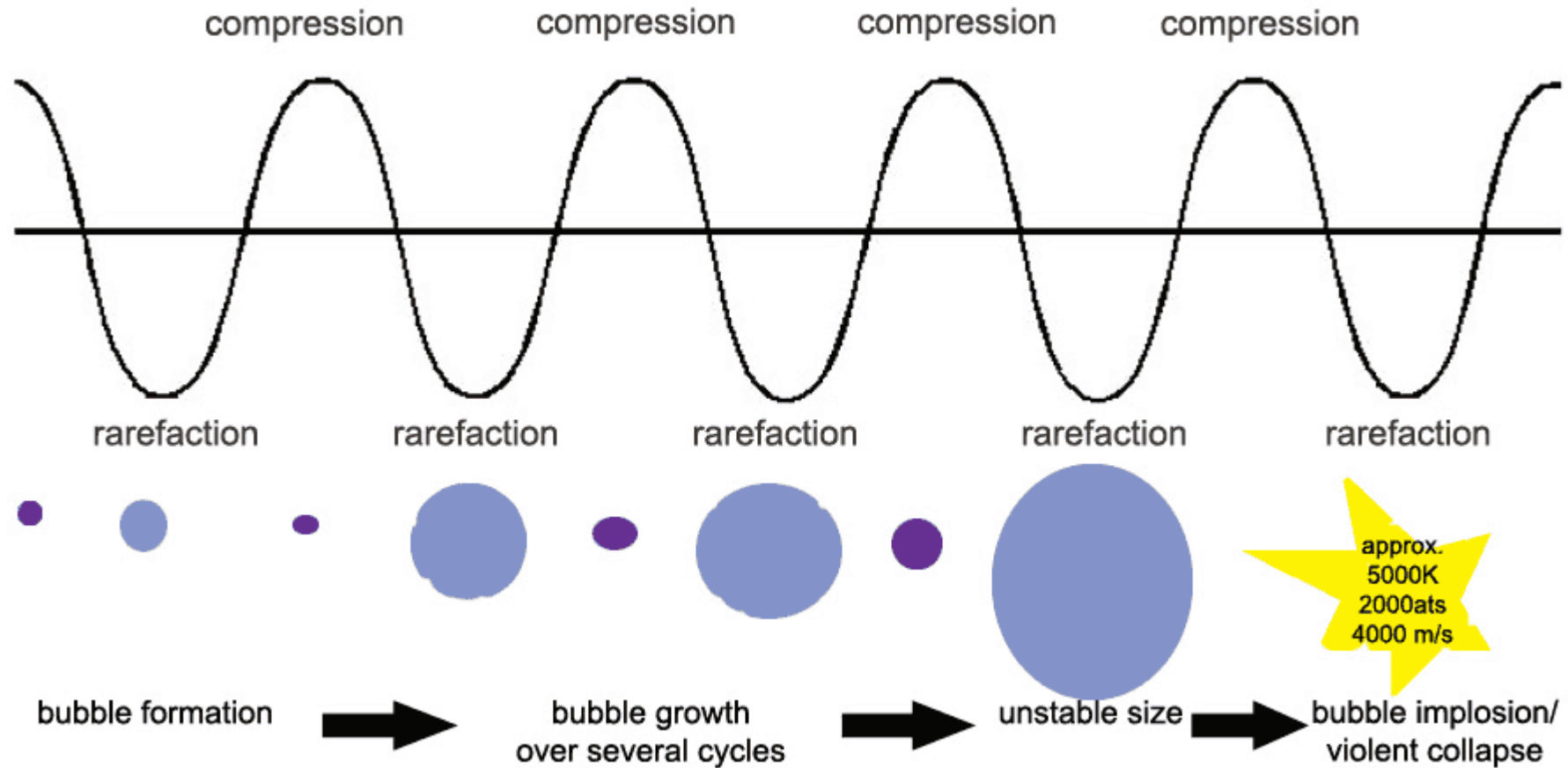


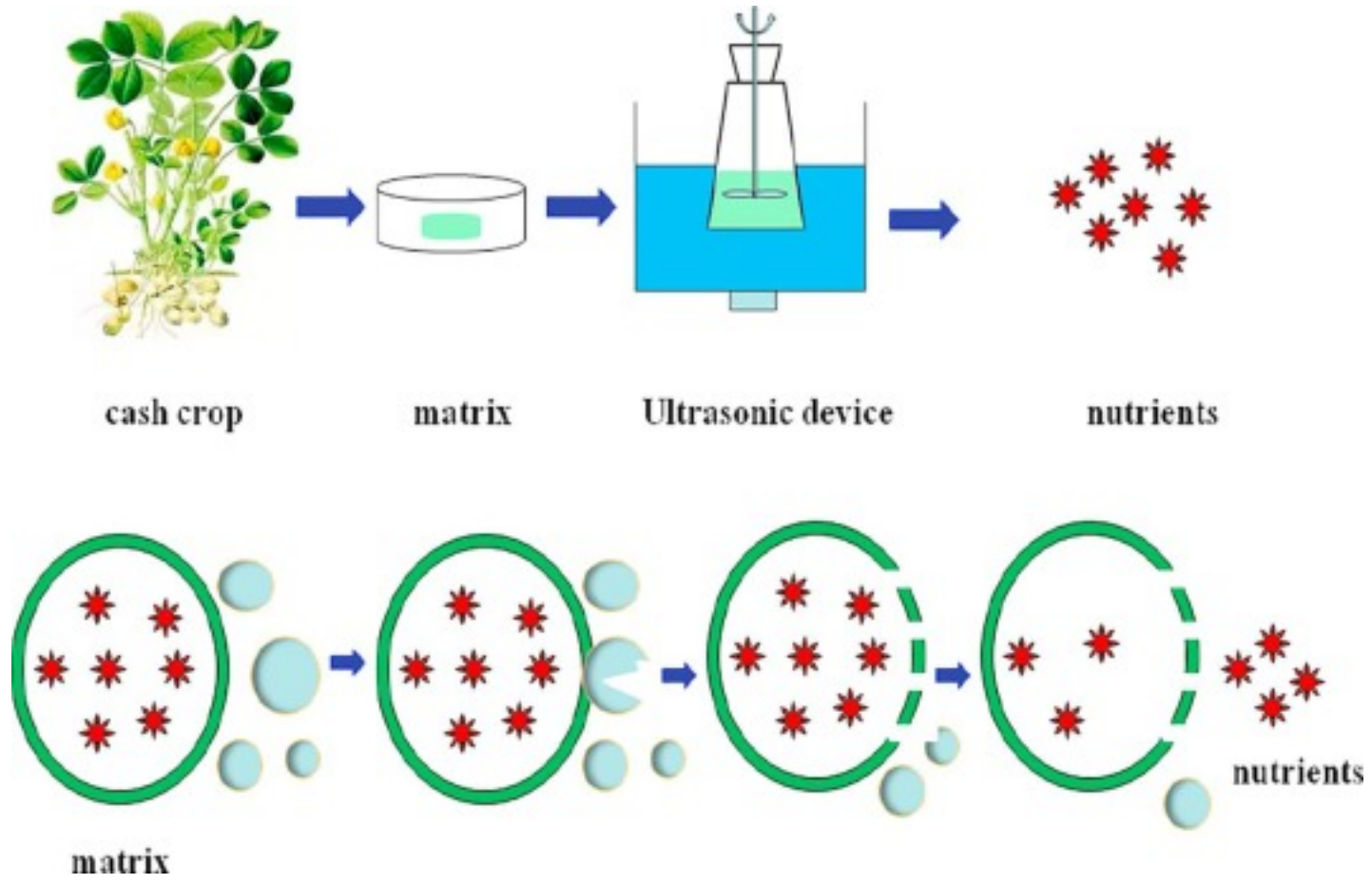
Estrazione assistita da ultrasuoni (UAE)

L'estrazione ad ultrasuoni è la tecnica preferita per isolare i composti bioattivi dalle piante. La sonicazione raggiunge un'estrazione completa e quindi rendimenti superiori estratto si ottengono in un tempo di estrazione molto breve. Essendo un metodo di estrazione così efficiente, l'estrazione ad ultrasuoni è un risparmio di costi e di tempo, mentre con conseguente estratti di alta qualità, che vengono utilizzati per gli alimenti, integratori e prodotti farmaceutici.



Ultrasonic Cavitation



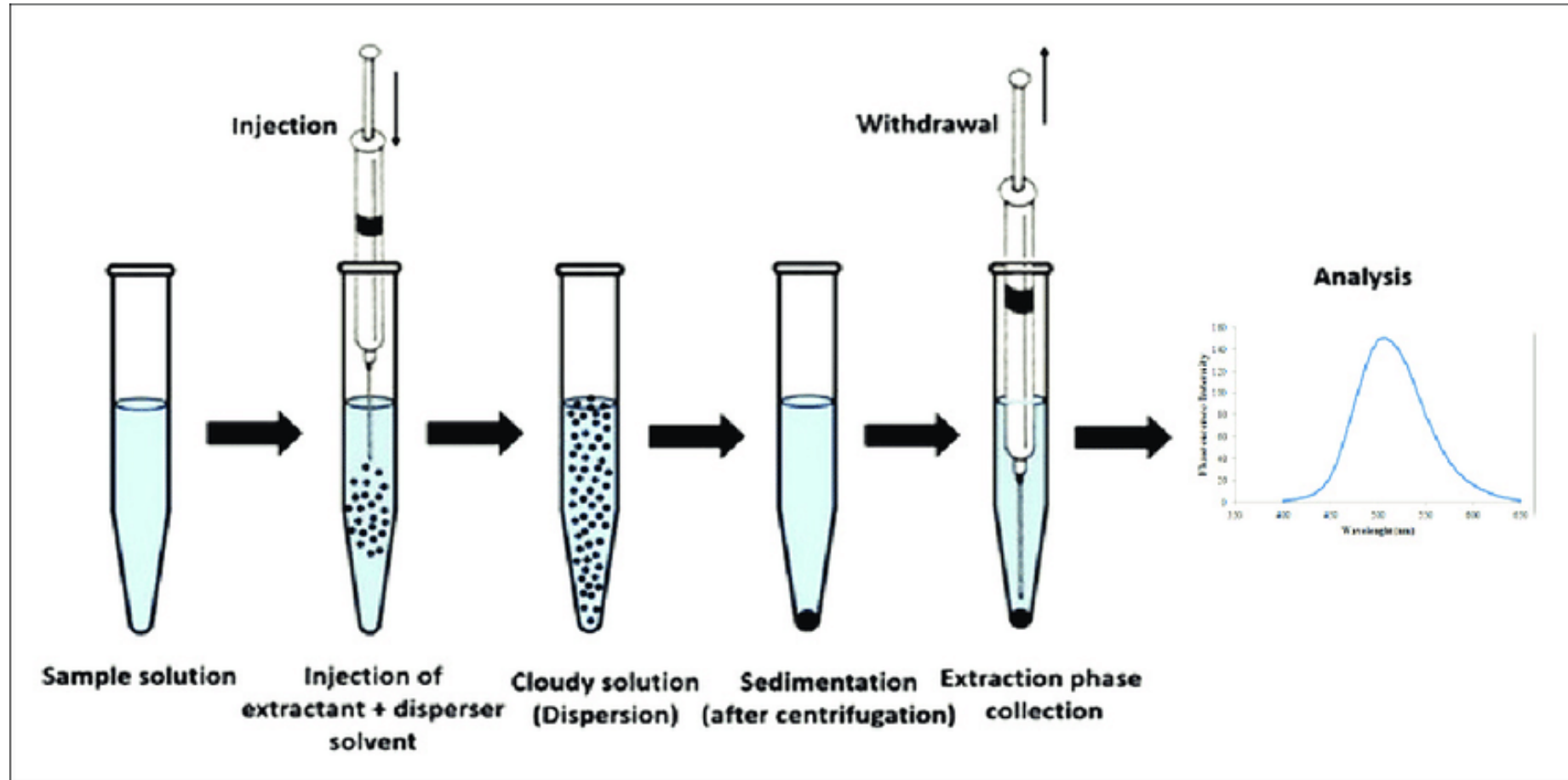


Micro estrazione liquido-liquido dispersive (dLLME)

La dispersive Liquid – Liquid Micro Extraction (dLLME) è una tecnica estrattiva liquido – liquido su scala micro presentata da Assadi nel 2006 per la determinazione di idrocarburi e pesticidi nell’acqua. Oggi la dLLME è stata adattata ad applicazioni molto diverse tra loro andando ad adattarne il protocollo per massimizzarne l’efficienza ed enfatizzarne il carattere green. Nonostante si tratti di una tecnica molto “giovane” è riuscita subito a catturare l’attenzione del mondo della ricerca grazie ai suoi indiscutibili vantaggi ed alla sua semplicità

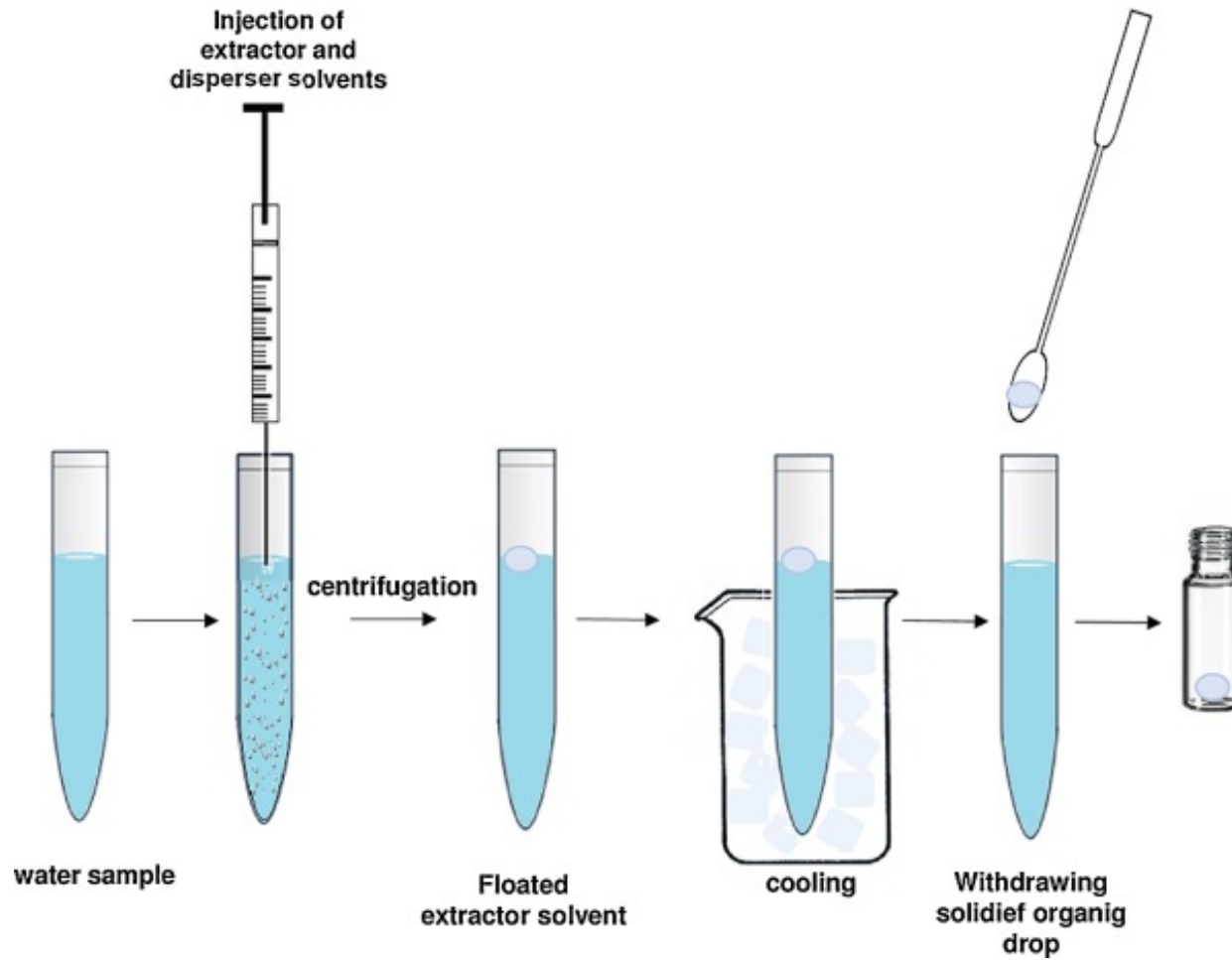
Nel mondo scientifico viene ritenuta una tecnica green in quanto, diversamente dalla LLE convenzionale, nella DLLME le quantità in uso di solvente, campione ed altro vengono minimizzate a valori inferiori.

La DLLME inoltre permette l’estrazione di più analiti con caratteristiche di polarità simili, unificando il recupero in un unico step. Il principio di estrazione DLLME, abbastanza simile a quello LLE, si basa sulla formazione di un sistema ternario composto dal campione acquoso in cui viene disciolto un sale ed a cui viene aggiunta una miscela di solventi organici definita fase estraente



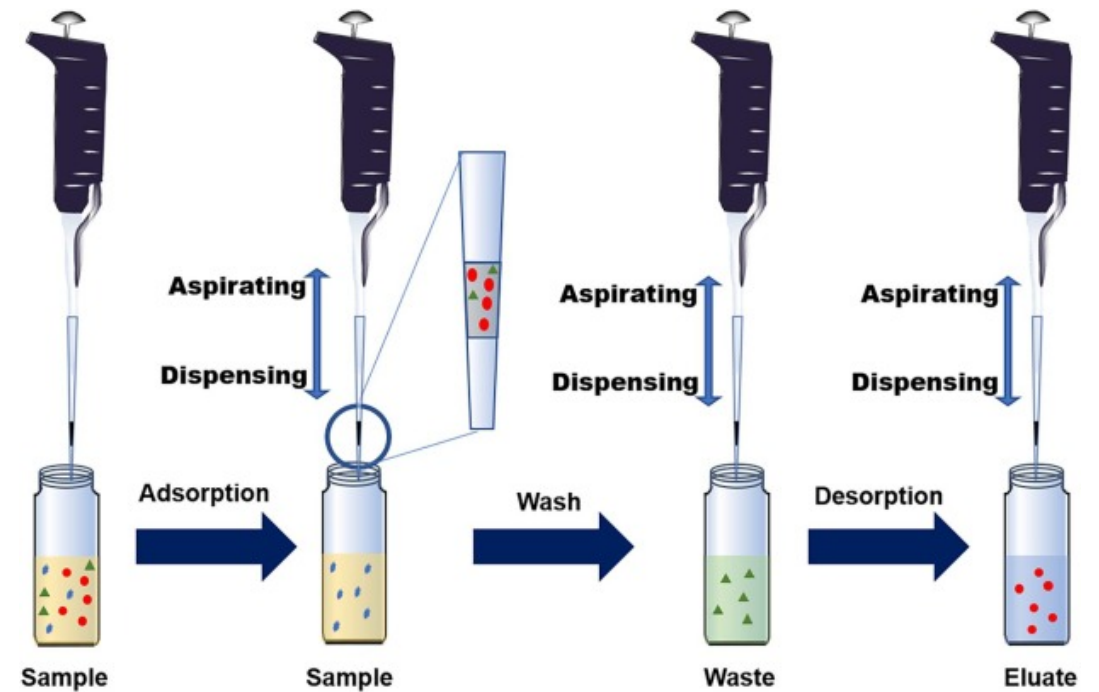
Come ottimizzare la dLLME

- ❖ Quantità di sale (meglio un sale inerte)
- ❖ pH della soluzione (meglio usare un tampone)
- ❖ Tipologia di disperdente (i.e. 2-propanolo, metanolo, acetonitrile, acetone)
- ❖ Tipologia di fase estraente (cloroformio, diclorometano, esano)



Estrazione in fase solida miniaturizzata (μ SPE)

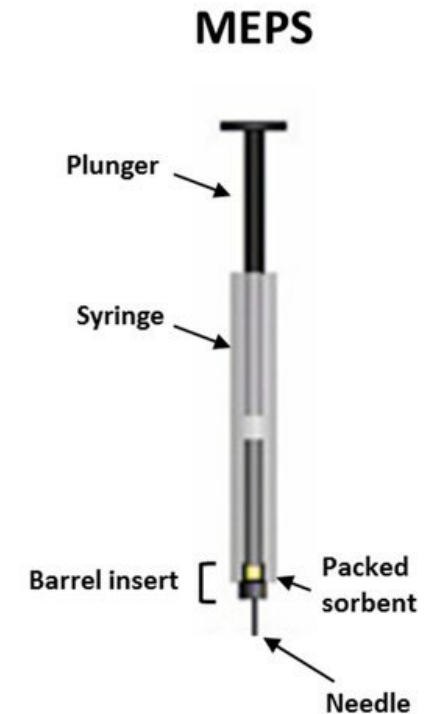
- ❖ Utilizzo di micro volumi (da 200 a 10 μ L)
- ❖ Nessun dispositivo accessorio dispendioso
- ❖ Compatibile con analisi che richiedono pochi volumi (pozzetti di kit ELISA)



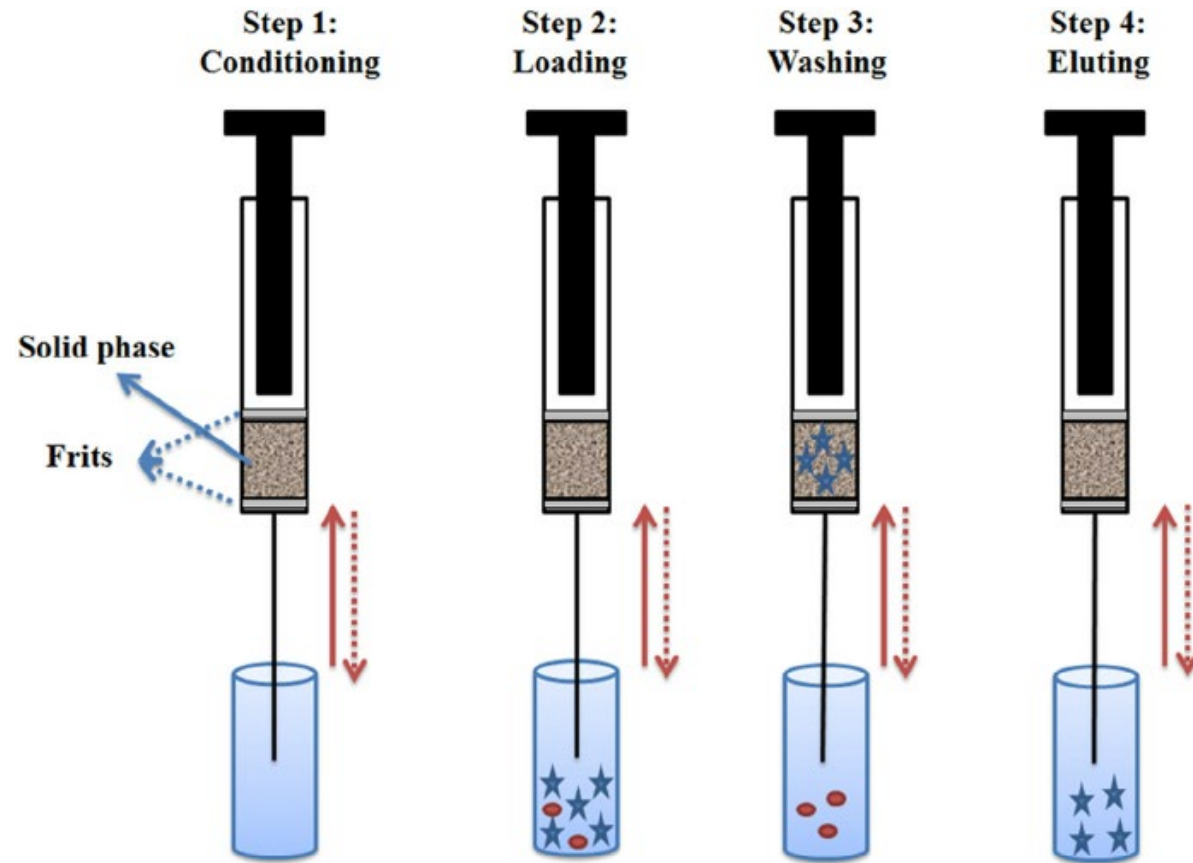
Microestrazione tramite fase adsorbente (MEPS)

La tecnica MEPS costituisce una variante moderna e potenziata della tradizionale SPE. Il suo principale vantaggio è quello di impiegare piccoli volumi operativi (da 10 μL a 250 μL). Rispetto alla classica SPE, nella MEPS l'assorbente è integrato direttamente in una siringa che può essere interfacciata ad un sistema automatizzato.

Nella MEPS il materiale adsorbente (1-4 mg) è inserito direttamente nel cilindro della siringa (100-250 μL) oppure tra il cilindro e l'ago come una cartuccia. Questa cartuccia può essere impaccata o rivestita per garantire adeguate condizioni di estrazione, a seconda degli analiti da determinare. Come adsorbente si può impiegare una vasta gamma di materiali, alcuni dei quali già comuni nella SPE. Ad esempio si hanno materiali a base di silice (C2, C8 e C18), scambiatori di cationi (SCX), copolimeri polistirene-divinilbenzene (PS-DVB) o altri polimeri.



- ❖ Il campione è eluito completamente usando piccoli volumi di solvente (10 μ L), consentendo un interfacciamento semplificato con le valvole di gas cromatografia o cromatografia liquida. Addirittura si può impiegare la MEPS per introdurre gli analiti direttamente in colonna GC. Il consumo di limitate quantità di reagente rende la tecnica più economica e più ecologica di altre.
- ❖ La quantità di campione richiesta è 10-100 volte inferiore rispetto a quella necessaria per SPE.
- ❖ Tempi di estrazione inferiori a 5 minuti.
- ❖ La cartuccia può essere riutilizzata 5-10 volte, quando si studiano matrici complesse (es. sangue e urina).
- ❖ La tecnica è semplice e user-friendly, soprattutto se collegata ad un autocampionatore.



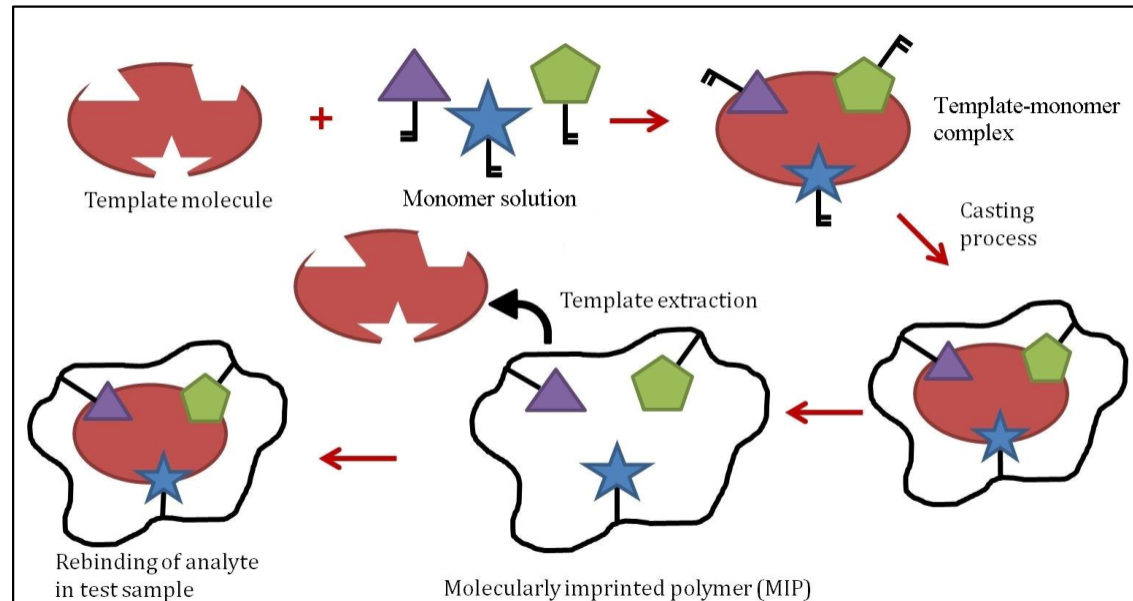
Estrazione tramite solventi eutettici

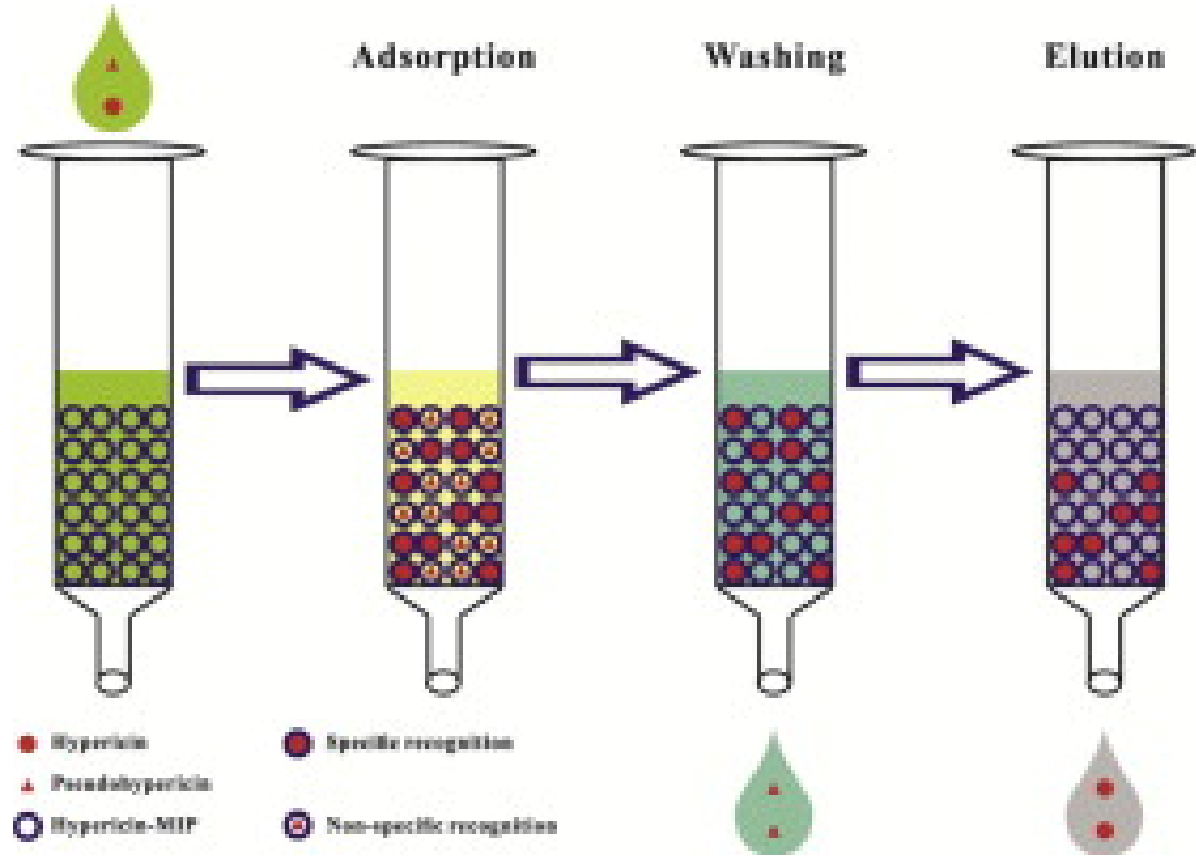
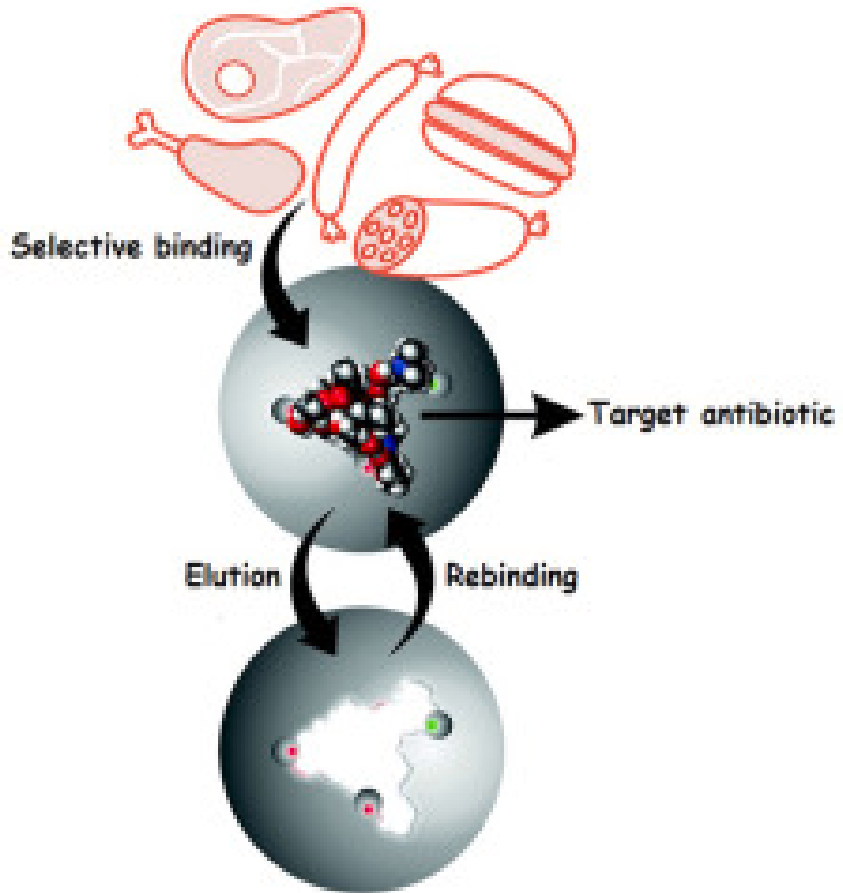
I solventi eutettici profondi (chiamati anche DES, acronimo dall'inglese) sono solventi composti da due o più componenti, almeno un donatore e un accettore di legame idrogeno, che interagiscono tra loro autoassociandosi formando una miscela eutettica con una temperatura di fusione molto inferiore a quella dei suoi componenti. Si accetta che l'auto-associazione avvenga attraverso interazioni di legame idrogeno, dove si presume che possano svolgere un ruolo anche le forze di Van der Waals. I DES sono anche chiamati miscele a bassa temperatura di transizione (LTTM).



Polimeri ad imprinting molecolare

Lo stampo molecolare è un processo di polimerizzazione in cui monomeri specifici (scelti in base ai loro gruppi funzionali) vengono fatti auto assemblare intorno ad una molecola stampo in presenza di crosslinker. Successivamente la molecola stampo viene rimossa dal polimero prodotto, si formano così cavità complementari in forma e funzionalizzazione (alla molecola stampo) che successivamente legheranno composti omologhi o strutturalmente simili alla molecola stampo.





B

