

Sensori elettrochimici ed elettrodi ad enzima

1. Descrivere un elettrodo ad ossigeno di Clark
2. Descrivere elettrodi a base grafite e realizzazione di elettrodi screen-printed
3. Differenze tra misure voltammetriche ed amperometriche
4. Metodologie di immobilizzazione enzimatica
5. Elettrodi ad enzima di prima generazione
6. Descrivere un elettrodo a glucosio di seconda generazione
7. Meccanismo degli elettrodi di terza generazione
8. Descrivere un elettrodo per la misura di acqua ossigenata realizzato con Prussian Blue
9. Ruolo dei nanomateriali nei sensori e biosensori elettrochimici
10. Descrizione della tecnica della microdialisi per la misura del glucosio
11. esempio di biosensore a glucosio wearable
12. Descrivere quali sono i markers primari di stress ossidativo cellulare
13. Vantaggi e svantaggi dell'uso della carta per sensori e biosensori elettrochimici.
14. Descrivere un sensore elettrochimico su carta

Nanoparticelle metalliche e sensori ottici

1. Descrivere le differenze tra strategie analitiche basate su SPR ed LSPR. Descrivere la tipologia di segnale ottenuto da entrambe le tecniche.
2. Descrivere il meccanismo di assorbimento di radiazione UV-VIS da parte delle nanoparticelle metalliche.
3. Descrivere come il fenomeno ottico della LSPR viene interpretata a livello colorimetrico.
4. Descrivere la strategia analitica basata sulla formazione di nanoparticelle metalliche e fare un esempio.
5. Descrivere la strategia analitica basata su "seed-growth" di nanoparticelle metalliche e fare un esempio.
6. Descrivere la strategia analitica basata su "etching" di nanoparticelle metalliche e fare un esempio.
7. Descrivere almeno due delle strategie analitiche basate sulla aggregazione di nanoparticelle metalliche e fare un esempio.
8. Perché la colorimetria ha influenzato l'integrazione di nanoparticelle metalliche su supporti solidi per lo sviluppo di metodi analitici e perché la carta è utilizzata come substrato per lo sviluppo di dispositivi analitici.

Immunodosaggi, immunosensori e lateral flow

1. Principio e curva di calibrazione di un dosaggio ELISA Sandwich
2. Principio e curva di calibrazione di un dosaggio ELISA competitivo
3. Differenze tra dosaggi ELISA spettrofotometrici e chemiluminometrici
4. Enzimi utilizzati nei dosaggi ELISA
5. Paragonare l'uso di anticorpi policlonali monoclonali e ricombinanti negli immunodosaggi
6. Fare un esempio di ELISA Sandwich
7. Fare un esempio di ELISA competitivo (anche amperometrico)

8. Descrivere principio e caratteristiche analitiche di un immunosensore ottico basato su Surface plasmon resonance
9. Descrivere principio e caratteristiche analitiche di un immunosensore piezoelettrico
10. Descrivere principio di un immunobiosensore basato su Field effect transistor
11. Quali sono i costituenti principali di un tipico lateral flow assay e che funzioni svolgono?
12. Quali strategie si possono mettere in pratica per migliorare le prestazioni analitiche dei LFIA?
13. Volendo determinare la presenza di più analiti con un solo dispositivo LFIA, quali strategie posso adottare?
14. Quali sono i principali vantaggi e svantaggi di effettuare analisi mediante la tecnica LFIA?
15. Nello sviluppo di un test LFIA posso sempre utilizzare i medesimi bioreagenti (anticorpi) già impiegati in un altro test immunochimico?

DNA e recettori biomimetici

1. Descrivere le possibilità di immobilizzazione di DNA su superfici d'oro e di grafite
2. Descrivere in quale modo posso determinare elettrochimicamente l'ibridazione di DNA
3. Uso e funzione dei sistemi avidina-biotina negli immunodosaggi e nei sensori
4. Descrivere la biopsia liquida e le principali caratteristiche dei biomarcatori ad acidi nucleici circolanti.
5. Principi e vantaggi della microfluidica per la determinazione di composti di interesse biomedico.
6. Microfluidica e sensori plasmonici: rivelazione ultrasensibile di sequenze di DNA con mutazioni puntiformi come biomarcatori circolanti tumorali. Esempi di sensore ottico per la determinazione ultrasensibile di marcatori tumorali
7. Esempio di recettore biomimetico basato su peptidi
8. Definire un aptamero e in cosa consiste la SELEX
9. Esempi di utilizzo di aptameri nell'ambito dei metodi di screening
10. Descrivere come si ottiene un polimero a stampo molecolare e come si utilizza in chimica analitica
11. Riportare un esempio di polimero a stampo molecolare per la realizzazione di biosensori biomimetici

Tecniche di microestrazione

- 1) Descrivere una Tecnica di estrazione miniaturizzata e descrivere le caratteristiche
- 2) Definire le tecniche di microestrazione in funzione di "clean-up" e "enrichment" del campione

Cromatografia liquida e spettrometria di massa

1. A cosa serve l'equazione di Van Deemter?
2. Cosa si intende per analisi targeted in LC-MS/MS?
3. Cosa si intende per analisi semi-untargeted?
4. Vantaggi dell'UHPLC rispetto all'HPLC?
5. Modalità di acquisizione del triplo quadrupolo?
6. Descrivere una sorgente ESI
7. Descrivere una sorgente APCI?
8. Cosa è la spettrometria di massa a bassa risoluzione?
9. Cosa è la spettrometria di massa ad alta risoluzione?
10. Descrivere la validazione di un metodo LC-MS/MS
11. Quali sono i componenti di uno spettrometro di massa?
12. Cosa è la spettrometria di massa tandem (MS/MS)?
13. Qual è la differenza tra potere risolutivo e risoluzione in MS?

14. Cosa è l'accuratezza di massa?
15. Come funziona un Orbitrap?
16. Come funziona un TOF?
17. A cosa servono il reflectron e la delayed extraction?

Droghe d'abuso

1. Descrivi e confronta le principali tecniche di preparazione del campione utilizzate in tossicologia analitica (precipitazione proteica, SPE e dLLME).
2. Descrivi le motivazioni della selezione delle tecniche di preparazione del campione e quali sono i principali criteri di ottimizzazione (solvente, pH, forza ionica)
3. Quali sono le differenze fondamentali tra l'utilizzo del GC-MS e dell'HPLC-MS/MS per la conferma analitica di sostanze psicoattive?
4. Definire i criteri di identificazione di GC-MS e LC-MS-MS (tempo di ritenzione, spettro di massa, frammenti, rapporto tra transizioni) e le ragioni per cui l'HPLC è generalmente preferita per molecole polari e termolabili.
5. Confronta le modalità di acquisizione Full Scan, Selected Ion Monitoring (SIM) e Multiple Reaction Monitoring (MRM) in spettrometria di massa. Come cambiano sensibilità, selettività e applicabilità in funzione degli obiettivi analitici (screening untargeted vs. quantificazione targeted)?
6. Spiega il concetto di massa accurata e delta di massa nell'analisi HPLC-HRMS. Perché l'alta risoluzione è particolarmente vantaggiosa nell'analisi di NPS? In che modo il Data-Dependent Acquisition (FS-ddA) consente di combinare informazioni di identificazione strutturale e quantificazione in un'unica corsa cromatografica?
7. Nel protocollo per l'analisi delle urine viene eseguita un'idrolisi enzimatica con beta-glucuronidasi prima della fase di clean-up. Perché è necessario questo passaggio?
8. Le tendenze più recenti nella preparazione del campione puntano alla miniaturizzazione (MEPS, SPME, monolith spin extraction, dLLME). Quali sono i vantaggi pratici e analitici di queste tecniche rispetto alla SPE classica in termini di volume di solvente, tempo di analisi e recupero degli analiti?
9. Illustra le quattro strategie analitiche (targeted, semi-targeted, suspect screening, untargeted) applicabili con HPLC-HRMS/MS. In quale fase dell'indagine tossicologica è più indicato ciascun approccio e quali sono le implicazioni in termini di elaborazione dati e uso di banche dati o inclusion lists?
10. Nel caso reale presentato (sequestro del derivato del fentanyl), l'identificazione completa della struttura molecolare ha richiesto l'integrazione di tecniche spettroscopiche diverse (IR, GC-MS, HPLC-HRMS/MS, NMR mono e bidimensionale). Discuti perché nessuna singola tecnica è risultata sufficiente da sola e quale contributo specifico ha dato ciascuna nella caratterizzazione strutturale della sostanza ignota.

Esercitazioni

Sulfonamidi e Ossisteroli

- 1) Confronta le differenze principali tra l'uso di cartucce SPE C18 e SPE MIP. Quali vantaggi offre la tecnologia MIP?
- 2) C'è una differenza nell'esecuzione degli step nello svolgimento di un clean up con MIP-SPE e una SPE classica con C18?

- 3) Perché si attribuisce al polimero a stampo molecolare il termine di “economico”?
- 4) In base all’esercitazione svolta, quali sono i vantaggi dell’utilizzo dell’HPLC-UV rispetto al solo saggio colorimetrico?
- 5) Qual è la funzione degli standard interni e perché vengono aggiunti all’inizio della procedura?
- 6) Descrivi il principio della μ SPE e il suo ruolo nella purificazione degli ossisteroli.
- 7) Perché è fondamentale usare uno standard interno a concentrazione fissa in ogni punto della retta di taratura?
- 8) Quali vantaggi offre la tecnica APCI nell’analisi degli ossisteroli rispetto ad altre tecniche di ionizzazione?

Attività antiossidante e Dopamina/serotonina

- 1) Descrivere l’attività antiossidante
- 2) Descrivere la strategia analitica impiegata per la determinazione colorimetrica di composti antiossidanti
- 3) Descrivere i vantaggi ed i limiti della determinazione colorimetrica di composti antiossidanti
- 4) Descrivere il motivo per il quale è stata impiegata una strategia colorimetrica
- 5) Descrivere la differenza tra tecniche voltammetriche ed amperometriche
- 6) Descrivere la voltammetria differenziale ad impulsi o la voltammetria ciclica
- 7) Descrivere la strategia analitica impiegata per la determinazione elettrochimica di dopamina e serotonina e perché è stata impiegata la voltammetria differenziale ad impulsi.
- 8) Descrivere perché con la voltammetria differenziale ad impulsi si ha una maggiore sensibilità rispetto alle altre strategie elettrochimiche.