



# LCxLC NELLA CHIMICA DEGLI ALIMENTI

**La cromatografia liquida multidimensionale (MD-LC) rappresenta uno strumento avanzato per lo studio delle matrici alimentari complesse, grazie alla possibilità di combinare separazioni complementari e aumentare significativamente parametri come risoluzione, selettività e capacità di identificazione. Questo approccio consente di ottenere profili chimici più dettagliati, affidabili e informativi.**

Le nuove sfide nel campo alimentare e la necessità di monitorarne qualità, autenticità e sicurezza hanno spinto la comunità scientifica all'impiego di tecniche analitiche sempre più avanzate. Tra queste, la cromatografia liquida multidimensionale, in particolare nella modalità “comprehensive” (LCxLC) rappresenta oggi una delle soluzioni più complete e versatili [1]. Grazie alla possibilità di combinare metodi di separazione complementari, la tecnica consente di aumentare in modo significativo la capacità separativa, migliorando selettività e risoluzione rispetto alle convenzionali analisi monodimensionali. Ciò risulta particolarmente utile nelle matrici complesse di origine alimentare, spesso caratterizzate da migliaia di metaboliti con proprietà chimico-fisiche simili.

In LCxLC, l'intero eluato dalla prima dimensione (<sup>1</sup>D) cromatografica viene trasferito, mediante un'interfaccia di modulazione costituita da una o più valvole multiporte, ad una seconda dimensione (<sup>2</sup>D) dotata di meccanismi di separazione differenti [2].

La potenzialità della LCxLC risiede nell'incremento della risoluzione cromatografica, grazie alla distribuzione dei composti su di uno spazio bi-dimensionale, permettendo di ridurre le co-eluzioni e, nel caso in cui la tecnica è accoppiata alla spettrometria di massa (MS), fenomeni di soppressione ionica.

Numerosi studi hanno dimostrato come l'applicazione di questa tecnica permetta di ottenere una caratterizzazione molto più completa di composti fenolici presenti in frutta, vino, ed estratti vegetali, facilitando l'identificazione di costituenti minoritari che molto spesso sfuggono con le tecniche convenzionali. Nel caso dei pistacchi, ad esempio, l'approccio LCxLC

ha permesso di ottenere mappe bi-dimensionaliali altamente informative, utili a distinguere *cultivar* e origini geografiche diverse, nonché per valutare marker di autenticità (Fig. 1) [3].

Oltre ai composti fenolici, la LCxLC ha trovato applicazioni rilevanti anche nello studio delle classi lipidiche. In particolare, l'accoppiamento LCxLC-MS/MS ha permesso di espandere il numero di specie lipidiche rilevabili in oli vegetali, frutta secca, semi oleaginosi e prodotti ittici, contribuendo alla valutazione nutrizionale e alla tracciabilità delle filiere agroalimentari. La maggiore risoluzione ottenuta ha consentito la “clusterizzazione” dei lipidi sia per classe che per specie [4].

Un'altra applicazione dove la tecnica si è dimostrata altrettanto cruciale è quella relativa alla caratterizzazione di peptidi bioattivi derivati da prodotti alimentari, dove la presenza di numerosi composti isobarici e

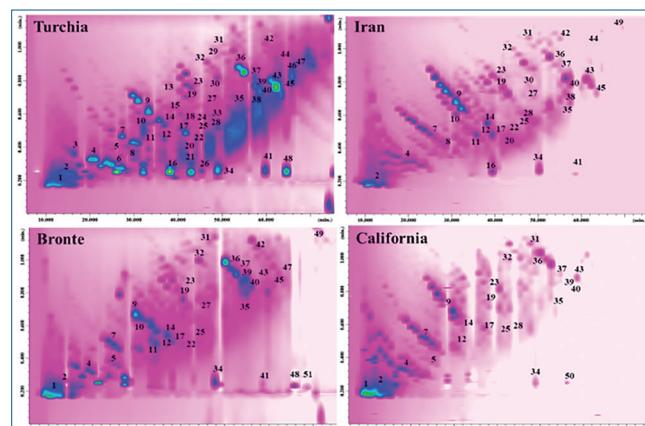
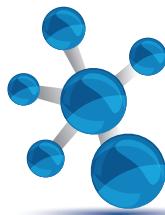


Fig. 1 - Mappe bi-dimensionali di campioni di pistacchio di diversa provenienza geografica



isomerici rende complessa la separazione in LC monodimensionale. L'integrazione con la spettrometria di massa ad alta risoluzione (HRMS) ha ulteriormente potenziato le capacità analitiche, rendendo la LCxLC uno strumento chiave nei moderni *workflow* di proteomica e peptidomica alimentare [5].

L'adozione crescente di software dedicati per la visualizzazione dei cromatogrammi bidimensionali e per la rilevazione automatizzata dei picchi ha rivoluzionato l'elaborazione dei dati LCxLC, rendendo la tecnica notevolmente più intuitiva e accessibile rispetto al passato. I moderni strumenti di "data analysis" consentono non solo la ricostruzione accurata del picco cromatografico 2D, ma anche la correzione automatica di effetti indesiderati quali il "wrap-around", che si verifica quando il tempo di analisi della seconda dimensione eccede il tempo di modulazione.

Grazie all'integrazione con piattaforme di analisi multivariata (PCA, PLS-DA, OPLS), software di "data analysis" favoriscono l'identificazione di marker discriminanti utili per autenticità, tracciabilità geografica, identificazione varietale e valutazioni nutraceutiche. La possibilità di lavorare in modo semi-automatico sulla comparazione dei *fingerprint* bidimensionali riduce i tempi dell'analisi e minimizza la variabilità operatore-dipendente, consentendo l'utilizzo della LCxLC anche a laboratori che non dispongono di competenze altamente specialistiche.

Le prospettive future aprono le porte all'intelligenza artificiale e alle analisi predittive, come i modelli QSRR (Quantitative Structure-Retention Relationships), che permettono di prevedere o individuare i tempi di ritenzione di analiti nelle due dimensioni cromatografiche a partire dalle loro proprietà molecolari. Questi modelli, basati su descrittori chimico-fisici e algoritmi statistici avanzati, aiutano a interpretare in modo più robusto le mappe bidimensionali, a confermare l'identità di composti incogniti e a costruire librerie predittive utili nel *workflow* di "foodomics" *non-targeted*. L'evoluzione di queste aspetti digitali, unitamente alla disponibilità di database sempre più ricchi e specifici per composti bioattivi, contribuirà a trasformare la LCxLC in una tecnica *user-friendly*, potenziando il suo impiego in varie branche delle tecniche "omics", assicurando qualità e sicurezza alimentare.

Un ulteriore elemento innovativo nel filone della "green analytical chemistry" riguarda la progressiva sostituzione dei solventi organici più impattanti, come l'acetonitrile, con alternative maggiormente sostenibili.

Tra queste, il dimetilcarbonato (DMC), il propilen-carbonato (PC) e solventi bio rappresentano una delle soluzioni più promettenti grazie alla bassa tossicità, biodegradabilità e maggiore sostenibilità ambientale. In particolare, il DMC è classificato come "green solvent" secondo i criteri della EPA e offre un profilo di sicurezza nettamente migliore rispetto ai solventi convenzionali, oltre a essere ottenibile mediante processi fermentativi o reazioni catalitiche da biomasse o scarti alimentari, migliorandone ulteriormente la sostenibilità. Recenti studi hanno dimostrato come il DMC possa essere impiegato efficacemente come fase mobile o co-solvente in cromatografia liquida ad alte prestazioni, mantenendo buone proprietà elutotropiche e compatibilità con rivelatori MS [6]. Questa sostituzione, applicata anche a metodi miniaturizzati LCxLC, potrebbe consentire di ridurre l'impatto ambientale delle analisi senza comprometterne il potere risolutivo, rappresentando un'evoluzione concreta verso protocolli più responsabili, sicuri e in linea con i principi della chimica verde.

La cromatografia liquida multidimensionale "comprehensive" si presenta, dunque, come una tecnica chiave per affrontare le sfide analitiche più ardue in vari settori, incluso quello alimentare, unendo rigore scientifico e capacità di innovazione.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] L. Mondello *et al.*, *Nat. Rev. Methods Primers*, 2023, **3**, 86.
- [2] K. Arena *et al.*, *J. Chromatogr. Open*, 2025, **7**, 100222.
- [3] K. Arena *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, **11**, 4819.
- [4] P. Donato *et al.*, *Anal. Bional. Chem.*, 2018, **410**, 3297.
- [5] Y. Guo *et al.*, *Anal. Sci. Adv.*, 2023, **4**, 181.
- [6] O. Kalisz *et al.*, *Green Chem.*, 2025, **27**, 3020.

## Multidimensional Liquid Chromatography

Comprehensive multidimensional liquid chromatography represents an advanced tool for studying complex food matrices, thanks to the combination of complementary separations and the significant increase in parameters such as resolution, selectivity, and identification capability. This approach enables the generation of more detailed, reliable, and informative chemical profiles.