

REPORT: APPROCCIO DI SERS IN LIQUIDO PER COLORANTI ANTICHI DA MATRICI TESSILI NELL'AMBITO DEL PROGETTO ADAMO

Autore: Alessandro Ciccola

Gruppo di Lavoro: Alessandro Ciccola^{1,2}, Ilaria Serafini², Francesca Ripanti¹, Flaminia Vincenti², Roberta Curini², Alessandro Nucara¹, Paolo Postorino¹

Affiliazioni: ¹Dipartimento di Fisica, ²Dipartimento di Chimica, Sapienza Università di Roma

1) PREMESSA:

In seguito ai buoni risultati ottenuti nell'individuazione di un protocollo di analisi SERS (*Surface Enhanced Raman Scattering*) *on fiber* per la costruzione di un database da utilizzare come riferimento per analisi da svolgere all'interno delle attività del Distretto Tecnologico per i beni e le attività Culturali della regione Lazio, si è deciso di proseguire nell'attività di ricerca mettendo a punto un ulteriore protocollo. In questa seconda fase, si è investigato il seguente approccio metodologico:

- **Approccio SERS in liquido:** il colorante viene estratto dalla fibra e l'estratto viene messo a contatto con la soluzione di colloide; lo spettro viene registrato puntando il laser sulla soluzione.

Si è scelto tale approccio per diversi motivi: esso dovrebbe risultare più riproducibile dell'approccio *on fiber* per la maggiore omogeneità del sistema in soluzione; in abbinamento a procedure di estrazione microinvasiva, può essere utilizzato su frammenti molto piccoli di filato, evitando la deposizione di nanoparticelle direttamente sul campione con conseguente variazione cromatica; si applica su un estratto, dunque può rappresentare un metodo preliminare all'analisi cromatografica in grado di fornire informazioni sul tipo di colorante e, conseguentemente, sul tipo di metodo separativo da utilizzare

Di seguito, si riportano i risultati ottenuti, ottenuti per fibre di lana tinte con robbia, cocciniglia, orceina (non mordenzata), reseda e, in aggiunta rispetto all'approccio *on fiber*, kermes.

2) MATERIALI E METODI:

a. PREPARAZIONE DEL COLLOIDE:

Argento nitrato (AgNO_3 , purezza $\geq 99.0\%$), idrossilammina idrocloruro (purezza = 99.0%) e la soluzione di idrossido di sodio (NaOH 10 M BioUltra) sono stati acquistati da Sigma Aldrich. Il colloide è stato preparato secondo il protocollo sviluppato da Leopold e Lendl[1].

b. PROCEDURA DI ESTRAZIONE:

Tra le diverse procedure di estrazione utilizzate per l'estrazione di coloranti naturali da matrici tessili, si è scelta per come metodologia di riferimento quella messa a punto all'interno dei nostri laboratori[2,3]. Tale procedura di estrazione, che sfrutta condizioni di basicità (ammoniacale) e temperatura ambiente, è notevolmente meno invasiva di procedure di estrazione in condizioni acide o in alta temperatura, in particolare nei confronti di composti glicosilati.

c. ACQUISIZIONE DEGLI SPETTRI SERS:

Sono stati prelevati 200 μL di colloide e sono stati posti in un pozzetto su piastra. Si sono aggiunti 20 μL di estratto e 20 μL di una soluzione di MgSO_4 per indurre l'aggregazione delle nanoparticelle. L'acquisizione degli spettri si è svolta puntando il laser sulla soluzione. Lo strumento utilizzato è uno spettrometro Raman Horiba Jobin-Yvon HR Evolution accoppiato con microscopio (obiettivo utilizzato: 50X); il laser utilizzato è un laser He-Ne con lunghezza d'onda pari a 633 nm. La radiazione utilizzata aveva intensità pari a 1,50 o 3,75 mW, variabile a seconda del tipo di colorante, mentre si sono raccolte 20 o 40 scansioni di 5 o 10 secondi

ciascuna. Per ogni campione, si sono raccolti spettri in almeno tre punti diversi nel range 100-2000 cm^{-1} , mediati successivamente. L'assegnazione dei picchi è stata svolta sulla base della letteratura[3–10].

È importante sottolineare alcuni aspetti. In primo luogo, la procedura di estrazione prevede tre fasi in cui il colorante estratto si può trovare in tre differenti solventi: soluzione di ammoniaca ed EDTA in acqua (1); soluzione di EDTA in acqua (2); pentanolo (3). Nella maggior parte dei casi, lo spettro della soluzione 1 non ha permesso la registrazione di spettri per la precipitazione del colloide, verosimilmente dovuta all'effetto dell' NH_3 e alle sue caratteristiche basiche. Per testare le migliori condizioni di misura SERS, le tre diverse soluzioni sono state messe a contatto con il colloide e si sono acquisiti i relativi spettri. Secondariamente, si è notato che a seconda del tipo di solvente si hanno delle variazioni sul sistema colloidale, che possono avere conseguenze sugli spettri acquisiti. In particolare, mentre per la soluzione 2 non si sono osservati aggregati estesi, nel caso della soluzione 3 la presenza di pentanolo, immiscibile in acqua, porta alla formazione di *cluster* di nanoparticelle, distribuite sulla superficie del liquido. Nel caso della reseda, in particolare, si nota la presenza di vere e proprie micelle di solvente organico circondate da *cluster* di nanoparticelle di argento.

3) RISULTATI:

- ROBBIA: i migliori risultati per l'estratto di robbia si sono ottenuti sia per l'estratto in 2 e in 3. Gli spettri ottenuti presentano una notevole riproducibilità e un ottimo accordo con i picchi caratteristici di alizarina, purpurina e della robbia in generale riportati in letteratura. Rispetto agli spettri ottenuti nell'approccio *on fiber*, lo spettro dell'estratto risulta meno ricco di picchi. Questi potrebbero essere dovuti ad altre specie presenti sulla fibra o, in alternativa, ad un'estrazione differente da parte del colloide (in cui è presente solo acqua e per cui il tempo di contatto con la fibra è notevolmente più breve) rispetto a quella della soluzione estraente.

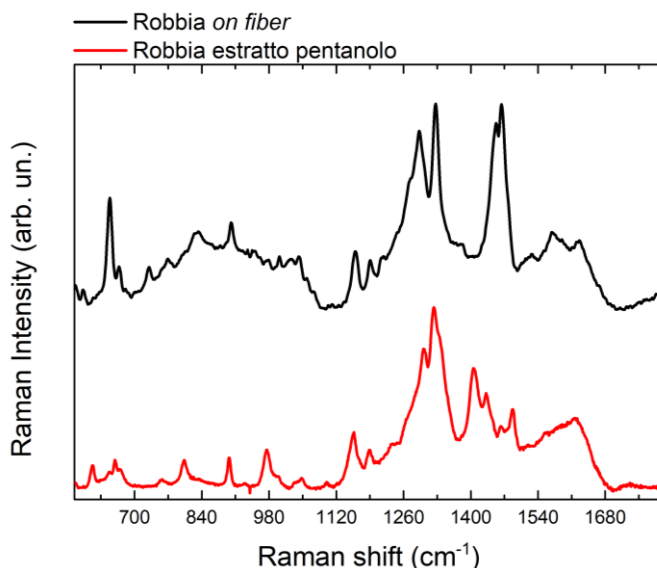


Figura 1: spettro SERS dell'estratto di robbia in pentanolo confrontato con lo spettro SERS *on fiber* ottenuto per lo stesso colorante su lana.

- COCCINIGLIA: lo spettro della cocciniglia presenta alcune particolarità rispetto alla letteratura e all'approccio *on fiber*. In primo luogo, è stato possibile registrare spettri di buona qualità solo per la soluzione 3. Gli spettri ottenuti presentano inoltre una interferenza dello spettro del pentanolo, in particolar modo nella regione 1200-1600 cm^{-1} , che è caratteristica del

colorante. Si possono comunque individuare le caratteristiche spettrali tipiche del colorante, quali i picchi 801, 924, 1029, 1430, 1475 cm^{-1} . Per una più chiara identificazione dei segnali, si è sottratto lo spettro del pentanolo: in questo modo, si possono individuare i picchi a 800, 924, 1291 e 1354 cm^{-1} , caratteristici della cocciniglia. Rispetto allo spettro SERS *on fiber*, inoltre, non si osserva la coppia di picchi a 647 e 729 cm^{-1} (ritenuti identificativi del colorante[6]), mentre è presente una banda larga intorno a 665 cm^{-1} .

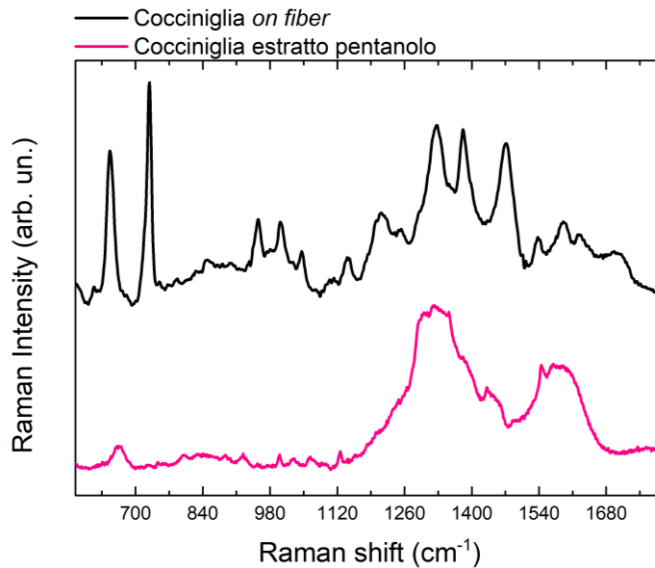


Figura 2: spettro SERS dell'estratto di cocciniglia in pentanolo confrontato con lo spettro SERS *on fiber* ottenuto per lo stesso colorante su lana.

- ORCEINE: lo spettro per le orceine è stato acquisito solo nel caso della soluzione 1, per questioni legate al quantitativo di campione. Nonostante l'aggregazione del colloide, che è risultata di ostacolo per l'acquisizione degli spettri nel caso degli altri coloranti, per le orceine è stato possibile acquisire spettri di notevole coerenza con quelli ottenuti per l'approccio *on fiber*.

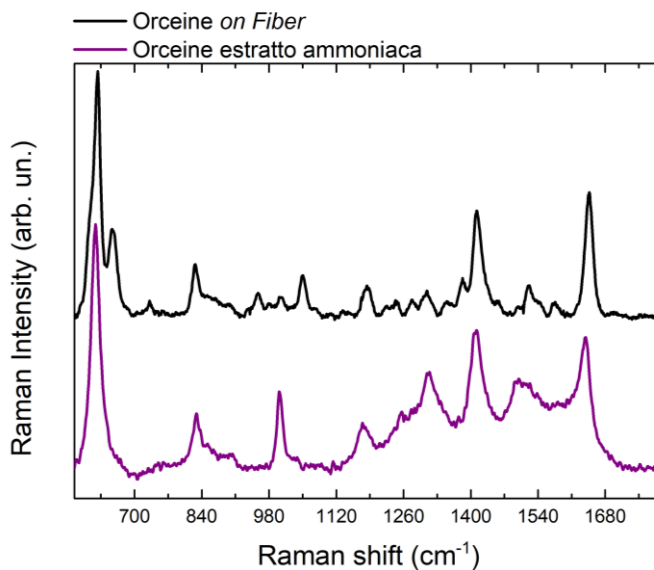


Figura 3: spettro SERS dell'estratto di orceine in ammoniaca confrontato con lo spettro SERS *on fiber* ottenuto per lo stesso colorante su lana.

- RESEDA: è stato possibile acquisire lo spettro dell'estratto di reseda solo nel caso della soluzione 3, mentre nelle altre soluzioni non si sono registrati spettri di buona qualità. Lo spettro presenta un notevole accordo con lo spettro ottenuto nell'approccio *on fiber*. Le maggiori differenze sono dovute alla diversa intensità di alcuni segnali, verosimilmente attribuibile alle diverse proprietà estrattive del colloide e della soluzione ammoniacale. È importante sottolineare che, rispetto alla letteratura, oltre ai picchi di apigenina e luteolina sono osservabili i segnali caratteristici della crisina (617, 1000, spalla intorno a 1040 cm^{-1})[5].

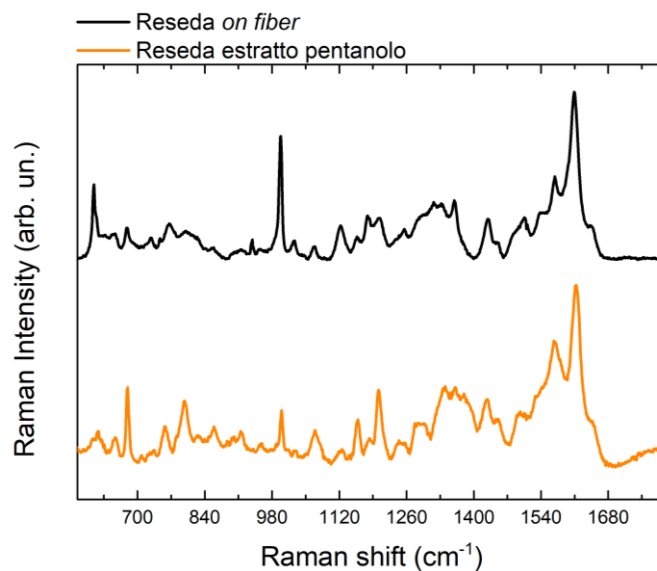


Figura 4: spettro SERS dell'estratto di reseda in pentanolo confrontato con lo spettro SERS *on fiber* ottenuto per lo stesso colorante su lana.

- KERMES: lo spettro del Kermes è stato ottenuto solo per la soluzione 3, dati i problemi di precipitazione del colloide nel caso della soluzione 1 e di bassa intensità del segnale nel caso della soluzione 2. Anche in questo caso, come per la cocciniglia, si osserva l'interferenza del segnale del pentanolo nel range 1200-1600 cm^{-1} , determinante nel caso di coloranti antrachinonici. Si osservano chiaramente, comunque, picchi a 458, 567, 659, 733, 791, 891, 958, 1063 e 1100 cm^{-1} , nonché bande allargate e spalle a 1453, 1614 cm^{-1} , attribuibili all'acido kermesico (molecola *marker*) e al colorante. La sottrazione dello spettro del pentanolo evidenzia una banda intorno a 1312 cm^{-1} , tipica dei coloranti antrachinonici[6–9].

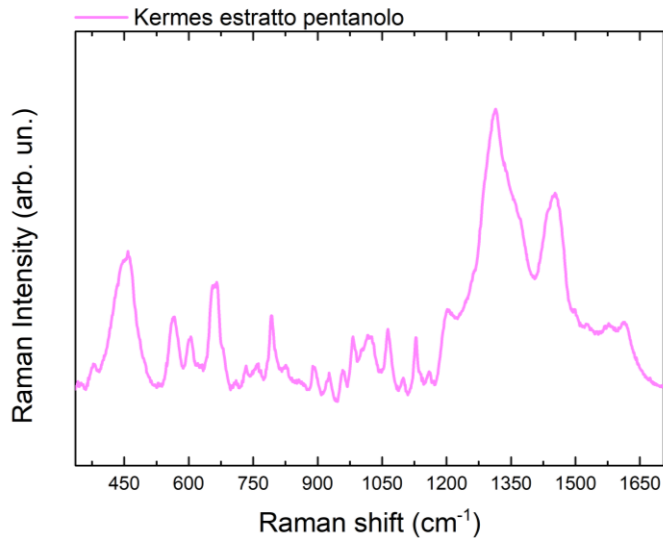


Figura 5: spettro SERS dell'estratto di kermes in pentanolo..

4) CONCLUSIONI:

Gli spettri SERS ottenuti dall'approccio in liquido risultano generalmente riproducibili e in accordo con la letteratura. Delle soluzioni testate, relative ai diversi step di estrazione, quella che fornisce i migliori risultati è quella in pentanolo, che non provoca la precipitazione indesiderata del colloide e permette di acquisire spettri per tutti i coloranti per cui è stata testata. Tuttavia, nel caso di coloranti da insetto, si ha una maggiore interferenza spettrale determinata dal solvente nella regione di maggiore interesse per questa tipologia di coloranti. Nel caso specifico della cocciniglia si sono osservate le maggiori problematiche: la riproducibilità degli spettri risulta minore, si ha la maggiore interferenza del segnale del solvente e si osserva l'assenza di alcuni segnali caratteristici del colorante, riportati in letteratura e individuati negli spettri dall'approccio *on fiber*. La maggiore difficoltà nell'acquisizione degli spettri per la cocciniglia, comunque, è evidenziata in letteratura ed attribuita alla minore affinità delle molecole costituenti il colorante per le nanoparticelle metalliche rispetto ad altre specie (es.: robbia)[11]. Bisogna sottolineare che, comunque, anche questo approccio ha permesso di distinguere i diversi coloranti, specie se abbinato a metodologie di processamento come la sottrazione del segnale del solvente. È inoltre importante sottolineare che si aprono nuove prospettive per il miglioramento e l'implementazione del database. In primo luogo, si potranno testare diverse metodologie estrattive, in modo da individuare le migliori condizioni per l'acquisizione di spettri SERS con il tipo di colloide usato. Secondariamente, si potrebbe portare a secco l'estratto in pentanolo e ridiscioglierlo in altro solvente: tale espediente potrebbe risultare in una minore interferenza del solvente sugli spettri acquisiti.

BIBLIOGRAFIA

- [1] N. Leopold, B. Lendl, A new method for fast preparation of highly surface-enhanced raman scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride, *J. Phys. Chem. B.* 107 (2003) 5723–5727. doi:10.1021/jp027460u.
- [2] I. Serafini, L. Lombardi, G. Vannutelli, C. Montesano, F. Sciubba, M. Guiso, R. Curini, A. Bianco, How the extraction method could be crucial in the characterization of natural dyes from dyed yarns and lake pigments: The case of American and Armenian cochineal dyes, extracted through the new ammonia-EDTA method, *Microchem. J.* 134 (2017). doi:10.1016/j.microc.2017.06.005.
- [3] I. Serafini, L. Lombardi, M. Reverberi, A. Ciccola, E. Calà, F. Sciubba, M. Guiso, P. Postorino, M. Aceto, A. Bianco, New advanced extraction and analytical methods applied to discrimination of different lichen species used for orcein dyed yarns: Preliminary results, *Microchem. J.* 138 (2018) 447–456. doi:10.1016/j.microc.2018.01.033.
- [4] W. Kiefer, A.P. Mazzolini, P.R. Stoddart, In situ detection of flavonoids in weld-dyed wool and silk textiles by surface-enhanced Raman scattering, *J. Raman Spectrosc.* 38 (2007) 1538–1553. doi:10.1002/jrs.
- [5] C. Corredor, T. Teslova, M.V. Cañamares, Z. Chen, J. Zhang, J.R. Lombardi, M. Leona, Raman and surface-enhanced Raman spectra of chrysin, apigenin and luteolin, *Vib. Spectrosc.* 49 (2009) 190–195. doi:10.1016/j.vibspec.2008.07.012.
- [6] S. Bruni, V. Guglielmi, F. Pozzi, Historical organic dyes: A surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectral database on Ag Lee-Meisel colloids aggregated by NaClO₄, *J. Raman Spectrosc.* 42 (2011) 1267–1281. doi:10.1002/jrs.2872.
- [7] K. Chen, M. Leona, K.C. Vo-Dinh, F. Yan, M.B. Wabuyele, T. Vo-Dinh, Application of surface-enhanced Raman scattering (SERS) for the identification of anthraquinone dyes used in works of art, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 520–527. doi:10.1002/jrs.1426.
- [8] A. V. Whitney, R.P. Van Duyne, F. Casadio, An innovative surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) method for the identification of six historical red lakes and dyestuffs, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 993–1002. doi:10.1002/jrs.1576.
- [9] M. Leona, J. Stenger, E. Ferloni, Application of surface-enhanced Raman scattering techniques to the ultrasensitive identification of natural dyes in works of art, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 981–992. doi:10.1002/jrs.1582.
- [10] B. Doherty, F. Gabrieli, C. Clementi, D. Cardon, A. Sgamellotti, B. Brunetti, C. Miliani, Surface enhanced Raman spectroscopic investigation of orchil dyed wool from *Rocella tinctoria* and *Lasallia pustulata*, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 723–729. doi:10.1002/jrs.4543.
- [11] F. Pozzi, K.J. Van Den Berg, I. Fiedler, F. Casadio, A systematic analysis of red lake pigments in French Impressionist and Post-Impressionist paintings by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 1119–1126. doi:10.1002/jrs.4483.