

CORSO DI LAUREA IN BIOLOGIA PER LA SOSTENIBILITÀ



METODOLOGIE BIOANALITICHE ***Modulo B (6 CFU)***

LEZIONE 6

Prof. Paola Di Donato

Dipartimento di Scienze e Tecnologie

Stanza 520, V piano lato NORD

Tel. 081 547 6625

E-mail: paola.didonato@uniparthenope.it

METODI SPETTROSCOPICI: UTILIZZI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

- **SPETTROSCOPIA IR**
- **SPETTROSCOPIA RAMAN**

**STUDIO DELLE MODIFICAZIONI DI STRUTTURE CELLULARI
(DNA, PROTEINE, MEMBRANE)**

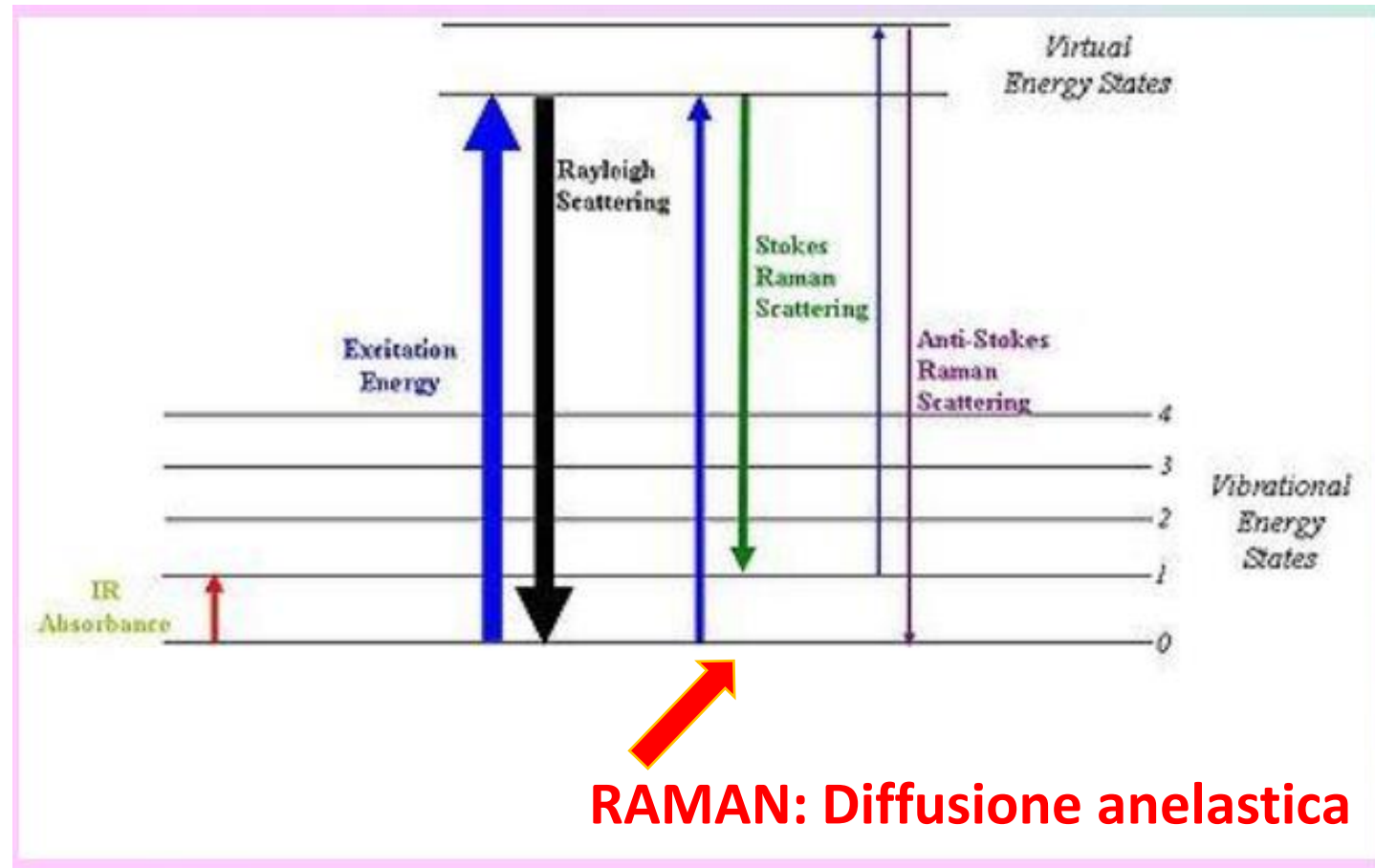
- **Monitoraggio ambientale**
- **Ricerca di base: l'esempio dell'Astrobiologia**

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

Una data radiazione monocromatica con frequenza ν_0 che colpisce un sistema molecolare, può subire:

1. **Assorbimento**, se il suo contenuto energetico è pari ad una possibile transizione ad un livello energetico superiore (es. Uv-vis, **IR**) del materiale con cui interagisce;
2. Riflessione se non interagisce con la materia;
3. **Diffusione** se interagisce senza causare transizioni energetiche: la radiazione può essere diffusa con frequenza uguale a ν_0 (diffusione Rayleigh), oppure maggiore o minore (diffusione **Raman**) di quella incidente ν_0 .

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

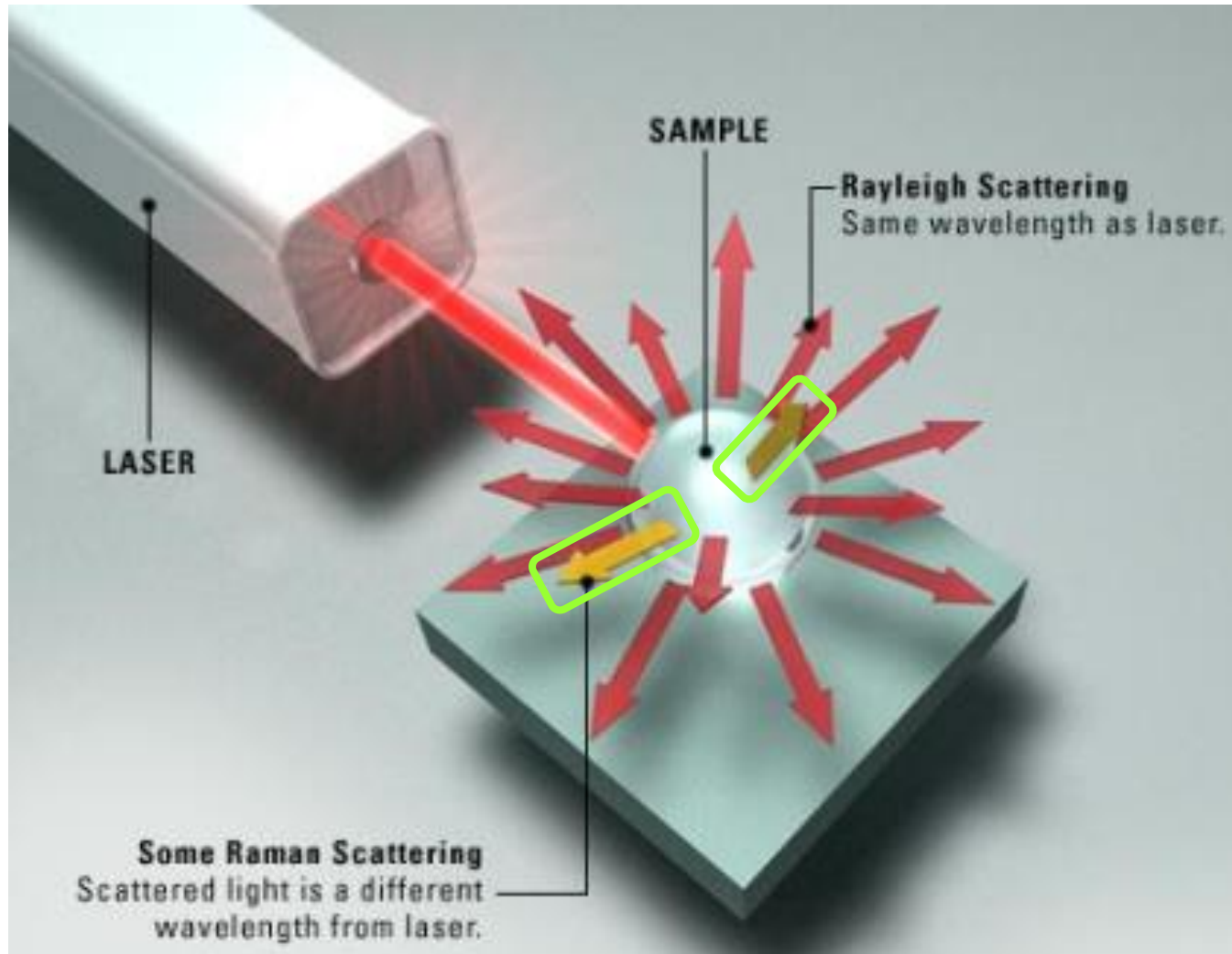


SPETTROSCOPIA RAMAN

- Spettroscopia di tipo vibrazionale che si basa sul processo di diffusione evidenziato nel 1928 dal fisico Indiano C.V. Raman, che per tale motivo vinse premio Nobel nel 1931.
- Raman scoprì che una piccola frazione della radiazione diffusa da certe molecole aveva energia diversa da quella della radiazione incidente, e che la differenza di energia era legata alla struttura chimica delle molecole responsabili della diffusione (effetto Raman)
- La diffusione della luce si verifica in quanto le molecole hanno dimensioni molto piccole rispetto alla lunghezza d'onda della radiazione visibile (400 - 800 nm).

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN



SPETTROSCOPIA RAMAN

Consideriamo un raggio laser (di lunghezza d'onda λ_0 monocromatica) che colpisce una molecola ovvero un insieme di molecole:

- la maggior parte della radiazione passa attraverso il campione
- Una piccola parte verrà diffusa senza subire un cambiamento di lunghezza d'onda (diffusione elastica o scattering di Rayleigh)
- una piccolissima porzione verrà invece diffusa subendo un cambiamento delle lunghezze d'onda diverse da quella laser (**diffusione anelastica o scattering di Raman**)

SPETTROSCOPIA RAMAN

Tale tecnica si basa su un fenomeno di scattering che sia in grado di provocare delle vibrazioni molecolari

Le vibrazioni “Raman-attive” sono quelle che implicano un cambiamento nella polarizzabilità molecolare*

L'effetto Raman altro non è che un cambiamento della polarizzabilità del materiale che si osserva

*Le molecole sono polarizzabili: la distribuzione degli elettroni può essere perturbata da una radiazione

SPETTROSCOPIA RAMAN

Lo scattering anelastico della radiazione dovuto all'interazione dei dipoli molecolari con la radiazione incidente è altamente improbabile.

Solo l'1-2 % dei fotoni scatterati hanno ceduto energia al campione (fotoni Raman) per cui lo spettro Raman è molto piccolo ($\Delta\nu$ in generale è molto piccolo).

Per questi motivi è utile usare una sorgente di luce monocromatica ad alta energia (Laser)

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN

SORGENTE LUMINOSA

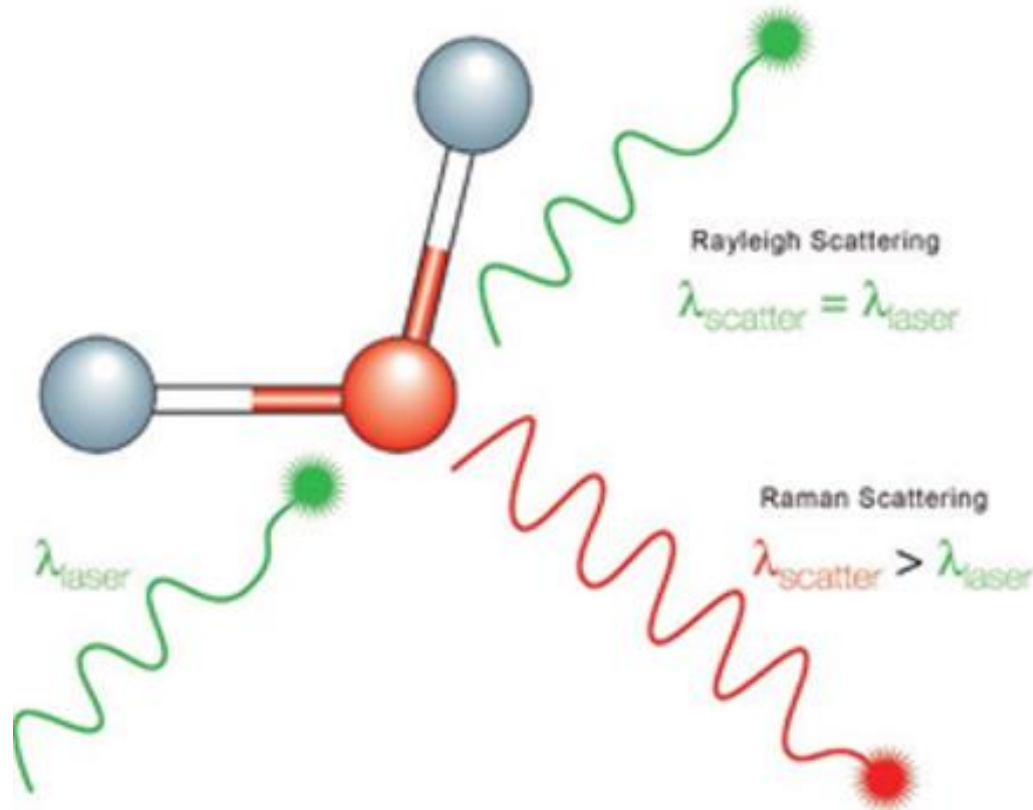
Si può utilizzare un fascio luminoso di qualsiasi frequenza in quanto la differenza di frequenza tra radiazione incidente e radiazione emergente ($\Delta\nu$) non dipende dalla frequenza della luce incidente ν_0 .

$\Delta\nu$ in generale è molto piccolo: per tale motivo è importante avere un fascio di luce monocromatico e molto intenso.

In generale come sorgente si usano fasci LASER che emettono nella zona al confine tra la regione del visibile e del vicino IR (in tal modo si minimizzano gli effetti della fluorescenza di fondo, che spesso oscura il segnale Raman)

LASER

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation



LASER

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

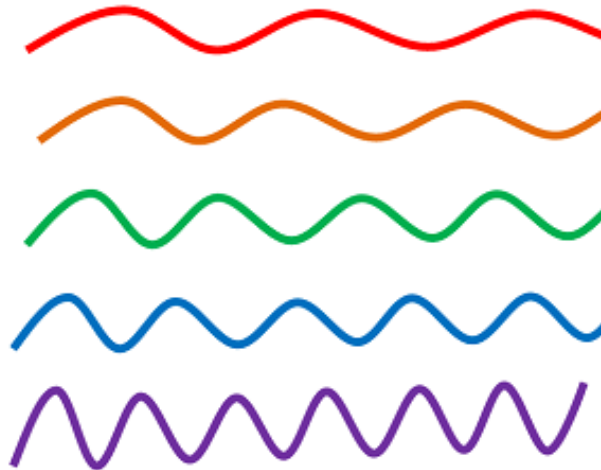
Le caratteristiche che rendono la luce Laser ideale per la spettroscopia Raman sono

- **COERENZA**
- **DIREZIONE**
- **MONOCROMATICITÀ**
- **INTENSITÀ**

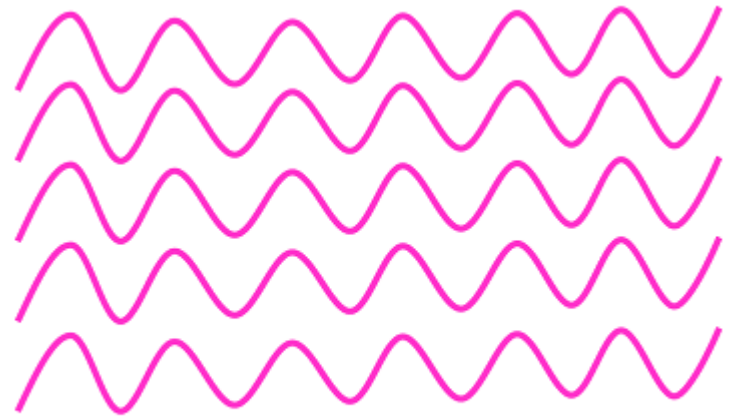
LASER

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

- **COERENZA:** tutte le lunghezze d'onda del raggio laser sono in fase, sia per l'ampiezza che per la posizione



Incoherent light

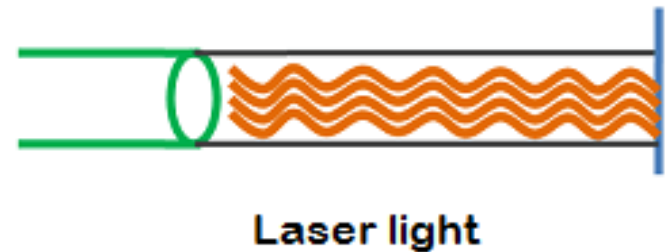
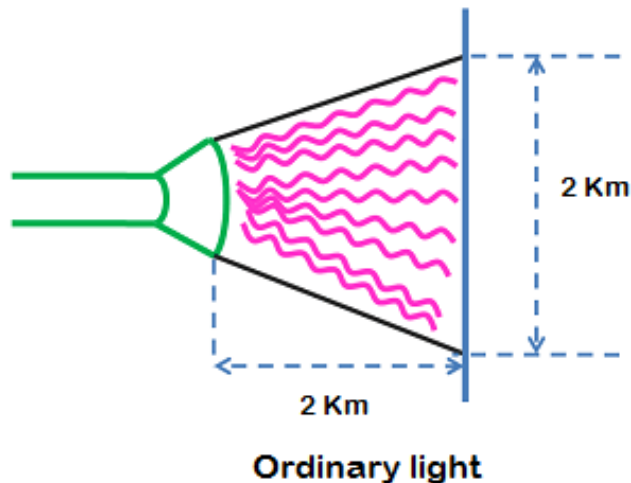


Coherent light waves

LASER

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

- DIREZIONE: tutti i fotoni viaggiano nella stessa direzione, pertanto l'ampiezza del raggio laser è molto limitata



LASER

Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

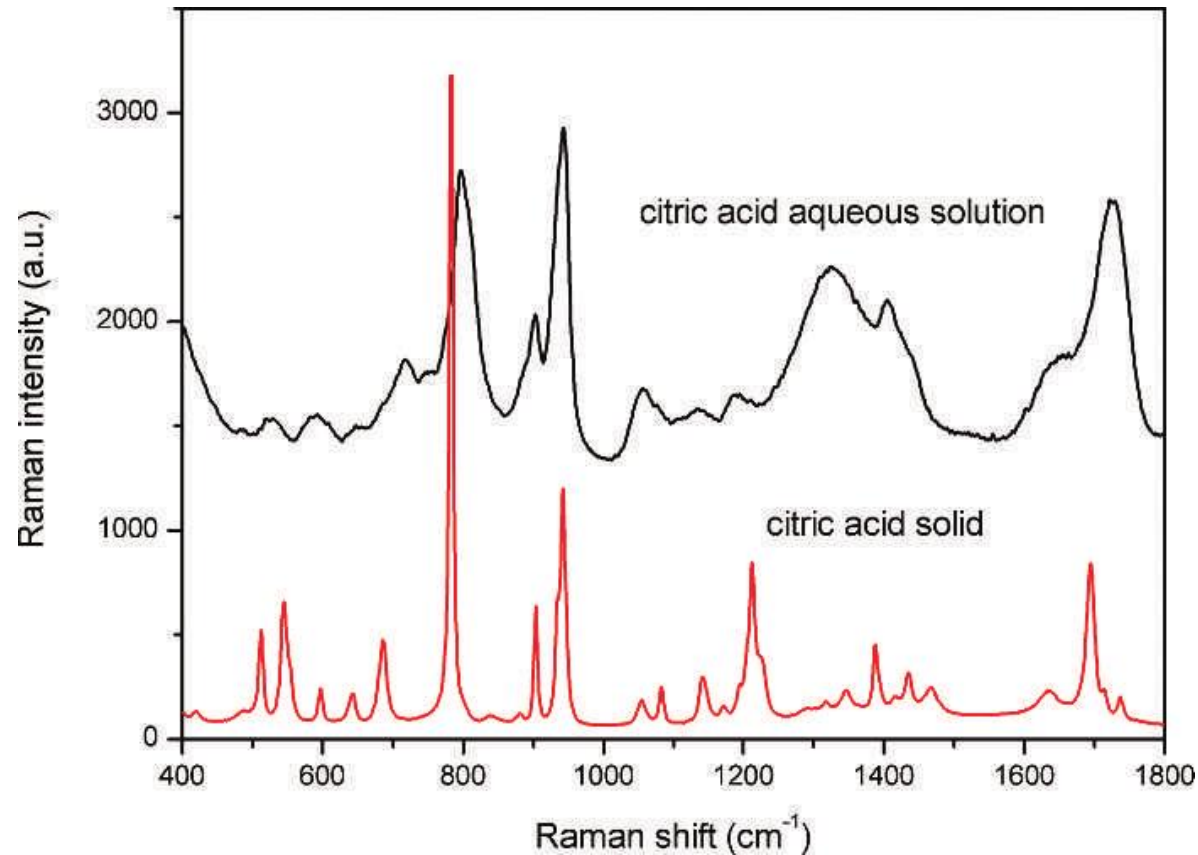
- **MONOCROMATICITÀ:** a differenza di una sorgente di luce normale, la luce laser contiene una singola λ , pertanto tutti i fotoni emessi hanno la stessa energia perché chiaramente hanno la stessa frequenza
- **INTENSITÀ:** l'intensità è l'energia emessa da un'onda nell'unità di tempo e superficie. In una sorgente di luce ordinaria la luce si diffonde uniformemente in tutte le direzioni mentre nel laser essa si focalizza in una singola direzione, pertanto la dispersione della intensità nello spazio è molto minore

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN

Lo spettro di assorbimento è un grafico in cui abbiamo

- **Ascisse:** frequenza assoluta in cm^{-1} o spostamento Raman ovvero differenza tra numero d'onda tra radiazione incidente ed emergente
- **Ordinate:** intensità di emissione



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN e IR: tecniche complementari

Entrambe sono spettroscopie vibrazionali ma differiscono per due aspetti:

1. lo spettro Raman viene generato dalla differenza di due livelli elettronici (la cui differenza è pari ad un livello vibrazionale); la sorgente dello spettrometro è perciò nel visibile, anche se ora sono molto diffuse sorgenti nel NIR .
2. gli spettri Raman ed IR differiscono per le regole di selezione* delle transizioni.

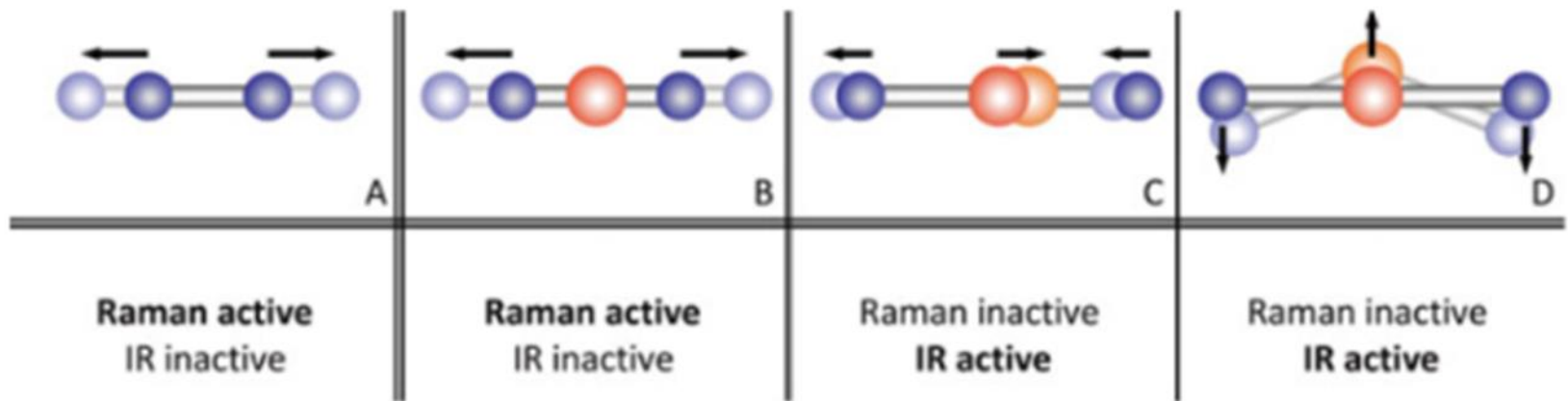
***REGOLE DI SELEZIONE:** condizioni necessarie affinché avvenga l'assorbimento ovvero la molecola interagisca con la radiazione IR

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN e IR: tecniche complementari

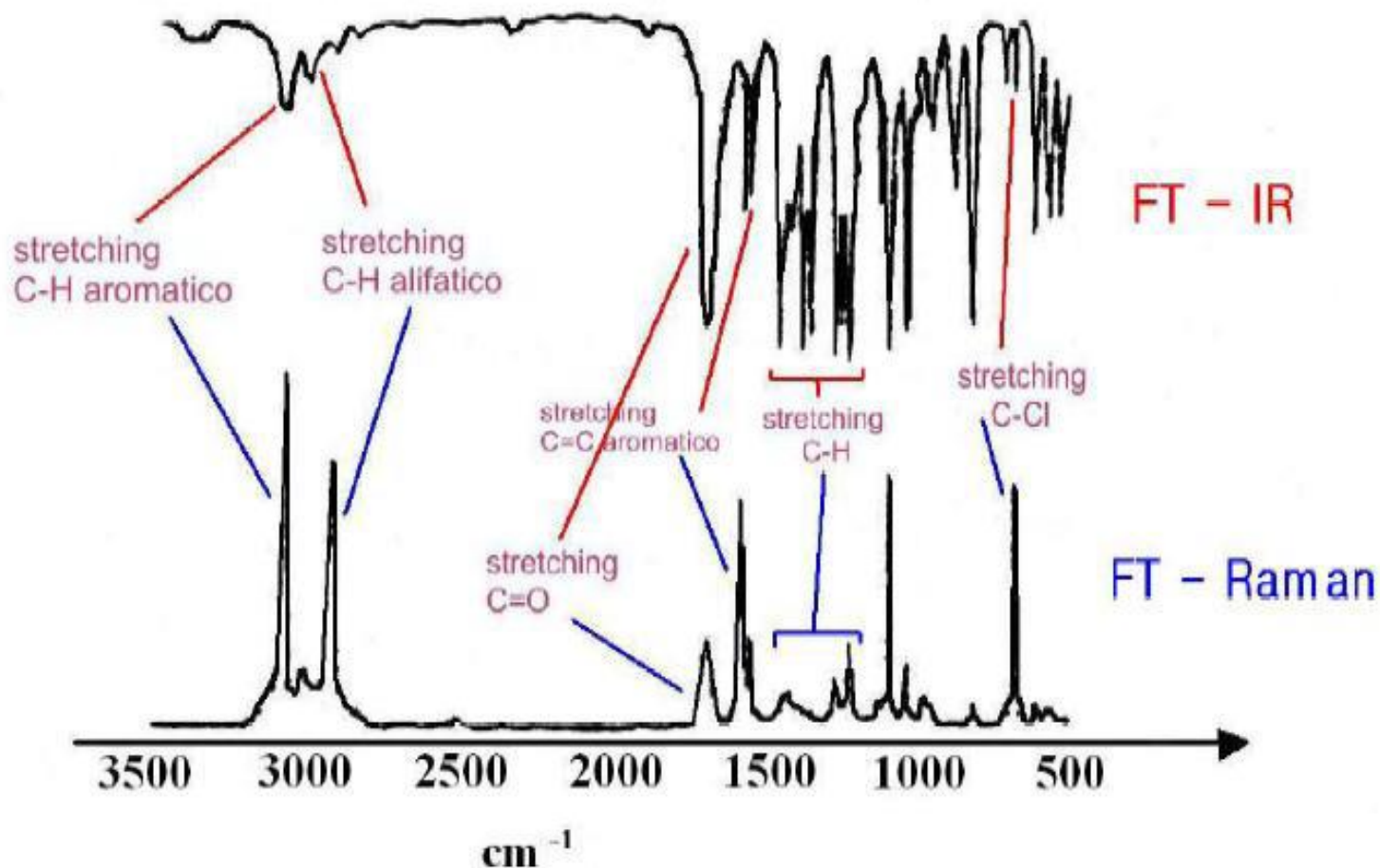
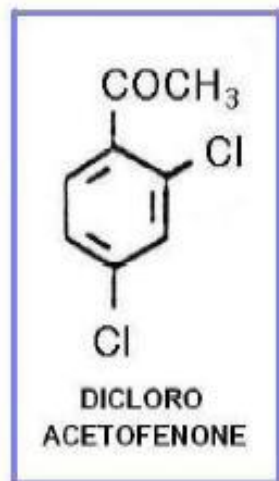
VIBRAZIONI MOLECOLARI

- Non tutti i modi vibrazionali sono otticamente attivi ovvero
- Non tutti i modi vibrazionali generano un segnale nello spettro



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN e IR: tecniche complementari



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN e IR: tecniche complementari

Vantaggi della tecnica Raman:

- l'acqua e il vetro non causano interferenze, diversamente dall'IR
- le linee dello spettro Raman sono generalmente più strette e quindi più semplici da identificare.

Vantaggi della tecnica IR:

- gli spettri sono solitamente più ricchi di segnali e quindi la tecnica risulta di più generale applicazione

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

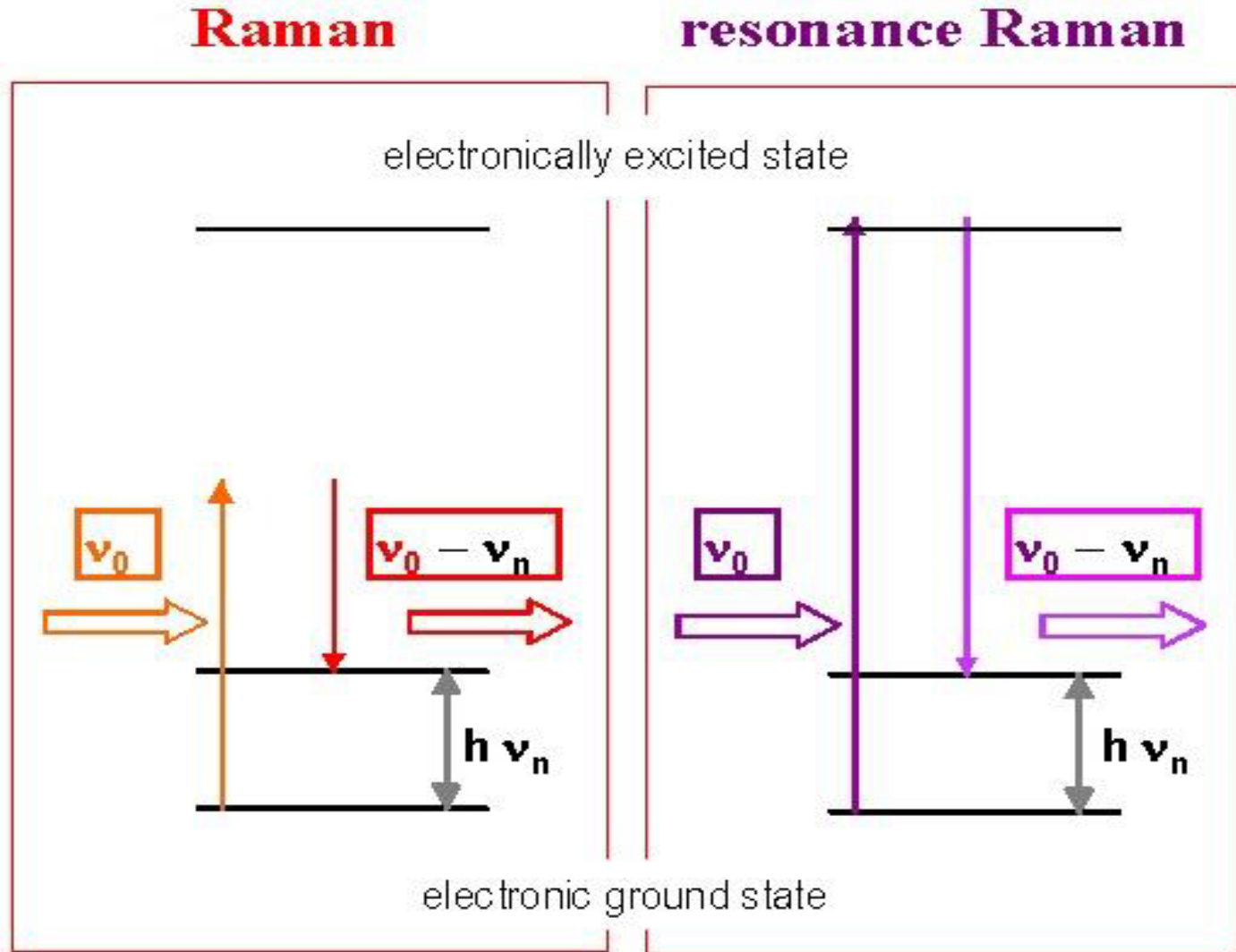
Se la luce di eccitazione utilizzata per un esperimento Raman coincide con la banda di **assorbimento per una transizione elettronica**, si osserva un grande aumento di intensità dello spettro Raman.

Ne segue che il processo di risonanza Raman è accoppiato al processo della transizione elettronica con intensificazione del segnale Raman che può essere anche di ordini di grandezza rispetto alla spettroscopia Raman.

L'intensificazione del segnale dipende dal coefficiente molare di assorbimento della banda elettronica e dalla vicinanza della lunghezza d'onda di eccitazione con la lunghezza d'onda della transizione elettronica.

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

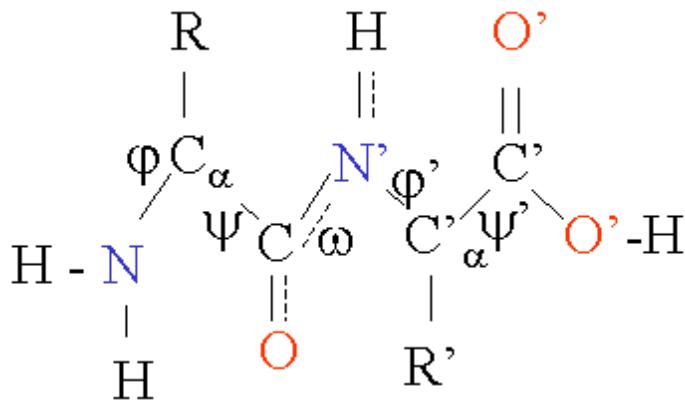
La RR trova applicazione nello studio di biomolecole che presentano un **forte assorbimento nel visibile e nell'ultravioletto**.

La RR difatti consente di misurare selettivamente lo spettro di assorbimento di un cromoforo anche in presenza di un forte background di altre bande vibrazionali.

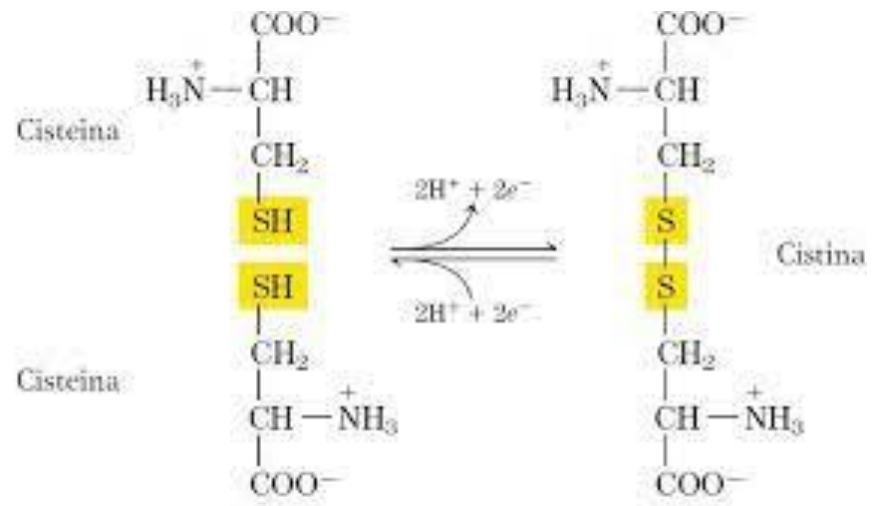
SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

ESEMPIO: le proteine

Molti aminoacidi hanno transizioni elettroniche con massimi di assorbimento nella stessa regione dell'assorbimento del gruppo peptidico.



**Legame peptidico,
214 nm**



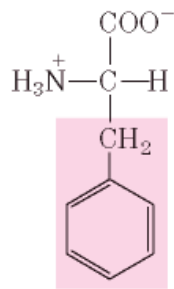
**Ponte disolfuro,
250 nm**

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

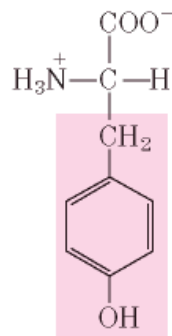
ESEMPIO: le proteine

Perciò, se gli aminoacidi fanno parte di una catena polipeptidica, è difficile osservarne gli spettri di RR, poiché le loro transizioni elettroniche hanno un coefficiente di estinzione molare minore di quella del gruppo peptidico e sono inoltre in numero minore rispetto ai legami peptidici.

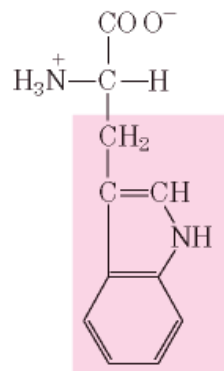
Ne segue che gli aminoacidi che meglio si rivelano in RR sono quelli che assorbono a $\lambda > 230$ nm e cioè gli aminoacidi aromatici.



Fenilalanina



Tirosina

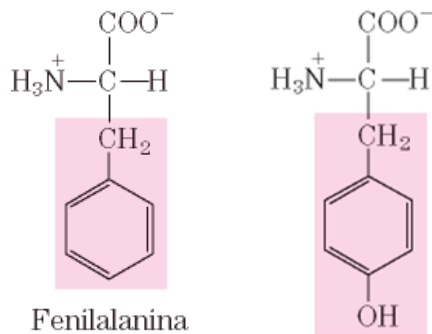


Tryptofano

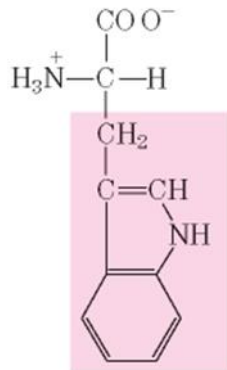
Anello aromatico,
 $\lambda = 280$ nm

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

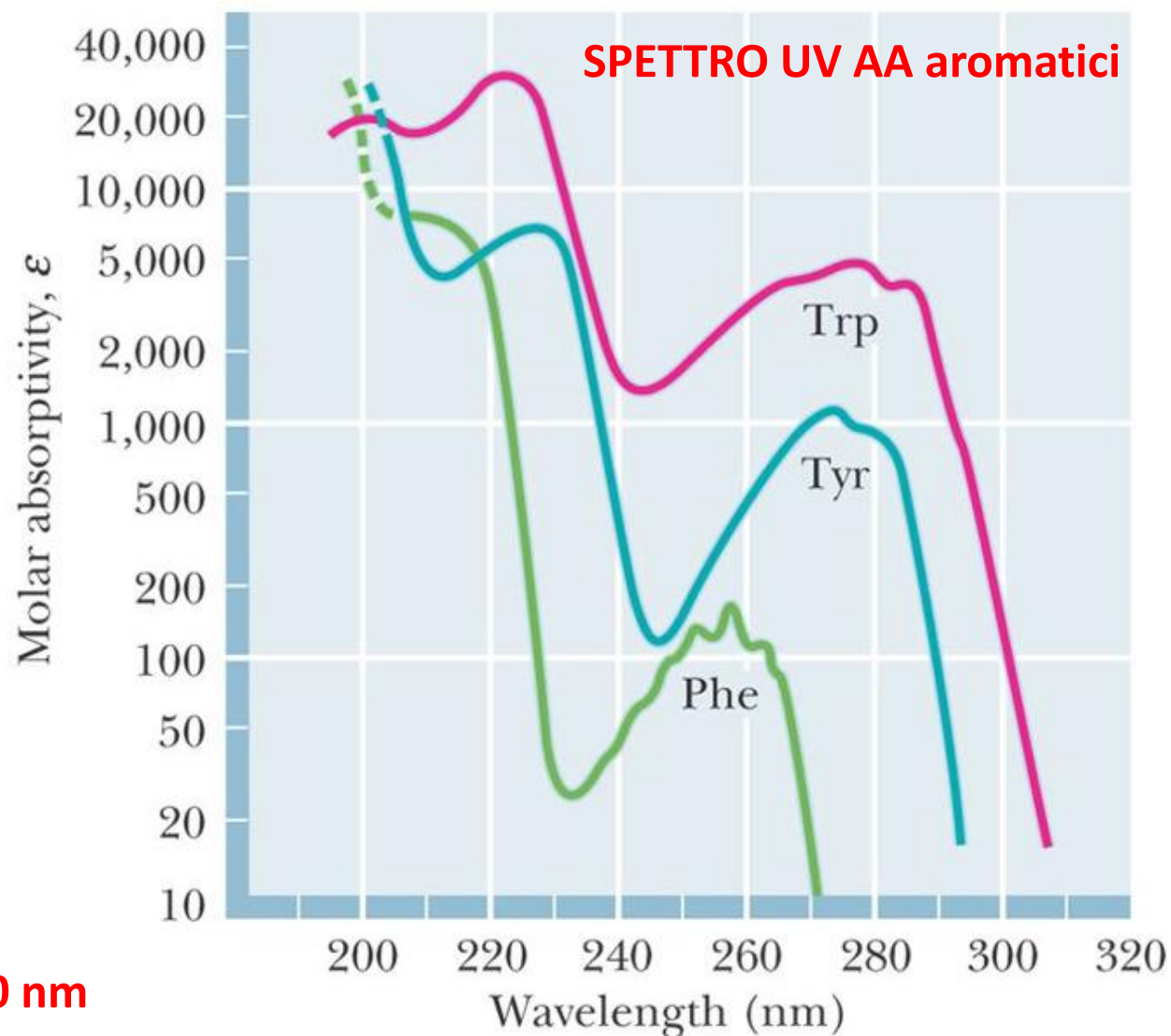


Tirosina



Tryptofano

Anello aromatico, $\lambda = 280 \text{ nm}$



SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

ESEMPIO: le proteine

Nella spettroscopia Raman normale la radiazione laser impiegata ha energia, quindi ν e quindi λ , diversa da quella necessaria per attivare transizioni elettroniche nel campione.

In condizioni particolari l'intensità delle linee Raman può essere incrementata se la radiazione eccitatrice ha energia vicina a quella necessaria per attivare una transizione elettronica di una molecola del campione, cioè in condizioni di risonanza elettronica.

Questo può aumentare l'intensità dei segnali Raman di un fattore 10^2 - 10^6 , con notevoli vantaggi nell'interpretazione degli spettri e nell'identificazione di sostanze anche a basse concentrazioni: in questo modo utilizzando una frequenza specifica si possono selezionare gli effetti Raman relativi ad una particolare parte di una grande molecola come una proteina, quindi si può isolare un particolare cromoforo

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)

ESEMPIO: le proteine

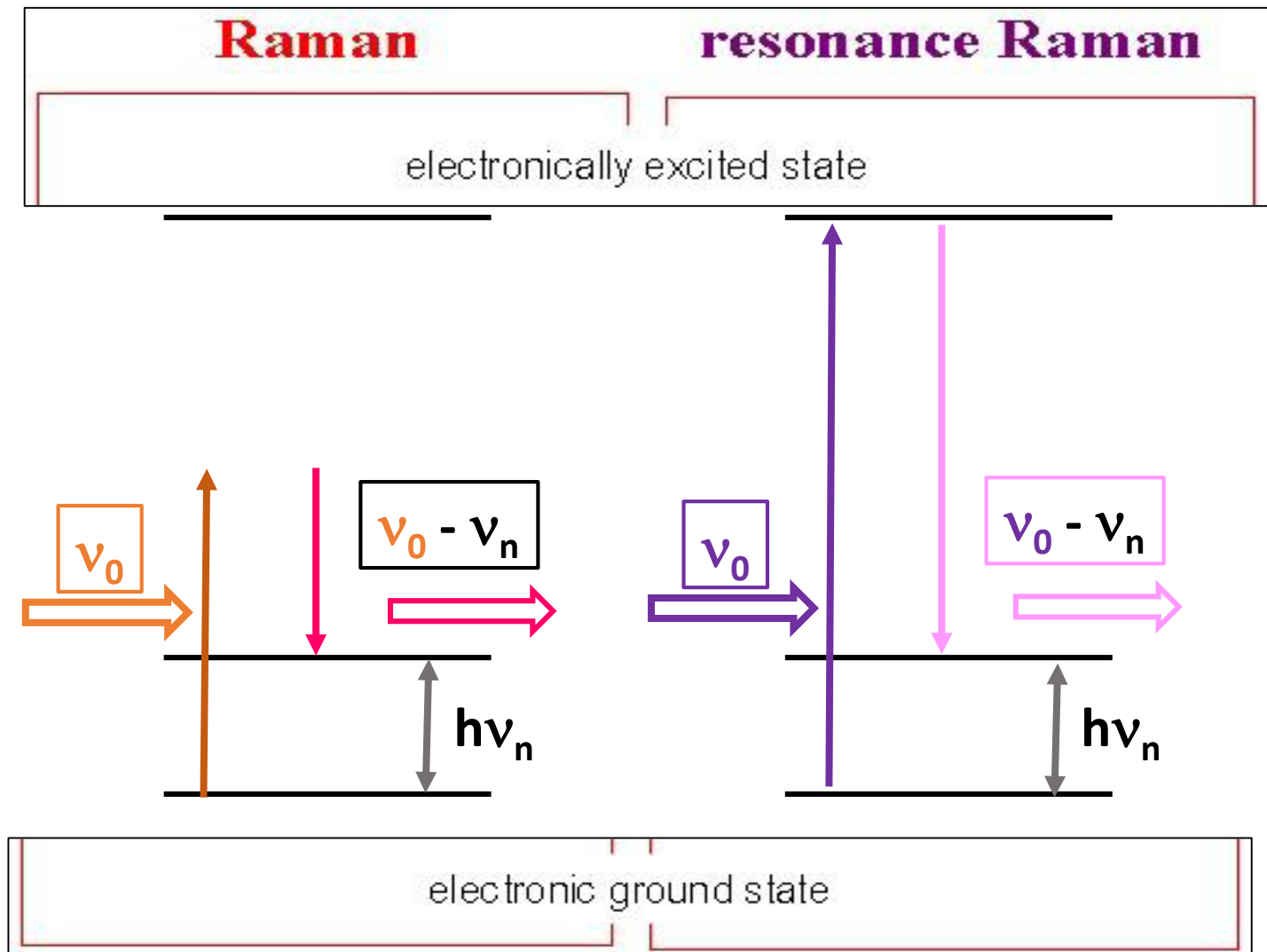
Nella spettroscopia Raman normale la radiazione laser impiegata ha energia, quindi ν e quindi λ , diversa da quella necessaria per attivare transizioni elettroniche nel campione.

In condizioni particolari l'intensità delle linee Raman può essere incrementata se la radiazione eccitatrice ha energia vicina a quella necessaria per attivare una transizione elettronica di una molecola del campione, cioè in condizioni di risonanza elettronica.

Questo può aumentare l'intensità dei segnali Raman di un fattore 10^2 - 10^6 , con notevoli vantaggi nell'interpretazione degli spettri e nell'identificazione di sostanze anche a basse concentrazioni: in questo modo utilizzando una frequenza specifica si possono selezionare gli effetti Raman relativi ad una particolare parte di una grande molecola come una proteina, quindi si può isolare un particolare cromoforo

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN RISONANTE (RR)



SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE


[Environmental Topics](#)
[Laws & Regulations](#)
[About EPA](#)


[Contact Us](#)

Science Inventory

You are here: [EPA Home](#) » [Science Inventory](#) » ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF RAMAN SPECTROSCOPY TO AQUEOUS SYSTEMS

ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF RAMAN SPECTROSCOPY TO AQUEOUS SYSTEMS

Citation:

Williams, T. L. AND T W. Collette. ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF RAMAN SPECTROSCOPY TO AQUEOUS SYSTEMS. Chapter 17, Lewis, I.R. and H.G.M. Edwards (ed.), Handbook of Raman Spectroscopy. Marcel Dekker Incorporated, New York, NY, , 683-731, (2001).

Impact/Purpose:

Elucidate and model the underlying processes (physical, chemical, enzymatic, biological, and geochemical) that describe the species-specific transformation and transport of organic contaminants and nutrients in environmental and biological systems. Develop and integrate chemical behavior parameterization models (e.g., SPARC), chemical-process models, and ecosystem-characterization models into reactive-transport models.

Contact

[NERLScience](#)

email: nerlscience@epa.gov

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=65880&Lab=NERL

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE



The aim of this chapter is to demonstrate the great potential that the Raman spectroscopic technique offers for environmental applications, particularly to aqueous systems. We demonstrate the benefits of the technique relative to other information-rich spectroscopic techniques, in light of the immense advances that have taken place in Raman instrumentation in the decade preceding this writing. Also, we provide our perspective on the current limitations of the technique and offer suggestions for potentially fruitful avenues of research and development for increasing the value of Raman spectroscopy (RS) for environmental applications.

We will demonstrate the benefits of the technique by reviewing environmental applications of RS to aqueous systems. The most recent reviews that cover this area were published in the early 1980s by Lynch and Brown [1], Gracile et al. [2], and Van Haverbeke and Brown [3]. Since that time, instrumentation for RS has undergone much development and improvement, and this is reflected in the resurgence of this technique to addressing environmental problems in aqueous systems. Our discussion and review of research in this area includes normal Raman spectroscopy (NRS), resonance Raman spectroscopy (RRS), surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), and the coupling of these methods to various separation techniques.

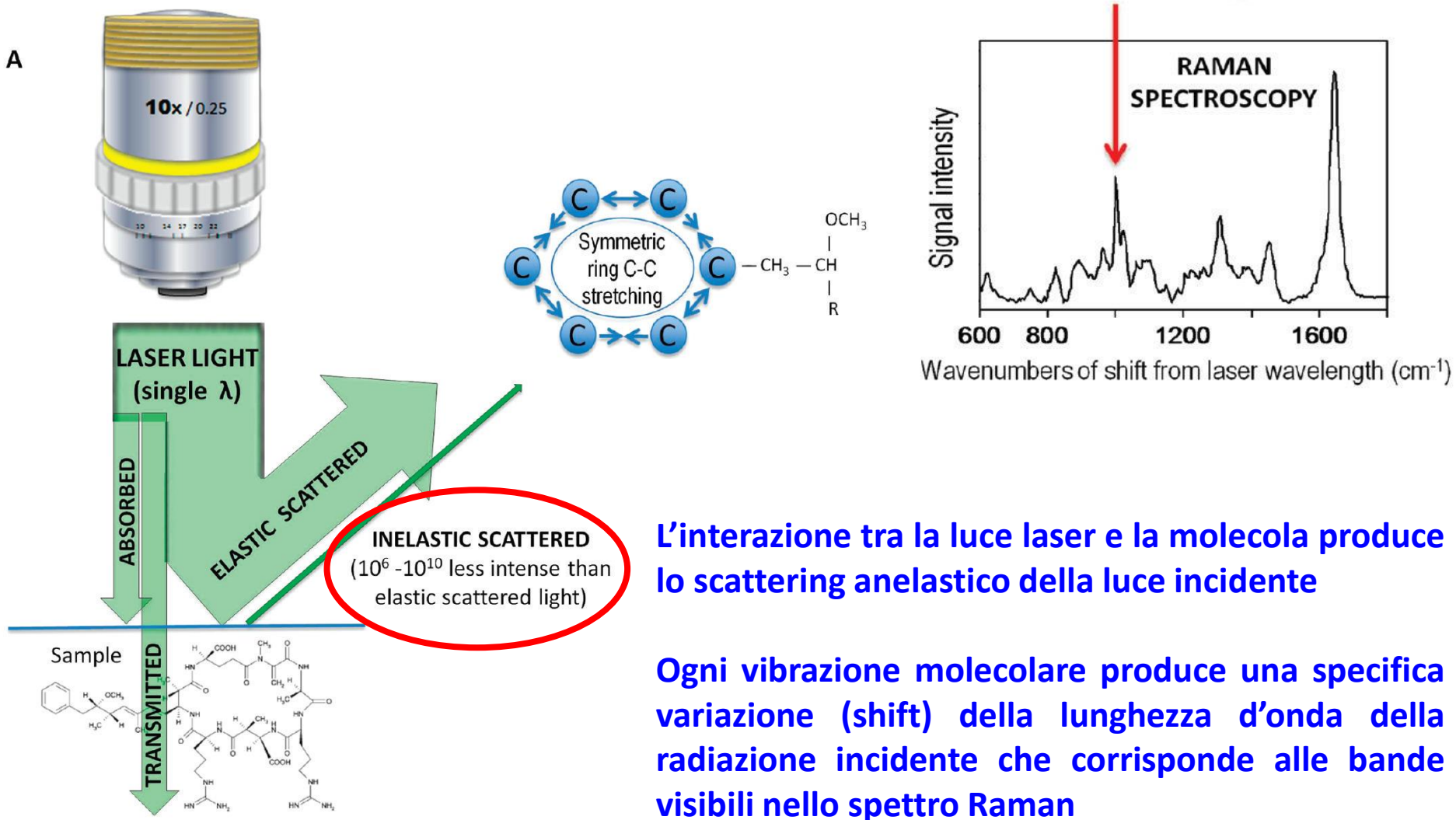
Typically, environmental analysis is categorized according to the media in which the analysis is made, namely air, water, and soil. Although the advantages of RS are perhaps most important for aqueous systems, the technique has also been widely applied to air analysis, especially in the remote analysis of pollutants, with a range of up to several kilometers. In fact, approximately 150 articles devoted to this topic have been published since 1990. Many of these studies involve Raman-based light detection and ranging (LIDAR). In particular, smoke-stack emission studies have been an area of considerable

potential for these techniques and much of the work has involved simple inorganic species (e.g., NO, SO₂, NO₂, CO₂, and HS). Due to the extent of work in this area and the focus on the analysis of a limited set of simple inorganic chemical species, Raman-based LIDAR has developed into a mature field somewhat apart from the development of the general-purpose Raman spectrometer. For this reason, we have chosen to omit the development and application of Raman-based LIDAR (and related techniques) from our literature review and focus, instead, on aqueous systems. Moreover, LIDAR and related techniques have been reviewed thoroughly in recent years (e.g., see Panne et al. [4]). However, many of our comments that follow regarding the benefits of Raman (e.g., tolerance of water and high information content) apply to ambient-air analysis as well. Also, it should be noted that we have omitted nonlinear Raman techniques from our review and discussion. Although some of these techniques [most notably coherent anti-Stokes Raman spectroscopy (CARS) e.g., Refs. 5-8] show promise for environmental applications, progress in this has been slow.

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=65880&Lab=NERL

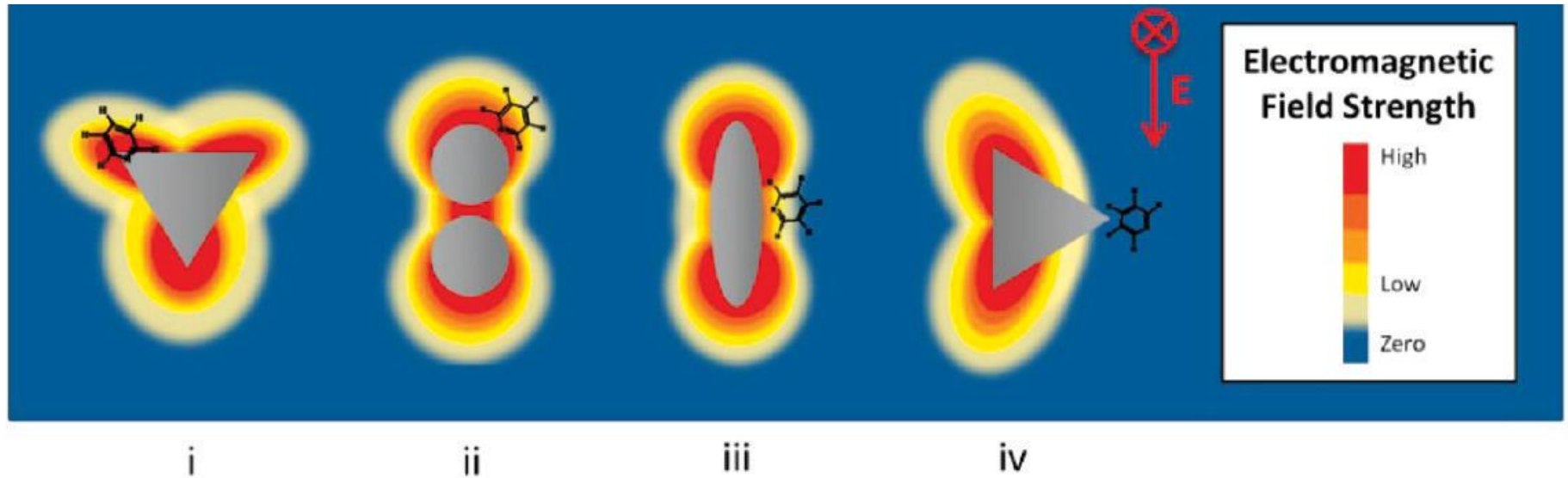
METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)

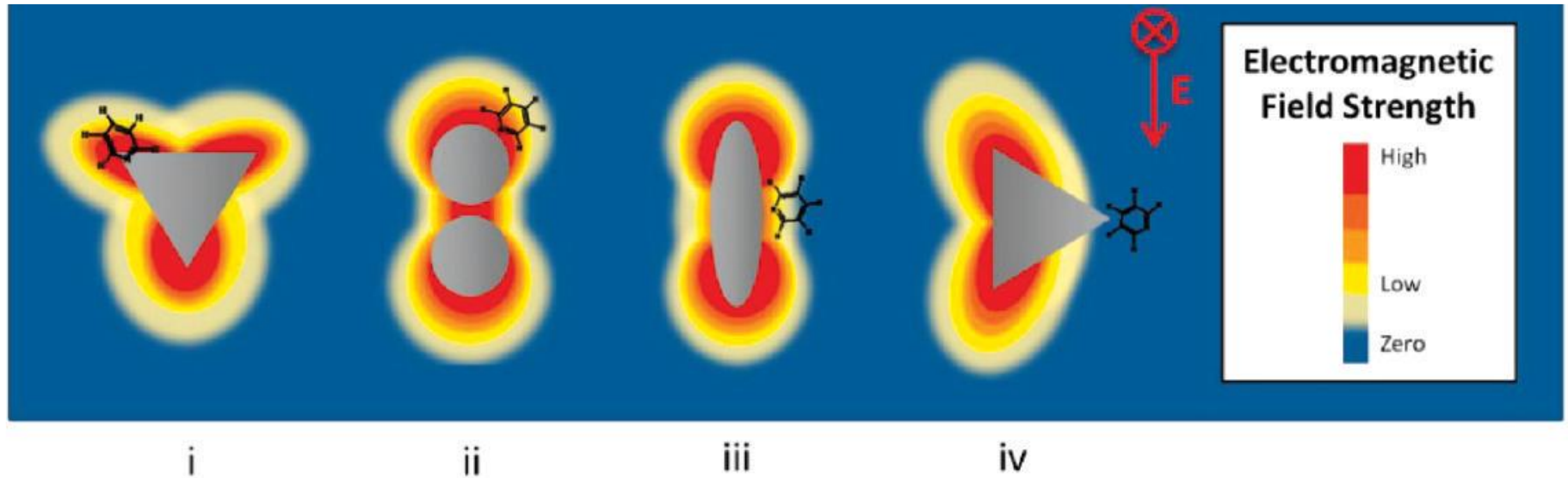


Il campione da analizzare viene stratificato su di una superficie: tipicamente una lastra di argento oppure oro, o uno strato di nanoparticelle metalliche

Il meccanismo alla base del fenomeno SERS non è ancora del tutto chiarito, tuttavia l'aumento di intensità ($\approx 10^4$ - 10^6) dipende dalla combinazione di meccanismi elettromagnetici (EM), di trasferimento di carica (charge transfer, CT), e di risonanza

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)

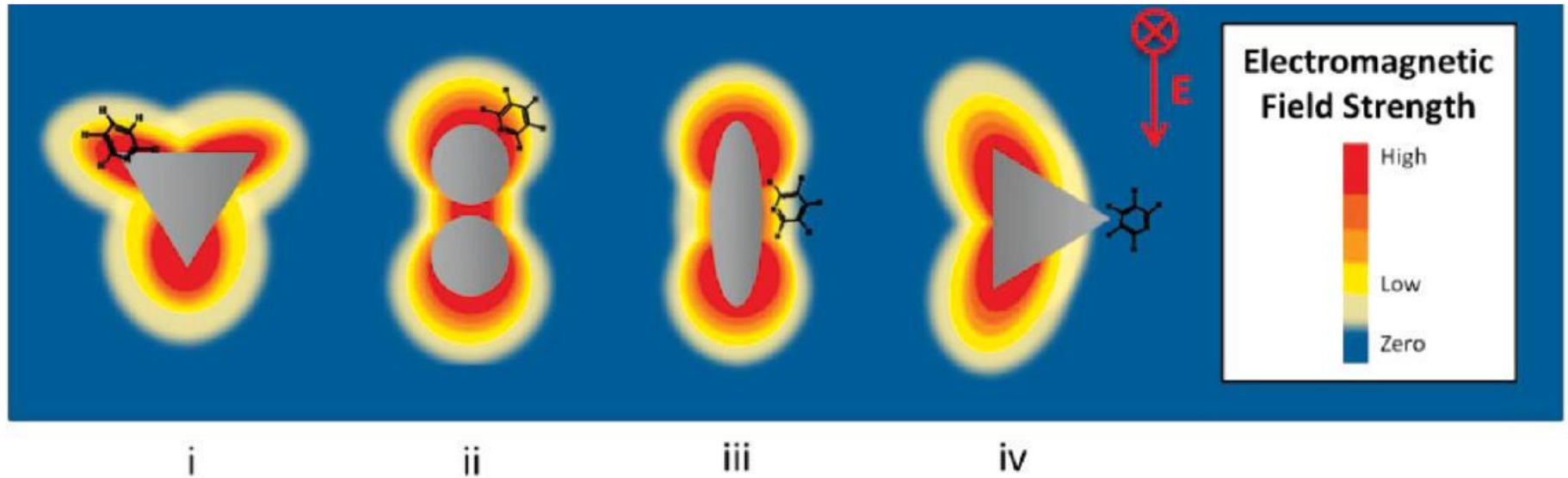


Meccanismo EM:

- La luce laser provoca una eccitazione degli elettroni sulla superficie
- Gli elettroni eccitati oscillano ed in tal modo generano un campo magnetico che si estende fino a 20 nm dalla superficie
- Il campo magnetico così generato aumenta i segnali Raman delle molecole di un fattore di 10^4

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)



Meccanismo CT:

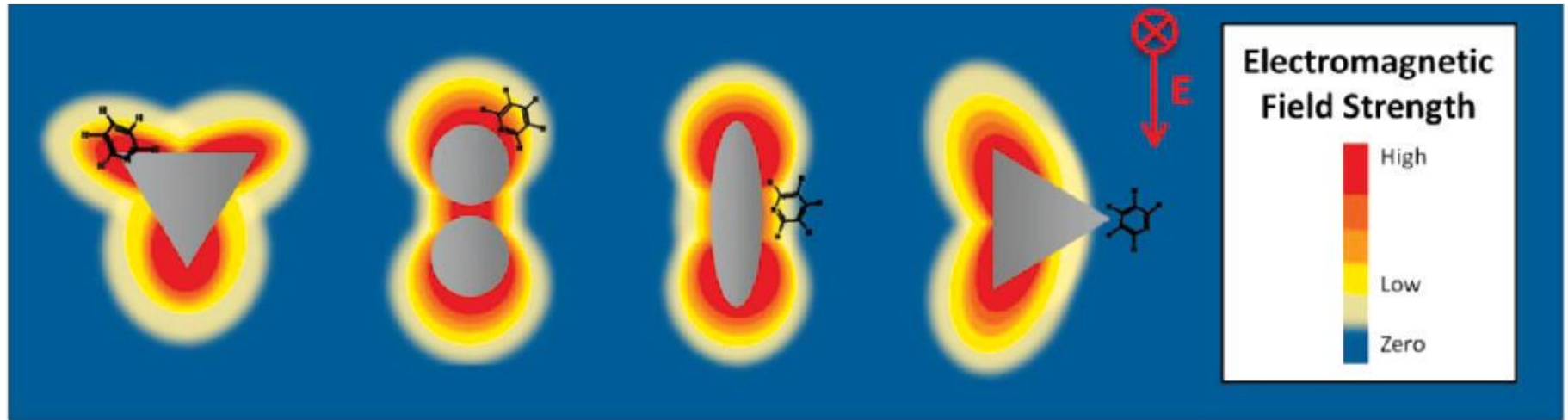
- L'eccitazione con il laser provoca anche un trasferimento di elettroni tra la superficie metallica ed il composto da analizzare; tale trasferimento provoca un ulteriore aumento del segnale Raman di circa 10-100 volte

Risonanza:

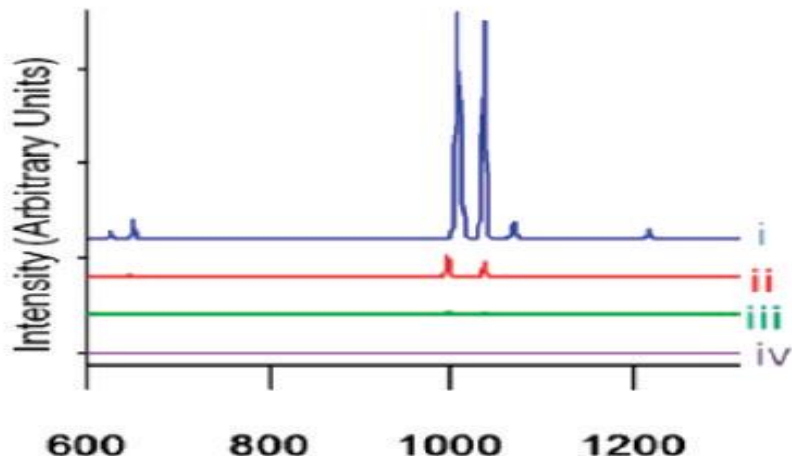
- Tale fenomeno, che anch'esso provoca aumento di segnale, può verificarsi qualora la lunghezza d'onda del laser sia prossima alla λ di eccitazione di transizioni elettroniche del composto

METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)



Expected SERS spectra for pyridine on nanostructures i, ii, iii, and iv

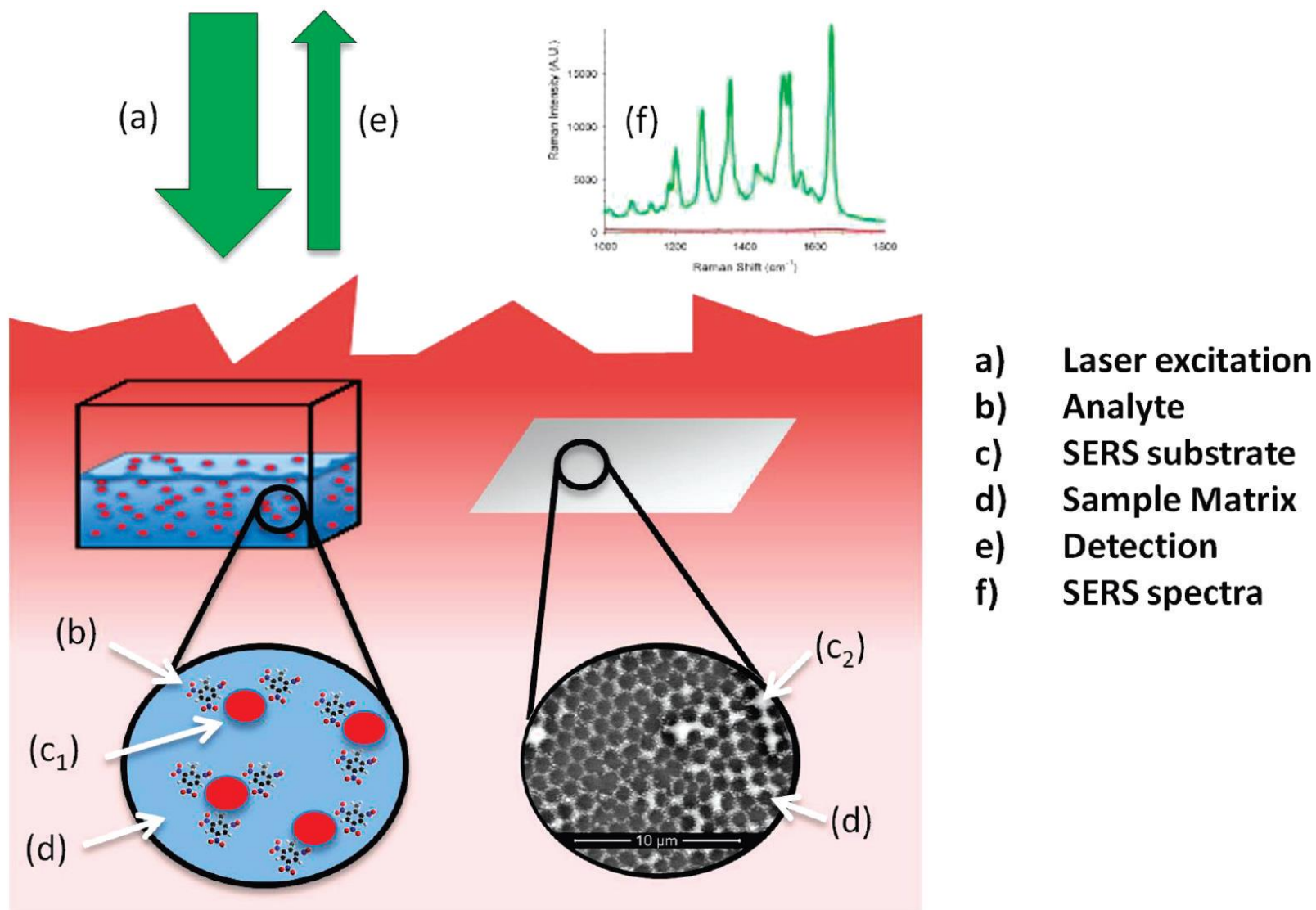


La forma, dimensione e la prossimità con altre particelle influenzano il campo elettromagnetico (EM) che si forma attorno alla nanoparticella metallica

L'aumento di intensità di segnale sarà maggiore per le molecole che subiscono sia effetti EM che CT, mentre molecole che ricadono al di fuori del campo magnetico daranno segnali meno intensi

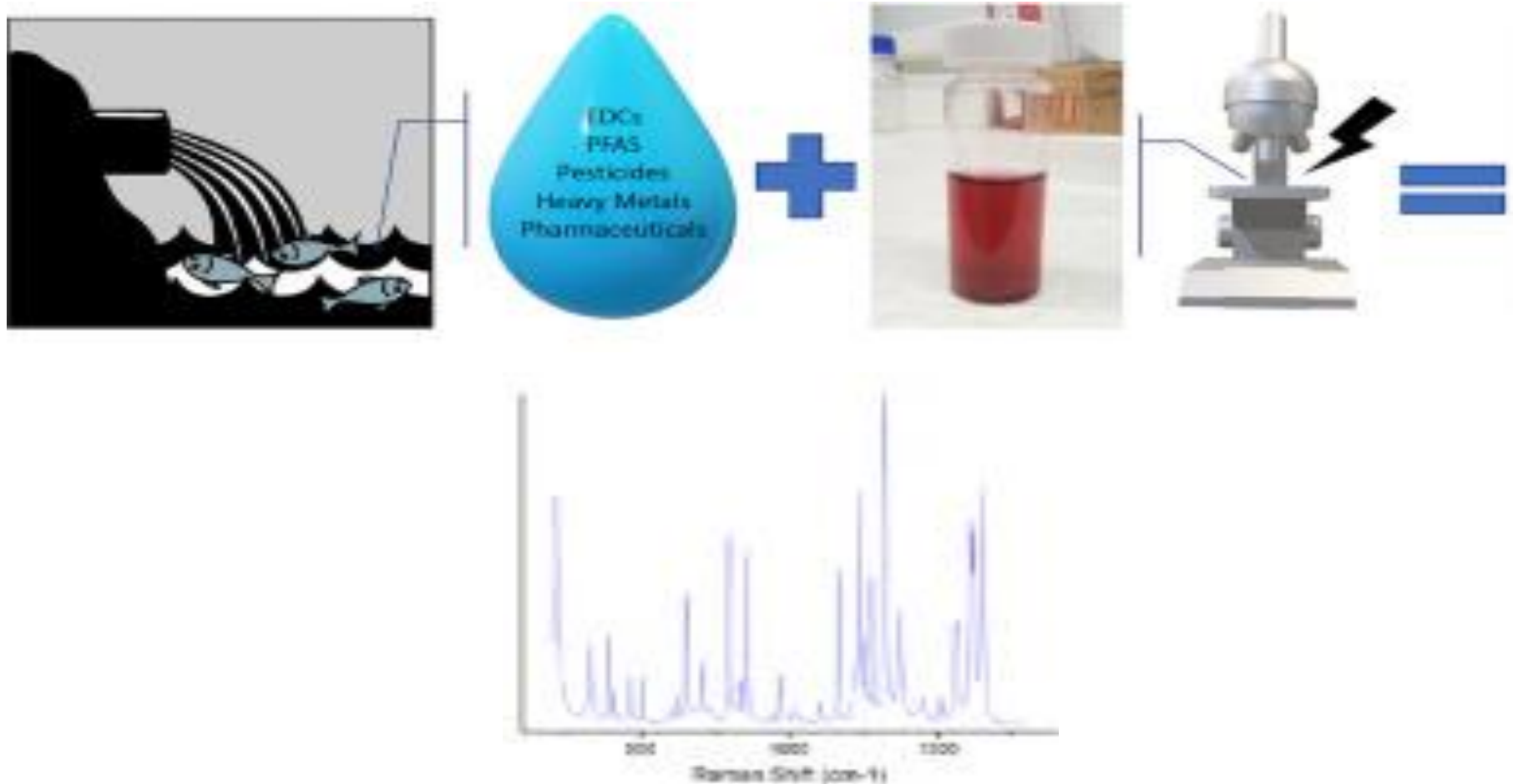
METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)



METODI SPETTROSCOPICI PER LO STUDIO DI SISTEMI CELLULARI

SPETTROSCOPIA RAMAN AMPLIFICATA DA SUPERFICI (SERS)



FONTE: Ong et al. 2020 (materiale integrativo file: RAMAN_SERS_APPLICAZIONI)

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di metalli pesanti

Table 1

Tabulated literature results for SERS detection of heavy metals.

SERS substrate characteristics	Targeted analyte	Excitation wavelength	Integration time	Sensitivity	Sample medium	Ref.
Silver NPs deposited onto Zinc Oxide nanoarray	Hg ²⁺	785 nm	5 s	0.4 µg/L	SERS substrate	(Kandjani et al., 2015)
Conjugation of ferbam to aggregated Ag NPs via incubation, then centrifugation	Ag NP	780 nm	2 s	0.1 µg/L	Dried precipitate on Au slide	(Guo et al., 2016b)
Conjugation of ferbam to aggregated Ag NPs via filtration through single membrane	Ag NP	780 nm	2 s	5 µg/L	Filtration membrane	(Guo et al., 2016b)
Thymine-adsorbed Au Nanorods	Hg ²⁺	632.8 nm	10 s	20 ng/L	Pure water	(Yang et al., 2017a)
Thymine-adsorbed Au Nanorods	Hg ²⁺	632.8 nm	10 s	1 µg/L	River water	(Yang et al., 2017a)
Ag NPs in CoFe ₂ O ₄ shell modified with single-stranded DNA and single-walled carbon nanotubes on NP surface	Hg ²⁺	532 nm	10 s	16.9 µg/L	River water	(Yang et al., 2017b)
4-MPY-modified hydroxylamine Ag NPs incubated with spermine	Hg ²⁺	632.8 nm	4 s	6.1 µg/L	Deionised water	(Chen et al., 2014)
Conjugation of ferbam to aggregated Ag NPs via incubation, then centrifugation	Ag NP	780 nm	2 s	0.1 µg/L	Pond water dried on Au slide	(Guo et al., 2016a)
Conjugation of ferbam to aggregated Ag NPs via incubation, then centrifugation	Ag NP	780 nm	2 s	0.5 µg/L	Spinach juice dried on Au slide	(Guo et al., 2016a)

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di farmaci

Table 2

Tabulated literature results for SERS detection of pharmaceuticals.

SERS substrate characteristics	Targeted analyte	Excitation wavelength	Integration time	Sensitivity ^a	Sample medium
Silver-core gold-shell spheroidal NPs	α -Hydroxyalprazolam	830 nm	5 s	0.33 $\mu\text{g/L}$	Human blood
Citrate-reduced gold NPs	Propanolol	785 nm	23 s	2.36 $\mu\text{g/L}$	Solution
Citrate-reduced silver NPs	Mephedrone	633 nm	20 s	1.60 $\mu\text{g/L}$	Solution
Chitosan-reduced gold NP film	Paracetamol	633 nm	10 s	151.16 $\mu\text{g/L}$	Dried on SERS substrate
Magnetron-sputtered silver nanorod chips	Methamphetamine + amphetamine	785 nm	10 s	50 $\mu\text{g/L}$	Dried urine on SERS substrate

^a Original values in $\mu\text{M/pM}$. Units converted here to parts-per notation for easy comparison between experiments.

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di interferenti endocrini

Istituto Superiore di Sanità

Interferenti endocrini nelle acque da destinare al consumo umano in Italia: strumenti metodologici per un'indagine conoscitiva estesa a diversi sistemi idrici.

A cura di Laura Achene, Sara Bogialli, Luca Lucentini, Paola Pettine e Massimo Ottaviani

2011, iii, 84 p. Rapporti ISTISAN 11/18

Gli interferenti endocrini sono un gruppo di sostanze chimiche, sia naturali che sintetiche, presenti nell'ambiente e sospettate di alterare la funzione del sistema endocrino e conseguentemente di causare effetti avversi sugli organismi. L'evidenza di un'associazione fra esposizione a sostanze in grado di interagire con il sistema endocrino (interferenti endocrini) e patologie umane quali infertilità e poliabortività, disturbi neurocomportamentali o pubertà precoce ha indirizzato, negli anni recenti, molteplici attività di ricerca volte ad approfondire le conoscenze sulle potenziali vie e modalità di esposizione della popolazione a tali sostanze. In tale contesto risultava necessario e urgente approfondire lo stato delle conoscenze sul ruolo delle acque destinate al consumo umano quale possibile fonte di esposizione agli interferenti endocrini in Italia, esigenza cui lo studio, promosso da Fondazione AMGA, ha dato, in via preliminare, alcune importanti risposte.

FONTE: Istituto Superiore di Sanità

https://www.iss.it/documents/20126/45616/11_18_web.pdf/7198721b-5aaf-0ec7-8985-b9ee336faf0f?t=1581098775079

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di interferenti endocrini

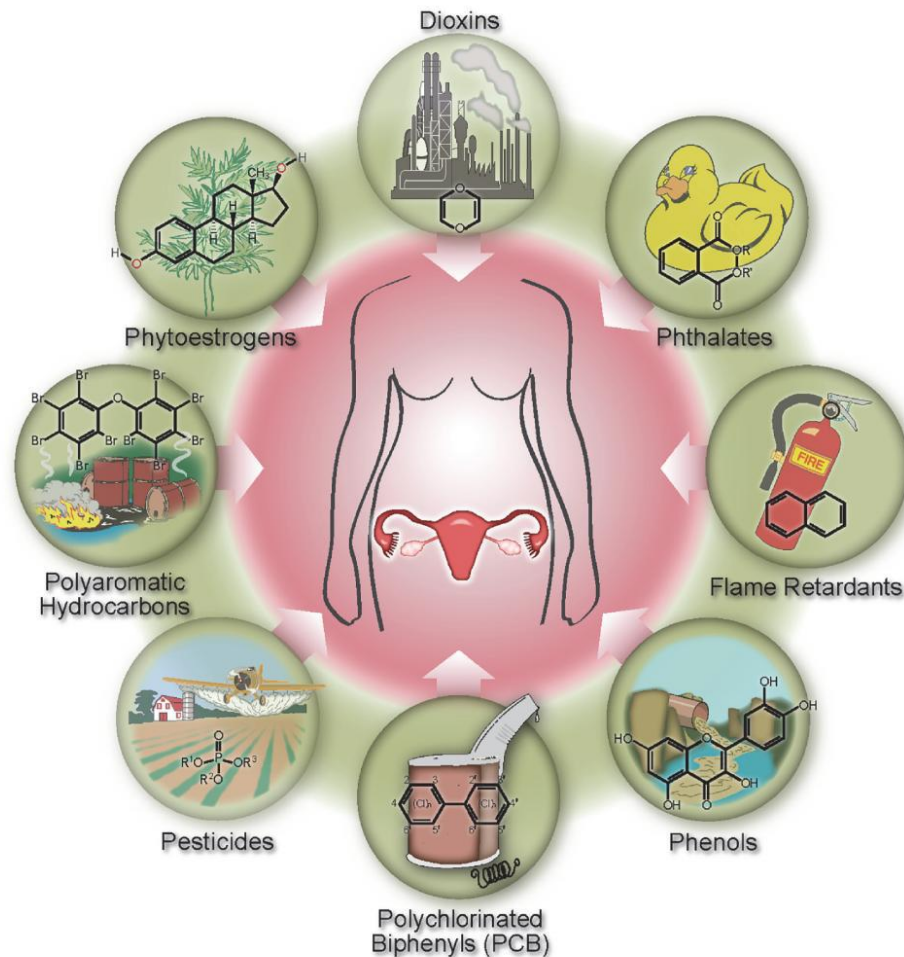


Figure 1. Evaluating groups of endocrine disrupting chemicals and their potential impact on female reproduction.

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di interferenti endocrini

Per quanto riguarda l'Italia, anche nel nostro paese vi è un grande interesse per i problemi relativi agli IE. Attualmente l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con il Reparto di Igiene delle Acque Interne del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria è impegnato in un progetto di ricerca riguardante lo studio degli "Interferenti endocrini nelle acque destinate al consumo umano", promosso e coordinato dalla Fondazione AMGA e dal Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università di Genova, con l'obiettivo di approfondire lo stato delle conoscenze sul potenziale impatto degli IE sui sistemi idrici, con particolare riguardo alle acque da destinare e destinate al consumo umano. Sulla base delle informazioni scientifiche emerse dal rapporto europeo del 2003, l'attenzione iniziale è stata focalizzata su alcune classi di composti con attività di IE, quali ormoni naturali e sintetici (17 β -estradiolo, estrone, 17 α -etinilestradiolo), gli alchilfenoli (4-n-nonilfenolo, 4-tert-octilfenolo) e il bisfenolo A. Per il monitoraggio di queste sostanze, sono stati valutati alcuni casi-studio rappresentativi di diverse realtà acquedottistiche italiane, privilegiando le acque di captazione di tipo superficiale, considerate le più vulnerabili alle contaminazioni. Le indagini fino ad ora eseguite indicano che i livelli di IE riscontrati nell'acqua destinata al consumo umano non sono singolarmente significativi per quanto riguarda l'impatto sulla salute umana tuttavia, non deve essere sottovalutato il potenziale rischio per effetti additivi, antagonisti, sinergici conseguenti all'esposizione a miscele di IE.

FONTE: Istituto Superiore di Sanità

https://www.iss.it/documents/20126/45616/11_18_web.pdf/7198721b-5aaf-0ec7-8985-b9ee336faf0f?t=1581098775079

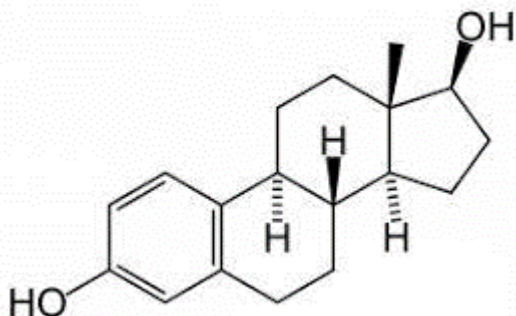
SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di interferenti endocrini

Table 3

Tabulated literature results for SERS detection of hormones and endocrine disrupting compounds.

SERS substrate characteristics	Targeted analyte	Excitation wavelength	Integration time	Sensitivity ^a	Sample medium
Au@Ag core shell NP labelled with 4-MBA and 17 β -estradiol aptamer	17 β -estradiol	532 nm	5 s	13.62 ng/L	Distilled water
Au@Ag core shell NP labelled with 4-MBA and 17 β -estradiol aptamer	17 β -estradiol	532 nm	5 s	0.35 μ g/L	Filtered river water
Au NPs labelled with MGITC and 17 β -estradiol-specific nanotags conjugated to magnetic beads with anti-17 β -estradiol antibodies	17 β -estradiol	632.8 nm	1 s	0.65 ng/L	Human serum



Prodotto naturalmente dal metabolismo umano, è anche un prodotto di sintesi usato per la produzione di farmaci e può accumularsi nelle acque come prodotto di scarto non smaltito in modo corretto

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di composti perfluorurati

Table 4

Tabulated literature results for SERS detection of PFCs.

SERS substrate characteristics	Targeted analyte	Excitation wavelength	Integration time	Sensitivity ^a	Sample medium
Ag nanospheres on graphene oxide surface membrane with ethyl violet dye	ethyl violet (ion paired to PFOA)	532 nm	5 s	50 µg/L	Graphene oxide-coated silicon surface
Ag nanospheres with ethyl violet dye	PFOA	532 nm	5 s	500 µg/L	Silicon surface

An emerging environmental contaminant of high concern, perfluorinated compounds (PFCs) are synthetic organic hydrocarbon compounds where the hydrogens in the alkyl chain are replaced by fluorine atoms. Manufactured for over 50 years and designed to be extremely stable perfluorinated compounds have found ubiquitous use in modern society, such as in firefighting foams, water-resistant clothing, and cooking utensils (Stahl et al., 2011). It is because of this usefulness in society and the inherent strength of its carbon-fluorine backbone that that perfluorinated compounds persist in the environment and likely bioaccumulate (Stahl et al., 2011).

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di pesticidi

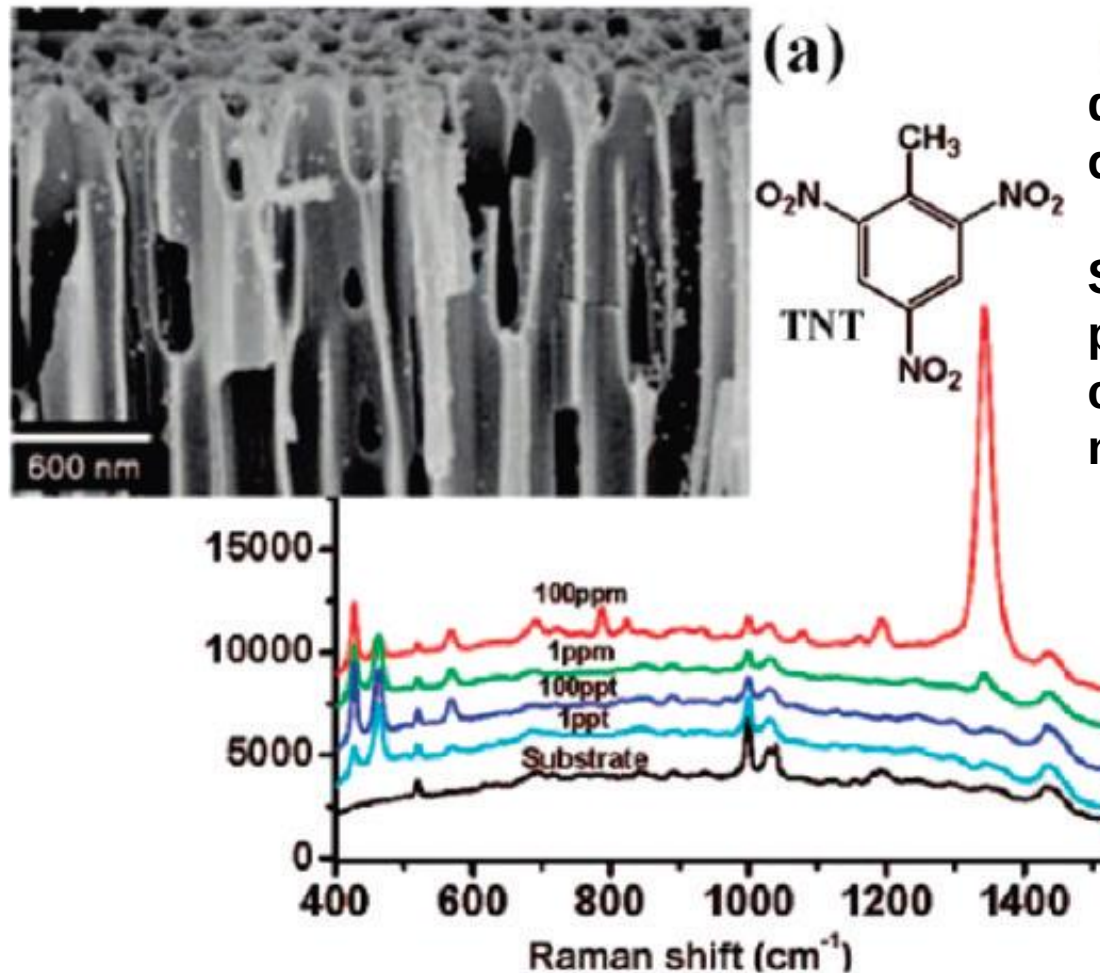
Table 5

Tabulated literature results of SERS detection of pesticides.

SERS substrate characteristics	Targeted analyte	Excitation wavelength	Integration time	Sensitivity ^a	Sample medium
Citrate-reduced AuNP immobilised onto UF membrane	Thiabendazole	785 nm	1 s	1 mg/L ^b	Solution
Citrate-reduced AuNP immobilised onto UF membrane	Thiabendazole	785 nm	1 s	125 µg/L ^b	Solution
Citrate-reduced AuNP	Various pesticides ^c	780 nm	2 s	0.25 mg/L to 0.5 mg/L	Tea leaf
Citrate-reduced AuNP	Various pesticides ^c	780 nm	2 s	0.01 mg/L to 0.02 mg/L	Apple peel
Laser-annealed Au films / PLD-deposited 3D Au nanostructures in air / Laser-ablated AuNP	DDT	785 nm	10 s	340 mg/L ^d	Solution on silicon
Laser-annealed Au films / PLD-deposited 3D Au nanostructures in air / Laser-ablated AuNP	Ammonium nitrate	785 nm	10 s	50 mg/L ^d	Solution on silicon
Hybrid Au nanorod and Azo AuNP assembly	NO ₂ ⁻ ions	785 nm	20 s	36.8 µg/L ^b	Silicon wafer
Citrate-reduced AuNP	Phosmet	780 nm	2 s	0.5 mg/L	Silicon wafer
Citrate-reduced AuNP	Thiabendazole	780 nm	2 s	0.1 mg/L	Silicon wafer

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di TNT (trinitrotoluene)

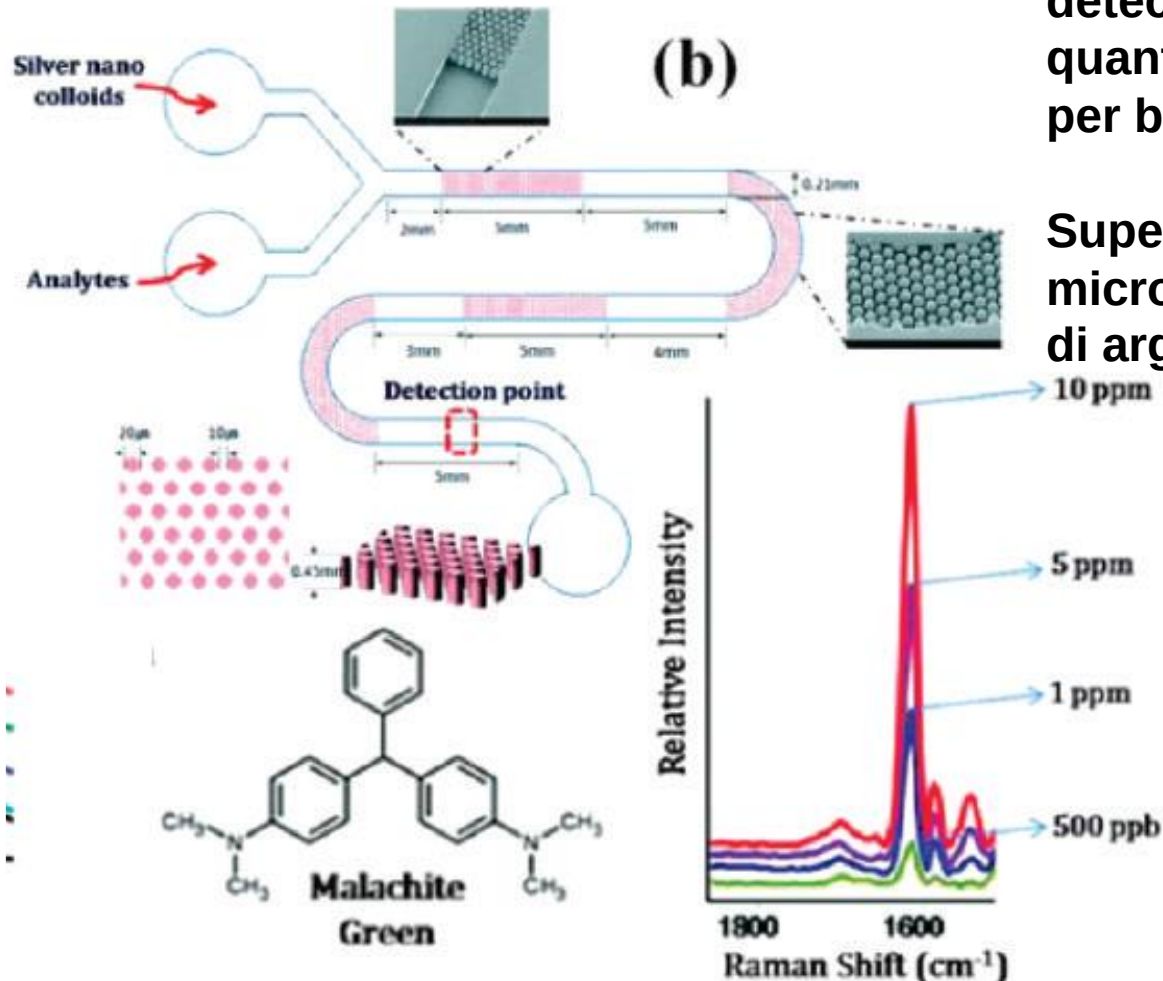


detection di TNT in quantità dell'ordine degli zeptogrammi

Superficie usata: membrana porosa in allumina ricoperta con polielettroliti e nanoparticelle di oro

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di Verde Malachite

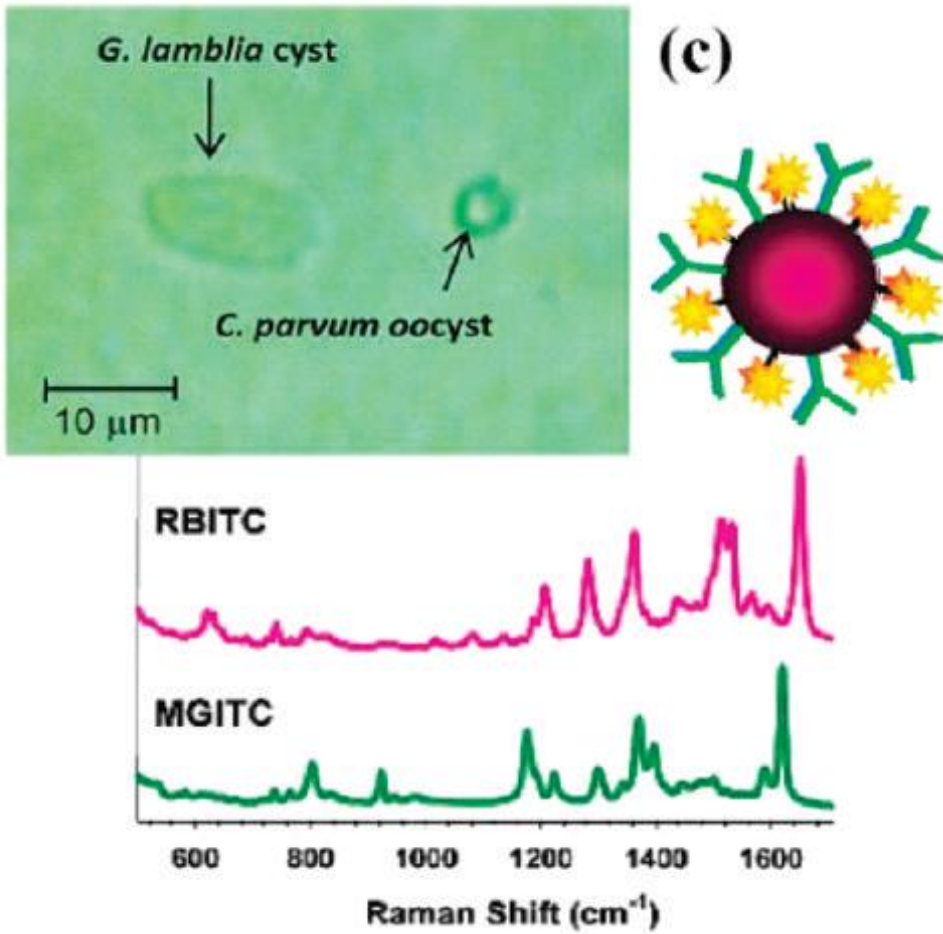


detection di verde malachite in
quantità dell'ordine delle parti
per bilione

Superficie usata: device
microfluidico con nanoparticelle
di argento

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di patogeni microbici



detection di *Cryptosporidium* e *Giardia*

Superficie usata: nanoparticelle di oro con anticorpi e coloranti SERS-attivi

SPETTROSCOPIA RAMAN: APPLICAZIONI IN CAMPO AMBIENTALE

Identificazione e dosaggio di analiti nell'ambiente

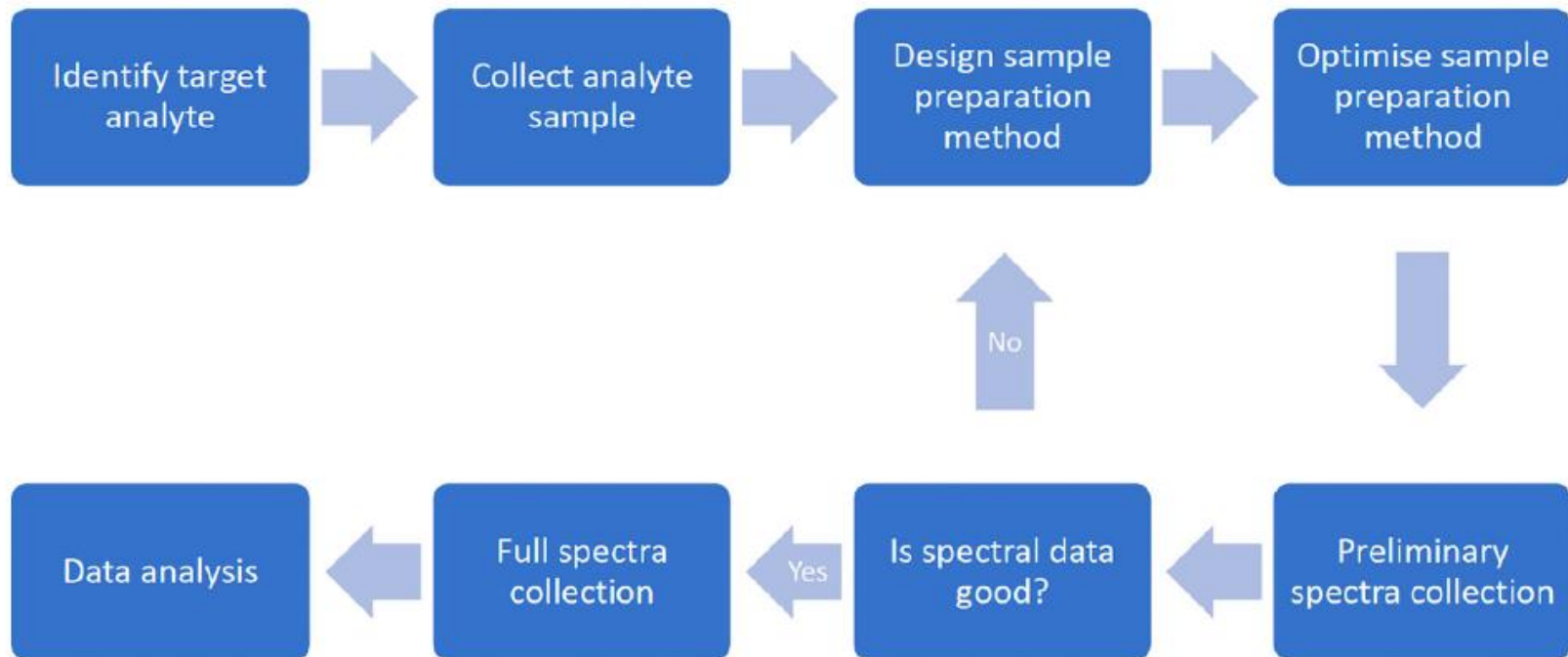


Fig. 2. Possible SERS workflow.