



di Maria Grazia Giorgini

Dipartimento di Chimica Industriale, Università di Bologna

Armida Torreggiani

Istituto per la Sintesi Organica e la Fotoreattività, ISOF-CNR

Giuseppe Compagnini

Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Catania

II CONGRESSO NAZIONALE DI SPETTROSCOPIA RAMAN ED EFFETTI OTTICI NON LINEARI

Nel giugno 2012, a pochi giorni dagli eventi sismici dell'Emilia della fine di maggio 2012, si sono ritrovati a Bologna, nell'ambito delle iniziative del Gruppo Interdivisionale di Spettroscopia Raman (GISR) della SCI, un consistente gruppo di ricercatori, italiani e non, coinvolti in vari modi, e da tempi più o meno lunghi, in ricerche che interessano la spettroscopia Raman ed il campo degli effetti ottici non lineari. Questo breve resoconto intende dare un'idea degli argomenti trattati al congresso e delle prospettive della ricerca italiana in questo settore.

La spettroscopia Raman è stata coltivata a Bologna fin dalla scoperta dell'effetto (1928), come testimoniato da alcuni lavori pubblicati da G.B. Bonino (*Nature*, 1930, **126**, 915) ed ha avuto larga eco in tutta Italia grazie anche ai lavori di Franco Rasetti (fisico del celeberrimo gruppo di Via Panisperna) con le prime osservazioni di spettri Raman in gas (1928, subito dopo l'annuncio della scoperta dell'effetto). Particolarmente rilevante è stato lo studio di molecole di $^{14}\text{N}_2$ i cui risultati sono ritenuti un'incontrovertibile evidenza sperimentale dell'esistenza del neutrone nel nucleo atomico.

Dei circa 60 contributi presentati al congresso, tre sono stati offerti in forma di lezione plenaria, circa trenta in forma di presentazione orale ed altrettanti in forma di poster. Hanno riguardato ricerche scientifiche in corso in laboratori di ricerca italiani e stranieri sui vari modi di declinare la spettroscopia Raman e finalizzarla alla caratterizzazione su scala microscopica di differenti tipologie di materiali e differenti tipi di processi dinamici nella scala dai pico ai nanosecondi.

Importanti case produttrici di strumenti ed accessori Raman hanno partecipato ed esibito i loro strumenti e generosamente supportato il Congresso. La rivista '*Journal of Raman Spectroscopy*' produrrà per l'occasione un numero speciale dedicato al Congresso nel quale saranno raccolti alcuni dei lavori presentati.

Argomenti di grande interesse e di forte carattere innovativo sono stati quelli presentati nelle relazioni plenarie.

B. Pettinger (Fritz-Haber Institute, Berlino, Germania) nella conferenza intitolata '*Recent progress in Tip-Enhanced Raman Spectroscopy*' ha illustrato gli aspetti fondamentali ed i vantaggi offerti dall'uso di una tecnica ottica di near-field (Tip-Enhanced Raman Spectroscopy, TERS) nella esaltazione del segnale Raman (fino a 10^6) per la rivelazione su scala nanometrica di specie adsorbite su superfici solide.

P. Foggi (LENS, Firenze, Italia) ha tenuto una conferenza dal titolo '*Non-linear vibrational spectroscopy: expanding infrared capabilities*' in cui ha mostrato come si possa realizzare la separazione dei differenti processi di-

namici presenti in un sistema complesso facendo ricorso ad una spettroscopia bidimensionale (2D-IR) che può essere realizzata attraverso esperimenti ottici pump-probe e mostrando i risultati ottenuti per un dipeptide. G. Lanzani (IIT, Milano) nella sua conferenza dal titolo *Organic Photonics in lifesciences and technology* ci ha mostrato come le proprietà di molecole dotate di elettroni π delocalizzati possono essere vantaggiosamente utilizzate in ambito tecnologico per applicazioni optoelettroniche ed in ambito biologico per la creazione di interfacce opto-neuronali nell'ambito del progetto per la costruzione di una retina artificiale.

Questo report intende offrire una panoramica degli argomenti trattati durante il Congresso allorché ricerca di base ed applicata hanno concorso nel dare una visione unitaria sulle direzioni attuali lungo le quali si muove la ricerca scientifica italiana.

Con i limiti che qualunque forma di categorizzazione comporta, i vari contributi orali e poster presentati a GISR2012 possono essere riferiti ai seguenti principali argomenti:

- Stato solido e materiali
- Soft matter e sistemi liquidi complessi
- Sistemi molecolari di interesse biologico
- Sistemi di interesse artistico
- SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)
- Spettroscopia transiente bidimensionale
- Spettroscopia computazionale
- Tecnologia ed applicazioni industriali
- Avanzamenti nelle metodologie strumentali.

Stato solido e materiali

Le problematiche relative alla produzione del grafene per mezzo di ablazione laser in ambiente liquido e per deposizione su superfici solide attraverso Chemical Vapor Deposition (CVD) e le modalità per la caratterizzazione del materiale così ottenuto attraverso la Spettroscopia Raman, sono state affrontate in due contributi orali e in alcuni poster. In un altro contributo poster sono stati discussi gli effetti di orientamento e trasferimento di carica che il grafene, prodotto in ambiente liquido, produce sulle molecole d'acqua dell'interfaccia.

Il problema della determinazione e caratterizzazione spettroscopica di polimorfi in cristalli molecolari è stato discusso in due contributi in cui è stato mostrato come essi possano essere identificati attraverso l'analisi dello spettro micro-Raman nella regione spettrale dei fononi reticolari fino a bassissime frequenze. Alcuni autori hanno trattato alcuni semiconduttori organici, fra cui il dibenzo-tetratiofulvalene (DB-TTF), oltre all'1,1,4,4-tetraphenyl butadiene (TPB) di cui un polimorfo ha suscitato particolare interesse in quanto, manifestando emissione spontanea amplificata, potrebbe risultare d'interesse nella tecnologia dei laser. Alcuni contributi sia orali che poster hanno riferito su studi di spettroscopia Raman di molecole costituite da lunghe catene

polimeriche, dotate di elevata coniugazione π (poliini e cumuleni), sistemi d'interesse nell'ambito dell'ottica non lineare oltre che componenti fondamentali di prodotti naturali, come il pigmento rosso del corallo. In questo contesto è stato messo in luce il ruolo chiave che il trasferimento di carica gioca nel determinare le proprietà di queste catene in interazione con nano particelle di Au e Ag. Infine, è stato illustrato uno studio di spettroscopia Raman che ha permesso di seguire la reazione fotochimica da cristallo a cristallo, da 9,10-dinitroantracene ad antrachinone, attraverso gli effetti che i cambiamenti strutturali della cella elementare di reagenti e prodotti provocano sullo spettro di fononi ottici reticolari.

Sistemi molecolari di interesse biologico

La sessione dedicata alle molecole biologiche ha presentato un interessante contributo riguardante la determinazione, tramite spettroscopia micro-Raman, di materiali fibrosi (amianto e altri minerali asbestiformi) in tessuti biologici, utilizzando come campioni sezioni sottili senza necessità di trattamenti di digestione del materiale biologico, come invece richiesto dalle metodologie convenzionali (SEM-TEM/EDS).

Un secondo innovativo contributo ha riguardato l'imaging chimico di singole cellule e tessuti, ottenuto con spettroscopia micro-Raman e analisi statistiche sia multivariata, basata sull'approccio PCA (principal component analysis) sia di cluster, che permettono l'estrazione delle informazioni essenziali da un'enorme mole di dati.

Lo studio delle interazioni citocromo c-cardiolipina è stato affrontato in un altro contributo, analizzando lo spettro di risonanza Raman della proteina tal quale e di mutanti con sostituzione di amminoacidi carichi e aromatici, presumibilmente coinvolti nella stabilizzazione del complesso. Sempre nell'ambito dello studio di peptidi, le spettroscopie Raman e IR sono state utilizzate per caratterizzare le modificazioni indotte da stress radicalico su oligopeptidi per ingegneria tissutale, in particolare per quanto riguarda le variazioni di struttura secondaria, estremamente importante per il loro uso come biomateriali. Alcuni contributi poster hanno riguardato la caratterizzazione micro- e macroscopica dell'aggregazione termica del lisozima, della struttura secondaria e terziaria di proteine alimentari (la gliadina, uno dei costituenti principali del glutine, e la lattoglobulina bovina, proteina modello dei maggiori componenti del latte) e le variazioni indotte per interazione con antociani (gliadina) o l'ag-



Fig. 1 - Visione d'insieme dei partecipanti al Congresso

gregazione termica in presenza di ioni metallici (lattoglobulina); un altro contributo molto interessante ha riguardato lo sviluppo di un sensore chimico per monitorare, tramite la tecnica SERS, la concentrazione di benzofenoni negli alimenti, riuscendo ad ottenere una curva di calibrazione nell'intervallo 0-200 μM .

Soft matter e liquidi complessi

Sono stati riportati studi di spettroscopia Rayleigh depolarizzata, Raman e IR sul comportamento strutturale e dinamico di liquidi complessi considerati in contesti profondamente diversi come il caso di solventi organici in presenza di ioni in soluzioni elettrolitiche oppure quello dell'acqua in differenti sistemi, da nanopugne a base di ciclostreine (CDN) a biomolecole. In quest'ultimo caso è stato mostrato come, grazie all'applicazione della spettroscopia Rayleigh su un esteso range di frequenze (EDLS), sia possibile riconoscere regimi dinamici molto diversi fra loro e separare il comportamento dell'acqua bulk da quella "biologica". Allo stesso modo l'uso congiunto di spettri Raman e IR (nella variante ATR-FTIR) ha fornito indicazioni di una diversa dinamica vibrazionale dell'acqua "libera", "intermedia" e "legata" all'interno del network polimerico delle (CDN). Indagini spettroscopiche comparative in soluzioni elettrolitiche organiche e nel corrispondente solvente (acetone o carbonato di propilene) condotte sullo scattering Rayleigh depolarizzata rivelano il rallentamento dinamico prodotto dagli ioni sul solvente e quelle condotte sull'effetto di noncoincidenza della banda Raman (banda C=O) indicano il loro forte effetto di strutturazione nei confronti del solvente.

SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)

SERS è stato senza dubbio uno degli acronimi più frequentemente citato nel corso del congresso. Dopo l'introduzione a queste tecniche di near-field da parte di Pettinger in apertura del congresso, si sono susseguiti svariati contributi che hanno messo in luce la rilevanza del metodo in differenti ambiti, nella caratterizzazione strutturale di molecole push-pull oltre che nell'indagine analitica per l'elevato grado di sensibilità e di specificità che questa metodologia offre. È stato mostrato, infatti, come questo metodo possa essere applicato alla rivelazione di sostanze dopanti nello sport, di farmaci in soluzione fino alle concentrazioni bioattive (ppm), alla caratterizzazione di vetri funzionalizzati per applicazioni biomedicali, di coloranti organici in ambito artistico e, in ultima analisi, alla sensoristica molecolare. È stato sottolineato il ruolo che in questo metodo giocano i nanosistemi (aggregati di nanoparticelle) responsabili dell'esaltazione del segnale Raman; in particolare sono stati confrontati nanosistemi a forma sferica e stellata ed è stato illustrato un metodo di preparazione di nanosistemi di oro funzionalizzati per targeting, imaging e drug delivery su cellule tumorali.

Un'originale applicazione dell'esaltazione dello scattering Raman prodotto da nanoparticelle di Ag è quella presentata in un contributo riguardante l'identificazione, attraverso micro-Raman, di componenti chimici di pellicole di alcuni fotogrammi in cui il materiale organico da identificare si trova naturalmente mescolato con nano particelle di Ag.

Conservazione e restauro dei beni artistici

Questo è ormai un argomento obbligato nell'agenda di un qualunque congresso di spettroscopia Raman a maggior ragione se italiano, per l'imponente mole di beni artistici che il nostro Paese possiede. La tecnologia ha certamente aiutato con la commercializzazione di strumentazione molto flessibile che affianca, a quella da tavolo tipica di un laboratorio, quella portatile per indagini micro-Raman *in situ*.

A questo tema sono stati dedicati contributi di spettroscopia micro Raman e Raman di risonanza su un'estesa varietà di beni artistici, affiancate o meno da altre tecniche spettroscopiche.

Un'indagine non distruttiva condotta su frammenti della Bibbia di Théodulpe del IX ha permesso di identificare l'orceina (un colorante naturale) attraverso i dettagli spettrali propri dei fenoxazoni nel colorante. Studi di spettroscopia micro-Raman (affiancata da XRF e FT-IR) hanno riguardato microcampioni prelevati da superfici lapidee di statue classiche della Tribuna degli Uffizi (Fi, XVII secolo) che hanno permesso di riconoscere i vari tipi di stuccature restaurative succedutesi nel tempo. In un altro caso è stato possibile riconoscere che la grande varietà di colorazioni presenti in oggetti d'arte risultano in realtà dall'uso di pochi pigmenti attraverso loro mescolanze o differenti dimensioni cristalline. Ad uno di questi studi Raman, riguardante l'analisi contestuale di una serie di leganti organici tra i più comunemente usati nelle stesure pittoriche, è stata applicata l'analisi multivariata in componenti principali, segno che anche queste indagini, generalmente svolte in modo qualitativo, assumono un'affidabilità sempre più quantitativa.

Spettroscopia transiente bidimensionale

Alcuni contributi hanno riguardato esperimenti spettroscopici risolti in tempo condotti allo scopo di determinare i processi dinamici che hanno luogo nello stato elettronico fondamentale oltre che negli stati eccitati di complesse molecole organiche contenenti il gruppo carbonilico. Si tratta di esperimenti di spettroscopia infrarossa transiente (TRIR) e spettroscopia bidimensionale infrarossa transiente (T2D-IR) attraverso cui è stato valutato, in un caso, la natura dell'accoppiamento vibrazionale intramolecolare e delle interazioni soluto-solvente del blu-fenolo nello stato fondamentale e, in un altro, il contributo della solvatazione nello stato eccitato a trasferimento di carica in un composto carotenoide.

Tecnologia ed applicazioni industriali

Sebbene molti degli argomenti esposti siano già di potenziale interesse tecnologico, alcuni interventi sono stati esplicitamente connessi con processi e indagini di interesse per vari settori industriali, quali quello medico-farmaceutico, quello chimico e quello elettronico.

Tra questi interventi troviamo un'interessante relazione dove è stato sottolineato il ruolo fondamentale che gioca la spettroscopia Raman nella tecnologia dei materiali ceramici usati in vari settori industriali.

Attraverso questa tecnica vengono identificati stress di diversa natura che si generano a causa di processi di degradazione, invecchiamento e trasformazioni di fase. Inoltre in connessione con esperimenti di spettroscopia micro-Raman condotta su semiconduttori drogati (Al

impiantato in germanio), è stato proposto un metodo per la determinazione del profilo di distribuzione del drogante consistente nell'uso di sorgenti a differente lunghezza d'onda che offrono differenti possibilità di penetrazione nel campione solido.

Ed ancora, sono state discusse le metodologie di preparazione e l'efficienza di quantum dots basati su semiconduttori inorganici per la produzione di prototipi di dispositivi emettitori di luce come laser, di materiali per la limitazione ottica e materiali d'interesse nella sensoristica molecolare, come i substrati plasmonici ottenuti con nanoparticelle.

Un altro contributo orale sull'applicazione della spettroscopia Raman e Raman di risonanza, ha riguardato l'utilità di queste tecniche per la caratterizzazione dei materiali polimerici per l'elettronica, in particolare di un semiconduttore polimerico n-type. Sempre nell'ambito dello stato solido sono stati riportati studi di spettroscopia Raman polarizzata per la caratterizzazione vibrazionale di cristalli molecolari, come fosfati di terre rare (RPO_4), ritenuti promettente materiale nello smaltimento di scorie radioattive, e stibnite (Sb_2S_3), oltre a film sottili ottenuti per ablazione laser di un target di dodecaboruro di zirconio (ZrB_{12}), fase metastabile del sistema boro-zirconio, materiale dotato di proprietà superconduttive.

Un'indagine spettroscopica Raman estesa all'IR di idrotalciti, condotta sui modi di scheletro e degli ioni carbonato, ha permesso la caratterizzazione strutturale di questi materiali rivelando gli effetti causati dall'inclusione di alcuni cationi lantanidi.

Alcuni dei poster presentati hanno studiato la degradazione di biomateriali utilizzati come teste femorali (BioloX® delta, a base di allumina e zirconia stabilizzata con ittria) e l'effetto del contenuto di fluoruro o dell'aggiunta di una componente polimerica fotopolimerizzabile sulla bioattività di cementi endodontici a base di silicato di calcio, dopo immersione per tempi diversi in simulated body fluid.

Due poster hanno riguardato lo studio degli effetti dello stress dovuto a radicali liberi su lipidi e proteine. Nel primo caso, sono stati individuati dei bio-marcatori di stress (colesteril esteri monotrans) nel plasma umano, potenzialmente utili nel campo della medicina preventiva; nel secondo caso sono state individuate le modificazioni nella Sostanza P, un piccolo oligopeptide neurotrasmettitore contenente un residuo di metionina, che può subire attacco radicalico e quindi generare radicali capaci di causare isomerizzazione *cis-trans* dei doppi legami degli acidi grassi insaturi.

Per quanto riguarda il settore farmaceutico, uno studio ha riguardato la caratterizzazione dei polimorfi e degli pseudopolimorfi di un farmaco (ampicillina); la presenza di polimorfi non farmaceuticamente attivi nel formulato ne fa variare l'efficacia portando a una diversa biodisponibilità. Infine, un'applicazione di imaging Raman a prodotti naturali è stato riportato in un contributo riguardante la distribuzione di carotenoidi nella fibroina della seta rigenerata drogata in modo naturale con questi componenti.



Fig. 2 - B. Pettinger durante la conferenza iniziale

Tecniche computazionali per la spettroscopia

La natura degli stati elettronici eccitati e dei loro stati vibrazionali gioca un ruolo fondamentale nell'interpretazione degli spettri Raman e Raman di risonanza di sistemi molecolari. Relativamente a questo argomento sono stati presentati due contributi. Uno ha riguardato il calcolo degli stati S_0 e S_1 dello stilbene e delle loro superfici di energia potenziale lungo le torsioni Ce=Ce e Ce-C e l'altro lo studio quanto-chimico di derivati rilenici per i quali è stato mostrato come sia possibile un tuning delle proprietà ottiche attraverso appropriate modifiche delle loro proprietà strutturali.

Avanzamenti strumentali

Come già accennato, numerose aziende rappresentanti case produttrici di strumentazione scientifica avanzata, hanno chiesto di partecipare al Congresso con il duplice scopo di presentare novità commerciali ed attrarre i ricercatori su specifiche idee di sviluppo futuro.

È stato da più parti rilevato il concetto che per una completa caratterizzazione morfologica e composizionale dei materiali la spettroscopia Raman deve avvalersi, oltre che della funzionalità strumentale della microscopia ottica, anche delle performance offerte dalla confocalità. In sistemi più avanzati il microscopio Raman è stato accoppiato al microscopio a forza atomica (AFM) o al microscopio elettronico a scansione (SEM) che permette la diretta correlazione delle informazioni chimiche della microscopia Raman confocale con la dettagliata descrizione topografica di queste tecniche microscopiche ad elevata risoluzione spaziale. Viene inoltre sottolineata l'importanza di questi accoppiamenti strumentali nella caratterizzazione completa dei campioni tramite imaging.

Altre aziende hanno invece illustrato spettrometri Raman portatili di dimensioni compatte a fibre ottiche.

Non è mancata la presentazione di laser rivolti alla ricerca scientifica e all'industria: laser a gas a singola riga ed a singolo modo, a stato solido, continui ed impulsati, di grandi, piccole e piccolissime dimensioni.