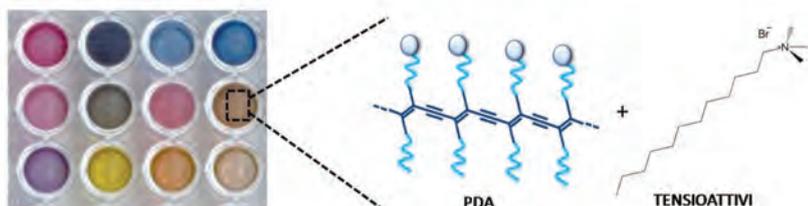


SVILUPPO DI SENSORI COLORIMETRICI PER TENSIOATTIVI A BASE DI POLIDIACETILENE



I DERIVATI DELL'ACIDO POLIDIACETILENICO (PDA) GRAZIE ALLE PROPRIETÀ COLORIMETRICHE E DI FLUORESCENZA UNICHE SONO STRUMENTI VERSATILI ED EFFICIENTI PER IL RILEVAMENTO DI UN'AMPIA CLASSE DI ANALITI. IN QUESTO ARTICOLO PRESENTIAMO L'EVOLUZIONE DI DERIVATI DEL PDA PER IL RILEVAMENTO DI TENSIOATTIVI IN AMBIENTE ACQUOSO

I polidiacetileni (PDA) sono polimeri coniugati che possiedono proprietà strutturali e cromatiche uniche¹. Questi polimeri, sintetizzati per la prima volta negli anni Sessanta², hanno attirato un considerevole interesse grazie alle loro proprietà colorimetriche, essendo caratterizzati da una colorazione blu, in soluzione o supportati su substrati solidi. I cambiamenti colorimetrici cui sono soggetti (generalmente dal blu al rosso) possono essere indotti da un'ampia serie di stimoli chimici, termici e meccanici: ad esempio il calore, la forza ionica della soluzione, la pressione meccanica ed interazioni con molecole, ioni e macromolecole biologiche^{3,4}. Ai cambiamenti colorimetrici sono associate anche emissioni (proprietà) di fluorescenza, aspetto che ha aperto la strada alla loro applicazione in microscopia. I "domini polimerici" di PDA vengono

sintetizzati irraggiando i monomeri degli acidi diacetilениci (tra questi il più comune è l'acido 10,12-tricosadinoico, TR) con luce ultravioletta di opportuna lunghezza d'onda. Le proprietà colorimetriche dei polimeri di PDA sono date dalla polimerizzazione topotattica ene-ino dei tripli legami sulle catene alchiliche, fenomeno reso possibile dall'auto-organizzazione in soluzione dei monomeri, stabilizzati da una rete di ponti a idrogeno (si veda Fig. 1). Le strutture di PDA possono essere assemblate in una serie di morfologie, quali vescicole, film sottili, mono-strati, fibre e nanotubi⁵. È stato osservato che i polimeri di PDA possono anche cambiare colore in modo reversibile, ritornando al colore blu dopo aver risposto ad uno "stimolo", fenomeno spesso osservato utilizzando dei derivati del TR opportunamente funzionalizzati sul gruppo di testa⁶.

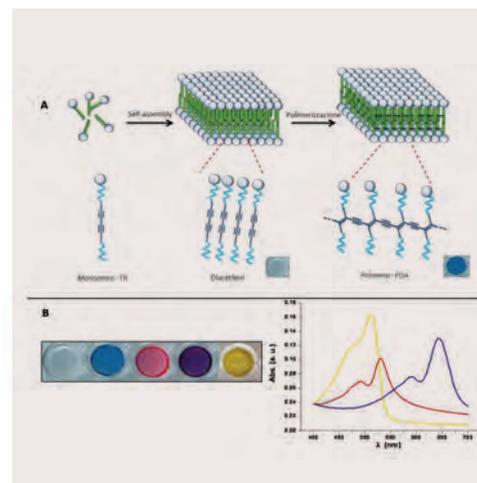


Fig. 1
A) Rappresentazione schematica dei monomeri diacetilениci (TR), della loro auto-organizzazione in aggregati e successiva polimerizzazione con luce ultravioletta (254 nm) a PDA; B) esempi di cambiamenti colorimetrici indotti da tensioattivi sul PDA e relativi spettri di assorbimento

* Premiato al workshop di GC-CS a Ferrara, 13 giugno 2014



La versatilità di queste molecole negli ultimi anni è stata ulteriormente ampliata, dimostrando che il PDA può subire anche cambiamenti colorimetrici più ampi: dal blu al giallo, al verde, al porpora⁷.

In Fig. 1 sono rappresentati alcuni esempi di cambiamenti colorimetrici ed i relativi spettri di assorbimento nel campo dell'ultravioletto. Da queste preliminari indicazioni si può capire come sia molto ampia la gamma di applicazioni nelle quali i polimeri di PDA possono essere usati come sensori.

Tra le recenti applicazioni dei sensori a base di PDA si possono ricordare la funzionalizzazione con acido sialico per il rilevamento selettivo del virus dell'influenza⁸ o per l'identificazione di peptidi con funzione antimicrobica⁹. Data la natura anfifilica, il PDA è stato largamente utilizzato in liposomi, intercalato in lipidi per la misurazione del grado di inserzione e perturbazione dell'ambiente apolare delle membrane cellulari da parte di farmaci¹⁰, liquidi ionici¹¹ e proteine.

Nel campo dei materiali, il TR è stato utilizzato per la cristallizzazione orientata e morfologicamente controllata di cristalli di carbonato di calcio¹². Negli ultimi anni sono stati presentati numerosi esempi di applicazioni del PDA immerso o supportato su materiali polimerici naturali (carta)¹³ o sintetici¹⁴ per il rilevamento di solventi organici volatili (VOC) tossici o composti

in fase gassosa. Sono da ricordare, in quanto molto promettenti da un punto di vista analitico, le applicazioni del PDA per il rilevamento di diverse specie batteriche, tramite l'interazione supramolecolare con esopolisaccaridi batterici¹⁵ e l'utilizzo di derivati polietossilati del PDA per drug-delivery¹⁶.

In particolare, i film di PDA supportati (sintetizzabili attraverso diverse tecniche quali *Langmuir trough*¹⁷, deposizione tramite *dip-coating*¹⁸ o *spin-coating*¹⁹) presentano vantaggi pratici in quanto sistemi stabili e robusti, inoltre le loro proprietà molecolari e macroscopiche possono essere controllate meglio rispetto ai sistemi vescicolari²⁰.

In questo articolo presentiamo una promettente applicazione del PDA supportato su matrici di polimetilmetacrilato (PMMA) come sensore per tensioattivi. Il PMMA è un materiale polimerico dotato di ottime proprietà di trasparenza, biocompatibile e spesso utilizzato come sostituto di matrici vetrose. I sensori a base di PDA-PMMA così ottenuti sono stati impiegati per identificare la presenza di tensioattivi in ambiente acquoso. I tensioattivi sono composti chimici generalmente sintetici, componenti di base di detergenti ed emulsionanti. Costituiscono una vasta e diversificata classe di sostanze applicate ad ampio spettro in vari settori industriali. Data la loro ampia diffusione e

le proprietà anfifiliche sono degli inquinanti importanti dell'ambiente acquatico, specie se recalcitranti alla degradazione.

In Fig. 2A sono riassunti schematicamente il sistema sperimentale e la morfologia dei film ottenuti. Sono stati preliminarmente impiegati due monomeri diacetenilici: l'acido 10,12-tricosadinoico (TR) e la 10,12-tricosadiinammina (TR-NH₂). I monomeri, una volta portati in soluzione, sono stati depositati attraverso *spin-coating* su un sottile supporto circolare di PMMA. Le Fig. 2B e 2C sono scansioni in microscopia elettronica (SEM) del supporto prima (2B) e dopo (2C) la deposizione dei domini di PDA. Si può osservare che i domini di PDA si organizzano in strutture rettangolari più o meno irregolari che ricoprono completamente il supporto polimerico. Dopo polimerizzazione con luce ultravioletta (254 nm) i film di PDA/PMMA (prodotti usando solo TR) e di PDA-NH₂/PDA/PMMA (prodotti usando un rapporto 1:9 di TR-NH₂:TR) sono virati nel blu e, dipendentemente dall'esposizione a stimoli esterni (cambiamento di temperatura o presenza del tensioattivo), cambiano ulteriormente colore in porpora, rosso e giallo.

Più in dettaglio per quanto riguarda l'effetto della temperatura si è osservato come i domini di PDA su PMMA, dopo essere stati scaldati, abbiano subito la classica trasformazione colorimetrica nel rosso. Tuttavia dopo un ulteriore irraggiamento

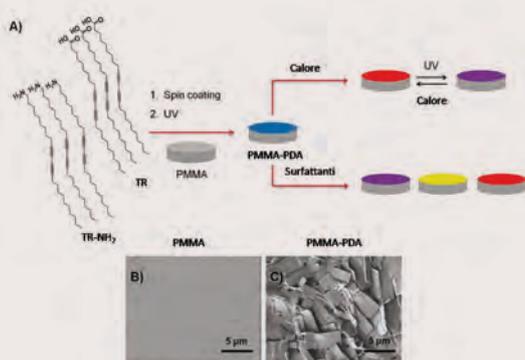


Fig. 2
A) Rappresentazione schematica del sistema sperimentale utilizzato per la sintesi di PDA immerso in matrice polimerica (PMMA). Immagini in microscopia a scansione elettronica (SEM) del supporto di PMMA prima (B) e dopo (C) il coating con molecole di PDA

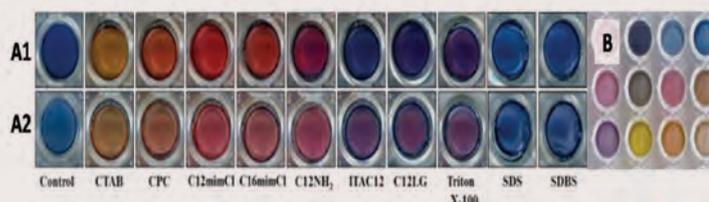


Fig. 3
A) Cambiamenti colorimetrici indotti da tensioattivi (concentrazione 1 mM) su PDA (A1) e su PDA-NH₂ (A2); B) esempi di cambiamenti colorimetrici indotti da mix di tensioattivi sul PDA

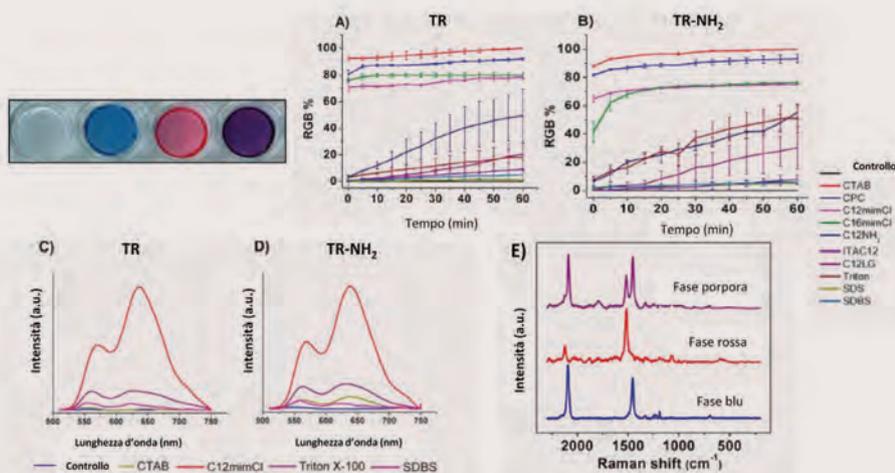


Fig. 4
Cinetiche dei cambiamenti colorimetrici indotti da tensioattivi su film di PDA (A) e PDA-NH₂ (B). Spettri di emissione di fluorescenza di PDA (C) e PDA-NH₂ (D) ($\lambda_{ex} = 482 \text{ nm}$); E) spettri Raman delle fasi blu, rossa e porpora del PDA supportato

con raggi ultravioletti si è formata una fase porpora che, una volta analizzata in microscopia, ha indicato la ricomparsa della fase blu, segno di un cambiamento colorimetrico reversibile.

Utilizzando i derivati PDA-PMMA sono stati testati tensioattivi di tipo cationico (come il comune cetiltrimetilammonio bromuro-CTAB), o il CPC (cetilpiridinio cloruro, largamente utilizzato come antibatterico), tensioattivi anionici (come l'SDS, sodio dodecil solfato, o l'SDBS) e non ionici come il Triton X-100. Sono stati testati anche dei liquidi ionici (composti organici ionici liquidi a temperatura ambiente)²¹, in particolare sali di imidazolio a lunga catena alchilica (in Fig. 3 C12mimCl e C16mimCl), ascrivibili alla classe dei tensioattivi cationici e derivati di carboidrati con catene alchiliche, ascrivibili alla classe dei tensioattivi non ionici (in Fig. 3 ITAC12 e C12LG).

In Fig. 3 si osservano i cambiamenti colorimetrici indotti dall'esposizione del PDA o del PDA-NH₂ ai tensioattivi delle varie classi (cationici, anionici e non-ionici). Si noti come il CTAB, ad esempio, dia luogo ad una colorazione gialla con il solo PDA ed a una colorazione giallo-arancio con PDA-NH₂/PDA. I tensioattivi anionici invece non imprimono repentini cambiamenti colorimetrici e le soluzioni assumono la colorazione rossa.

In Fig. 3B si possono osservare le risposte colorimetriche di PDA a mix di tensioattivi in soluzione. L'immagine presenta dati preliminari, che indicano come un insieme di derivati di PDA possa potenzialmente essere

utilizzato come strumento per identificare analiti specifici in soluzione.

Nello specifico, in Fig. 4 si può osservare come le risposte colorimetriche del PDA, che forniscono dati veloci ma qualitativi, siano accompagnate da risposte quantitative in microscopia di fluorescenza, in spettroscopia Raman o con più economici spettrofotometri UV-vis. I cambiamenti colorimetrici del PDA/PMMA sono quindi quantificabili usando dei semplici algoritmi di analisi delle immagini acquisite digitalmente. In questo modo si possono ottenere delle curve cinetiche delle variazioni colorimetriche del PDA esposto ai tensioattivi, misurando le variazioni temporali delle componenti red-green-blue (RGB) delle scansioni digitali.

Sono in fase di sperimentazione derivati del PDA a diverse strutture molecolari,

impiegando derivati del TR che vanno ad implementare la gamma colorimetrica, aumentandone la sensibilità e la selettività per gli analiti. In particolare si modifica la "testa polare" del monomero TR di partenza (un acido carbossilico), introducendo delle modifiche strutturali che rendano la parte esposta in soluzione apolare, polare, ionica o non ionica.

In Fig. 5 è stata schematizzata la possibile interazione del PDA (supportato o in soluzione) con un tensioattivo cationico di largo impiego (in figura il CTAB). Repentini cambiamenti colorimetrici della soluzione avvengono a causa della perturbazione della rete dei doppi e tripli legami nell'ambiente apolare interno dei polimeri di PDA e dei legami a idrogeno presenti sulle teste polari dei monomeri. Allo stesso tempo le molecole

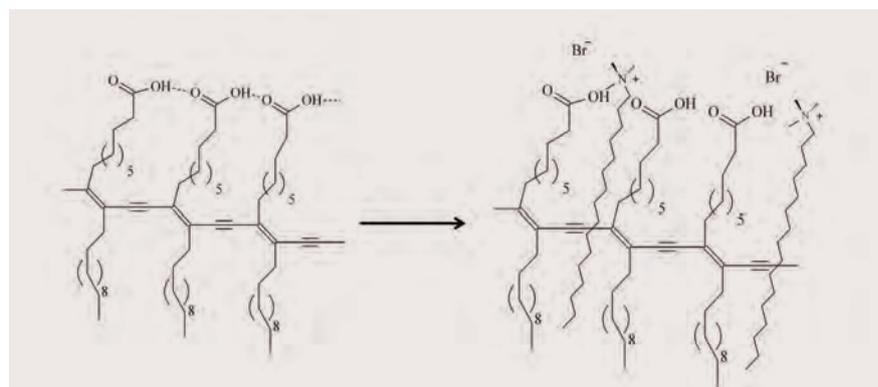


Fig. 5
Rappresentazione schematica dell'interazione proposta dei tensioattivi (in figura il CTAB) con i polimeri di PDA



di tensioattivo alterano la rete di ponti a idrogeno che si crea tra i residui carbossilici delle teste polari, creando delle interazioni con le porzioni cariche dei tensioattivi. In questo studio i dati indicano che le differenze nelle lunghezze delle catene alchiliche (a 12 o 16 atomi di carbonio) dei tensioattivi non sembrano giocare un ruolo determinante nei cambiamenti colorimetrici ottenuti. Le differenze di carica tra le teste polari del PDA e dei tensioattivi (positivo-negativo) sembrano essere invece un elemento fondamentale nel determinare la tipologia di colore generato.

In questo studio è stato quindi osservato per la prima volta un cambiamento colorimetrico rosso-porpora ottenuto dopo irraggiamento all'ultravioletto, che mostra un cambiamento reversibile dalla fase rossa a quella blu iniziale del PDA supportato su PMMA. Sono state ottenute inoltre delle specifiche risposte colorimetriche con tecniche spettroscopiche corrispondenti a fasi rosse, gialle e porpora del PDA, indotte da diversi gruppi di molecole anfifiliche (tensioattivi e liquidi ionici).

La versatilità del sistema utilizzato apre la strada allo sviluppo di sensori composti da strumenti analitici, in cui la risposta colorimetrica di un insieme di derivati del PDA viene trattata con strumenti statistici che ne evidenziano le differenze, che permettano di rilevare inquinanti in ambiente acquoso direttamente in campo per via colorimetrica o impiegando tecniche spettroscopiche (UV-vis) semplici e poco costose.

BIBLIOGRAFIA

- ¹X. Sun *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 4244.
- ²G. Wegner, *Z. Naturforsch. B*, 1969, **24**, 824.
- ³J.A. Dong, J.M. Kim, *Acc. Chem. Res.*, 2008, **41**, 805.
- ⁴R. Jelinek, M. Ritenberg, *RSC Adv.*, 2013, **3**, 21192.
- ⁵O. Yarimaga *et al.*, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 2469.
- ⁶M.A. Reppy, B. Pindzola, *Chem. Commun.*, 2007, 4317.
- ⁷K.P. Kootery *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2014, **6**, 8613.
- ⁸a) A. Reichert *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**(2), 829; b) D. Charych *et al.*, *Science*, 1993, **261**(5121), 585.
- ⁹S. Kolusheva *et al.*, *Nature Biotechnology*, 2000, **18**, 225.
- ¹⁰D. Evrard *et al.*, *Pharm. Res.*, 2001, **18**, 943.
- ¹¹N. Gal *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, **1818**, 2967.
- ¹²A. Berman *et al.*, *Science*, 1995, **269**(5223), 515.
- ¹³T. Eaidkong *et al.*, *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**, 5970.
- ¹⁴J. Lee *et al.*, *Nature Communications*, 2013, **4**, 1650.
- ¹⁵M. Rangin, A. Basu, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**(16), 5038.
- ¹⁶E. Gravel *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2012, **18**, 400.
- ¹⁷H. Jiang *et al.*, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 4518.
- ¹⁸R.W. Carpick *et al.*, *J. Phys. Condens. Matter.*, 2004, **16**, R679.
- ¹⁹H. Jiang *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 2010, **500**, 100.
- ²⁰M. Ritenberg *et al.*, *ChemPlusChem*, 2012, **77**, 752.
- ²¹C. Samorì *et al.*, *Ecotox. Environ. Safe.*, 2010, **73**, 1456.

Colorimetric Sensors of Polydiacetylenes for Amphiphilic Compounds

Detection and identification of pollutants is essential for safety and quality assessment. Polydiacetylenes (PDA) are conjugated polymers that have been extensively studied as a sensor matrix, because of their color (blue-to-red) and fluorescence (none-to-fluorescent) changes in response to environmental cues. In this study PDA underwent distinct color and fluorescence transitions to purple, red, and yellow phases. Color changes are induced by amphiphilic substances and the chromatic transformations are correlated to the analyte structures, properties and concentration.

DANILO MALFERRARI¹, STELLA BEGLARYAN², PAOLA GALLETTI^{1,2}, MARGARITA RITENBERG³, KAVIYA P. KOOTERY³, ROMAN VOLINSKY³, SOFIYA KOLUSHEVA³, RAZ JELINEK³, EMILIO TAGLIAVINI^{1,2}

¹CENTRO INTERDIPARTIMENTALE DI RICERCA INDUSTRIALE ENERGIA & AMBIENTE (CIRI EA) UNIVERSITÀ DI BOLOGNA RAVENNA CAMPUS

²DIPARTIMENTO DI CHIMICA "G. CIAMICIAN" UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

³DEPARTMENT OF CHEMISTRY E ILSE KATZ INSTITUTE FOR NANOSCALE SCIENCE AND TECHNOLOGY, BEN-GURION UNIVERSITY OF THE NEGEV ISRAEL

DANILO.MALFERRARI2@UNIBO.IT