



Application Note AN-RA-007

Miglioramento dell'intensità Raman per il rilevamento del fentanil

Semplice protocollo EC-SERS per lo screening del fentanyl con elettrodi screen-printed

Il fentanil è un potente farmaco oppioide sintetico utilizzato come analgesico e anestetico. È circa 100 volte più potente della morfina e 50 volte più potente dell'eroina. Tuttavia, il fentanil illecito viene distribuito e venduto illegalmente in tutto il mondo sul mercato nero. Un sovradosaggio di fentanil può provocare stupore, alterazioni delle dimensioni della pupilla, pelle fredda e umida, cianosi, coma e insufficienza respiratoria che porta alla morte. Due milligrammi di fentanil possono essere letali a seconda delle dimensioni del corpo, della tolleranza e dell'uso

passato.

L'identificazione e il rilevamento sono indispensabili perché le overdose correlate al fentanil sono rapidamente diventate una grave crisi di salute pubblica in molte comunità in paesi come gli Stati Uniti e il Canada.

Lo sviluppo di nuovi metodi basati sulla combinazione di spettroscopia Raman con superficie elettrochimica potenziata (EC-SERS) ed elettrodi screen-printed (SPE) fornisce un approccio rapido, efficiente e accurato per il rilevamento del fentanil [1].

STRUMENTAZIONE E SOFTWARE

Le misurazioni in questo studio sono state eseguite utilizzando uno strumento SPELEC RAMAN (laser a 785 nm), una sonda Raman corrispondente alla lunghezza d'onda del laser e una cella spettroelettrochimica Raman per elettrodi screen-printed (Figura 1).

Sono stati utilizzati SPE oro e argento (rispettivamente 220BT e C013) per le loro caratteristiche EC-SERS.

Lo strumento SPELEC RAMAN è stato controllato con DropView SPELEC, un software spettroelettrochimico dedicato che acquisisce simultaneamente informazioni elettrochimiche e ottiche. Tutto l'hardware e il software utilizzato per questo studio è riportato nella Tabella 1.

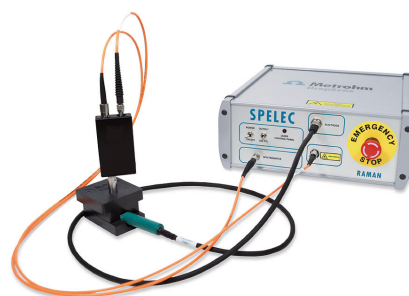


Figure 1. Strumento SPELEC RAMAN e sonda Raman utilizzati in combinazione con una cella spettroelettrochimica Raman per elettrodi serigrafati.

Tabella 1. Panoramica delle apparecchiature hardware e software.

Strumentazione	Codice articolo
Strumento	SPELECRAMAN
Sonda	RAMANPROBE
Cella spettroelettrochimica Raman per SPE	RAMANCELL
Gold SPE	220BT
Silver SPE	C013
Cavo di connessione per SPE	CAST
Software	DropView SPELEC

RISULTATI: CARATTERIZZAZIONE E RILEVAMENTO DEL FENTANIL

Il rilevamento del fentanil (Figura 2) è stato eseguito mediante l'attivazione elettrochimica di SPE metallici in concomitanza con la presenza del farmaco in soluzione. Il protocollo consiste in due passaggi in un

singolo esperimento: (1) la generazione elettrochimica di nanostrutture metalliche con proprietà SERS e (2) rilevamento del fentanil presente nella soluzione.

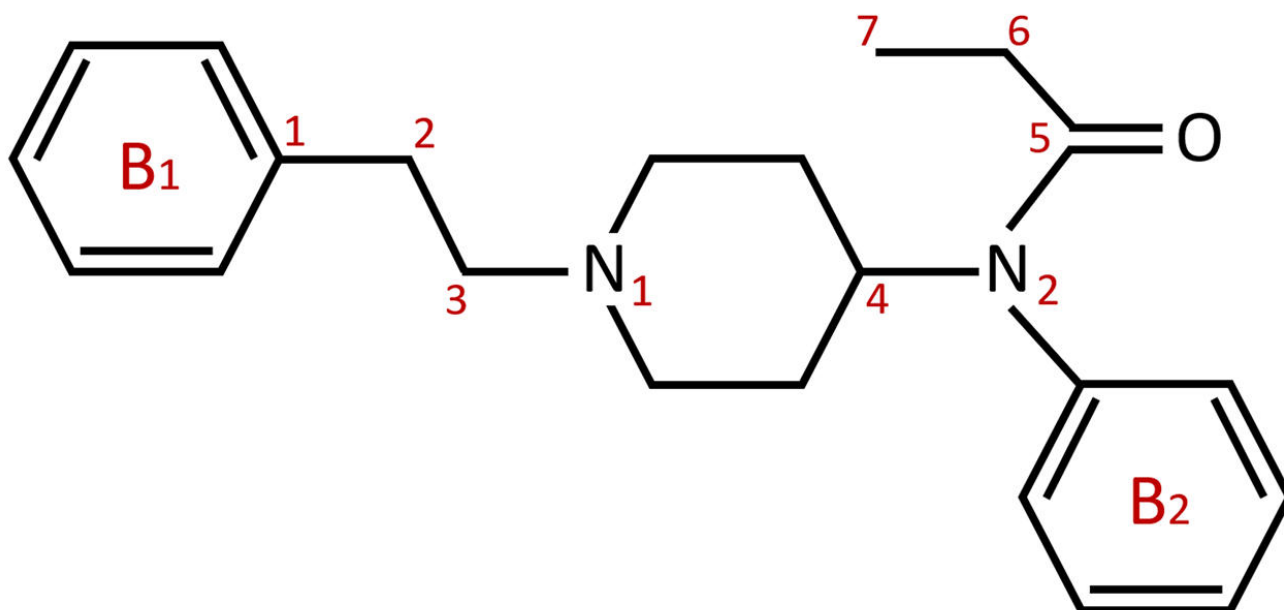


Figure 2. Struttura chimica del fentanil. Le assegnazioni numeriche corrispondono all'assegnazione vibrazionale delle bande SERS nella Tabella 2.

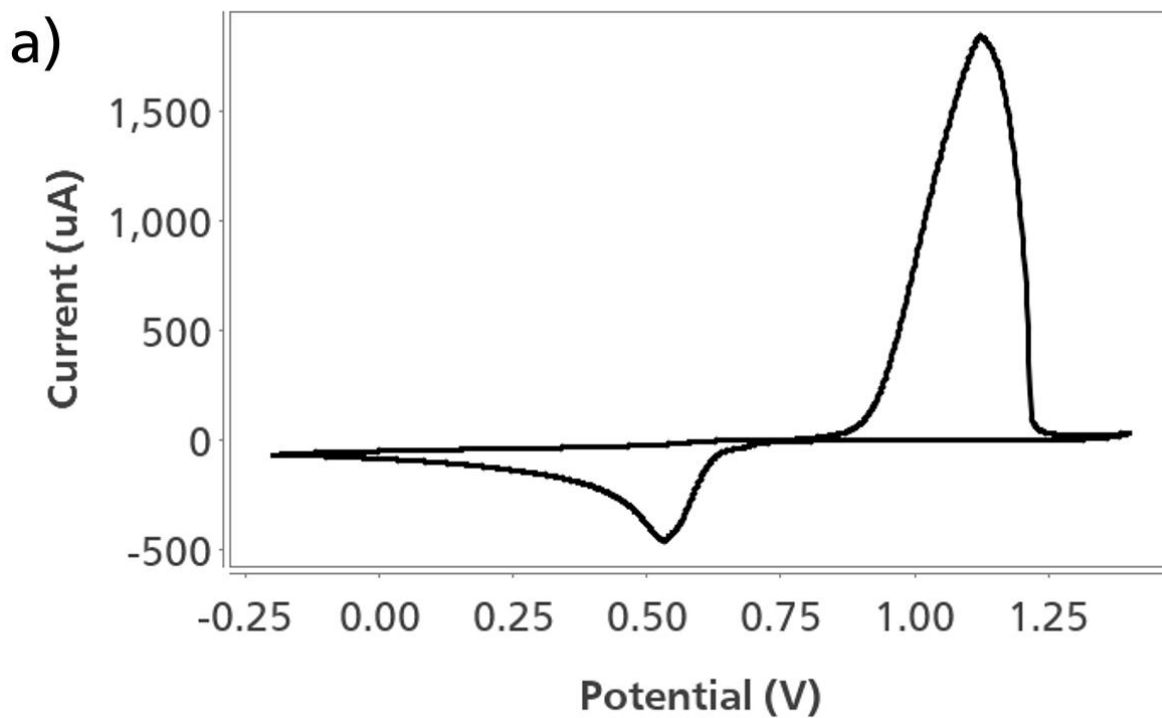
RISULTATI: CARATTERIZZAZIONE E RILEVAMENTO DEL FENTANIL

Sono stati valutati due SPE, oro (220BT) e argento (C013), a causa del miglioramento dell'intensità Raman associata a questi elettrodi.

Il rilevamento del fentanil con 220BT è stato eseguito in 1×10^{-5} mol/L di fentanil e 0,1 mol/L KCl mediante voltammetria ciclica, scansionando il potenziale da +0,70 V a +1,40 V e di nuovo a -0,20 V, con una

velocità di scansione di 0,05 V/sec (Figura 3a).

Gli esperimenti con C013 sono stati condotti in 1×10^{-5} mol/L di fentanil, 0,1 mol/L di HClO_4 e 0,01 mol/L di KCl. Il potenziale è stato scansionato da 0,00 V a +0,40 V e di nuovo a -0,40 V, con una velocità di scansione di 0,05 V/s (Figura 3b).



RISULTATI: CARATTERIZZAZIONE E RILEVAMENTO DEL FENTANIL

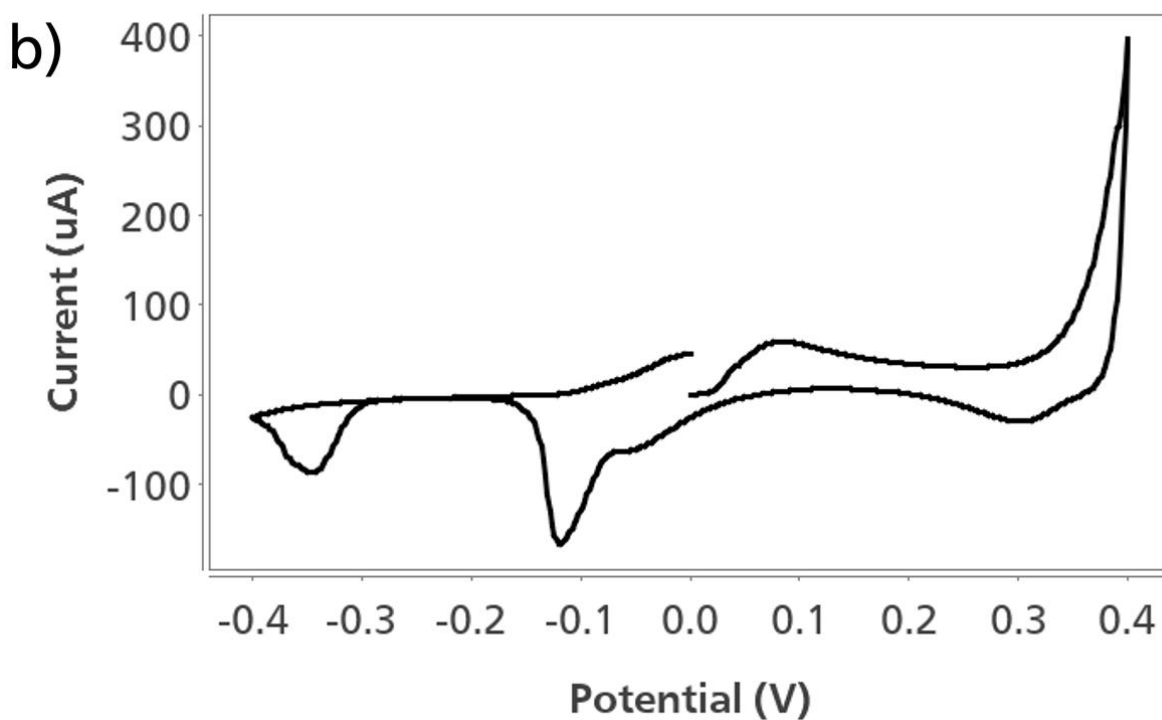


Figure 3. Voltammogrammi ciclici ottenuti con a) 220BT in 0,00001 mol/L di fentanil e 0,1 mol/L di cloruro di potassio, e b) C013 in 0,00001 mol/L di fentanil, 0,1 mol/L di acido perclorico e 0,01 mol/L di cloruro di potassio.

Il rilevamento spettroelettrochimico con entrambe le SPE si basa sulla stessa metodologia: l'ossidazione iniziale della superficie metallica seguita dalla sua riduzione per generare nanoparticelle Au o Ag (NP) con un effetto SERS. Sebbene le caratteristiche bande Raman del fentanil vengano rilevate una volta generate queste nanostrutture, l'intensità Raman più

alta è stata ottenuta durante la parte finale dell'esperimento (+0,50 V, scansione anodica) con 220BT e a -0,40 V quando si lavora con C013.

La **Figura 4** mostra lo spettro caratteristico del fentanyl ottenuto con Au e Ag SPE. Vengono rilevate diverse bande, con la banda più intensa e rappresentativa situata a 1000 cm^{-1} .

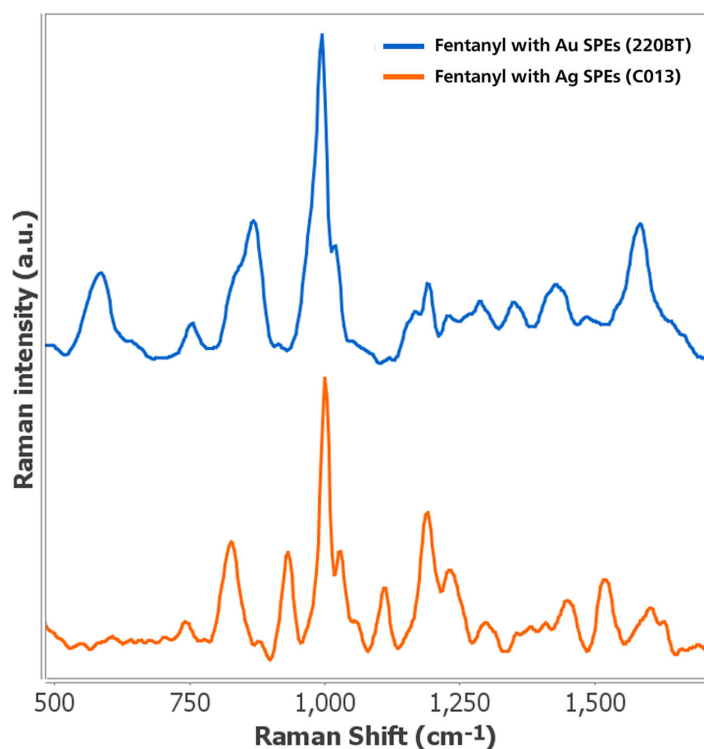


Figure 4. Spettro SERS di 0,00001 mol/L di fentanil ottenuto con SPE 220BT (linea blu) e C013 (linea arancione).

La **Tabella 2** riassume l'assegnazione delle bande Raman osservate con le caratteristiche modalità vibrazionali del fentanil. L'interazione del fentanil con i

substrati Au e Ag SERS non è identica; alcuni modi vibrazionali vengono rilevati solo con un metallo e si osserva anche lo spostamento di più bande.

Tabella 2. Assegnazione vibrazionale delle bande SERS del fentanil ottenute con Au (220BT) e Ag (C013) SPE [2,3] (v: allungamento; δ : flessione nel piano; ρ : oscillazione; γ : flessione fuori dal piano; τ : torsione; ω : scodinzolare; β : respiro ad anello).

SERS band (cm ⁻¹)		Assignment
Au	Ag	
588	-	δ (ring) _{B1,B2} , ρ (CH ₂) _{alkyl} , ρ (CH ₃)
758	741	τ (CH ₃), ρ (CH ₂) _{pip} , δ (C ₅ -C ₆ -C ₇)
873	826	ν (C ₁ -C ₂ -C ₃ -N ₁), β (ring) _{B1}
-	932	γ (CH) _{B2}
1000	1000	δ (CC) _{B2} , ν (C ₅ -C ₆ -C ₇)
1026	1029	ν (CC) _{B1,B2} , δ (CH) _{B1,B2}
-	1112	ν (CC) _{B2}
1174	-	δ (CH) _{B1,B2}
1202	1190	ν (N ₁ -C ₃ -C ₂ -C ₁); τ (CH ₂) _{C2}
1236	1239	ν (C ₄ -N ₂), ω (C ₆ -C ₇ -H)
1296	1303	τ (C ₃ -H)
1359	1354	ω (CH) _{pip} , τ (CH) _{pip}
1439	1444	δ (H-C-N ₂)
1598	1601	ν (CC) _{B1}
-	1629	ν (CC) _{B1}

Per dimostrare l'utilità di questo metodo, l'intensità della banda Raman a 1000 cm⁻¹ ottenuta con 220BT è stata analizzata con diverse concentrazioni di fentanil. La curva di calibrazione nella **Figura 5** mostra il comportamento lineare dell'intensità Raman da 1×10^{-6} mol/L (0,33 µg/mL) a 1×10^{-5} mol/L (3,37

µg/mL) di fentanil. L'elevato valore del coefficiente di correlazione ($R^2 = 0,997$) garantisce l'idoneità e la sensibilità di questo metodo EC-SERS per il rilevamento del fentanil nell'intervallo di concentrazione indicato.

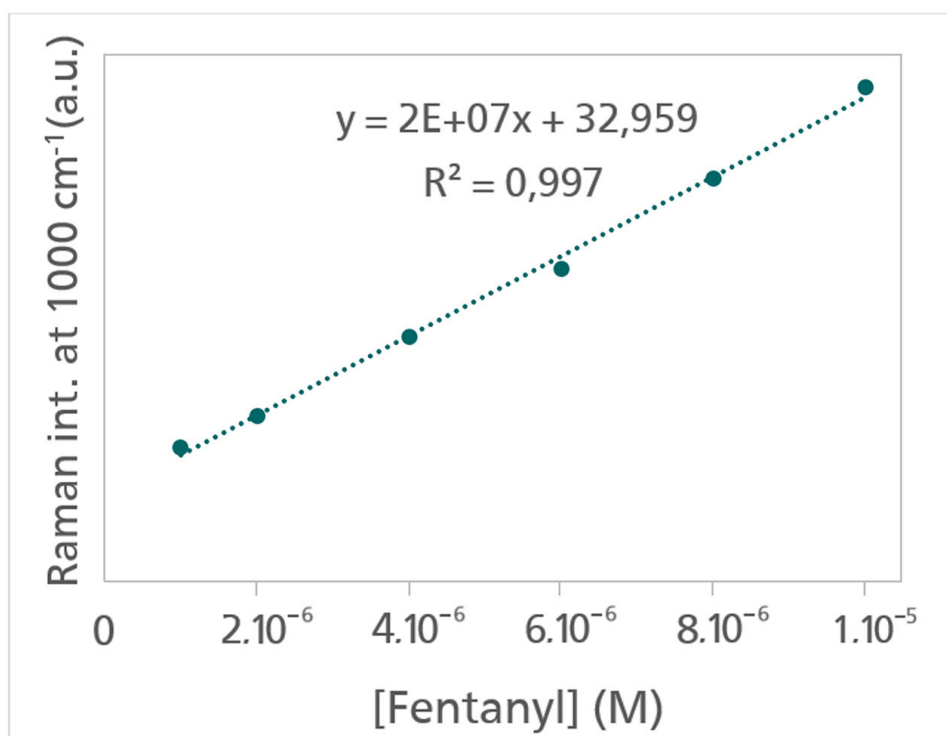


Figure 5. Grafico di calibrazione dell'intensità Raman a una lunghezza d'onda specifica con diverse concentrazioni di fentanil in 0,1 mol/L KCl utilizzando 220BT.

CONCLUSIONE

È stato raggiunto lo sviluppo di un metodo di rilevamento sensibile del fentanil basato sull'effetto SERS. Au e Ag SPE forniscono risultati interessanti che sono utili non solo nella caratterizzazione del fentanil, ma anche per altri scopi analitici. L'attivazione elettrochimica delle SPE 220BT e C013 insieme alla rilevazione del fentanil in un singolo esperimento

rappresenta una procedura rapida e semplice che facilita le misurazioni spettroelettrochimiche. La curva di calibrazione ottenuta con 220BT presenta un comportamento lineare da 1×10^{-6} mol/L (0,33 µg/mL) a 1×10^{-5} mol/L (3,37 µg/mL) di fentanil, a dimostrazione dell'ampio potenziale di questo metodo.

RIFERIMENTI

1. Ott, C. E.; Perez-Estebanez, M.; Hernandez, S.; et al. Forensic Identification of Fentanyl and Its Analogs by Electrochemical-Surface Enhanced Raman Spectroscopy (EC-SERS) for the Screening of Seized Drugs of Abuse. *Frontiers in Analytical Science* **2022**, 2. <https://doi.org/10.3389/frans.2022.834820>.
2. Wang, L.; Deriu, C.; Wu, W.; et al. Surface Enhanced Raman Spectroscopy, Raman, and Density Functional Theoretical Analyses of Fentanyl and Six Analogs. *Journal of Raman Spectroscopy* **2019**, 50 (10), 1405–1415. <https://doi.org/10.1002/jrs.5656>.
3. Leonard, J.; Haddad, A.; Green, O.; et al. SERS, Raman, and DFT Analyses of Fentanyl and Carfentanil: Toward Detection of Trace Samples. *Journal of Raman Spectroscopy* **2017**, 48 (10), 1323–1329. <https://doi.org/10.1002/jrs.5220>.

APPLICATION NOTES CORRELATE

[AN-RA-006](#) Nuove strategie per ottenere l'effetto SERS nei solventi organici

[AN-SEC-001](#) Spettroelettrochimica: una tecnica analitica autovalidata – Conferma i risultati attraverso

[due percorsi diversi in un singolo esperimento](#)

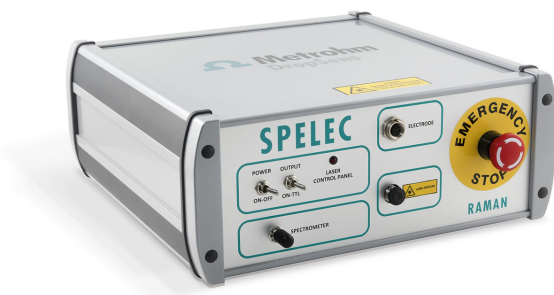
[AN-SEC-002](#) Raccolta di informazioni da esperimenti spettroelettrochimici – Calcolo di parametri elettrochimici dai dati

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Strumento spettroelettrochimico Raman (laser 785 nm)

SPELECRAMAN è uno strumento per l'esecuzione di misure spettroelettrochimiche Raman. In un'unica scatola combina un laser classe 3B (785 nm $\pm$ 0,5), un bipotenziostrato/galvanostato e uno spettrometro (intervallo di lunghezza d'onda 787-1.027 nm e shift Raman 35-3.000 cm^{-1}) e include un software spettroelettrochimico dedicato che permette la sincronizzazione degli esperimenti ottici ed elettrochimici.



Sonda Raman

Sonda di riflessione progettata per essere utilizzata con una lunghezza d'onda di eccitazione singola da 785 nm (fino a 500 mW). Idonea per il funzionamento con la cella Raman DropSens per elettrodi a membrana o con qualsiasi configurazione Raman convenzionale.



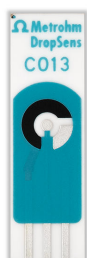
Cella Raman per elettrodi a membrana

Cella di riflessione in teflon nera per l'esecuzione della spettroelettrochimica Raman con elettrodi a membrana in combinazione con rif. Sonda RAMAN.



Elettrodo a membrana in oro (AUX:Au; REF:Ag) / Ink BT

Elettrodo a membrana in oro (AUX:Au; REF:Ag) / Ink BT. Adatto a operare con microvolumi, per saggi decentralizzati o per sviluppare sensori specifici.



Elettrodo a membrana in argento (AUX:C; REF:Ag)

Elettrodo a membrana in argento (AUX:C; REF:Ag). Elettrodo di lavoro con diametro di 1,6 mm.



Connettore cavo Stat per elettrodi a membrana

Collega qualsiasi apparecchiatura DropSens con elettrodi a membrana DropSens