



UDelar
FACULTAD DE QUÍMICA



Centro de Investigaciones Nucleares
Facultad de Ciencias



FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

Curso de grado y postgrado regional

**"Nanomateriales aplicados a la biomedicina:
síntesis, caracterización y evaluación biológica"**

24/11 al 11/12

Montevideo, Uruguay

Edición 2020

Microscopia Raman, AFM y Difracción de Rayos X

Dr. Ricardo Faccio

Facultad de Química

Universidad de la República

rfaccio@fq.edu.uy

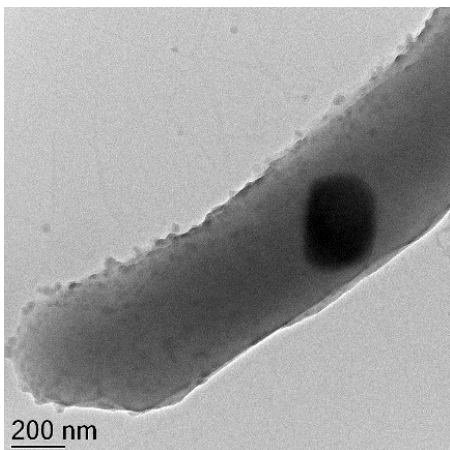


Noviembre de 2020

1

Punteo

- ▣ Introducción
- ▣ Técnicas de Imagenología.
 - Microscopia de Fuerza Atómica
 - Microscopia Raman
- ▣ Difracción de Rayos X
 - Alto y Bajo Ángulo
- ▣ Conclusiones



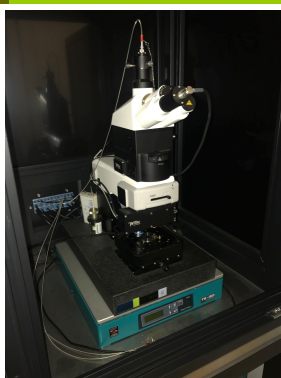
200 nm

Noviembre de 2020

2

2

Microscopia Raman Confocal

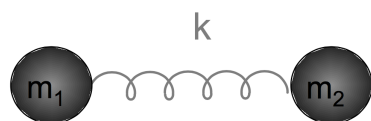


Noviembre de 2020

3

3

1. Modos Vibracionales



$$V = \frac{1}{2} kx^2$$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}; \quad \frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2}$$

Bond	Bond Energy [kcal (kJ)]	Stretching Frequency (cm ⁻¹)
<i>Frequency dependence on bond energies</i>		
C—C	83 (350)	1200
C=C	146 (611)	1660
C≡C	200 (840)	2200
	stronger bond	$\bar{\nu}$ increases
Bond	Bond Energy [kcal (kJ)]	Stretching Frequency (cm ⁻¹)
<i>Frequency dependence on atomic masses</i>		
C—H	100 (420)	3000
C—D	100 (420)	2100
C—C	83 (350)	1200
	heavier atoms	$\bar{\nu}$ decreases

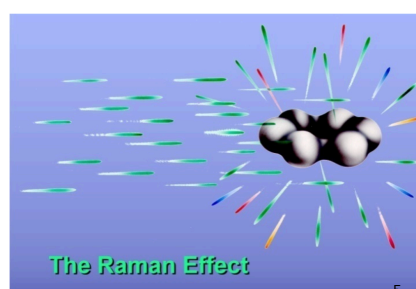
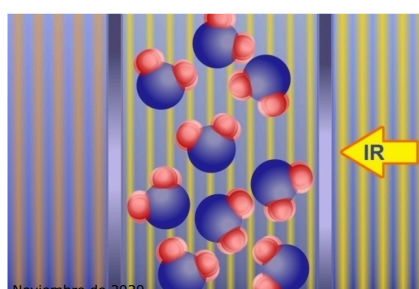
Noviembre de 2020

4

4

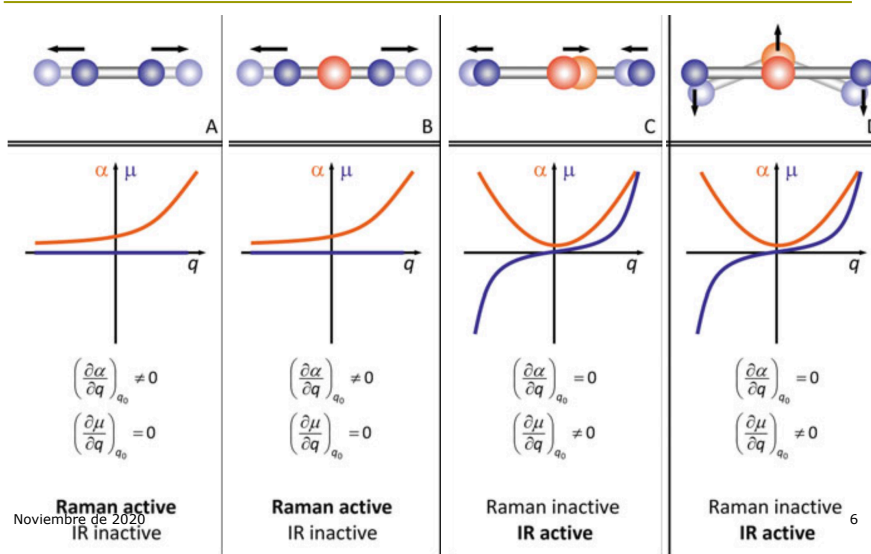
1. Reglas de Selección

- IR: Absorción de fotón por dipolo (μ) del modo normal de vibración.
- Raman: Dispersión inelástica mediada por momento dipolar inducido (polarizabilidad α) generado por la OEM.



5

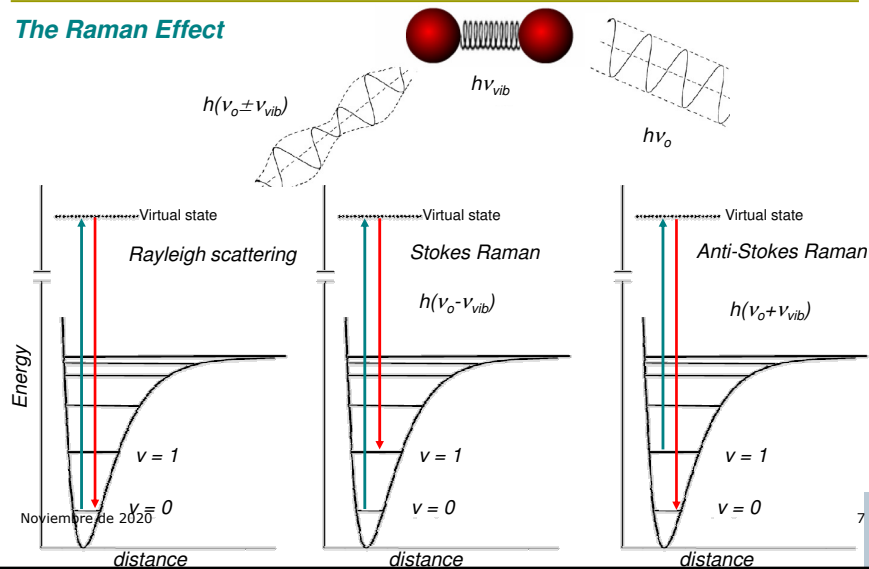
1. Reglas de Selección: IR vs Raman



6

1. El efecto Raman

The Raman Effect

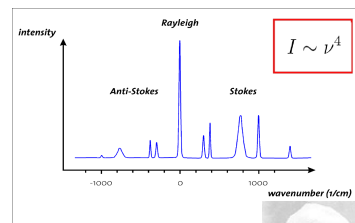
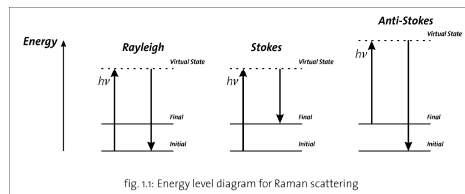
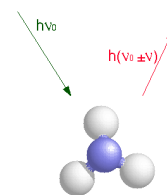


7

1. El efecto Raman

The Raman Effect

- non-resonant excitation (Stokes) or annihilation (Anti-Stokes) of a vibrational quantum
- energy shift between the exciting and scattered photon is characteristic for the molecules involved in the scattering process



- theoretical prediction 1923 by A. Smekal
- experimentally discovered 1928 by Sir Chandrasekhara Raman, Nobel Prize 1930

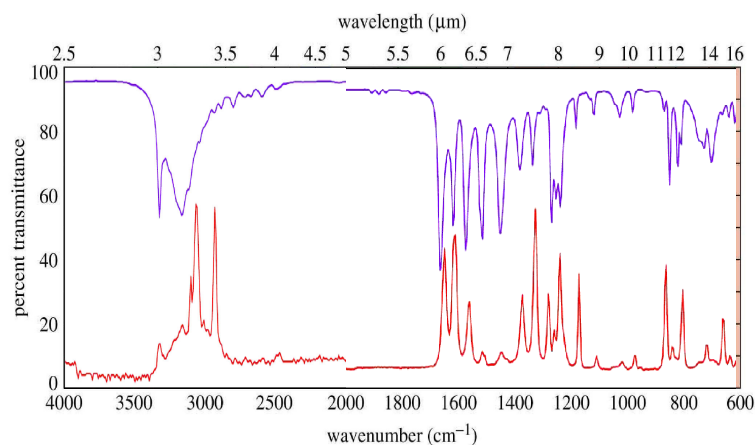
Novembre de 2020



8

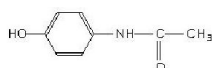
8

1. Infrarrojo vs. Raman



Noviembre de 2020

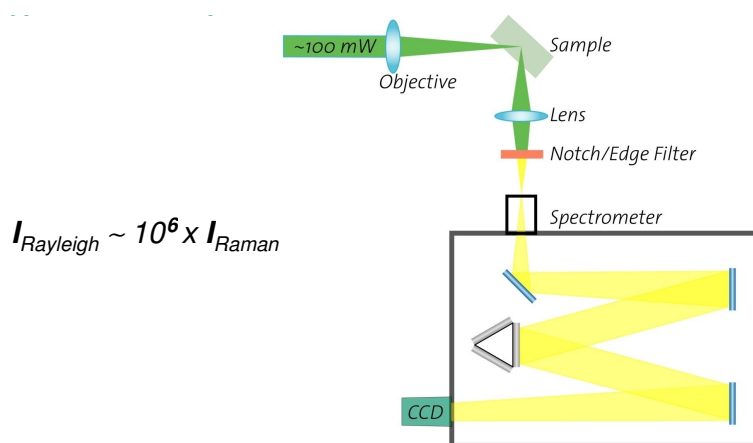
Paracetamol



9

9

1. Esquema Típico de Experimento



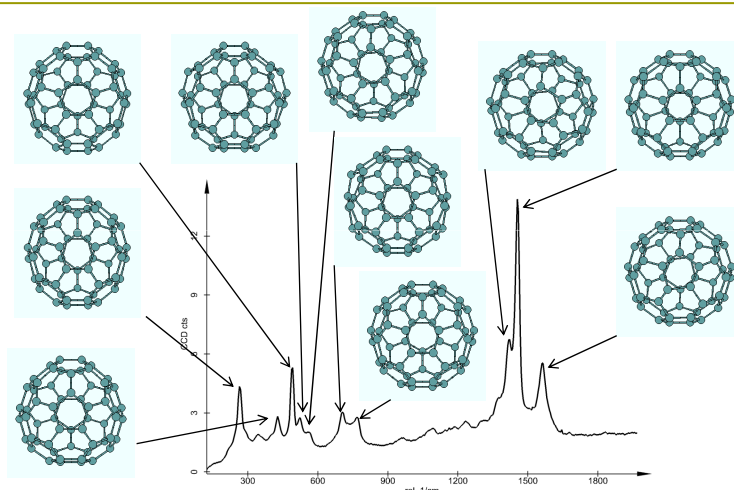
Noviembre de 2020

- typical integration times: seconds - several minutes

10

10

1. Espectroscopia Raman



Noviembre de 2020

chemical, but NO spatial resolution

11

11

1. Identificación de Bandas

Functional Group/ Vibration	Region	Raman	InfraRed
Lattice vibrations in crystals, LA modes	10 - 200 cm^{-1}	strong	strong
$\delta(\text{CC})$ aliphatic chains	250 - 400 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{Se-Se})$	290 - 330 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{S-S})$	430 - 550 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{Si-O-Si})$	450 - 550 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{Xmetal-O})$	150-450 cm^{-1}	strong	med-weak
$\nu(\text{C-I})$	480 - 660 cm^{-1}	strong	strong
$\nu(\text{C-Br})$	500 - 700 cm^{-1}	strong	strong
$\nu(\text{C-Cl})$	550 - 800 cm^{-1}	strong	strong
$\nu(\text{C-S})$ aliphatic	630 - 790 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{C-S})$ aromatic	1080 - 1100 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{O-O})$	845 - 900 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C-O-C})$	800 - 970 cm^{-1}	medium	weak
$\nu(\text{C-O-C})$ asym	1060 - 1150 cm^{-1}	weak	strong

Noviembre de 2020

12

12

$\nu(\text{CC})$ alicyclic, aliphatic chain vibrations	600 - 1300 cm^{-1}	medium	Medium
$\nu(\text{C}=\text{S})$	1000 - 1250 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{CC})$ aromatic ring chain vibrations	*1580, 1600 cm^{-1}	strong	medium
	*1450, 1500 cm^{-1}	medium	medium
	*1000 cm^{-1}	strong/medium	weak
$\delta(\text{CH}_3)$	1380 cm^{-1}	medium	strong
$\delta(\text{CH}_2)$	1400 - 1470 cm^{-1}	medium	medium
$\delta(\text{CH}_3)$ asym			
$\delta(\text{CH}_2)$	1400 - 1470 cm^{-1}	medium	medium
$\delta(\text{CH}_3)$ asym			
$\nu(\text{C}-(\text{NO}_2))$	1340 - 1380 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{C}-(\text{NO}_2))$ asym	1530 - 1590 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(\text{N}=\text{N})$ aromatic	1410 - 1440 cm^{-1}	medium	-
$\nu(\text{N}=\text{N})$ aliphatic	1550 - 1580 cm^{-1}	medium	-
$\delta(\text{H}_2\text{O})$	~1640 cm^{-1}	weak broad	strong
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1610 - 1680 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1500 - 1900 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C}=\text{O})$	1680 - 1820 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(\text{C}\equiv\text{C})$	2100 - 2250 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	2220 - 2255 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(-\text{S}-\text{H})$	2550 - 2600 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C}-\text{H})$	2800 - 3000 cm^{-1}	strong	strong
$\nu(=\text{C}-\text{H})$	3000 - 3100 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\equiv\text{C}-\text{H})$	3300 cm^{-1}	weak	strong
Noviembre de 2020(N-H)	3300 - 3500 cm^{-1}	medium	medium
$\nu(\text{O}-\text{H})$	3100 - 3650 cm^{-1}	weak	strong

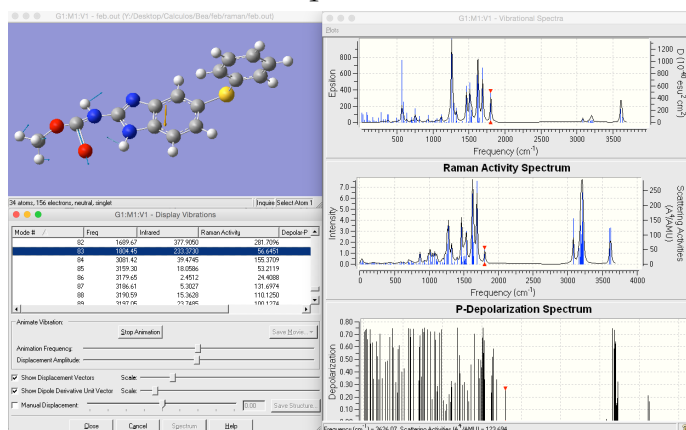
13

1. Métodos Teóricos

▣ Cálculos *ab initio* o *Primeros Principios*

▣ *DFT*

■ *Gaussian*



Noviembre de 2020

14

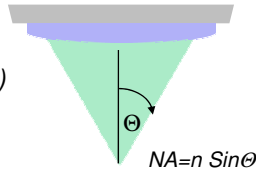
14

1. Microscopia Óptica Clásica

What is the resolution limit of a classical optical microscope?

Ernst Abbé (1840-1905): diffraction theory

$$\Delta x \geq 0,61 \times (\lambda / NA)$$



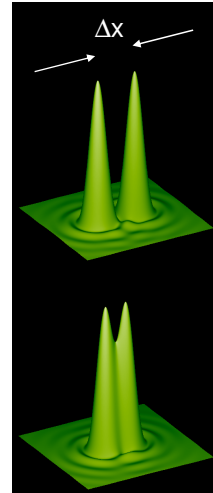
air: $NA \leq 0,95$ (340nm @ 532nm exc.)

water: $NA \leq 1,2$ (270nm @ 532nm exc.)

oil: $NA \leq 1,4$ (230nm @ 532nm exc.)

resolution limit $\approx \lambda / 2$

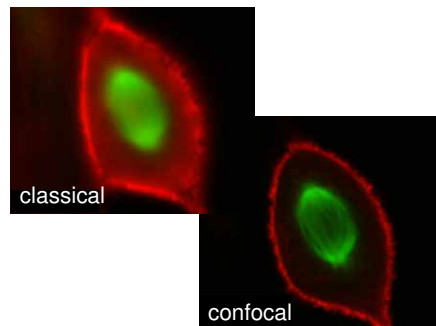
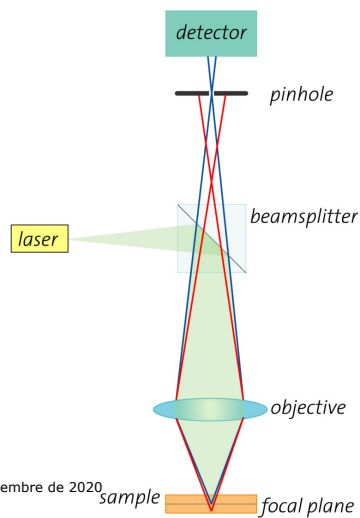
Noviembre de 2020



15

1. Microscopia Confocal

confocal microscopy



- much smaller background
- 3-D information
- slightly higher resolution possible

spatial, but NO chemical information

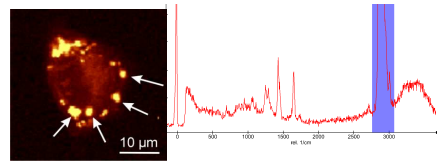
Noviembre de 2020

16

1. Microscopio Confocal + Espectroscopia Raman

3-D Imaging with chemical sensitivity

- take a complete Raman spectrum at every image pixel
- extract the relevant information (peak intensity, width, position etc.)
- display this information as image



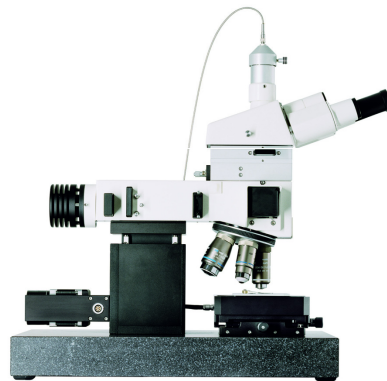
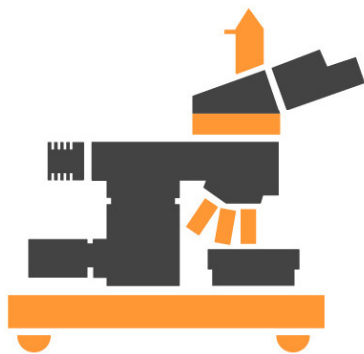
Parque Científico y Tecnológico de Pando (PCTP) /
 Instituto Polo Tecnológico de Pando (IPTP)
 ANII- Proyecto EQC_X_2012_1_14

Noviembre de 2020

17

17

1. Microscopio Confocal + Espectrómetro Raman



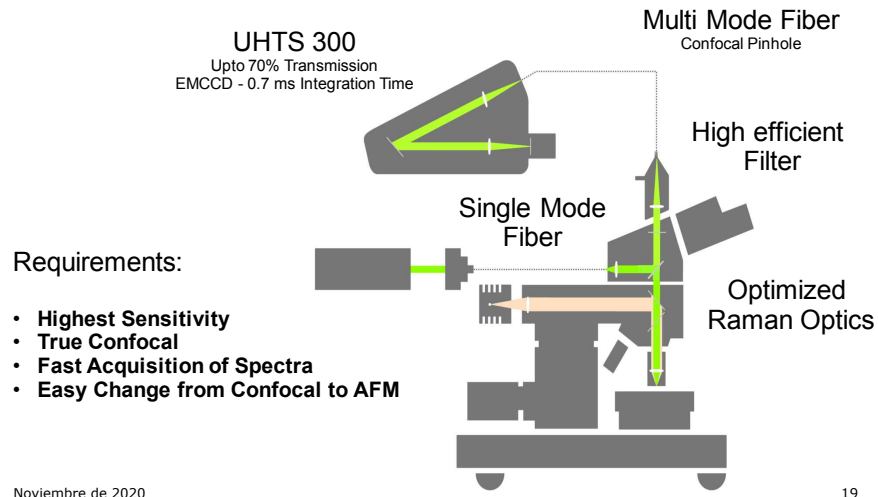
Imaging with chemical sensitivity

Noviembre de 2020

18

18

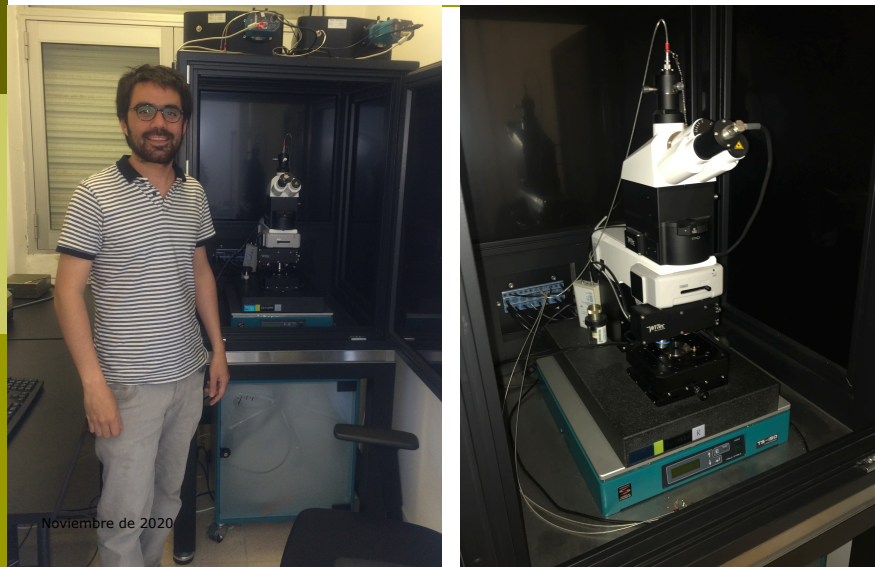
1. Esquema



19

19

1. Disposición



20

1. Aplicaciones

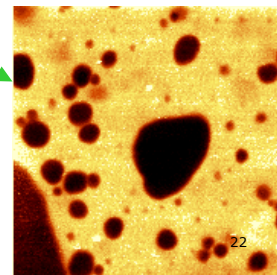
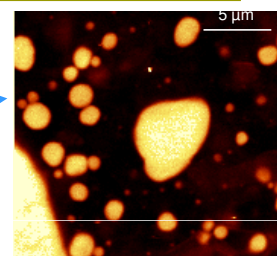
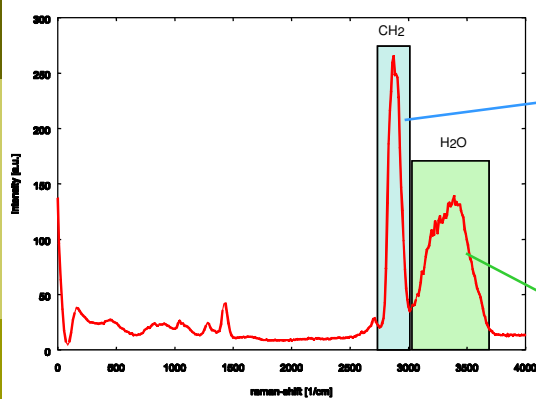
Microscopia Raman Confocal

Noviembre de 2020

21

21

Imagen Raman: dispersión agua-aceite



Body lotion, imaging parameters:

2 mW excitation @ 532nm, 100x oil, NA=1,25

20 x 20 μm, 180 x 180 pixels (= 32400 spectra)

Noviembre de 2020
50ms/spectrum

22

22

Reconstrucción Imagen Raman 3D

Sample: Oil/Water Emulsion

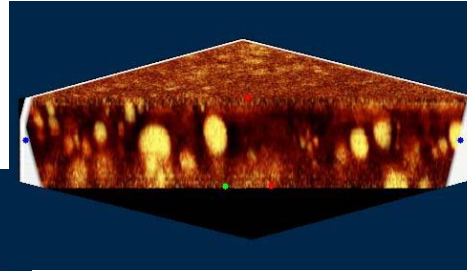
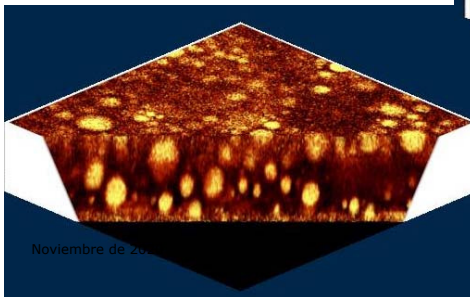
3-D Reconstruction

Evaluated Band: CH-Stretching

Excitation: 532nm

Scan Range XY: 100x100 μm

Scan Range Z: 30 μm /32 layers



Total number of Spectra: 517 500

Total Acquisition Time: 23 min

Noviembre de 2019

23

23

Blend PMMA+SBR

Fig. 5: Overview AFM image of a PMMA-SBR blend.

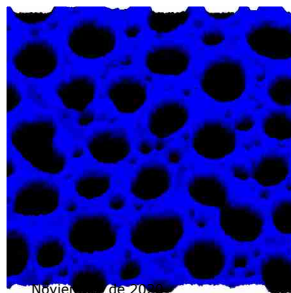
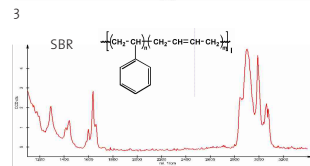
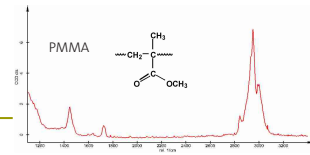
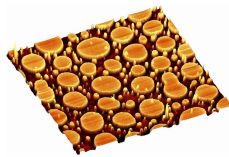


Fig. 9: Color coded Raman image of SBR resulting from the integral intensity of each spectrum.

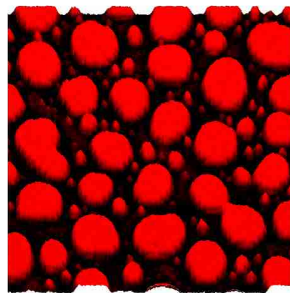


Fig. 10: Color coded Raman image of PMMA resulting from the integral intensity of each spectrum.

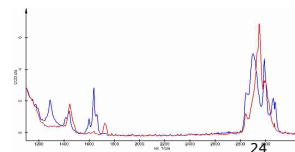
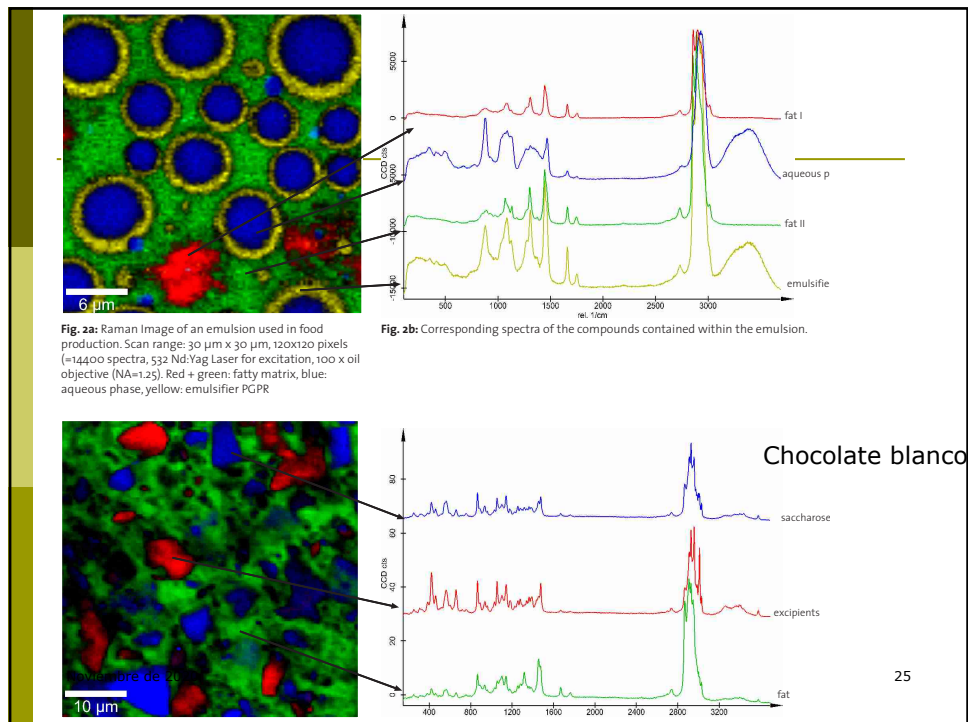


Fig. 11: Corresponding spectra: SBR (blue) and PMMA (red).

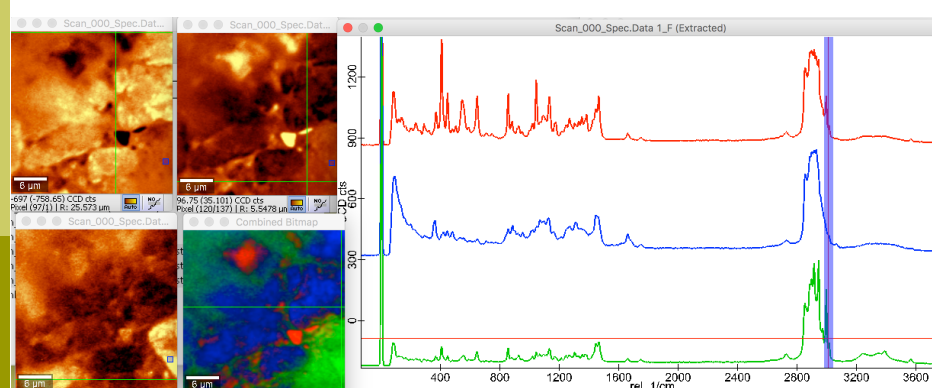
24



25

Chocolate Blanco (toblerone)

■ Sacharose, Maltose and Fats



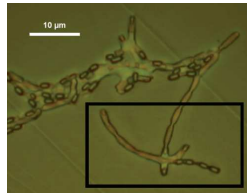
Novembre de 2020

26

26

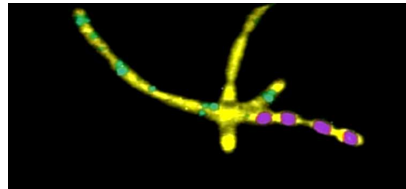
Células Bacterianas

Characterization and Detection of Metabolic Compounds



Bacillus Cereus
Three cellular components

Yellow: vegetative cells
Green: incorporation traces of PHB
Magenta: spores after stationary growth phase

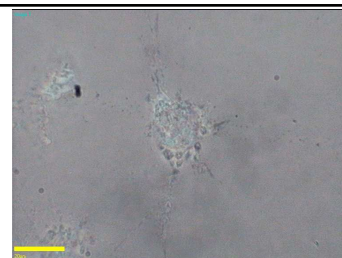


→ Diagnostic power to identifying phenotypic heterogeneity

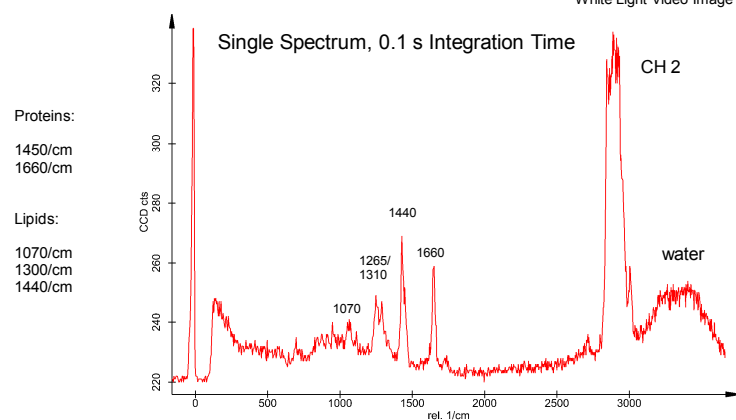
Courtesy A. Hermelink, RKI, Berlin: Hermelink et al (2009)
The Analyst, 134, 1149-1153

27

Células Vivas: células epiteliales de Rata

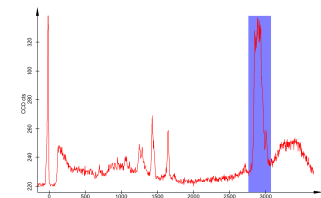
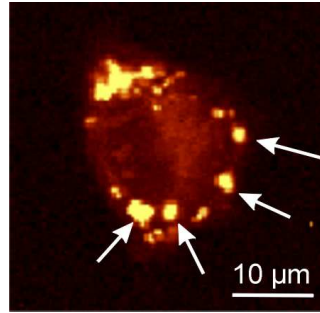
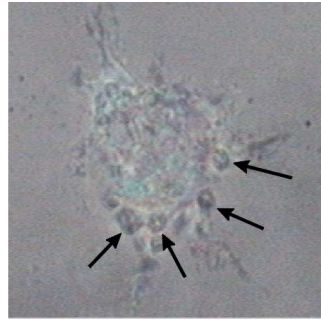


White Light Video Image



28

Células epiteliales en Buffer

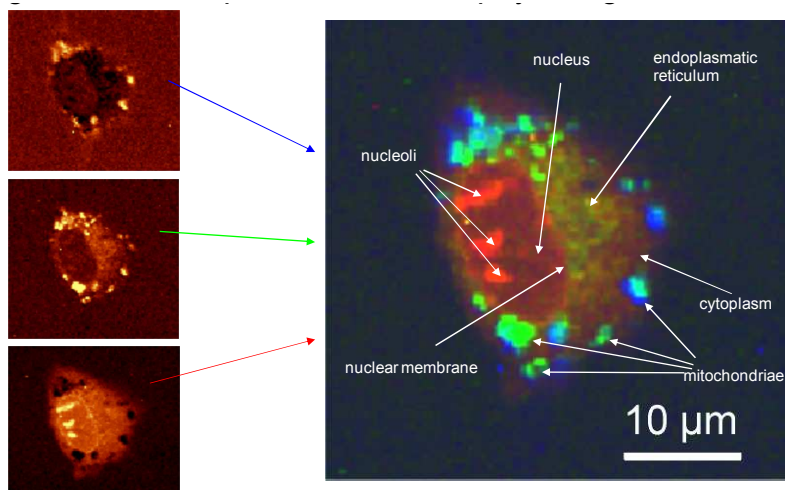


Intensity in the CH 2 stretching band
(2800 - 3000 / cm)

100 x 100 pixel = 10000 spectra
objective: 60x, NA = 1.0 water
532 nm excitation, 5 mW
100 ms / spectrum => 17 min.

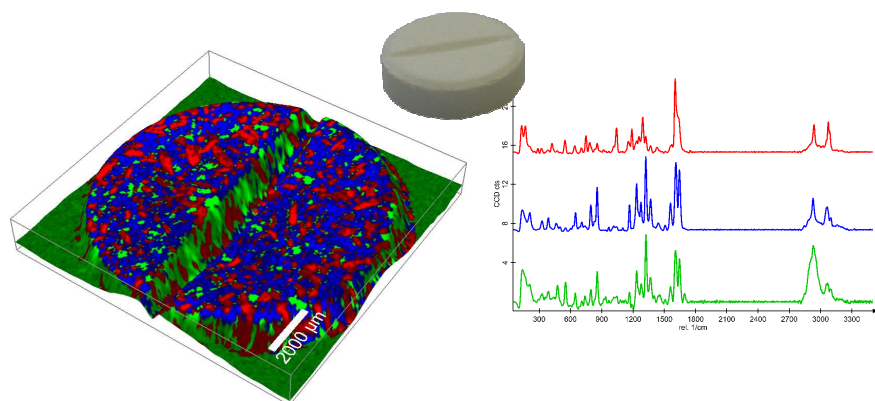
29

Imagen reconstruida



30

Tabletas: API y Excipientes



Confocal Raman Image overlaid
on the topography

Noviembre de 2020

Corresponding Spectra

Red & Blue : API

Green : Excipient

31

31

Experiencias

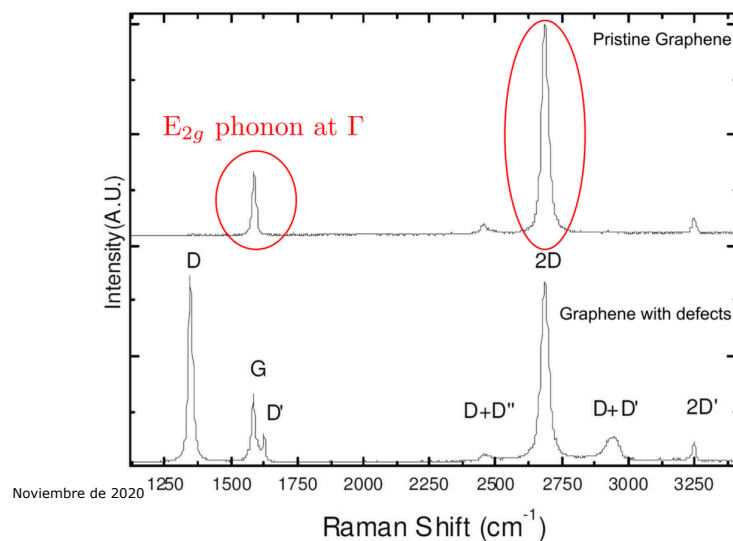
WITec alpha300RA

Noviembre de 2020

32

32

Ejemplo 4: Grafeno

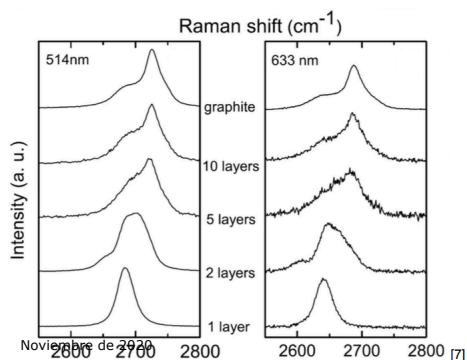


33

33

Ejemplo 4: Grafeno

"Position and fwhm of the G and 2D peak(...)confirm presence of single-layer graphene"

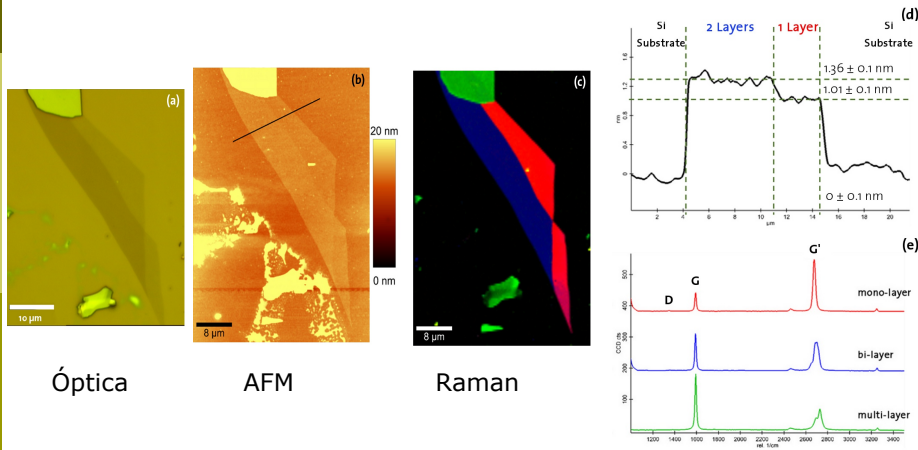


34

- Position of 2D peak depends on number of layers
- Additional layers increase FWHM of 2D peak (more e^- states for resonant scattering)
- Occurrence of peaks at 1350 cm^{-1} (D) and 1620 cm^{-1} (D') reveal defects of graphene sample

34

Ejemplo 4: Grafeno y MLG

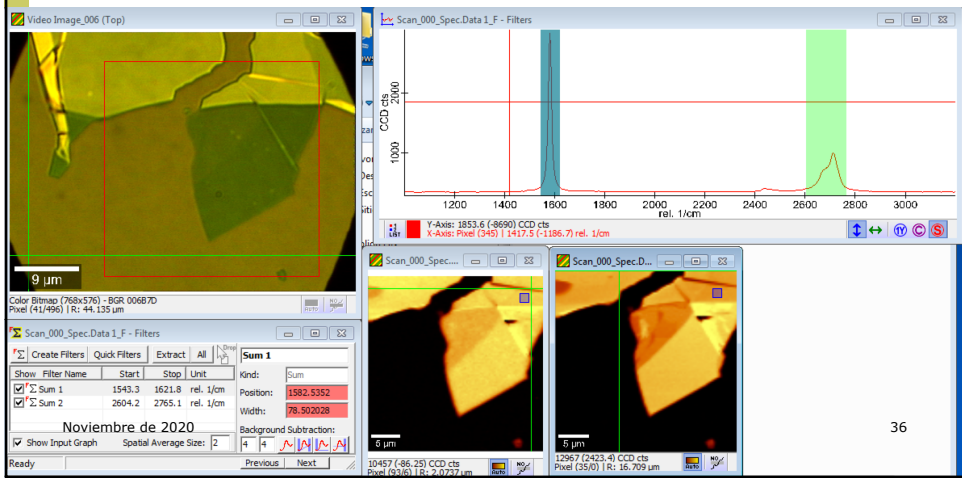


Noviembre de 2020

35

35

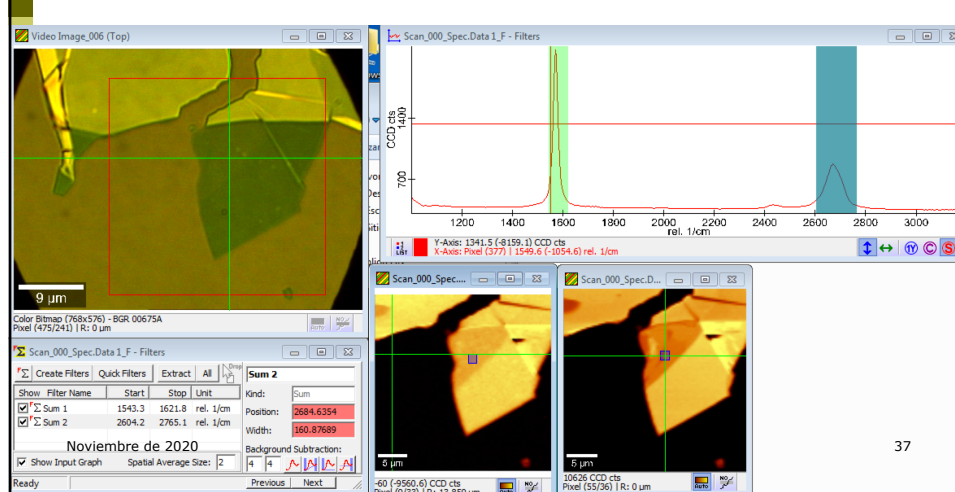
Ejemplo 4: Grafeno



36

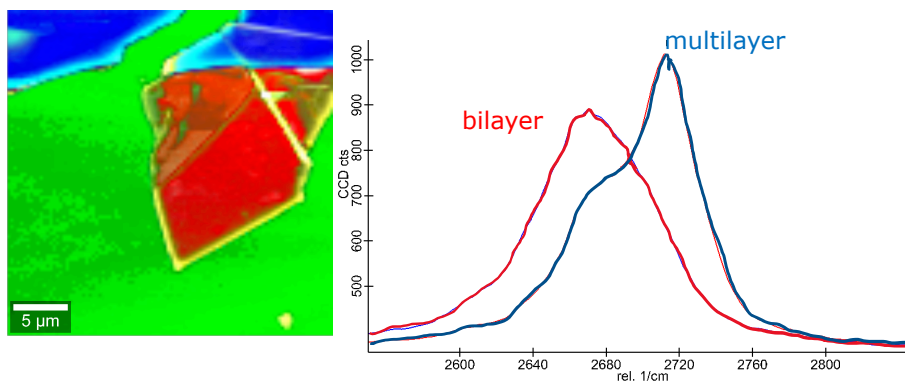
36

Ejemplo 4: Grafeno



37

Ejemplo 4: Grafeno



Noviembre de 2020

38

38

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono

Fig. 5.1 Different carbon allotropes with nanometer-scale phases ranging from 0D C60 fullerenes, 1D carbon nanotubes, 2D graphene, to 3D diamond and graphite

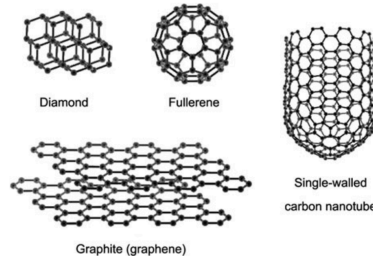
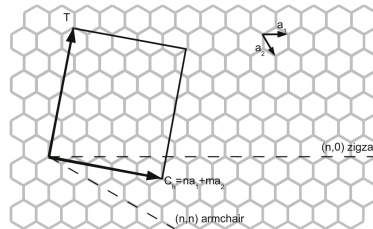


Fig. 5.2 The vector C_h describes how a sheet of graphene is rolled up to create a carbon nanotube [6]



Noviembre de 2020

39

39

Ejemplo 4: Cuantificación de Defectos

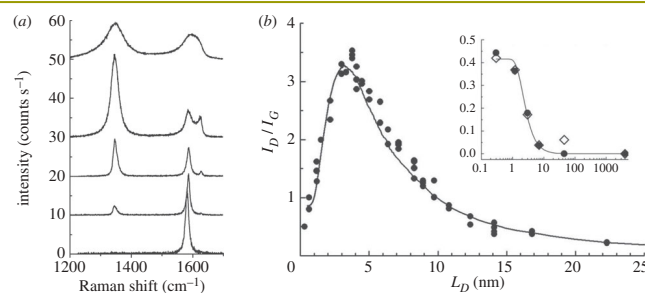


Figure 3. (a) Evolution of the first-order Raman spectra (using a $\lambda = 514$ nm laser) taken from a graphene monolayer sample deposited on an SiO_2 substrate, subjected to Ar^+ ion bombardment. The ion doses are from the bottom to the top, 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} and 10^{14} $\text{Ar}^+ \text{cm}^{-2}$ (Lucchese *et al.* 2010). (b) The I_D/I_G data points from three different monolayer graphene samples as a function of the average distance L_D between defects. The solid line is a modelling of the experimental data with equation (3.1). The inset shows a plot of I_D/I_G versus L_D on a log scale for L_D for two samples: (i) open points for an approximately 50-layer graphene sample and solid circles are for a small piece of HOPG near a graphene piece and (ii) solid diamond points, for a 2mm thick bulk HOPG sample, the measured values of which are here scaled by $(I_D/I_G) \times 3.5$ (Lucchese *et al.* 2010).

Noviembre de 2020

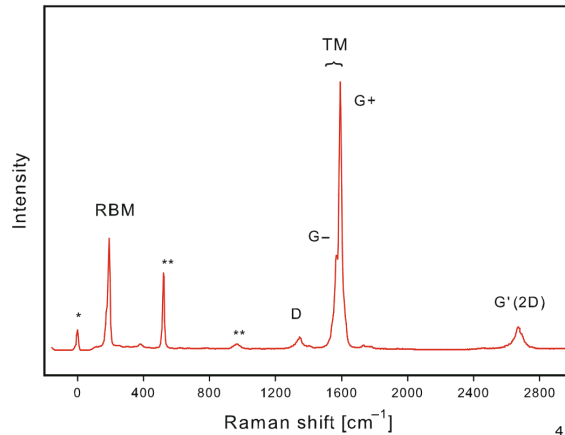
40

Phil. Trans. R. Soc. A (2010)

40

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono

Fig. 5.3 Typical Raman spectrum of an individual single-walled carbon nanotube recorded with a confocal micro-Raman spectroscope using a green 532 nm laser. The feature marked “*” is the attenuated elastically scattered Rayleigh line. Features marked “**” come from the Si support

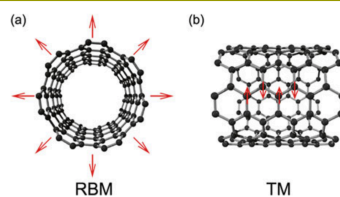


Noviembre de 2020

41

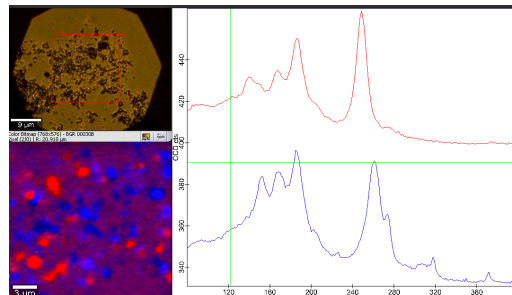
41

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono



$$\omega_{\text{RBM}} = \frac{c_1}{d_t} + c_2$$

Fig. 5.4 Raman-active vibrational modes of carbon nanotubes. (a) The so-called radial breathing mode (RBM) is a prominent feature of the tubular nanostructure and not present in planar graphite. The Raman shift of the RBM is approximately inversely proportional to the tube diameter. (b) An example of a tangential mode (TM). In analogy to graphitic Raman modes it is often also called G-mode or high-energy mode (HEM)



Noviembre de 2020

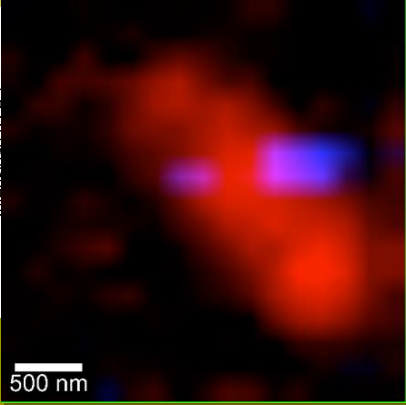
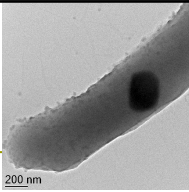
42

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PchNPs-Microorganismo.

Escherichia coli.

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm ⁻¹) (±4cm ⁻¹)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PchNPs
624	Ácidos nucleicos	Disminuye
810	Aminoácidos	Disminuye
982	Polisacáridos	Igual
1186	Polisacáridos	Disminuye
1243	Polisacáridos	Disminuye
1308	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Disminuye
1344	Aminoácidos o ácidos grasos	Igual
1593	Ácidos grasos	Disminuye

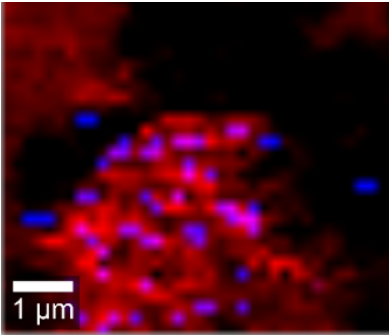
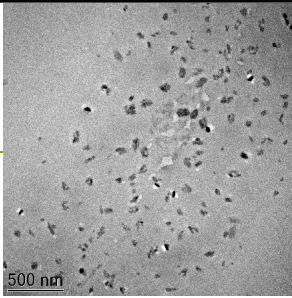
Asignación según De Gelder et al., J Raman Spectroscopy, 2007, 38(9), 1133-1147

43

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PchNPs-Microorganismo. *Staphylococcus aureus.*

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm ⁻¹) (±4cm ⁻¹)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PchNps
663	Ácidos nucleicos	Disminuye
790	Aminoácidos	Disminuye
879	Aminoácidos	Disminuye
929	Polisacáridos	Disminuye
1116	Polisacáridos	Disminuye
1325	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Disminuye
1538	Ácidos grasos	Disminuye

44

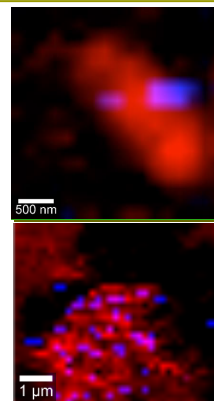
Asignación según De Gelder et al., J Raman Spectroscopy, 2007, 38(9), 1133-1147

44

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Table 1. Raman band assignment of microbial cells, control and treated cells with PchNPs. The band assignment was made based on previous work [26].

Microorganism	Raman Shift (cm ⁻¹)	Band Assignment	Effect on Treated Cells
<i>E. coli</i>	624	Nucleic acids	Diminishes
	810	Aminoacids	Diminishes
	982	Polysaccharides	No changes
	1186	Polysaccharides	Diminishes
	1243	Polysaccharides	Diminishes
	1308	Aminoacids or nucleic acids	Diminishes
	1344	Aminoacids or fatty acids	No changes
<i>C. albicans</i>	1593	Fatty acids	Diminishes
	670	Nucleic acids	Diminishes
	788	Aminoacids	Diminishes
	885	Aminoacids	Diminishes
	999	Polysaccharides	Diminishes
	1100	Polysaccharides	Diminishes
	1319	Aminoacids or nucleic acids	Diminishes
	1596	Fatty acids	Diminishes



M. B. Estevez, S. G. Mitchell, R. Faccio, S. Alborés,
Mater. Res. Express 6 (2019) 1250

M. B. Estevez, S. Raffaelli, S. G. Mitchell, R. Faccio, S. Alborés,
Molecules 2020, 25, 2023

45

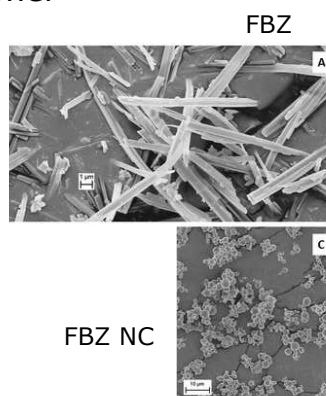
Example 9: Nanocrystals

□ Formulation of API + Poloxamer

- API: FBZ
- Excipient: Poloxamer
- Preparation of Nanocrystals
 - Wet Milling
 - Spray Drying

□ Evaluation:

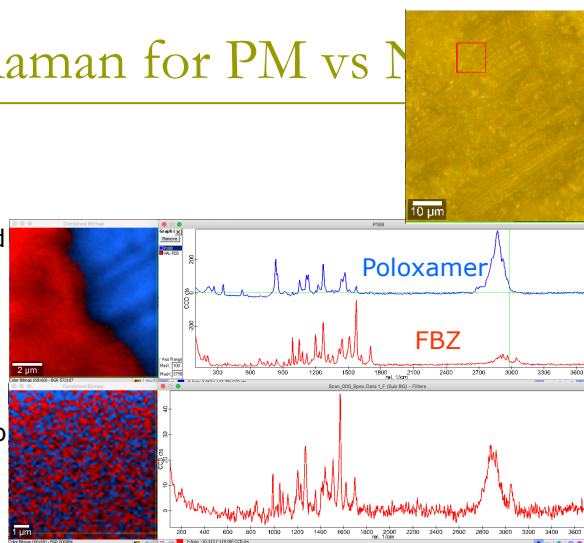
- Solid Dispersion (SD)
- Nanocrystals (NC)



46

Example 9: Raman for PM vs NC

- PM:
 - Well defined regions for API and Excipient.
- SDNC:
 - Very good distribution and homogeneity.
 - It is not possible to differentiate them (optical limit).



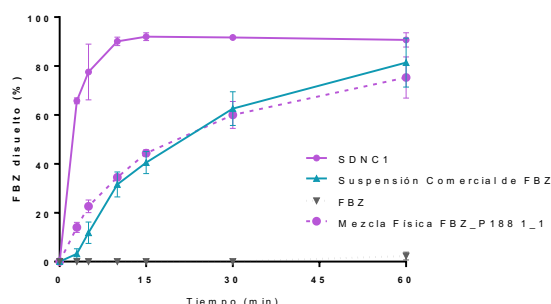
Noviembre de 2020

47

47

Example 9: Raman for PM vs NC

- Dissolution Profile (in-vitro)



EQUIPMENT
Disolutor USP tipo 2
(paletas)

SOLVENT
900 mL of HCl 0.1 N

TEMP.
37 ° C

VELOCITY
50 RPM

SAMPLE:
5 mg OF FBZ (SINK)

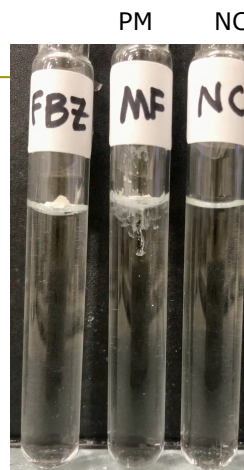
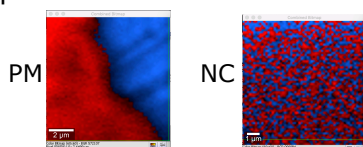
- Markedly increased dissolution rate compared with the simple mixture of the components.

48

Example 9: Nanocrystals

□ Conclusions

- We obtained Nanocrystals (NC)
- FBZ keeps cristallinity
- Poloxamer reduces cristallinity.
- Better dispersions API/EXC in NC
- Improvement in Dissolution Rate Profile.



Nanocrystals of Novel Valerolactam-Fenbendazole Hybrid with Improved *in vitro* Dissolution Performance

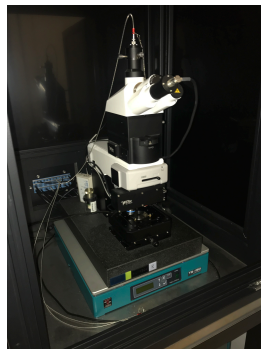
AAPS PharmSciTech (2020) 21:237
DOI: 10.1208/s12249-020-01777-y

27/11/20 Maria Elisa Melian,¹ Alejandro Paredes,² Beatriz Munguía,¹ Maximiliano Colobbio,³ Juan Carlos Ramos,³ Ramiro Teixeira,¹ Eduardo Manta,^{3,4} Santiago Palma,² Ricardo Faccio,⁵ and Laura Domínguez^{1,6}

Resumen: Micro Raman Confocal

- No Destructivo
- Identificación Química Directa
- Identificación de Propiedades de Materiales
- Preparación sencilla de muestra
- Sólidos y Líquidos
- Detección 3-dimensional
- Combinación de detección química con AF

Microscopía de Fuerza Atómica



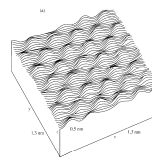
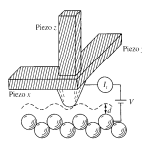
Noviembre de 2020

51

51

2. Introducción

■ Historia



Microscopio de efecto túnel (STM)
Microscopio de fuerza atómica (AFM)

Premio Nobel Física 1986



G. Binnig



H. Rohrer

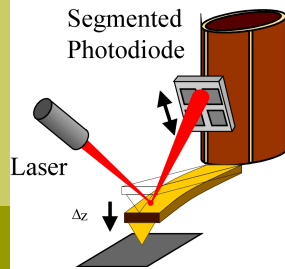
Noviembre de 2020

52

52

2. Introducción

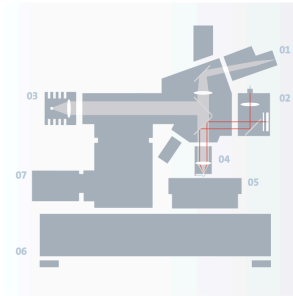
Esquema



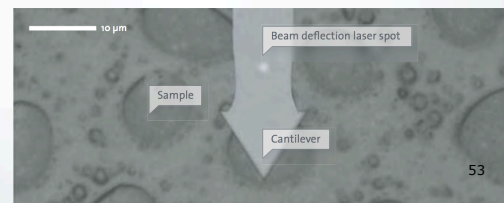
Noviembre de 2020

BEAM PATH

- 01 Video camera system
- 02 Beam deflection unit
- 03 LED white light illumination
- 04 AFM objective with cantilever
- 05 Scan-stage
- 06 Active vibration-isolation table
- 07 Z-stage for focusing



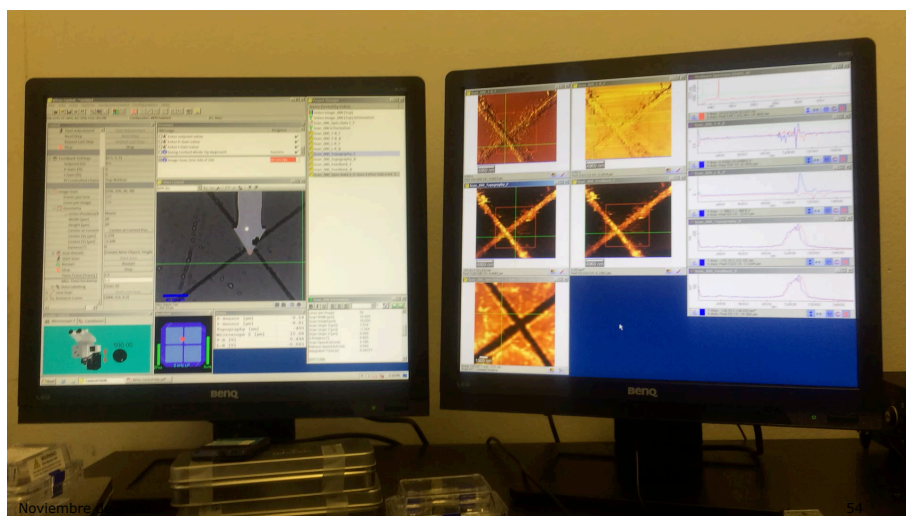
SIMULTANEOUS CANTILEVER AND SAMPLE VIEW



53

53

2. Introducción: Raman & AFM Dual



Noviembre

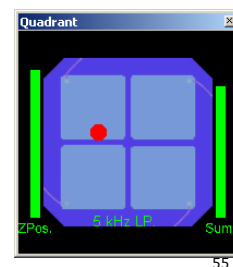
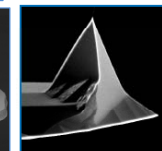
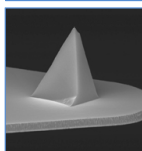
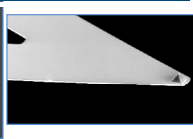
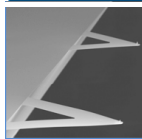
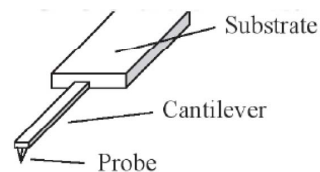
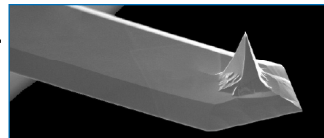
54

54

2. Introducción

▣ Partes relevantes:

- Sustrato
- Cantilever
- Probo
- Fotodiodo



Noviembre de 2020

55

2. Modos de Medida

- ▣ Contacto Continuo entre Punta y Muestra
 - Modo Contacto (contact mode)
 - Medida de Fuerzas (Curva de Fuerza)
- ▣ Contacto intermitente entre punta y muestra
 - Contacto Intermitente (Tapping Mode)
 - Contraste de Fase (Phase Contrast mode)
- ▣ Otros Modos:
 - Fuerza Magnética (MFM)
 - Fuerza Eléctrica (EFM)
 - Potencial de Superficie (SPM)
 - Fuerzas Químicas (CPM)

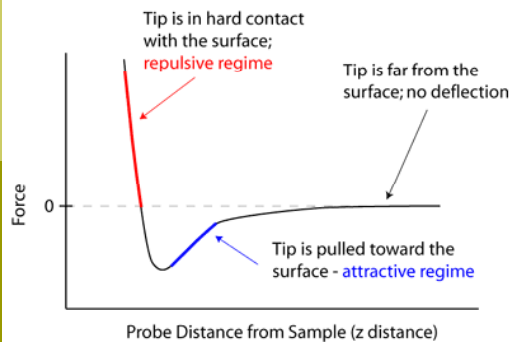
Noviembre de 2020

56

56

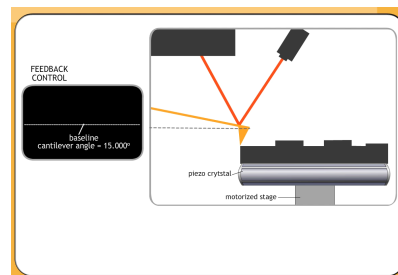
2. Modo Contacto

- Topografía
- Afectada por la respuesta mecánica del material
- Permite distinguir zonas con diferente comportamiento mecánico



Noviembre de 2020

http://virtual.itg.uiuc.edu/training/AFM_tutorial/

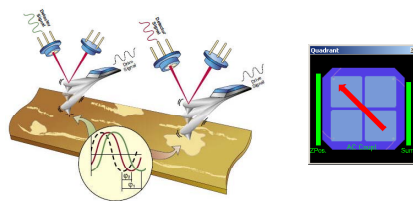


57

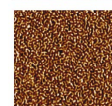
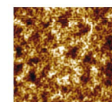
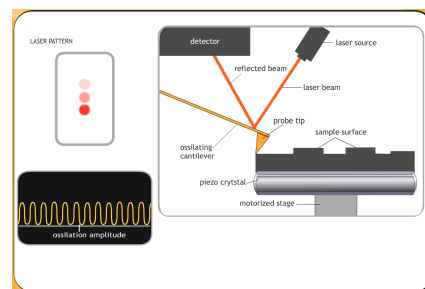
57

2. Modo No Contacto e Intermitente

- Contacto Intermitente (Force Modulation):**
 - El cantilever oscila, interaccionando con la muestra
- No Contacto**
 - El cantilever oscila, sin Interacción con la Muestra



Noviembre de 2020



58

2. Modo No Contacto e Intermitente

□ Elección del Cantilever:

■ Tapping Mode (Force Modulation):

- Resonancia: 65-85 kHz
- Constante $k=2.8 \text{ Nm}^{-1}$
- Algo de Interacción con la muestra

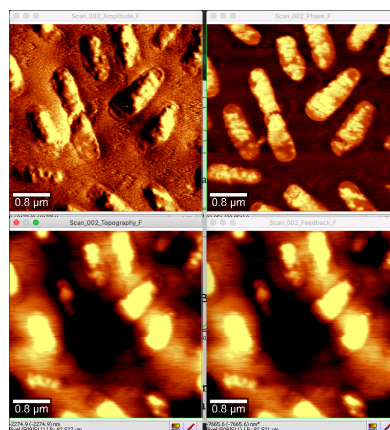
■ Modo No Contacto

- Resonancia: 230-300 kHz
- Constante $k=42 \text{ Nm}^{-1}$
- Muestras muy "blandas"
- (ej.: Polímeros, geles, microorganismos, etc). El Objetivo es la Phase Contrast image.

■ Imágenes de Fase:

- Propiedades Viscoelásticas.
- Potencial de Adhesión.

Noviembre de 2020



59

59

2. Modo No Contacto e Intermitente

□ Selección del Modo de Medida

□ Ajuste del Set-Point:

- Amplitud amortiguada del tip, debe ser inferior a la de la amplitud libre.

□ Tapping Mode (Intermitente)

- Set Point ↓

□ Modo No Contacto

- Set Point ↑

Noviembre de 2020

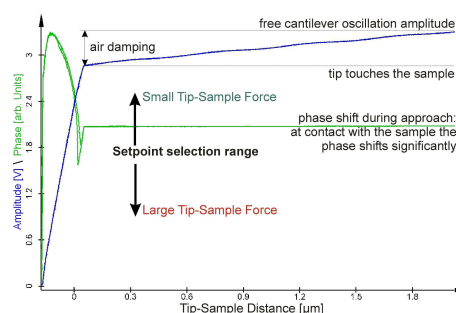
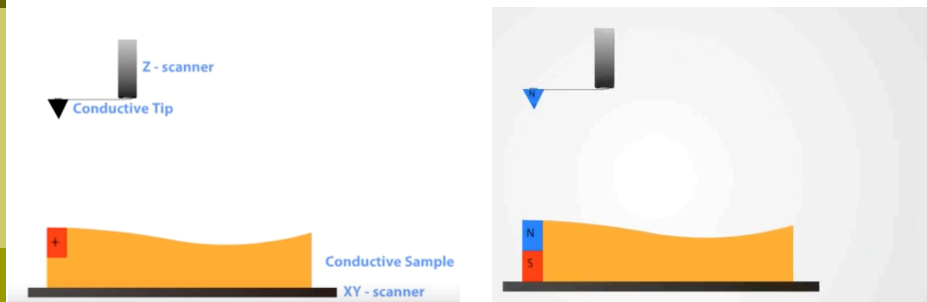


Fig. 1: Phase (green) and Amplitude (blue) as a function of tip→sample distance. The effect of the setpoint selection is also indicated.

60

60

2. EFM & MFM



Noviembre de 2020

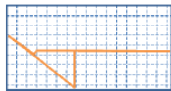
61

61

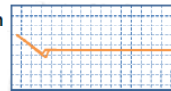
2. Medidas de Fuerza y Adhesión

- La adhesión se determina localmente mediante curvas de Fuerza.
- Topografía mecánica.

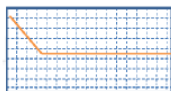
Fuerza de adhesión elevadas



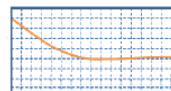
Fuerzas de adhesión pequeñas



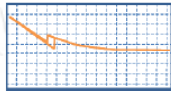
Muestra rígida



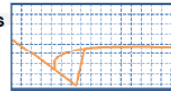
Muestra blanda



Presencia de fuerzas repulsivas de largo alcance



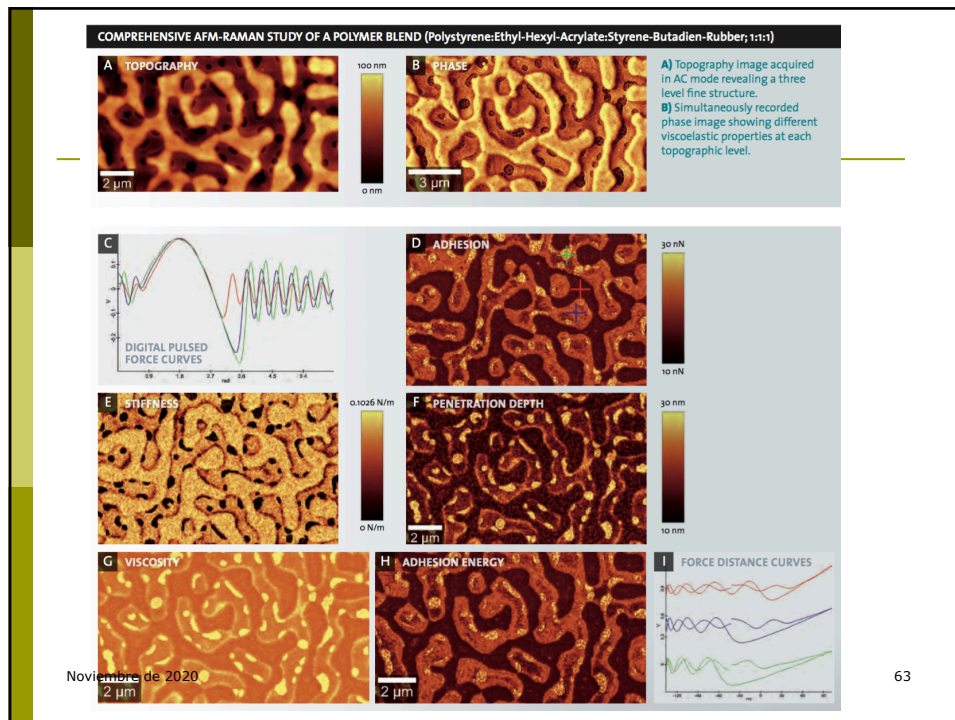
Presencia de fuerzas atractivas de corto alcance



Noviembre de 2020

62

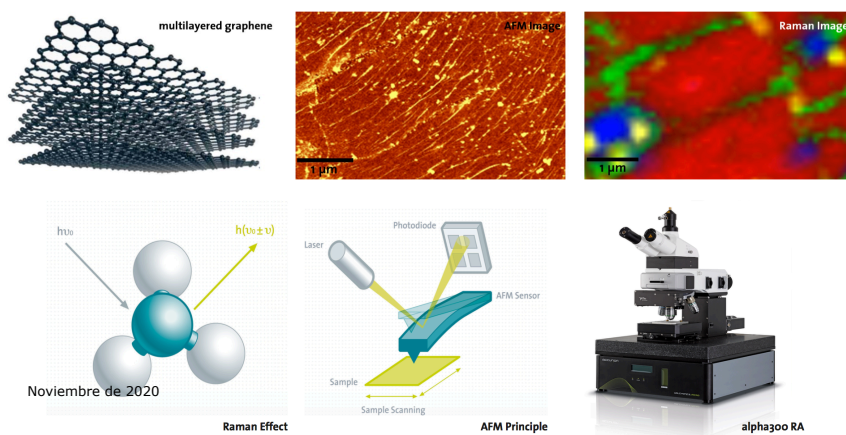
62



63

Micro Raman AFM Dual

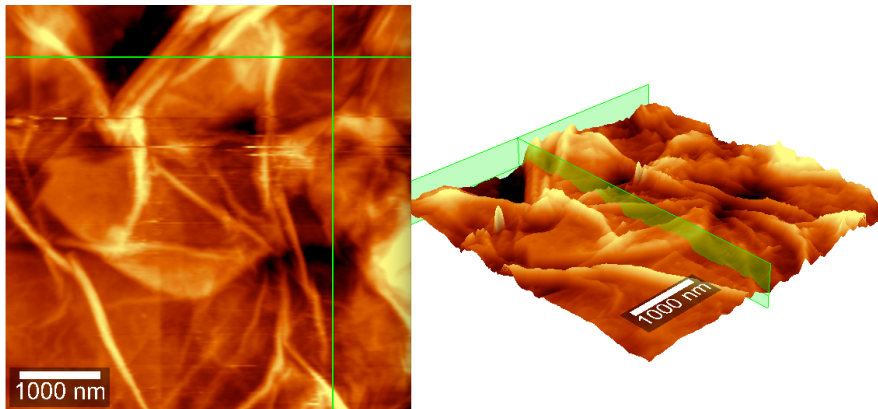
- ▣ Alpha 300R → Alpha 300RA
- FSE_1_2014_1_102008 - ANII



64

2. Ejemplos: Modo No Contacto

▣ Reduced Graphene Oxide



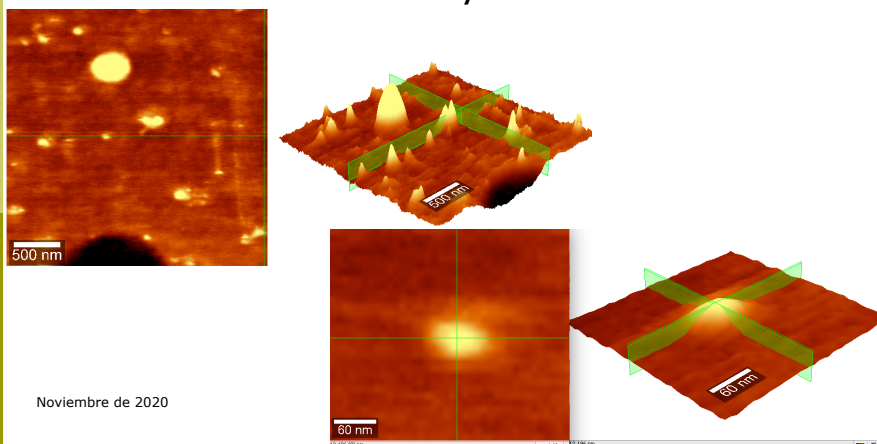
Noviembre de 2020

65

65

2. Ejemplos: Modo No Contacto

- ▣ GOQD sobre sustrato de silicio
- ▣ 60 nm de diámetro y 13 nm de alto



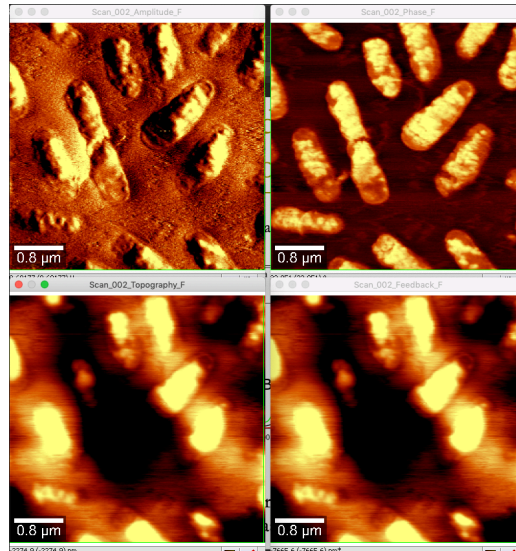
Noviembre de 2020

66

2. Ejemplos: Bacterias con Ag-NP

□ NC AFM

- Amplitud
- Fase
- Topografía
- Feedback



Noviembre de 2020

67

2. Resumen: AFM/EFM/MFM

□ Diferentes Modos de Medida:

- *Contacto*
- *No Contacto e Intermitente (Tapping)*
- *Liftmode*

□ AFM/EFM/MFM

□ Topología y Propiedades Físicas:

- *Dureza*
- *Viscosidad*
- *Adhesión*

□ Posibilidad de medir en Líquidos

Noviembre de 2020

68

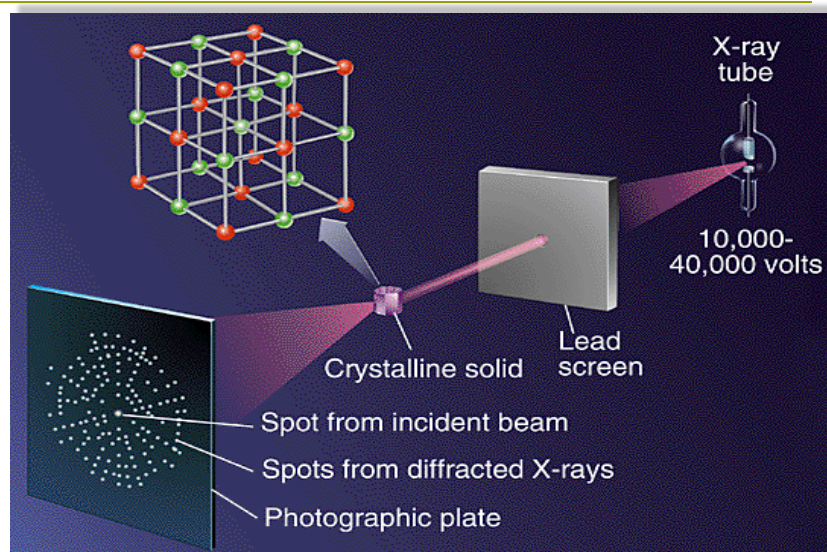
68

Difracción de Rayos X



69

Experimento de Difracción



70

Difracción de Monocristal



71

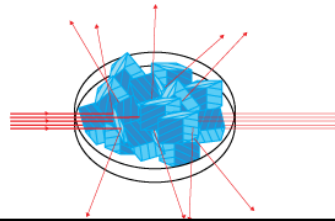
¿Qué es polvo policristalino?

- ▣ Conjunto muy numeroso (infinitos) de cristales microscópicos (infinitesimales) idénticos (esféricos) ordenados aleatoriamente.
 - Ejemplos: Azúcar impalpable, sal fina.
 - La coherencia interna en cada cristal es la propiedad a observar, por lo tanto los metales generalmente son policristalinos.

72

¿Qué papel juega cada cristal?

- ▣ Cada cristal en el polvo actúa de forma idéntica a un cristal único, generando su propio patrón de difracción.
- ▣ La presencia de infinidad de cristales produce superposición de patrones observándose un nuevo tipo de diagrama.
- ▣ La información contenida en el patrón de difracción es la misma, pero la superposición de muchos cristales.



73

Difracción de Monocristal



74

Difracción de Polvo



75

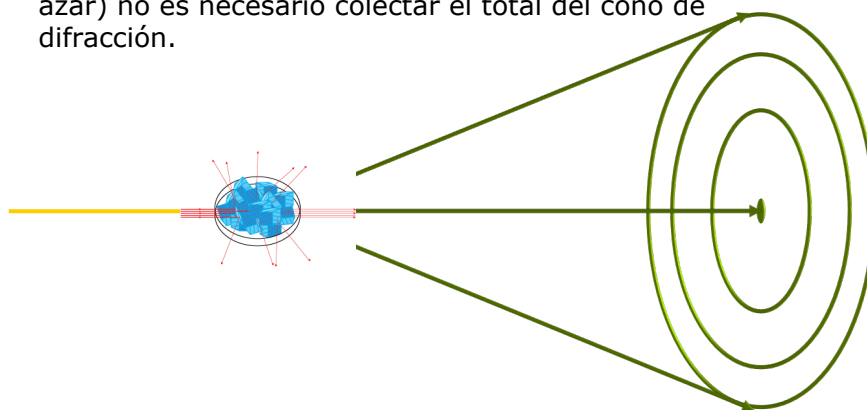
¿Qué es polvo policristalino?

- ▣ Conjunto muy numeroso (infinitos) de cristales microscópicos (infinitesimales) idénticos (esféricos) ordenados aleatoriamente.
 - Ejemplos: Azúcar impalpable, sal fina.
 - La coherencia interna en cada cristal es la propiedad a observar, por lo tanto los metales generalmente son policristalinos.

76

Condiciones para XRPD

- Si el polvo policristalino cumple con todas las condiciones del principio (infinitud de cristales uniformes orientados al azar) no es necesario coleccionar el total del cono de difracción.



77

Difractómetro: Rigaku Ultima IV



78

Geometrías de Haz de Rayos X

Geometría Para focalizante Bragg-Brentano

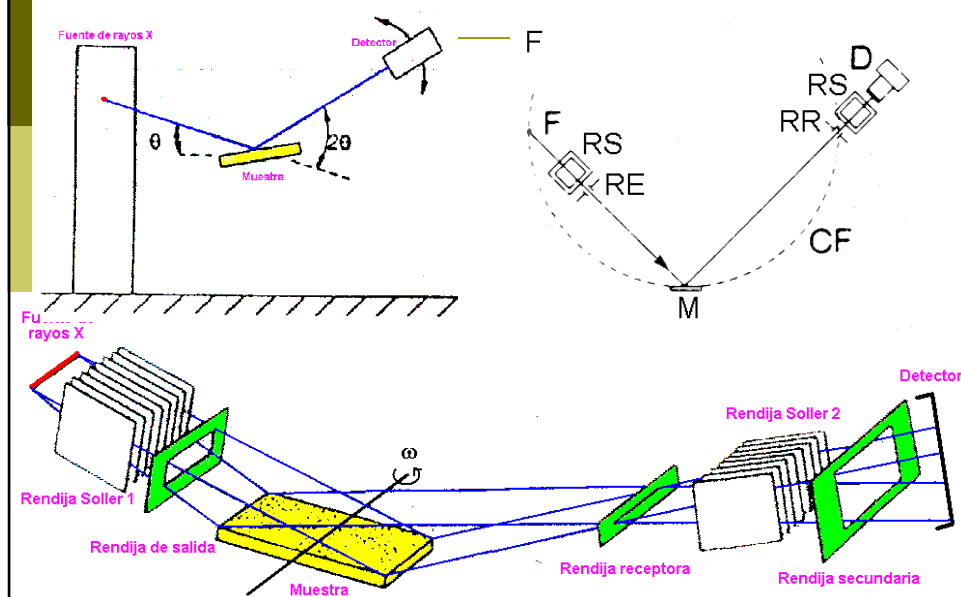


Geometría de Haz paralelo, Cross-Beam-Optics CBO

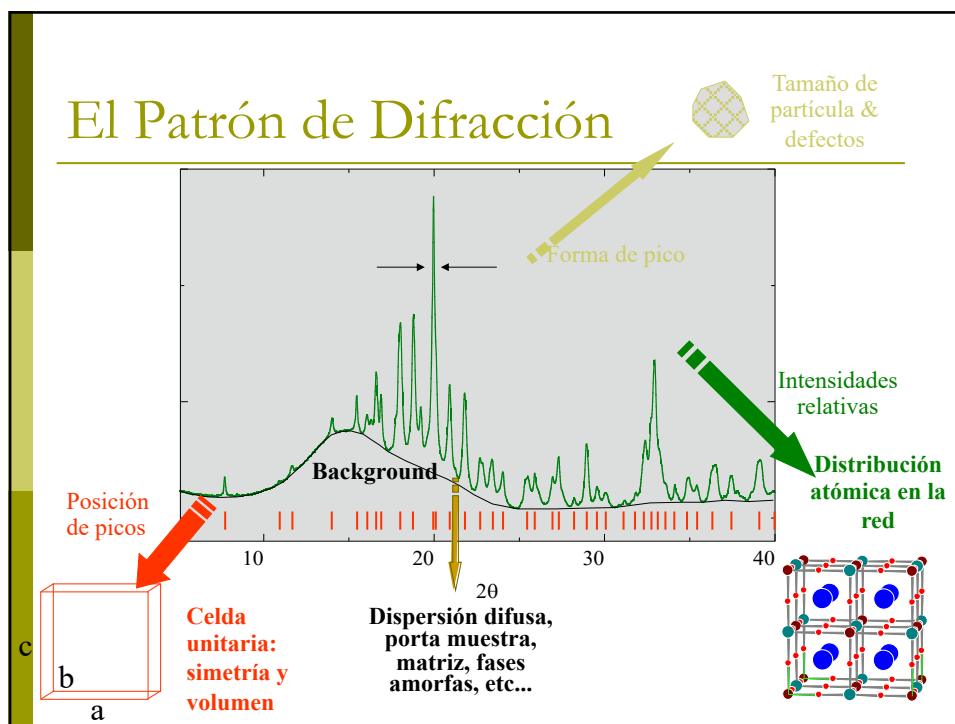


79

Geometría Bragg-Brentano o para-focalizante.



80

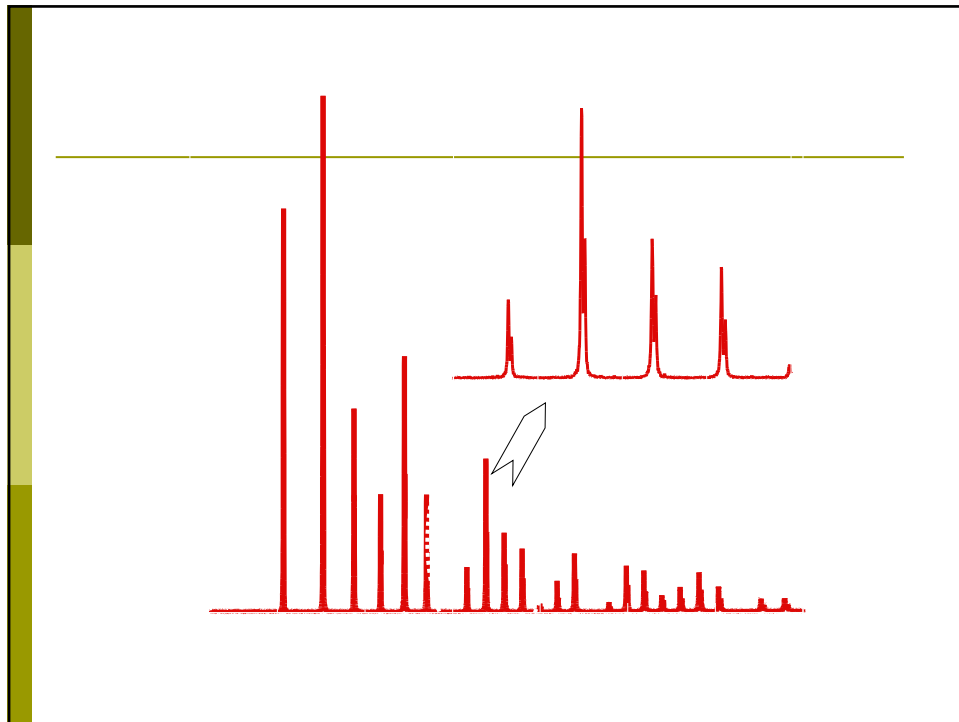


81

Información contenida en un diagrama de difracción de polvo

- Posiciones de los picos
 - Sistema Cristalino
 - Grupo Espacial de Simetría
 - Simetría Traslacional
 - Dimensiones de la celda unidad
 - Información Cualitativa de fases
- Intensidades
 - Contenido de la Celda Unidad
 - Simetría Puntual
 - Fracción cuantitativa de fases
- Forma y ancho de picos
 - Tamaño de cristales (2-200 nm)
 - Tensiones internas no uniformes
 - Presencia de defectos de cristales (fallas de apilamiento, dislocaciones, inclusiones, gradientes de fase, etc.)

82



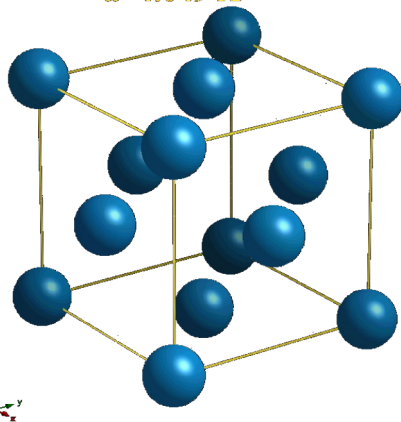
83

Dimensiones y contenidos de la celda (ejemplo cúbico)

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}}$$

$$a = 4.049 \text{ \AA}$$

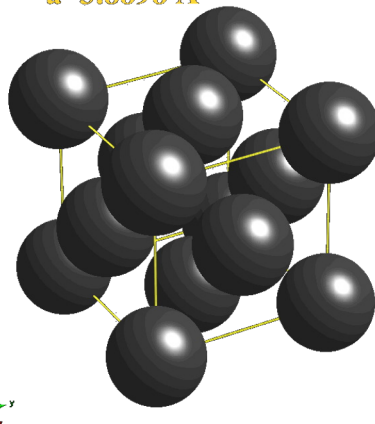
Al



$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta$$

$$a = 3.8898 \text{ \AA}$$

Pd

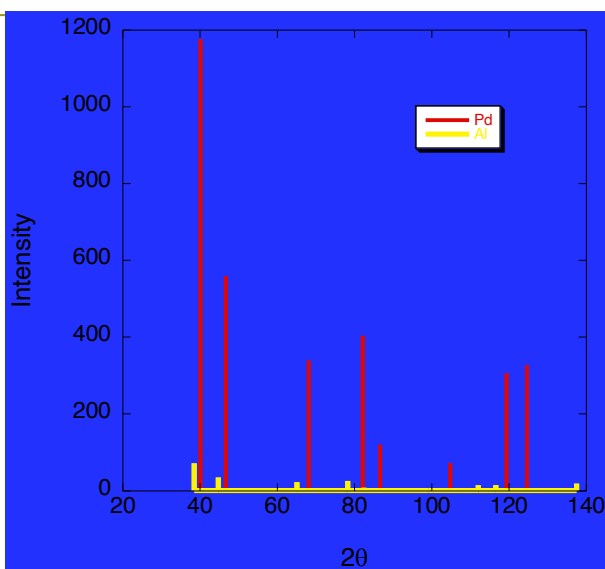


84

Dimensiones de la Celda Unidad

$$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}}$$

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin\theta$$

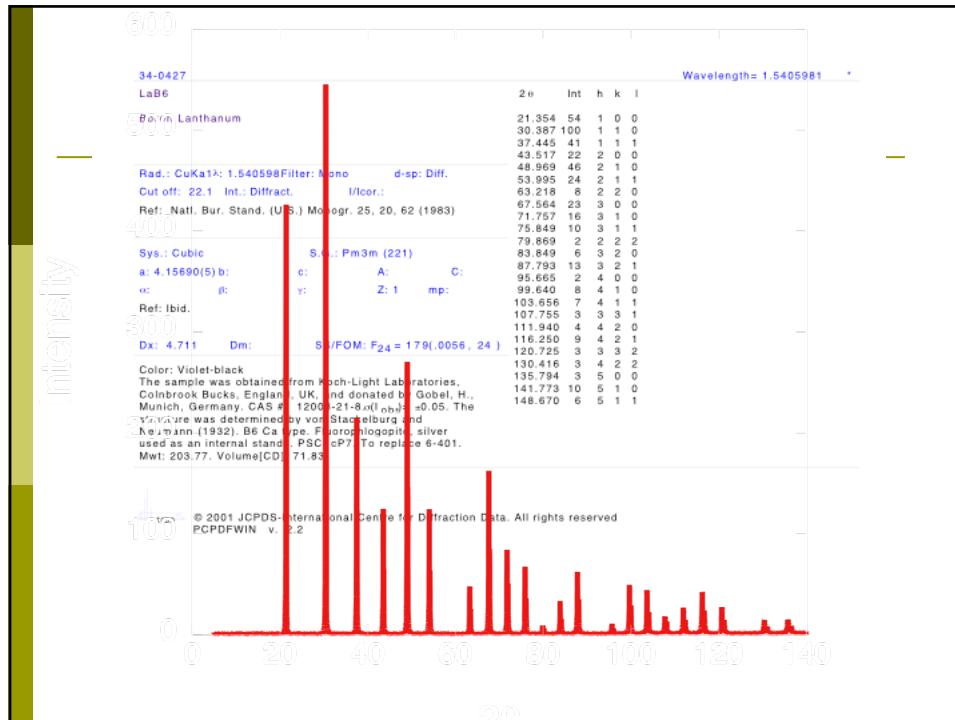


85

Análisis Cuantitativo

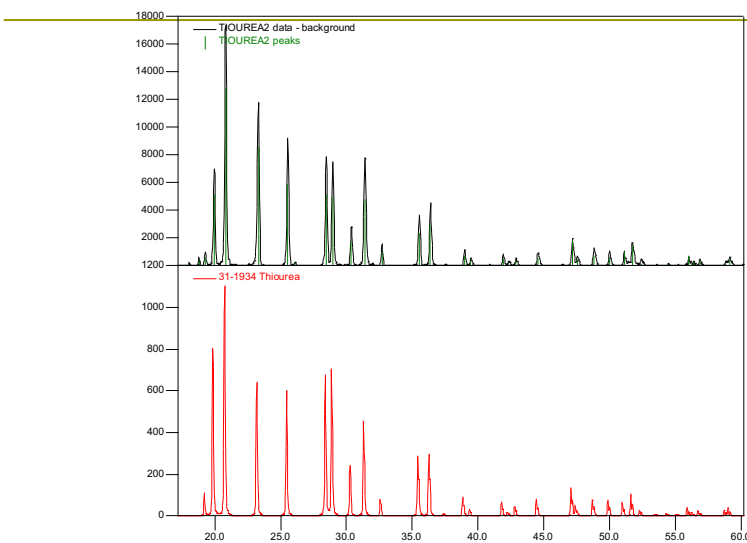
- ▣ El diagrama de difracción de polvo de una fase es "la huella digital del compuesto" y puede ser utilizado para su identificación cuali-cuantitativa.
- ▣ Algoritmos de búsqueda-ajuste son utilizados para comparar diagramas experimentales con otros almacenados en una base de datos (ICDD) de compuestos ya estudiados. $I_{100}/I_{100_corundun}$
- ▣ Puede ser utilizado para mezclas complejas de fases.
 - Standard Interno
 - Full Profile Pattern Refinement: Rietveld Method
- ▣ Puede ser utilizado para identificar polimorfos de un mismo compuesto.

86



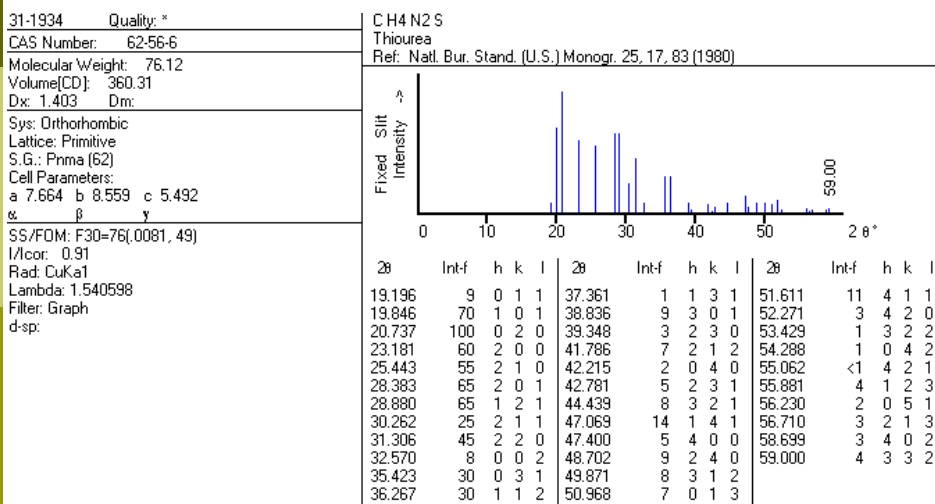
87

Software: Search-Match



88

Tarjetas JPCD-ICDD



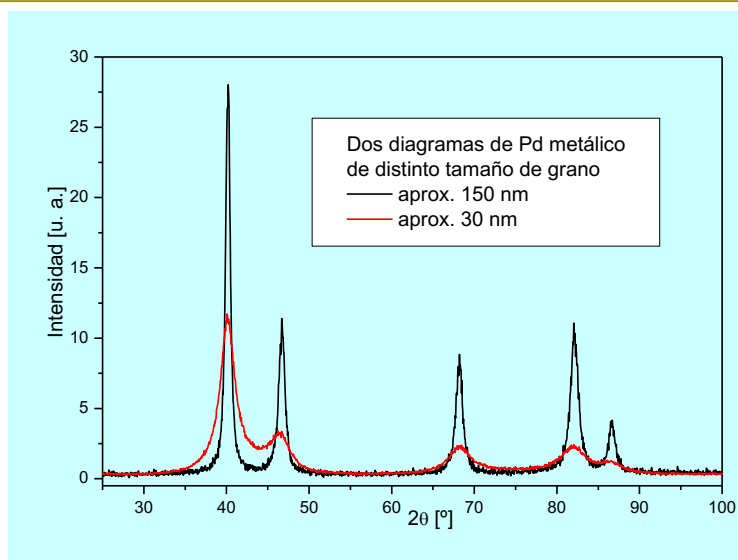
89

¿Qué sucede en el polvo real?

- ▣ Pueden no cumplirse una de las 3 condiciones fundamentales:
 - Orientación aleatoria de los cristales
 - ▣ Orientación Preferencial.
 - Tamaño de cristales entre 1 y 10 μm .
 - ▣ Ensanchamiento por tamaño (size-broadening)
 - ▣ Intensidad falsa de máximos (spikey peaks)
 - Forma regular de los cristales
 - ▣ Ensanchamiento anisotrópico (anisotropic-broad.)

90

Ensanchamiento por tamaño de cristalita



91

Esanchamiento: fórmula de Scherrer

□ K

- Constante de valor entre 0.84 y 1

□ β_{hkl}

- Ancho de pico a media altura (componente Lorentziana)

□ λ

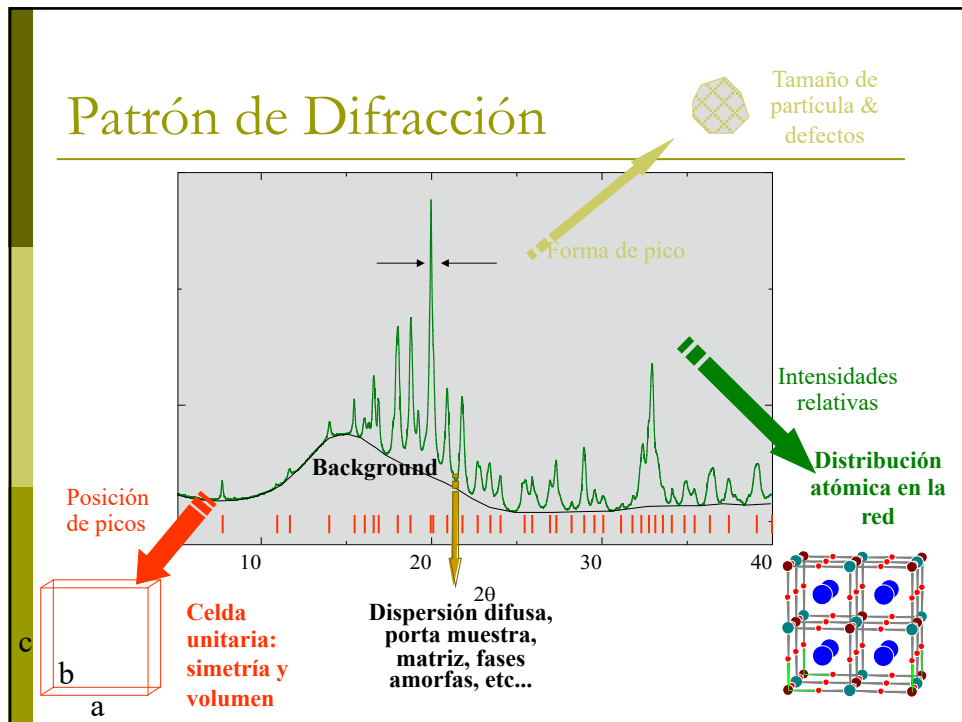
- Longitud de Onda

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta_{hkl} \cos \theta_{hkl}}$$

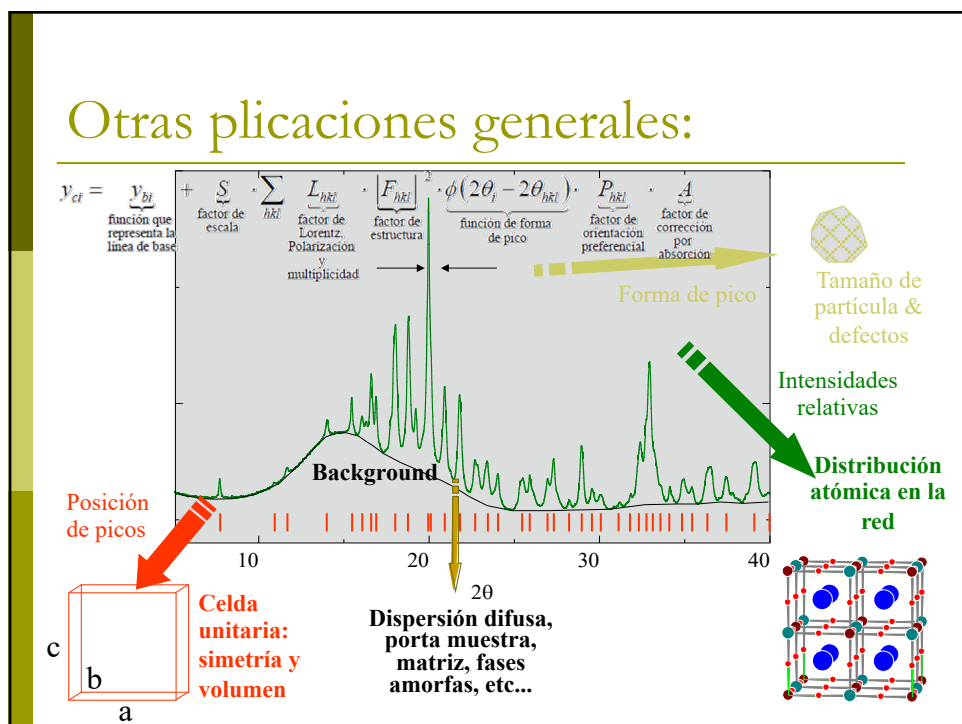
□ Validez:

- distancias inferiores a 200 nm
- Considerar simetría y superposición de picos
- Ancho instrumental del equipamiento
- Considerar ajuste de Rietveld

92

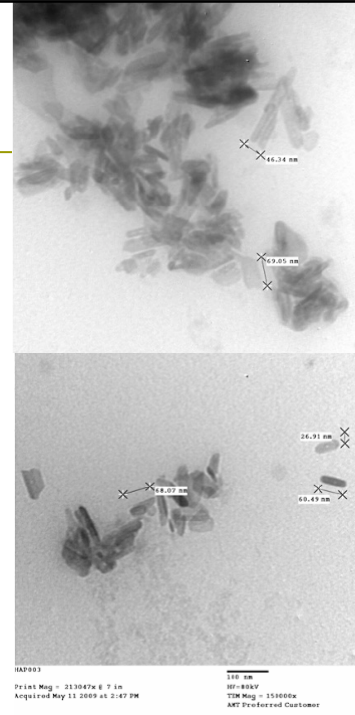
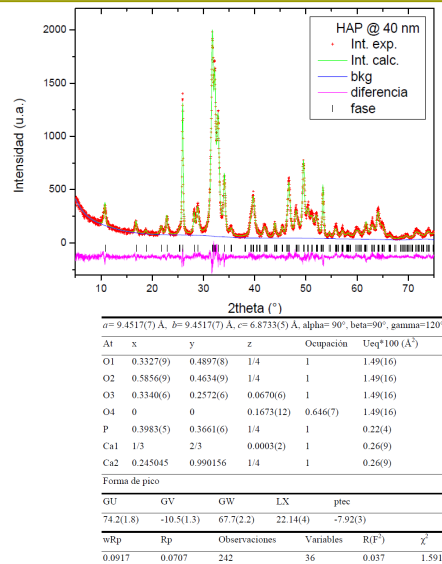


93



94

3. Nano-HAP



95

Dispersión a Bajo Ángulo (SAXS)

Generalidades

Intensidad de dispersión:

$$I = \phi P(q) S(q)$$

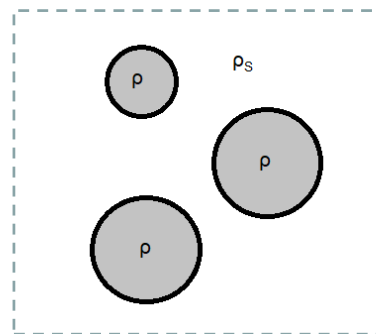
con:

ϕ (fracción en volumen)

$$P(q) = [\rho(r) - \rho_s]^2 \int |F(qr)|^2 dr \quad (\text{función intrapartícula})$$

$$S(q) = 1 + 4\pi n \int [g(r) - 1] \frac{\sin(qr)}{qr} r dr \quad (\text{función interpartícula})$$

siendo: $g(r)$ (función de distribución de pares)



96

Dispersión a Bajo Ángulo (SAXS)

Generalidades

$$I = \phi P(q) S(q)$$

Sistemas diluidos:

$$S(q) \sim 1$$

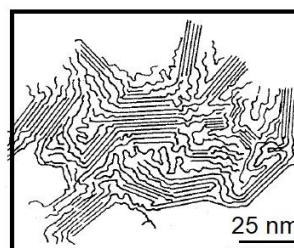
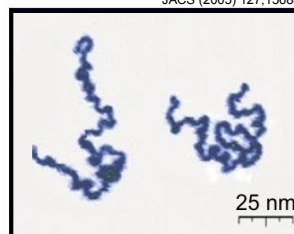
Sin interacciones entre polímeros

Sistemas concentrados:

$$S(q) = 1 + 4\pi n \int [g(r) - 1] \frac{\sin(qr)}{qr} r dr$$

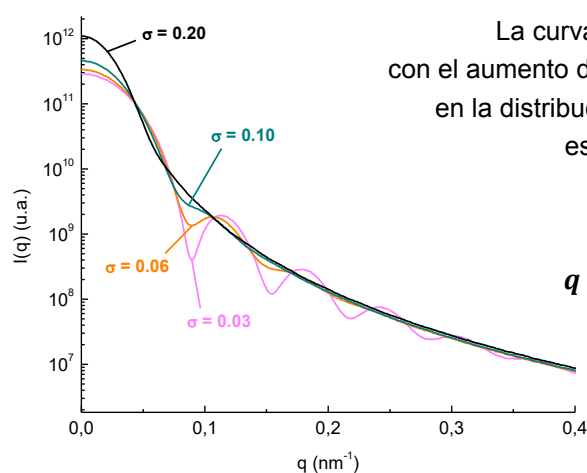
Interacciones entre polímeros

Ej: atractivas, repulsivas, etc.



97

Dispersión a Bajo Ángulo (SAXS)



La curva de SAXS se suaviza con el aumento de la polidispersión (σ) en la distribución de tamaño de los espacios vacíos o fillers

Función de Guinier:

$q \rightarrow 0$ (ej: $q < 0.1 \text{ nm}^{-1}$)

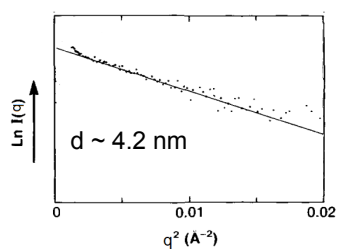
$$I(q) \sim G e^{-\frac{q^2 s^2}{3}}$$

(no interactuantes)

98

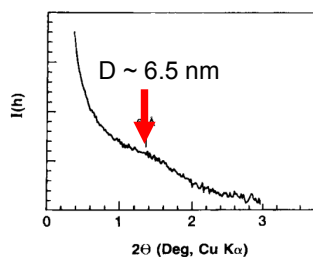
Dispersión a Bajo Ángulo (SAXS)

Estructura laminar



Dominio laminar

$$\ln[I(q)] \sim -\frac{q^2 s^2}{3}$$



Distancia de correlación

$$D = \frac{2\pi}{q_{max}}$$



99

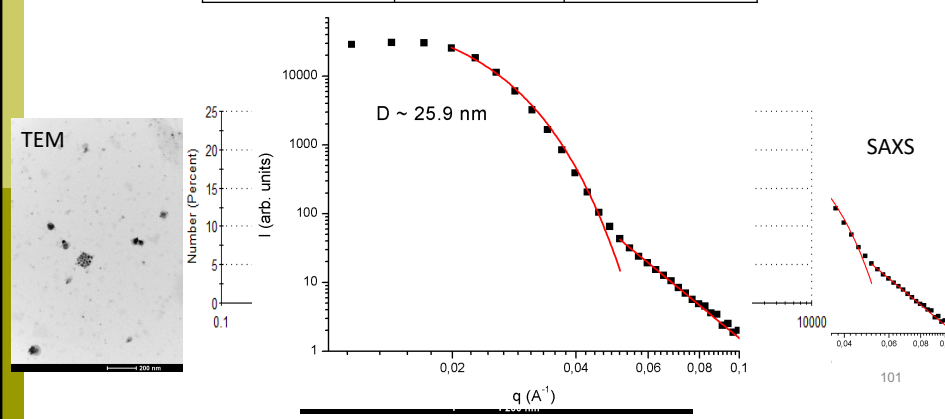
Ejemplo: NPs de Ag por Biosíntesis

Tesis de Doctorado de la B.C.
Belén Estevez

100

Caracterización de PchNPs: Tamaño

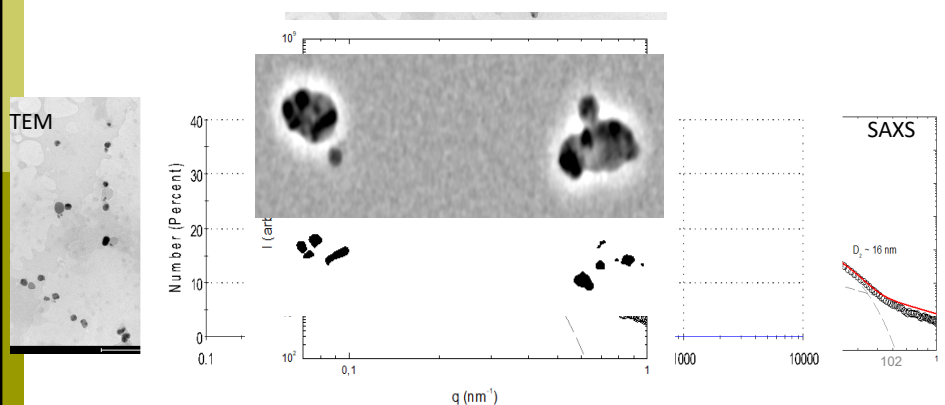
TEM	DLS	SAXS
17(7) nm	43(15) nm PDI: 0,3	26(1) nm



101

Caracterización de PeNPs: Tamaño

TEM	DLS	SAXS
32(11) nm	16(4) nm PDI: 0,2	16(1) nm 40(1) nm



102

Conclusiones

- ❑ No hay una única técnica para analizar nanomateriales.
- ❑ No hay una única técnica para concluir sobre algún aspecto de la caracterización de nanomateriales.
- ❑ Se trata una tarea compleja, de la cual se debe concluir luego de un análisis amplio y de consenso.

Noviembre de 2020

103

103



UDELAR
FACULTAD DE QUÍMICA

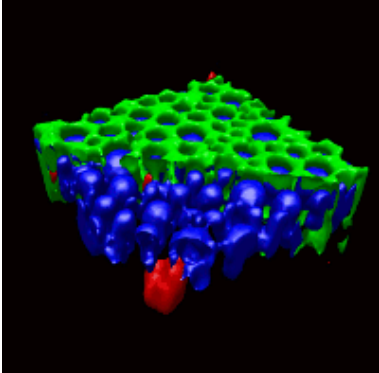
Gracias



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA



NanoMat





PCTP
Parque Científico
Tecnológico de Pando



polo tecnológico
química - biotecnología

Noviembre de 2020

104

104