

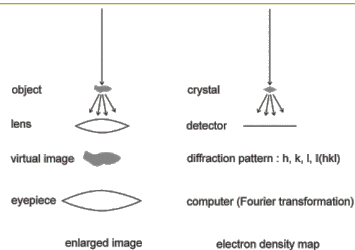
Dr. Ricardo Faccio

Centro de Análisis por Difracción de Rayos X
Centro NanoMat

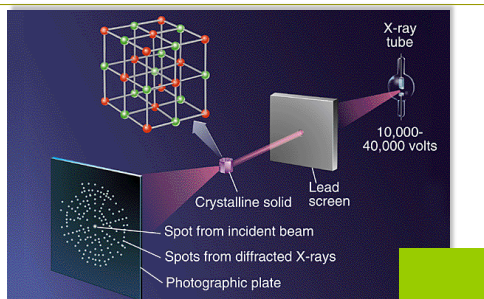
Facultad de Química
Universidad de la República
rfaccio@fq.edu.uy



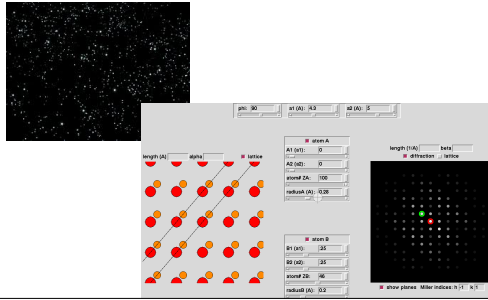
Microscopia Convencional vs Difracción de Rayos X



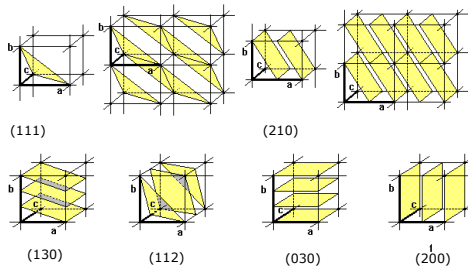
Experimento de Difracción



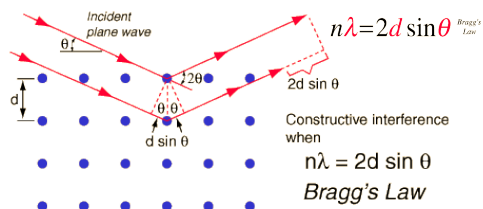
Difracción de Monocristal



Índices de Miller (hkl)

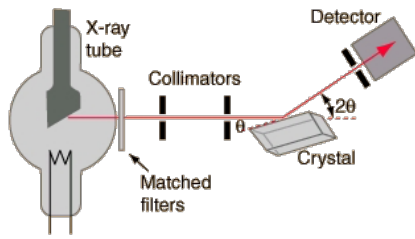


Difracción de Rayos X: Ley de Bragg

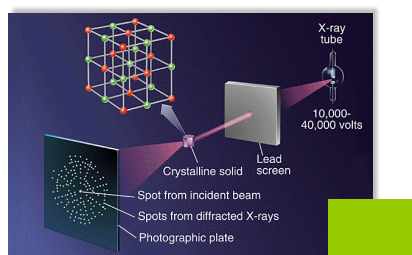


<http://skuld.bmsc.washington.edu/~merri/bc530/bragg/>

Experimento de Difracción



Experimento de Difracción



Difracción de Monocristal

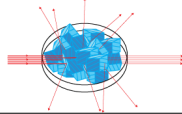


¿Qué es polvo policristalino?

- ▣ 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.

¿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.



Difracción de Monocristal



Difracción de Polvo



¿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.

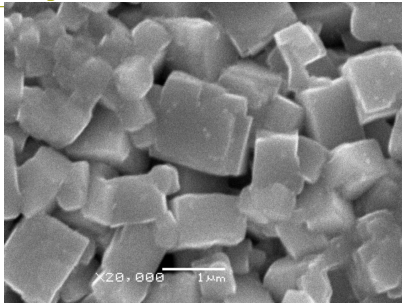
¿Cuántos cristales se necesitan?

- ▣ Consideremos que cada reflexión de Bragg tiene un ancho de 1° en θ y que queremos que haya 1 cristal en cada dirección posible del espacio:
 - Preciso 360 cristales para cubrir una dirección del espacio; 360×360 para cubrir dos y 360^3 para cubrirlo todo.
 - El mínimo número de cristales es 46.7×10^6

¿De qué tamaño deben ser?

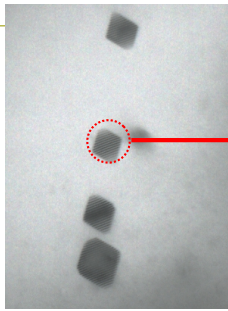
- Densidad: 5 g/cm^3 , número: 46.7×10^6 , en 0.1 g de muestra c/cristal debe pesar: $2 \times 10^{-8} \text{ g}$. Su volumen será: $4 \times 10^{-9} \text{ cm}^3$.
- $4 \times 10^{-9} \text{ cm}^3 = 4 \times 10^3 \text{ }\mu\text{m}^3$
- Corresponde a esferas de $10 \text{ }\mu\text{m}$ de radio.
- ¿Esto es grande o chico?

¿De qué tamaño deben ser?

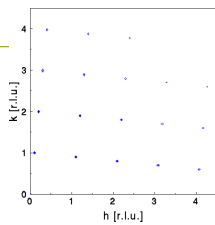
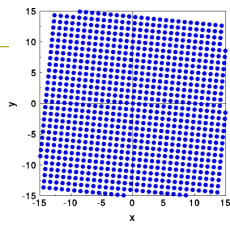
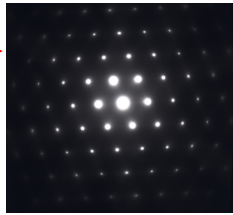


¿Qué papel juega cada cristal?

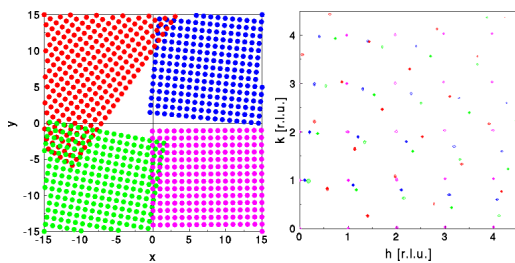
- Cada cristal en el polvo actúa de forma idéntica a un cristal único, generando su propio patrón de difracción.
- La presencia de infinidad de cristales produce superposición de patrones observándose un nuevo tipo de diagrama.
- La información contenida en el patrón de difracción es la misma, pero la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

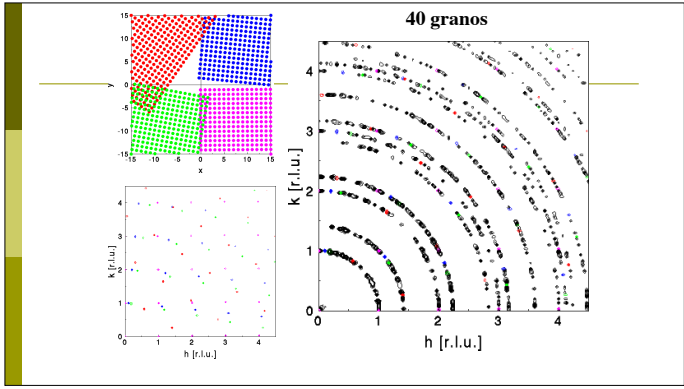


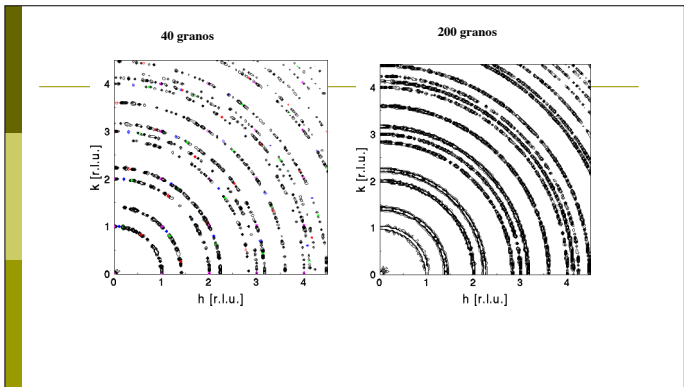
**Cada punto
corresponde a una
familia de planos
distinta del cristal.**

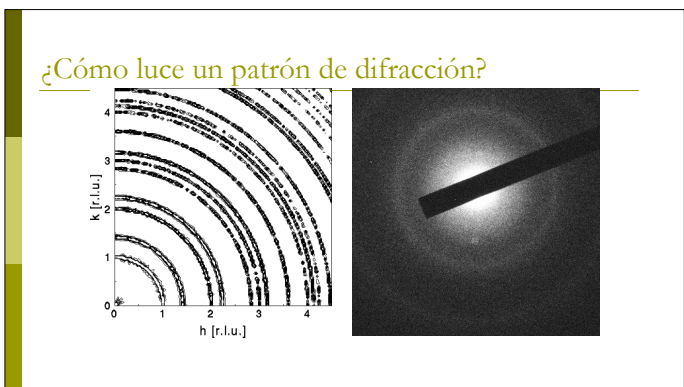


4 cristales con distinta orientación espacial difractando simultáneamente y la representación del diagrama de representación correspondiente. Los colores de los puntos indican a que cristal corresponden.



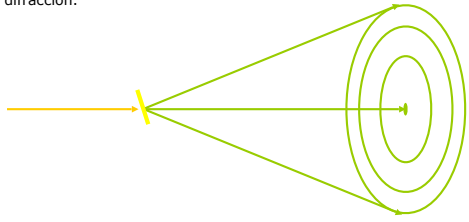




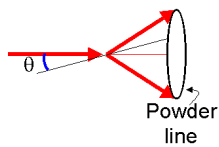
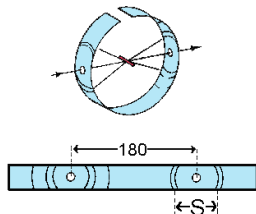


Condiciones para XRPD

- 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.



Film – Cámara Debye Scherrer



Radio de cámara = R

$$\frac{S}{2\pi R} = \frac{4\theta}{360}$$

Difractómetros: Rigaku



Ultima IV



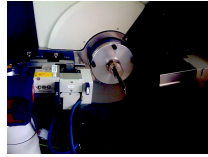
Miniflex

Geometrías de Haz de Rayos X

- Geometría Para focalizante Bragg-Brentano

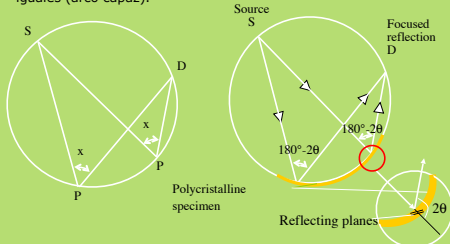


- Geometría de Haz paralelo, Cross-Beam-Optics CBO

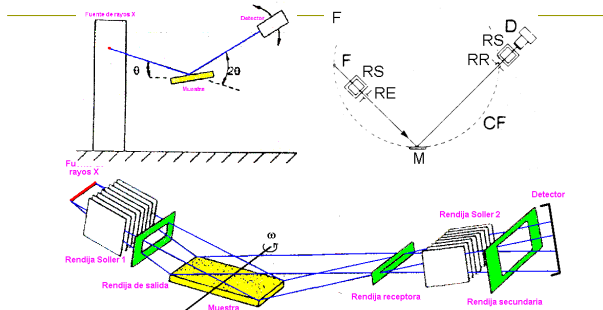


Bases geométricas de otras técnicas de colección de datos de difracción de rayos X.

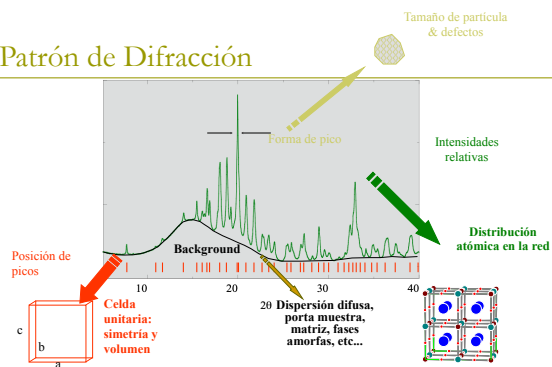
- Los ángulos formados por dos extremos de una cuerda y un punto cualquiera de la circunferencia del mismo lado de la cuerda son iguales (arco capaz).



Geometría Bragg-Brentano o para-focalizante.

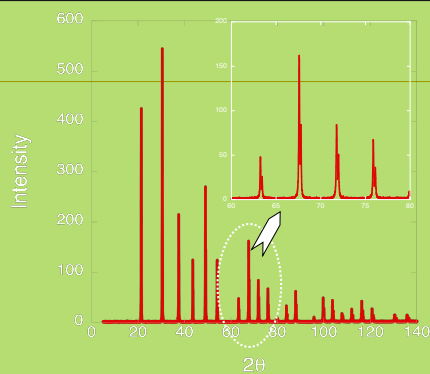


El Patrón de Difracción

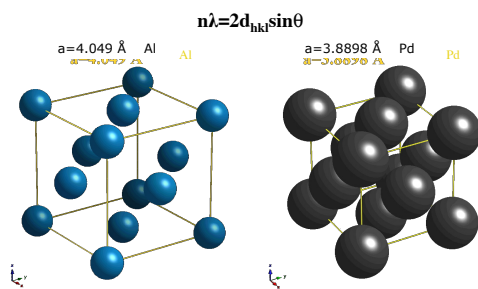


Información contenida en un diagrama de difracción de polvo

- 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.)



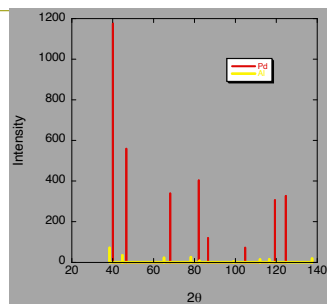
Dimensiones y contenidos de la celda (ejemplo cúbico)



Dimensiones de la Celda Unidad

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

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



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. $I_{100}/I_{100_corundum}$
- 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.

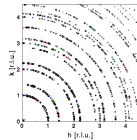
¿Qué sucede en el polvo real?

□ Pueden no cumplirse una de las 3 condiciones fundamentales:

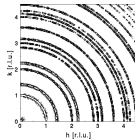
- Orientación aleatoria de los cristales
 - Orientación Preferencial.
- Tamaño de cristales entre 1 y 10 μm .
 - Ensanchamiento por tamaño (size-broadening)
 - Intensidad falsa de máximos (spikey peaks)
- Forma regular de los cristales
 - Ensanchamiento anisotrópico (anisotropic-broad.)

Orientación de Granos

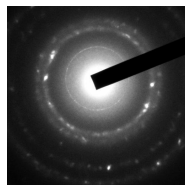
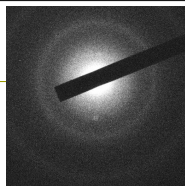
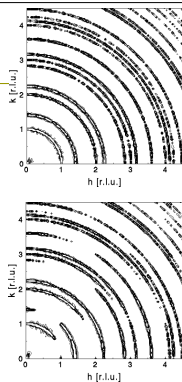
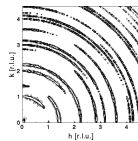
40 grains



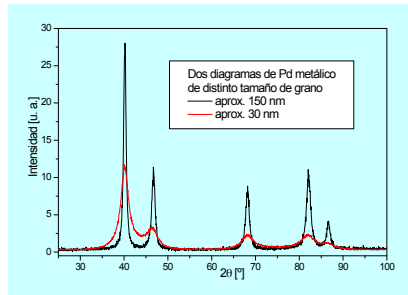
200 grains



200 grains
with preferred orientation



Ensanchamiento por tamaño de cristalita



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

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

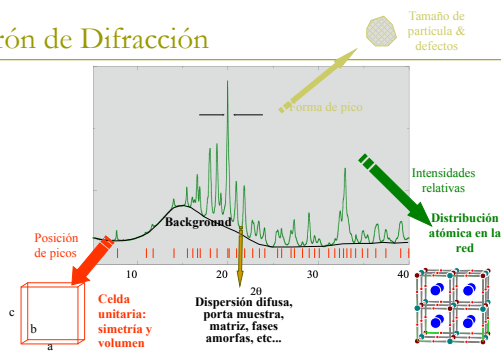
Limitaciones XRPD para la determinación estructural

- La información 3D contenida en los máximos de difracción de un monocristal están condensadas en 1D en XRPD
- Ocurre superposición exacta y casual de máximos lo que complica, la determinación de las intensidades individuales de difracción.
- La simetría cristalina puede no ser visible directamente en un diagrama de difracción.
- Efectos como orientación preferencial, tamaño de grano, ensanchamiento anisotrópico, fallas de apilamiento, u otros pueden impedir la determinación estructural.

Determinación Estructural

- Indizar el diagrama de difracción para obtener el sistema cristalino y las dimensiones de la celda unidad.
- Analizar las extinciones sistemáticas para determinar el Grupo Espacial (o al menos reducir la lista de posibilidades)
- Realizar un ajuste completo de intensidades "WPPF" para obtener valores precisos de intensidades de los máximos y forma de pico de los mismos.
- Determinar un modelo inicial adecuado.
- Completar y ajustar el modelo (posiciones atómicas, factores de ocupación y temperatura, etc) al diagrama de polvo experimental (Rietveld refinement)

Patrón de Difracción



Aplicaciones

Ejemplos más frecuentes del CADIFRAX



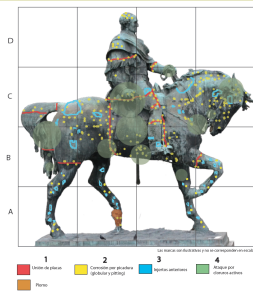
Centro de Análisis por Difracción de Rayos X
Centro NanoMat
Facultad de Química
Universidad de la República
rfaccio@fq.edu.uy



2. Asesoramiento Técnico

- ▣ Polimorfismo en Fármacos
 - Registro y control de MP
 - Identificación de polimorfos
 - Asesoría en materia de patentes
- ▣ Análisis cualitativo en muestras cristalinas
- ▣ Análisis cuantitativo en muestras cristalinas
- ▣ Detección de Minerales asbestósicos

Ej.: Restauración: J.G. Artigas



Claudia Frigerio - Restauradora
UdelaR:
Daniel Ariosa - Fing
Enrique Dalchielle - Fing
Alejandro Marquez - Fcien
Ricardo Faccio - FQ

Ej.: Restauración de Fachadas

- ▣ Caracterización de Morteros:
 - Reproducir formulación
 - Trabajo de restauración
- ▣ Colaboración con Instituto de Materiales – Facultad de Arquitectura:
 - Dr. María Esther Fernández
 - Arq. Gisella Musso

El monumento al General José Gervasio Artigas: la conservación-restauración de escultura conmemorativa en bronce en ambiente urbano

Ge-conservación nº4, 2013

48

ISSN: 1989-8568



Determinación de Asbestos

United States
Environmental Protection
Agency

Environmental Monitoring Systems
Laboratory
Research Triangle Park NC 27711

Research and Development

EPA-600/M4-82-020 Dec. 1982



Test Method

Interim Method for the
Determination of Asbestos in
Bulk Insulation Samples*

CHRYSTILE
AMOSITE
Anthophyllite
Actinolite
CROCIDOLITE
TREMOLITE

Polimorfismo

¿Qué es el polimorfismo?

- Cuando una sustancia tiene la habilidad de aparecer bajo distintas formas cristalinas, se dice entonces que la misma presenta polimorfismo.

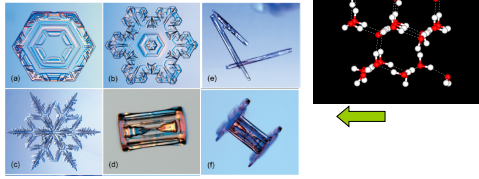
Consecuencias:

- Diferentes polimorfos de un principio activo pueden tener distintas propiedades fisicoquímicas: solubilidad, temperatura fusión, dureza, etc.
- Estas propiedades afectan directamente el proceso de obtención y manufactura del activo, así como su estabilidad, disolución y biodisponibilidad como producto final.
- Por tal motivo el polimorfismo puede afectar la calidad, eficacia y seguridad de un producto farmacéutico.

ANDA: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information, 69 FR 75987-75988, 20th December, 2004

1. Cristales

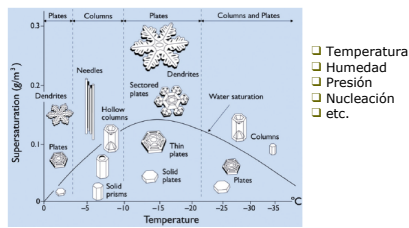
▣ Nieve como cristal:



Kenneth G Libbrecht, Rep. Prog. Phys. 68 (2005) 855–895

1. Cristal

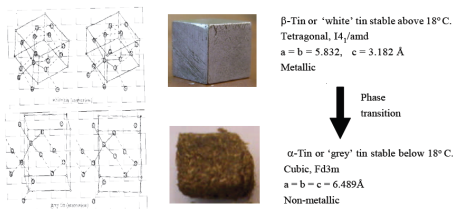
▣ ¿Qué factores establecen un determinado tipo de cristal?



Kenneth G Libbrecht, Rep. Prog. Phys. 68 (2005) 855–895

1. Polimorfismo

Ejemplo: Peste del Estaño



1. Polimorfismo



Catedral de San Esteban,
Passau, Alemania

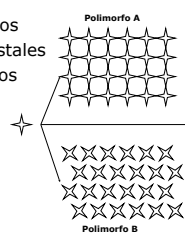


Botones de tropas de Napoleón
Moscú, invierno 1812.
¿Verdad ?

1. Polimorfismo

▣ Variantes al polimorfismo

- Sales
- Solvatos
- Co-cristales
- Hidratos



Denominación	▲
Sal	Contra-ión
Solvato	solvente
Hidrato	agua
Co-cristal	excipiente



1. Polimorfismo

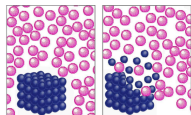
▣ Consecuencias:

- Diferentes polimorfos de un principio activo pueden tener distintas propiedades fisicoquímicas: solubilidad, temperatura fusión, dureza, etc.
- Estas propiedades afectan directamente el proceso de obtención y manufactura de los principios activos, así como su estabilidad, disolución y biodisponibilidad como producto final.
- Por tal motivo el polimorfismo puede afectar la calidad, eficacia y seguridad de un producto farmacéutico.

ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information, 69 FR 75987-75988, 20th December, 2004

2. Biodisponibilidad y Bioequivalencia

- Distintos polimorfos de una sustancia activa podrán exhibir diferentes propiedades químicas y físicas.
- La biodisponibilidad y/o bioequivalencia de un activo será entonces afectada si sus polimorfos presentan solubilidades aparentes diferentes.
- Las diferencias en las solubilidades dependerán de los factores fisiológicos que regulan la velocidad y el grado de absorción del principio activo, esto incluye su motilidad gastrointestinal, su disolución y su permeabilidad intestinal.



Guidance for Industry

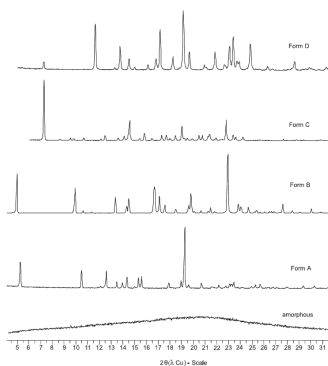
ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism

Chemistry, Manufacturing, and Controls Information

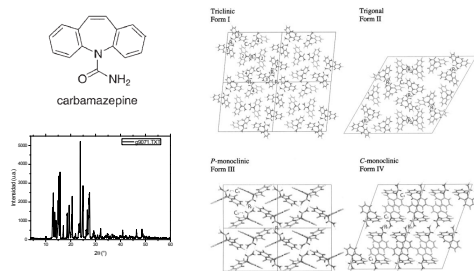
B. Characterization of Polymorphs

There are a number of methods that can be used to characterize polymorphs of a drug substance.¹¹ Demonstration of a nonequivalent structure by single crystal X-ray diffraction is

currently regarded as the definitive evidence of polymorphism. **X-ray powder diffraction can also be used to provide unequivocal proof of polymorphism** Other methods, including microscopy, thermal analysis (e.g., differential scanning calorimetry, thermal gravimetric analysis, and hot-stage microscopy), and spectroscopy (e.g., infrared [IR], Raman, solid-state nuclear magnetic resonance [ssNMR]) are helpful to further characterize polymorphic forms.



1. Polimorfismo: Ej. Carbamazepina

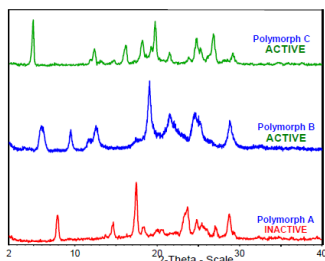


ADAM L. GRZESIAK et al, JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 92(11), 12003

Polimorfismo

- ❑ El CADiRaX es el primer laboratorio de Rayos X habilitado por MSP para estudios de Polimorfismo.
- ❑ Ofrecemos:
 - Identificación de polimorfos de principios activos
 - Comparación con Bibliografía y Patentes
 - Registro e Historial
 - Asesoría en Materia de Patentes
 - Control de producto terminado

Mebendazol



Efficacy of single dose mebendazole, polymorphic forms A and C in the treatment of hook worm and Trichuris infections "Charoenlarp, J. Waikagul, C. Muenoo, S. Srinophakun and S. Kitayapo. S. Asian J. Trop. Med. Public Health (1993);24(4):712-716.

En más de 900 niños Polimorfo A presentó los mismos resultados que un placebo

Mebendazol

USP (30)

- No indication of Polymorphism presence
- Techniques in solids: IR (WITH recrystallization)
- Standard Ref: MBZ Pol. B
- No specification of Polymorph
- Dissolution Test no specific for detection polymorph A or C

EP 2000

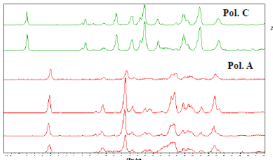
- Indication of Polymorphism presence (> 500 APIs)
- Techniques in solids: IR (WITHOUT recrystallization)
- Standard Ref: MBZ Pol. C

Mebendazol

Comparación de 6 fabricantes

Fabricante	Polimorfo	Farmacopea USP 29	Farmacopea Europea
1	A	Cumple	No cumple
2	A	Cumple	No cumple
3	A	Cumple	No cumple
4	A	Cumple	No cumple
5	C	Cumple	Cumple
6	C	Cumple	Cumple

XRD



Farmacopea Europea

2.9.33. Characterisation of crystalline solids by XRPD

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 6.0

01/2008:20933

2.9.33. CHARACTERISATION OF CRYSTALLINE AND PARTIALLY CRYSTALLINE SOLIDS BY X-RAY POWDER DIFFRACTION (XRPD)

Every crystalline phase of a given substance produces a characteristic X-ray diffraction pattern. Diffraction patterns can be obtained from a randomly oriented crystalline powder composed of crystallites or crystal fragments of finite size. Essentially 3 types of information can be derived from a powder diffraction pattern: angular position of diffraction lines (depending on geometry and size of the unit cell); intensities of diffraction lines (depending mainly on atom type and arrangement, and

cell size). The unit cell dimensions are given by the spacings a , b and c and the angles between them, α , β , and γ .

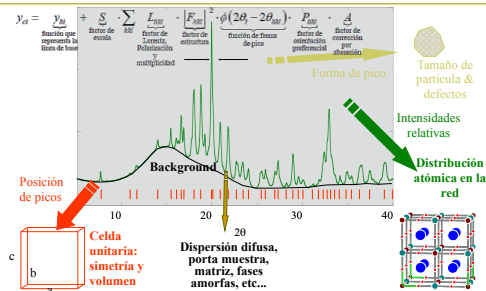
The interplanar spacing for a specified set of parallel hkl planes is denoted by d_{hkl} . Each such family of planes may show higher orders of diffraction where the d values for the related families of planes nh , nk , nl are diminished by the factor $1/n$ (n being an integer: 2,3,4, etc.).

Every set of planes throughout a crystal has a corresponding Bragg diffraction angle, θ_{hkl} , associated with it (for a specific wavelength λ).

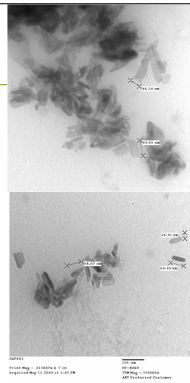
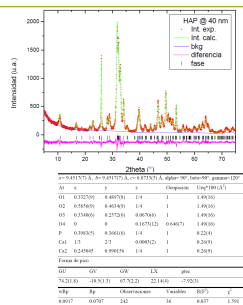
A powder specimen is assumed to be polycrystalline so that at any angle θ_{hkl} there are always crystallites in an orientation allowing diffraction according to Bragg's law⁽¹⁾. For a given X-ray wavelength, the positions of the diffraction peaks (also referred to as 'lines', 'reflections' or 'Bragg reflections') are characteristic of the crystal lattice (spacing), their theoretical intensities depend on the crystallographic unit cell content (nature and positions of atoms), and the line profiles on the perfection and extent of the crystal lattice. Under these conditions the diffraction peak has a finite

(1) There are many other applications of the X-ray powder diffraction technique that can be applied to crystalline pharmaceutical substances such as: determination of crystal structure, refinement of crystal structure, determination of crystallographic purity of crystalline phases, characterisation of crystalline phases, etc. These applications are not described in this chapter. (2) An 'ideal' powder for diffraction represents a series of large number of small, randomly oriented identical crystallites sufficiently diffracting a crystalline domain. If this number is sufficiently large, there are always enough crystallites in any diffracting orientation to give reproducible diffraction patterns. To obtain a precise measurement of the intensity of diffracted beams, it is recommended that the crystallite size be small, i.e. typically 20 nm or less, depending on the characteristics of the specimen (crystal structure, shape, etc.) and the diffraction geometry.

Otras plicaciones generales:



3. Nano-HAP



3. Arqueología: Pigmentos minerales

- **Identificación de pigmentos minerales recuperados en el sitio puerto La Tuna, costa del Río de la Plata:**
 - CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA
 - ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE RASTROS
 - DRX
- Dra. Laura Beovide, Museo Nacional de Antropología, MEC, Uruguay.
- Dra. Mariela Pistón, DEC, FQuím.
- Dres. Helena Pardo y Ricardo Faccio , FQuím.
- Proyecto ANII-FCE-2012

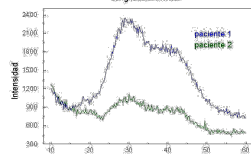
3. Difracción No-convencional

Colaboración INDTE: Control de procesos de criopreservación por XRD

THE STRUCTURE OF FIBROUS PROTEINS OF THE COLLAGEN-GLYCIN GROUP
By LINDA PETERSON AND ROBERT H. COWLEY
Cotton and Cellulose Laboratories at University of California, San Diego, La Jolla, California

Collagen is a very interesting protein. It has well-defined mechanical properties, great strength, remarkable extensibility through only a small change in length, and is the most abundant protein in the body. The structure of collagen is very interesting. It is a fibrous protein, and probably rather extensively in contact with water. During the last thirty years, following the general work of Bragg and Jordan, a number of investigators have attempted to find the structure of collagen (and of gelatin, which gives similar X-ray photographs), but no one has previously proposed any generally accepted interpretation. We have attempted to account for the patterns and intensities of the X-ray diffraction patterns.

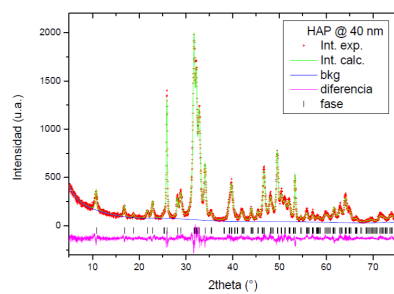
The diffraction pattern of collagen and gelatin is characterized by a well-defined set of spots. (Good reproductions of x-ray photographs have been



Pérez Campos H, Saldías MC, Silva W, Machin D, Suescun L, Facció R, Mombrú AW, Alvarez I, Control of cryopreservation procedures on blood vessels using fibre X-ray diffraction. *Transplantation Proceedings*, v. 40 3 , p. 668-674, 2008

Método de Rietveld

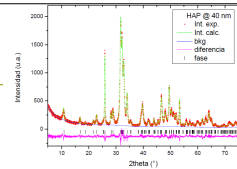
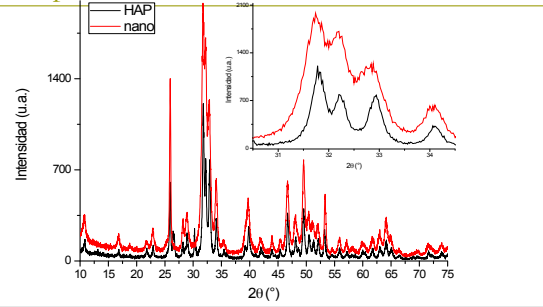
Full Pattern Profile Fitting



$$Y_{\text{cal}} = Y_{\text{br}} + \sum_{hkl} \sum_{\text{multiplicidad}} \frac{F_{\text{hkl}}}{F_{\text{hkl}}} \cdot \frac{F_{\text{hkl}}}{F_{\text{hkl}}} \cdot \phi(2\theta - 2\theta_{\text{hkl}}) \cdot \frac{P_{\text{hkl}}}{P_{\text{hkl}}} \cdot \frac{A}{A}$$

Factor de escala
Factor de Lorentz-Polarización
Factor de estructura
Factor de forma de partícula
Factor de corrección por absorción

Hidroxiapatitas



a= 9.4317(7) Å, b= 9.4317(7) Å, c= 6.8733(5) Å, alpha= 90°, beta= 90°, gamma= 120°						
At	x	y	z	Ocupación	Uniq*100 (Å ³)	
O1	0.3327(9)	0.4897(8)	1/4	1	1.49(16)	
O2	0.3656(9)	0.4634(9)	1/4	1	1.49(16)	
O3	0.3349(9)	0.2572(9)	0.9678(6)	1	1.49(16)	
O4	0	0	0.1673(12)	0.646(7)	1.49(16)	
P	0.3983(5)	0.3661(6)	1/4	1	0.22(4)	
Ca1	1/3	2/3	0.0003(2)	1	0.26(9)	
Ca2	0.245045	0.990156	1/4	1	0.26(9)	
Forma de pico						
GU	GV	GW	LX	ptoc		
74.2(1.8)	-38.5(1.3)	67.7(2.2)	22.1(4.4)	-7.92(3)		
wRp	Rp	Observaciones	Variables	R[F ²]	χ ²	
0.0917	0.0707	242	36	0.037	1.591	

