



## ANÁLISIS MICROSCOPIA ÓPTICA - ELECTRÓNICA Y CARACTERIZACIÓN EDX DETECCIÓN NANOPARTÍCULAS DE GRAFENO (O DERIVADOS) EN VIALES

### METODOLOGÍA UTILIZADA

#### **Recepción de muestras:**

Se recibieron muestras de soluciones nanoestructuras de grafeno en tubo eppendorf.

**Código Muestras:** A1-3, S1, P1 y P2 (\*)

**Número de muestras:** 6

**Inspección Visual:** muestras A solución translúcida, muestras P y S solución opalescente, aprox. 0,5-1 mL de cada muestra.

#### **Procesamiento de muestras:**

Se realiza prueba de resolución.

-CONFOCAL, muestras directas visualizadas, se registra autofluorescencia.

-SEM, muestra representativa (directa y diluida 1/10, 1/20 y 1/50) fueron montadas en stub de aluminio y cobre se delimitó utilizando pintura de plata..

-STEM muestra de diluciones 1/20 y 1/50 para montaje en grilla de cobre con recubrimiento de carbono, para esto una gota de las diluciones sobre la grilla, se deja secar a temperatura ambiente.

#### **Visualización Microscopía Electrónica de Barrido**

Las muestras fueron visualizadas mediante Microscopía Electrónica de Barrido -SEM, SU3500 HITACHI (Japón), bajo los siguientes parámetros: 10KV, WD 10 mm aprox., utilizando detector SE y BSE.

Para microanálisis de distribución elemental, las muestras fueron analizadas bajo los siguientes parámetros: 15 KV, WD 10 mm aprox., Detector BSE acoplado a EDX.

#### **Visualización Microscopía Láser Confocal (CLSM)-Screening de estructuras.**

10µl de la muestra concentrada son montadas en portaobjeto y visualizadas mediante CLSM registrando autofluorescencia a diferentes longitudes de onda  $\lambda$  emisión/excitación 488nm/530nm, objetivo 40X zoom 2X.

(\*) NOTA: Letra A corresponde a viales vacuna Astrazeneca ChAdOx1-S, P a vacuna Pfizer Comirnaty y S a vacuna Sinovac CoronaVac.

## RESULTADOS

### MICROSCOPIA LASER CONFOCAL

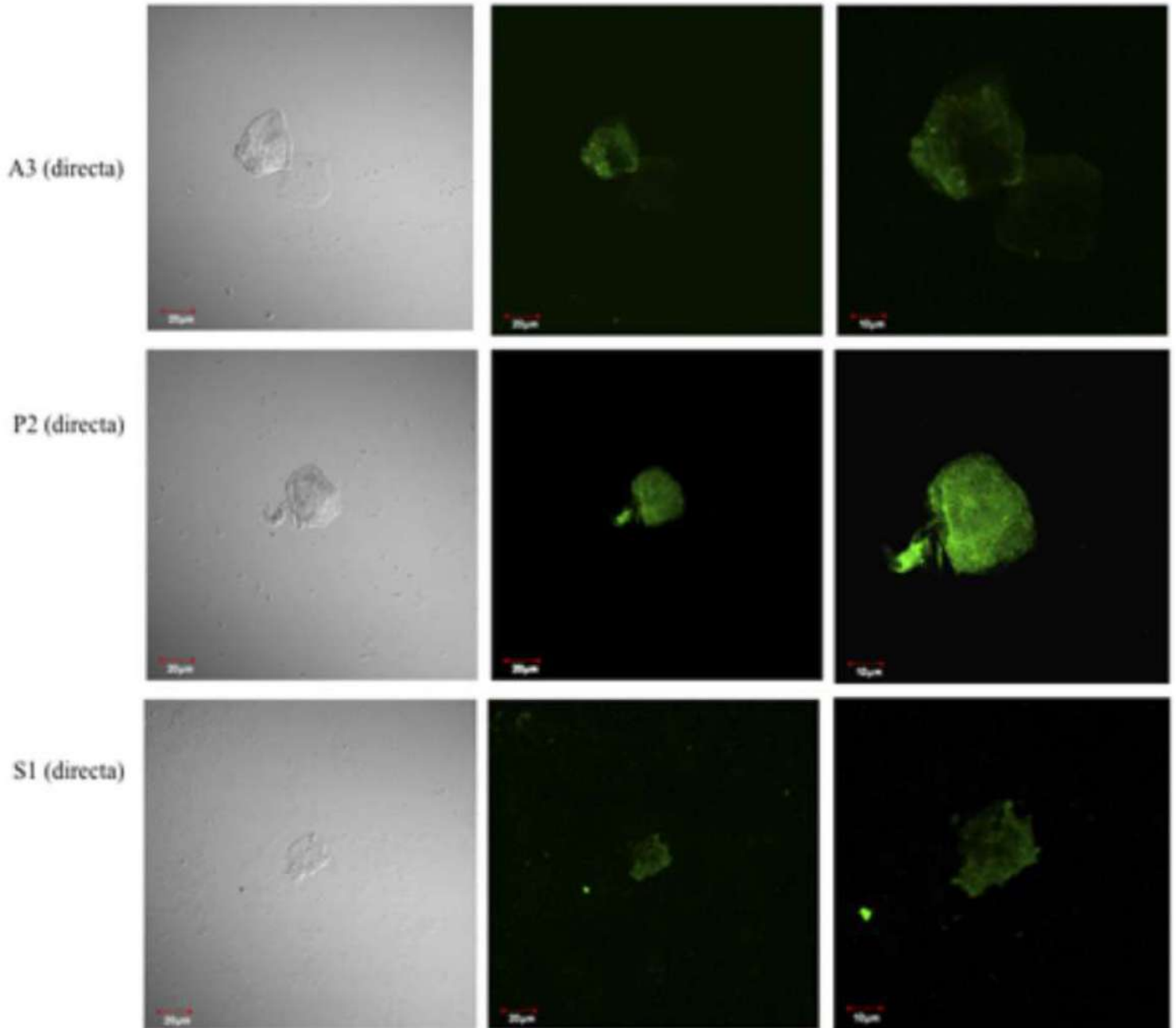
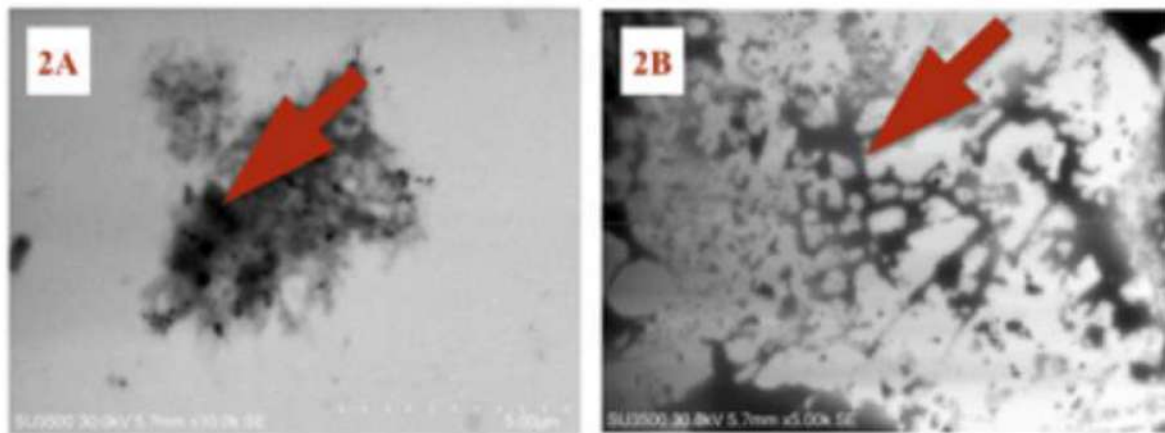
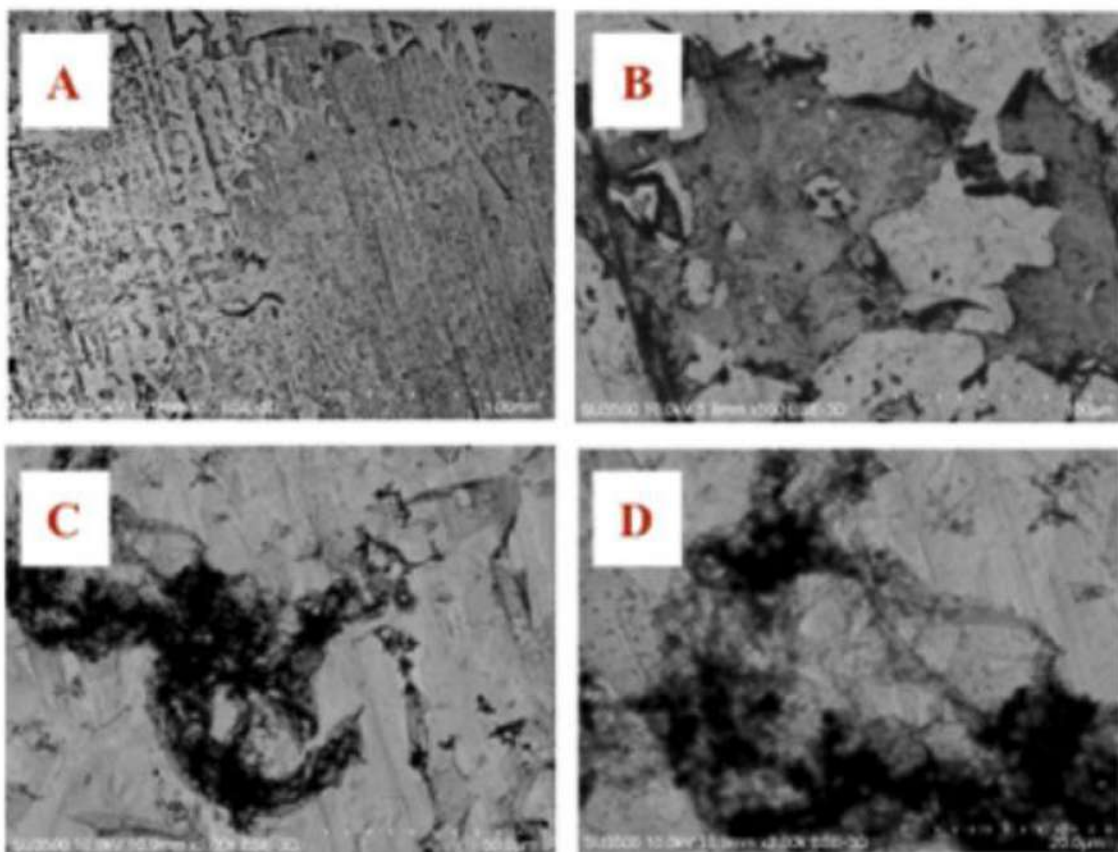


Figura 1 : Autofluorescencia . 1A-C) Muestra A3 directa. 1 D-F) Muestra P2 directa. 1 G-I) Muestra S1 directa. Longitud de onda excitación 488nm/ Longitud de onda emisión 530 nm, 4000 aumentos, zoom 2X. Microscopio Laser Confocal FV1000 Olympus-Japón.

## MICROSCOPIA ELECTRONICA



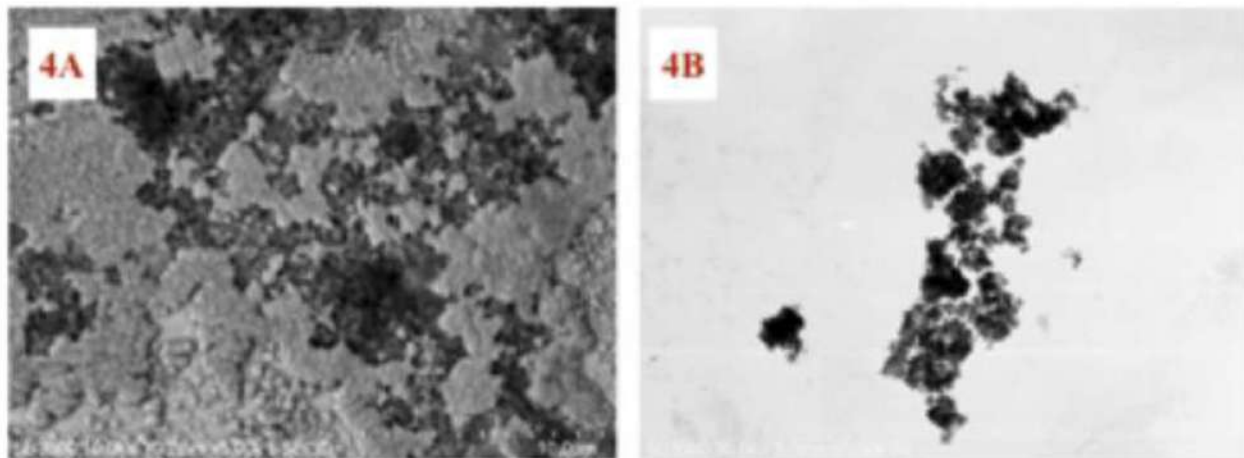
**Figura 2 Efecto tipo extracción muestra. 2A) STEM A1 10000 aumentos. 2B) STEM A2. 5000 aumentos. Muestras con montaje en grilla -Cu recubierta con polímero de carbono, dilución 1/50, detector SE, Microscopio Electrónico de Barrido SU3500 HITACHI-Japón.**



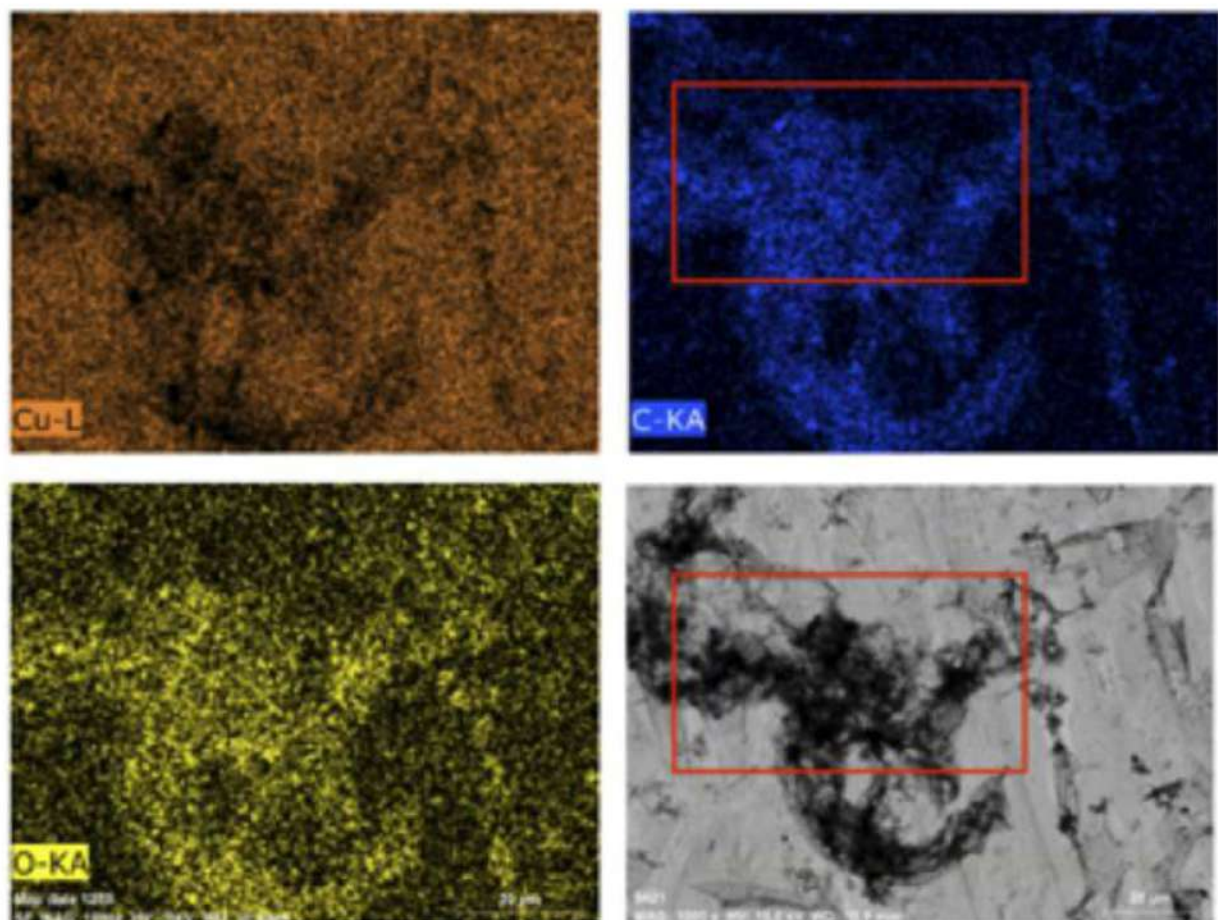
**Figura 3 SEM-BSD (contraste químico) Muestra A3. detecto BSD, montaje lámina de Cu, 50-2000 aumentos, dilución 1/50. Microscopio Electrónico de Barrido SU3500 HITACHI-Japón.**



## MICROSCOPIA ELECTRONICA



**Figura 4 Visualización comparativa SEM y STEM.** 4A) SEM muestra S1: montaje lámina de Cu, dilución 1/50, detector BSD 5000 aumentos. 4B) STEM muestra S1: montaje en grilla -Cu recubierta con polimero de carbono, dilución 1/50, detector SE, 5000 aumentos. Microscopio Electrónico de Barrido SU3500 HITACHI-Japón.



**Figura 5 Distribución Elemental (Mapping).** SEM-EDX A3. 5000 aumentos. Muestras con montaje en Cu, dilución 1/50, detector BSE acoplado a EDX, Microscopio Electrónico de Barrido SU3500 HITACHI-Japón. EDX Quantx Bruker-Alemania.

## OBSERVACIONES FINALES

Las imágenes de las muestras obtenidas mediante Microscopía Láser Confocal (figura 1), se analizaron de forma directa, encontrando microestructuras que presentan autofluorescencia con mayor intensidad a los 530 nm, característica de la presencia de materia orgánica .

Se realizó estandarización para visualización muestra directa al SEM en portamuestra aluminio, se observó una muestra al azar y se observó que estaba altamente concentrada y reaccionaba con facilidad al haz de electrones alterando la morfología.

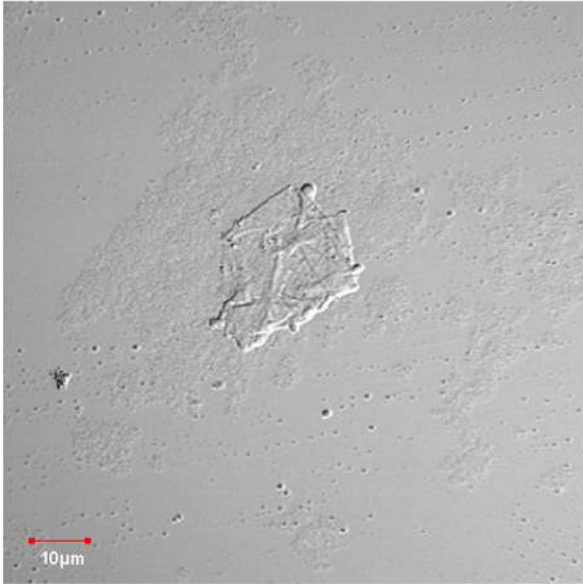
Se ensayó dilución 1:50, se montó para STEM sobre grilla de cobre recubierta con polímero de carbono (figura 2) muestra A1 y A2 presenta inclusiones oleosas probablemente atribuidas al proceso de extracción pueden corresponder a volátiles atrapados (figura 2 A y B).

Se ensayó dilución 1:50, se montó muestras para SEM sobre Stub de Cu (A3) y se observaron estructuras como hojas fácilmente desprendibles del stub, al magnificar se observan estructuras amorfas formando redes (figura 3).

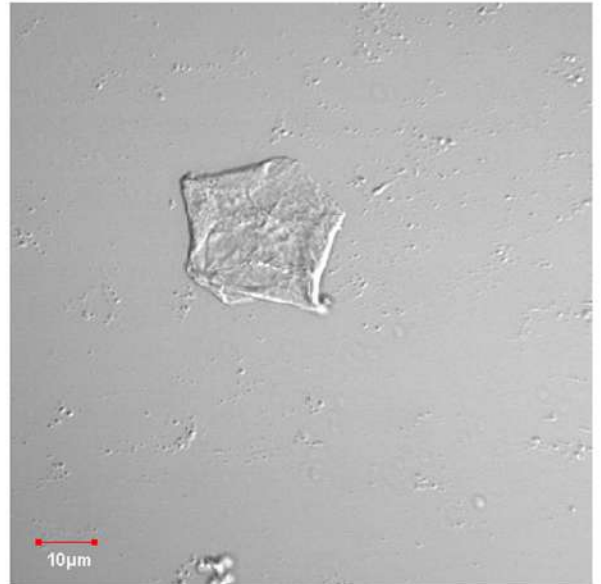
Se procedió a comparar las imágenes obtenidas tanto en SEM-Cu y STEM, muestra S1 diluida 1:50 para SEM-Cu muestra estructuras amorfas formando redes, aun hay sales en la muestra (figura 4A). La visualización STEM aglomerados amorfos de nanoestructuras (figura 4B).

Se realizó un mapeo de distribución elemental en muestras montadas SEM-Cu, diluidas 1:50, encontrado que las estructuras amorfas presentes se corresponden con carbono y oxígeno, para algunas muestras existe presencia de cloro y sodio dada la presencia de sales propias de los procesos de extracción.

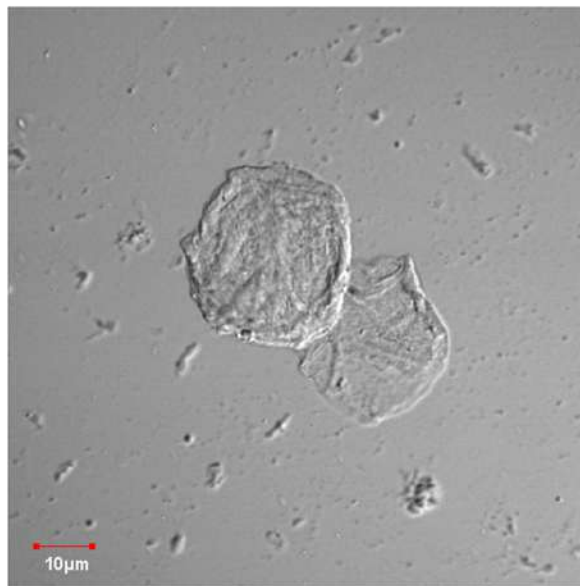
## IMÁGENES CONFOCAL 60X



VACUNA SINOVAC [CoronaVac]



VACUNA ASTRAZENECA [ChAdOx1-S]

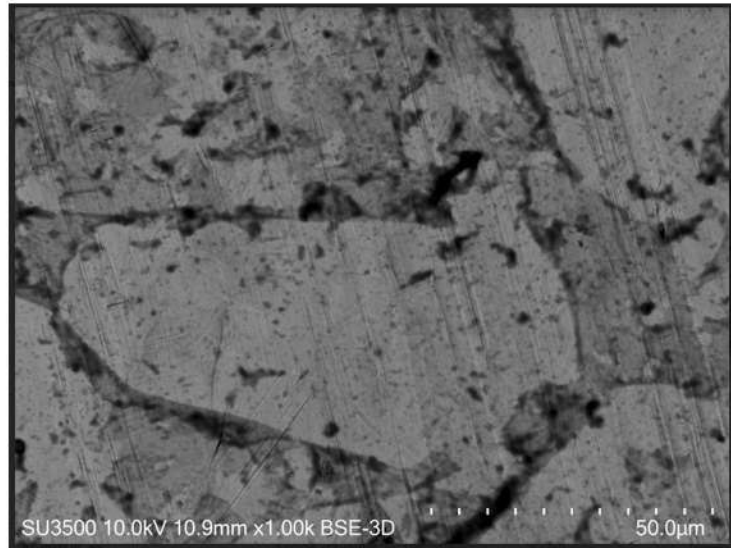


VACUNA PFIZER [COMIRNATY]

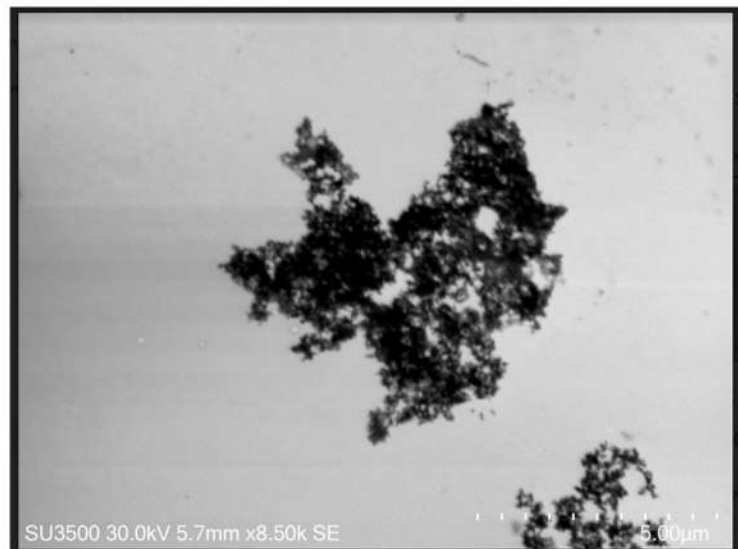


# IMÁGENES MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDA SEM

ASTRAZENECA



SINOVAC



PFIZER

