

# DETEKCIJA GRAFENOKSIDA U VODENOJ suspenziji

## PROMATRANO PROUČAVANJE U OPTIČKOJ I ELEKTRONSKOJ MIKROSKOPIJI

### Privremeno izvješće (I)

28. lipnja 2021

**Prof. Dr. Pablo Campa Madrid**

Doktor kemijskih znanosti i prvostupnik bioloških znanosti

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERIA

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA, ŠPANJOLSKA

Autentičnost, valjanost i cjelovitost ovog dokumenta možete provjeriti na adresi:

<https://verificarfirma.ual.es/verificarfirma/code/wHN2x8tkKPSiSy/iLL6TwQ==>

**Neovlašteni prijevod na engleski.** Izvornik: <https://www.docdroid.net/rNgtxyh/microscopia-de-vial-corminaty-dr-campa-firma-e-1-fusionado-pdf>

### VAŽNA NAJAVA

Dalje je mikroskopsko, promatračko i samo opisno ispitivanje uzorka predstavili.

**Definitivna identifikacija dominantnog materijala u uzorku zahtijeva dalje frakcioniranje i specifična spektroskopska analiza za karakterizaciju strukture materijala.**

### Pozadina

• **Gospodine Ricardo Delgado Martín** zahtijeva pružanje ISTRAŽIVAČKIH USLUGA UAL-u imenovan:

**"OTKRIVANJE GRAFENE U VODENOM UZORKU VESENJA"**

- Dana 10.10.2021. Kurir je primio 1 bočicu, označenu sljedećim tekstom:

**- "COMIRNATY™. Sterilni koncentrat. MRNA COVID-19. 6 doza nakon razrjeđenja.**

**- Datum / vrijeme odbacivanja: PAA165994. LOT / EXP: EY3014 08/2021 "**

- Porijeklo i sljedivost: nepoznato
- Stanje zaštite: u hladnjaku
- Održavanje tijekom studije: u hladnjaku
- Kodiranje uzoraka problema koji će se analizirati: RD1

### Preliminarna opažanja ispitnog uzorka RD1

Opis:

- zatvorena bočica, s netaknutom gumenom i aluminijskom kapicom, zapremine 2 ml, koja sadrži 0,45 ml mutne vodene suspenzije.
- Izvodi se ekstrakcija i kvantifikacija RNA

- Uočena je prisutnost nekarakterizirane nanometrijske mikrobiologije, vidljive na 600X u optičkom mikroskop

## Obrada uzoraka

1. Razrjeđivanje u 0,9% sterilnoj fiziološkoj otopini (0,45 ml + 1,2 ml)
2. Frakcioniranje polarosti: 1,2 ml heksana + 120 ul uzorka RD1
3. Ekstrakcija hidrofilne faze
4. Ekstrakcija i kvantifikacija RNA u uzorku
5. Elektronska i optička mikroskopija vodene faze

## Preliminarna analiza: ekstrakcija i kvantifikacija Rna u uzorku

1. Ekstrakcija RNA: Komplet <https://www.fishersci.es/shop/products/ambion-purelink-rna-mini-kit-7/10307963>
2. Kvantifikacija ukupne UV apsorpcije u spektrofotometru NanoDrop™ <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/ND-2000#/ND-2000>
3. Specifična kvantifikacija Rna fluorescencijom QUBIT2.0: <https://www.thermofisher.com/es/es/home/references/newsletters-and-journals/bioprobes-journal-of-cell-biology-applications/bioprobes-izdanja-2011/bioprobes-64-travanj-2011/the-qubit-2-0-fluorometar-travanj-2011.html>

## UV spektar apsorpcije vodene faze uzorka RD1 (Nano-drop tim)

Maksimalna apsorpcija SAMPLE RD1 (260-270 nm)

- RNK. Predstavlja uobičajene maksimume na 260 nm. Ukupna koncentracija procijenjena QUBIT2,0 fluorometrija: **6 ng / ul**

- Spektar otkriva prisutnost velike količine tvari ili tvari koje nisu Rna s maksimalnom apsorpcijom u istoj regiji, s ukupnim procijenjenim na **747 ng / ul** (nekalibrirana procjena)

- Reducirani grafen oksid (RGO) ima maksimum apsorpcije na 270 nm, **kompatibilan** sa dobivenim spektrom (Thema i suradnici, 2013. Časopis za kemiju ID 150536)

- **Dobivena maksimalna apsorpcija NE DOZVOLJAVA OTPUSTITI prisutnost grafena u uzorku. Minimalna količina RNA koju je otkrio QUBIT2.0 objašnjava samo preostali postotak ukupne UV apsorpcije uzorka.**

**CILJ:** Mikroskopska identifikacija derivata grafena

### METODOLOGIJA:

1. Snimanje u optičkoj i elektronskoj mikroskopiji
2. Usporedba sa slikama iz literature i standardnim uzorkom reduciranog grafenovog oksida

## PRIJENOSNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (TEM)

Elektronski mikroskop JEM-2100Plus

Napon: 200 kV

Rezolucija 0,14 nm

Povećanje do x1.200.000

## PRIJENOSNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (TEM)

Elektronska mikroskopija (TEM) obično se koristi za snimanje nanomateriala grafena. Postao je prilično standardni i jednostavan za upotrebu instrument koji može oslikavati pojedinačni slojeviti grafen plahte.

### OPIS PRETHODNE SLIKE

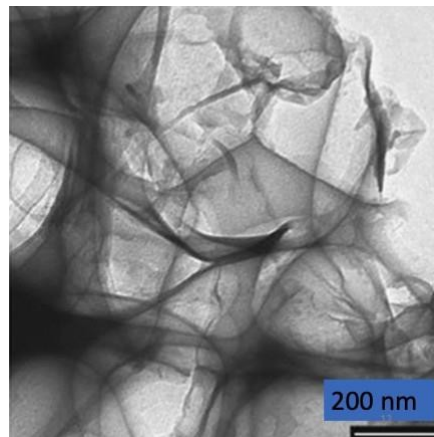
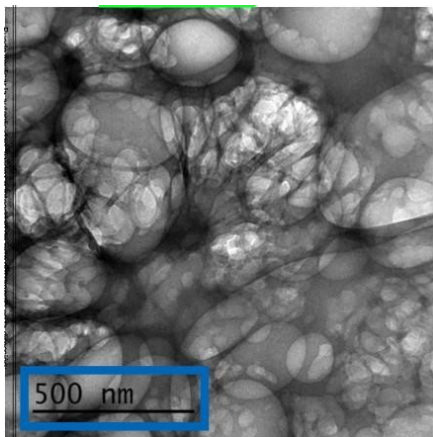
(iz: Choucair i sur., 2009. Gramska proizvodnja grafena na osnovi solvotermalne sinteze i ultrazvučne obrade. Nature Nanotechnology 4 (1): 30-3

• Slika 2: „TEM slike **aglomerirani listovi grafena**. Ista regija uzorka promatra se s različitim uvećanjima i jasno pokazuje stupanj formiranja lima i **tendencija stapanja limova u preklapajuća područja**. Očigledno se pokazuje inherentna struktura nalik listu **zamršen niz nabora velikog dometa**. Budući da su slike snimljene u načinu prijenosa, relativna neprozirnost pojedinačnih listova rezultat je međusobnih područja s preklapanjem između pojedinih listova plahte. Limovi se protežu u bočnim dimenzijama na mjerilima duljine mikrometra, u rasponu od 100 nm na više od 1.000 nm. "

## REZULTATI: Usporedba problemskog uzorka (RD1) s TEM slikom literature

### UZORAK RD1

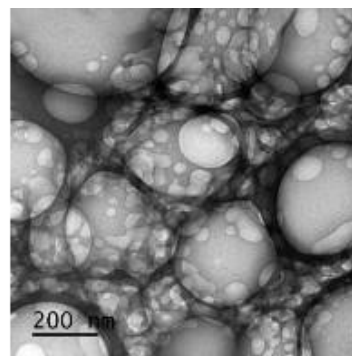
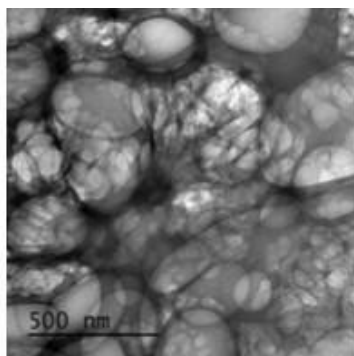
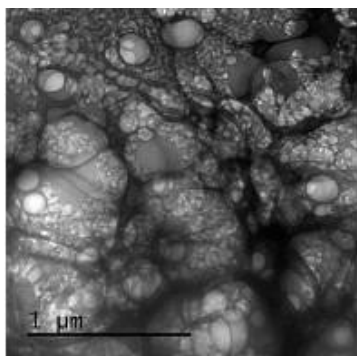
Choucair i suradnici 2009. Nature Nanotechnology 4 (1): 30-3 Slika 2



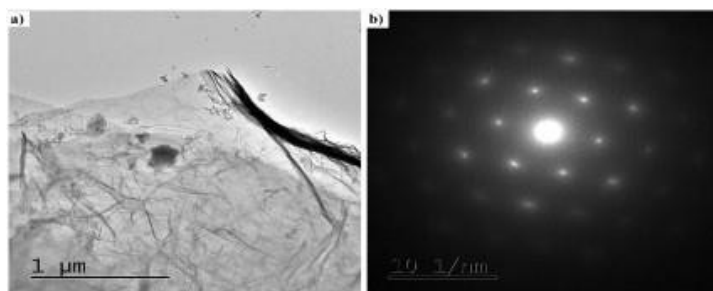
## REZULTATI: OPIS TEM-SLIKA UZORKA PROBLEMA RD1 TEM-slike uzorka RD1 općenito PRISUTI

### VISOKU SLIČNOST sa slikama

od **grafen oksid** iz literature dobivene istom TEM tehnikom, sa sličnom uvećanja. Zamršen **matrica** ili **mreža presavijenih prozirnih fleksibilnih listova** može se promatrati, s mješavinom tamnijih višeslojnih aglomeracija i rasvijenih jednoslojnih dijelova svjetlije boje. Tamnija linearna područja pojavljuju se zbog lokalnog preklapanja listova i lokalnog rasporeda pojedinačnih listova paralelno s elektronskim snopom. Nakon mreže, velika gustoća **neidentificirani zaobljeni i eliptični jasni oblici** pojavljuje se, što možda odgovara rupama nastalim mehaničkim prisiljavanjem mreže tijekom obrade. Ovdje prikazujemo 3 slike s progresivnim povećanjem:



- Važna nota:** Za konačnu IDENTIFIKACIJU GRAFENE od strane TEM-a jest potrebno nadopuniti promatranje strukturnom karakterizacijom dobivanjem EDS-om karakteristični ELEKTRONSKI STANDARDNI UZORAK ZA DIFRAKCIJU (kako je prikazana slika b ispod). Standardni uzorak koji odgovara grafitu ili grafenu ima heksagonalnu simetriju, i općenito ima nekoliko koncentričnih šesterokuta. **Trenutno to nije moguće dobiti ovaj standardni uzorak zbog nedostatka uzorka dostupnog za preradu, kaotičnog rasporeda i gustoće nabora.**



Matéria (Rio J.) 23 (1) • 2018 • Karakterizacija nano listova grafena dobivenih modificiranom Hummerovom metodom. Renata Hack i sur.

## Optički mikroskop

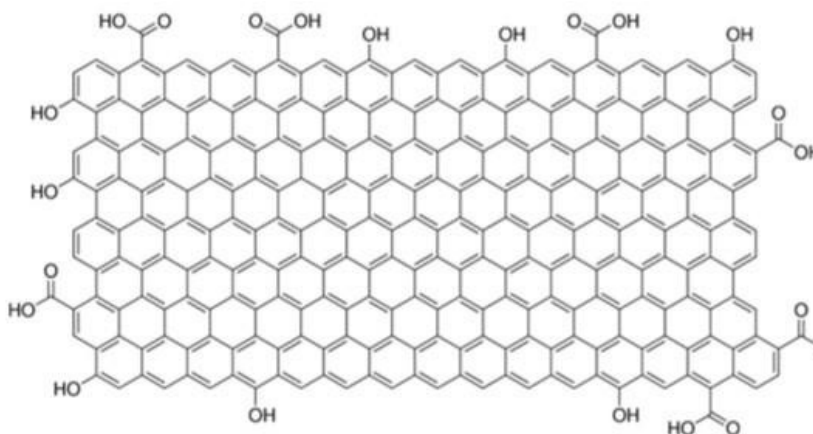
CX43 Biološki mikroskop

10x, 20x (DIC) i 40x (DIC) PLAN Ciljevi fluora

Okular: 10x

- Kondenzator postavljen u srednji položaj s 3D efektom (između svjetlosnog polja (BF) i tamnog polja (DF))

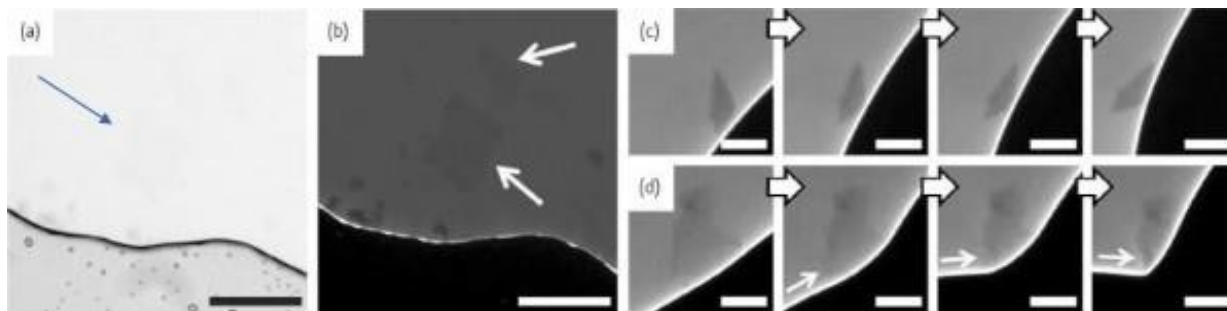
## STANDARDNI UZORAK SNIŽENOG GRAFENOKSIDA.



## IDENTIFIKACIJA GRAFENOKSIDA I NJEGOVE STRUKTURNE KARAKTERISTIKE OPTIČKOM MIKROSKOPIJOM

Grafenski materijali u osnovi se sastoje od jednog atomskog sloja. To čini svjetlost koja se temelji na apsorpciji mikroskopsko je promatranje teško, iako je moguće dobiti optičke slike suspendiranih listova grafena pod svjetlošću koja propušta jarko polje (slika A). Oksidirani grafen (GO) ima puno bljeđa boja od reduciranog grafena (rGO).

Međutim, pod **reflektirajuće osvjetljenje, visokokontrastno optičko slikanje grafena** pa čak i GO listovi su zabilježeni u literaturi. Modificiranje upadnog kuta osvjetljenja, odgovarajućim podešavanjem kondenzatora (svijetlo polje i tamno polje), to je bio tehnika koja se koristi za povećanje kontrasta u uzorku RD1 ovog izvješća i dobivanje slika hrapavosti na površini listova. s 3D efektom.



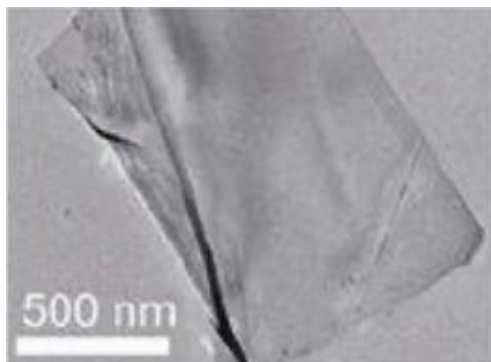
a) Svijetlo polje. bd) Fluorescentna ekstinkcijska mikroskopija (FQM)

Kim i ostali, 2010. Vidjeti listove na bazi grafena, Materials Today, svezak 13, 2010, stranice 28-38,

## Književna slika Malo povećanje TEM

"Slika prikazuje TEM sliku dvoslojnog grafena s rubovima koji se imaju tendenciju lagano uvijati i savijati"

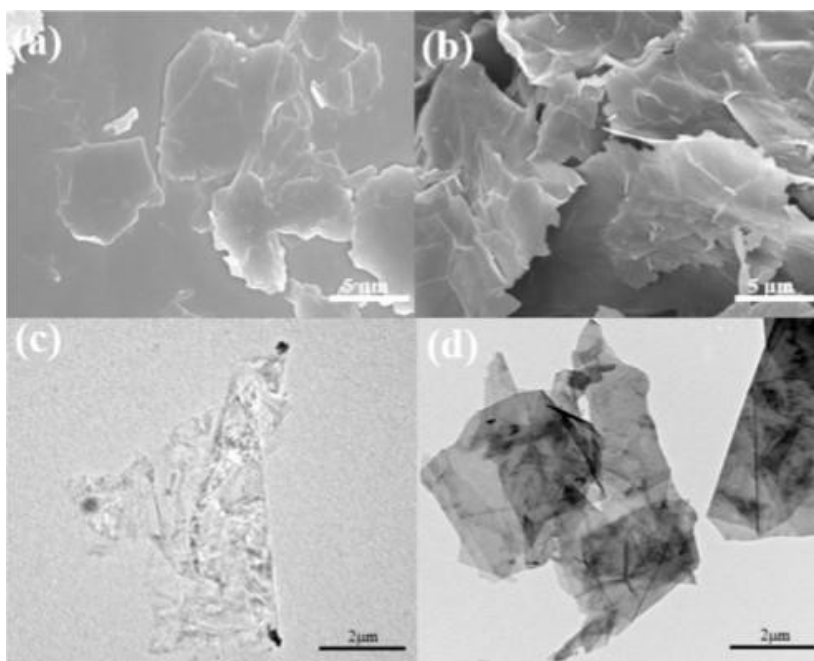
Qian, W., Hao, R., Hou, Y. i sur. Postupak pilinga uz pomoć solvoterme za proizvodnju grafena visokog prinosa i visoke kvalitete. Nano Res. 2, 706-712 (2009).



**SLIKE LITERATURE. ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA PRI NIZKOM POVEĆANJU MIKROSKOPIJA ZA SKENIRANJE ELEKTRONOM (SEM) (a) i (b) i PRIJENOS (TEM) (c) i (d)**

**Učinci nano listova grafena različitih bočnih veličina kao provodnih aditiva na**  
**Elektrokemijske performanse katodnih materijala  $\text{LiNi}_{0.5}\text{Co}_{0.2}\text{Mn}_{0.3}\text{O}_2$  za Li Ion**  
**Baterije. Slika 2. SEMslike različitih veličina lista grafena: (a) GN-13 i (b) GN-28 i prijenosna elektronska mikroskopija (TEM) slike različitih veličina lista grafena: (c) GN-13 i (d) GN -28.**

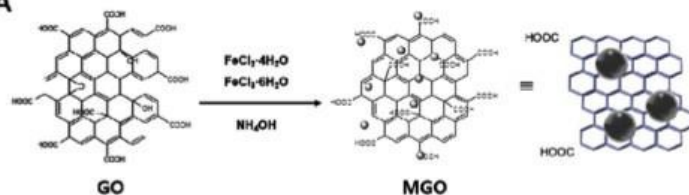
Husu i sur. Polimeri 2020, 12 (5), 1162



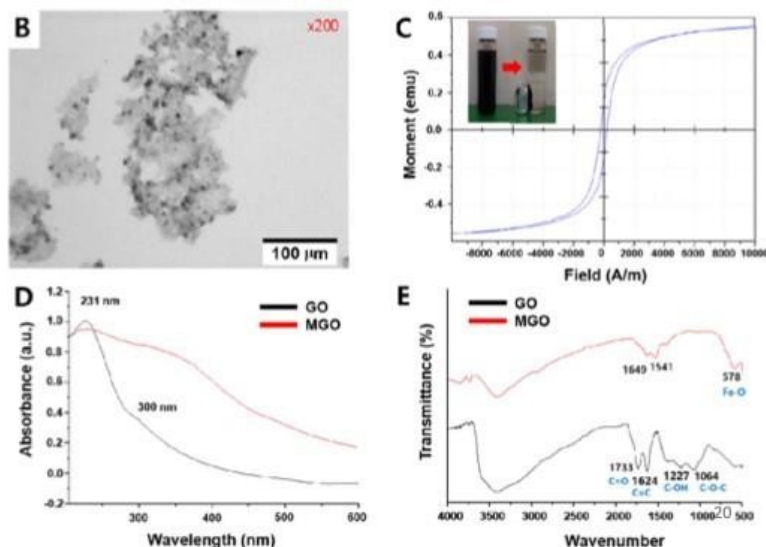


## Robusna magnetizirana platforma oksida A grafena za sintezu peptida In Situ i detekciju proteaze na bazi FRET-a

Kim i ostali, *Senzori* 2020, 20 (18), 5275



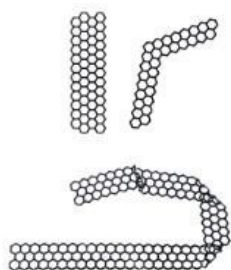
Slika 1. Priprema i karakterizacija grafen oksida (GO) i magnetskog grafen oksida (MGO). (A) Shema postupka sinteze MGO. (B) Slika MGO-a s optičkom mikroskopijom. (C) Magnetska histerezna petlja MGO-a. (D) UV / Vis apsorpcijski spektri GO i MGO. (E) FT-IR spektri GO i MGO.



## Usporedba uzorka RD1 sa svjetlosnim mikroskopom sa slikama SMANJENOG GRAFENA OKSID (rGO) s standardnom slika

Optičke slike listova prisutnih u uzorku RD1 otkrivaju veliku sličnost s listovima koji su ljušteni od obrade ultrazvukom standardnog uzorka rGO. Oba uzorka su interno gruba prozirna listovi, s nepravilnim profilima, presavijeni na sebi i s tendencijom namotavanja na rubovima. Oblici i dimenzije listova vrlo su promjenjivi, a oba uzorka predstavljaju listove u vrpčama ili trakama preklopljenim na sebi (vrpce).

## Priloženi DODATAK prikazuje zamjenske slike STANDARDNOG UZORKA rGO i UZORKA PROBLEM RD1



<https://cen.acs.org/articles/86/i4/Graphene-Ribbons.html>

## ZAKLJUČCI I PREPORUKE

1. Mikroskopsko ispitivanje uzorka pruža **snažni dokazi o vjerojatnoj prisutnosti derivata grafena, iako mikroskopija ne daje konačne dokaze.** The definitivna identifikacija grafena, oksidiranog grafena (GO) ili reduciranog oksidiranog grafena (rGO) u uzorku RD1 zahtijeva **KARAKTERIZACIJA STRUKTURE** kroz analizu specifični spektralni standardni uzorak usporediv s onima objavljenim u literaturi i onima dobivenima iz standardni uzorak, dobiven spektroskopskim tehnikama kao što su XPS, EDS, NMR, FTIR ili Raman, između ostalog.
2. Analize u ovom izvještaju odgovaraju **JEDNOKRATNI UZORAK, ograničen u ukupnom volumenu dostupno za obradu.** Stoga je potrebno izvršiti značajno uzorkovanje sličnih bočica kako bi se donijeli zaključci koji se mogu generalizirati na usporedive uzorke, bilježeći podrijetlo, sljedivost i kontrolu kvalitete tijekom skladištenja i prijevoza prije analize.

### Odricanje

• **Rezultati i zaključci ovog izvještaja ne podrazumijevaju bilo kakav institucionalni stav Sveučilišta Almería**

• Ni glavni istražitelj ni Sveučilište u Almeriji ne preuzimaju nikakvu odgovornost za sadržaj i mišljenja trećih strana u vezi s ovim izvještajem od mogućeg širenja na društvenim mrežama ili u medijima, kao ni za zaključke koji se iz njega mogu izvesti a koji nisu doneseni. izričit u tekstu.

## POGLEDAJTE DODATAK FOTOGRAFIJE UZORKA

DETEKCIJA GRAFENOKSIDA U VODENOJ OVESI (COMIRNATY™ (RD1)

PROMATRANO PROUČAVANJE U OPTIČKOJ I ELEKTRONSKOJ MIKROSKOPIJI

Privremeno izvješće (I)

FOTOGRAFIJE DODATAK

28. lipnja 2021

**Prof. Dr. Pablo Campa Madrid**

Doktor kemijskih znanosti i prvostupnik bioloških znanosti

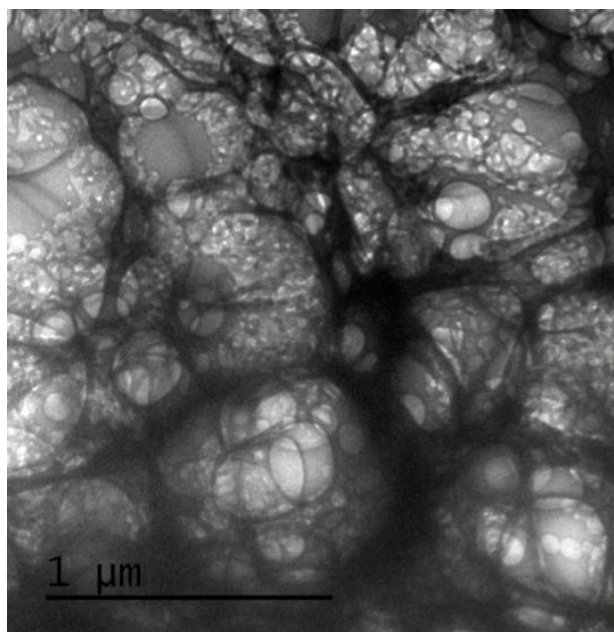
ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERIA

**UNIVERSIDAD DE ALMERÍA, ŠPANJOLSKA**

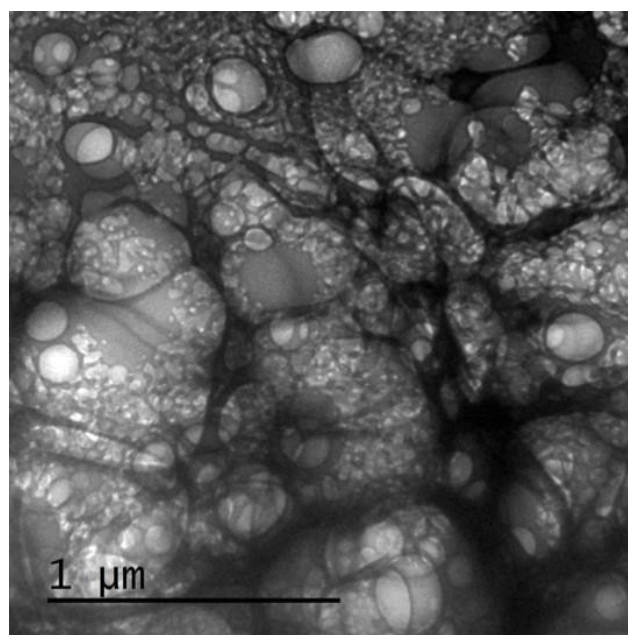


## ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

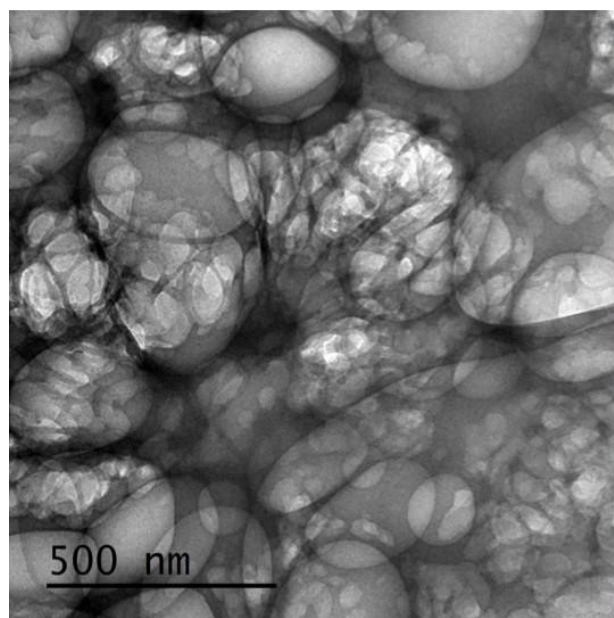
UZORAK RD1



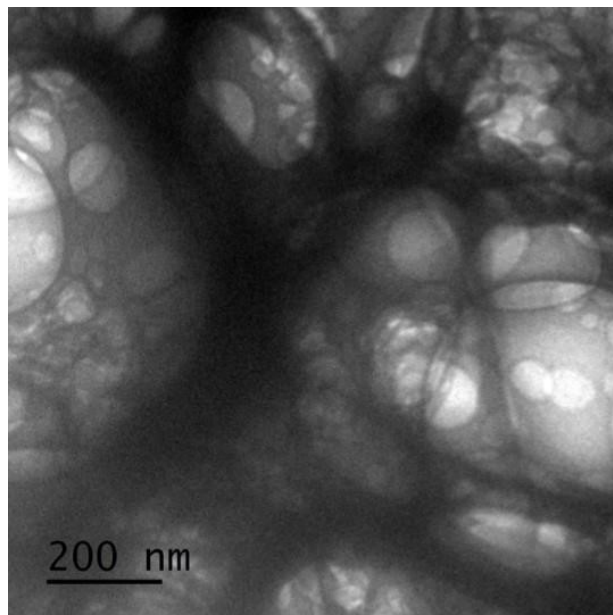
UZORAK RD1



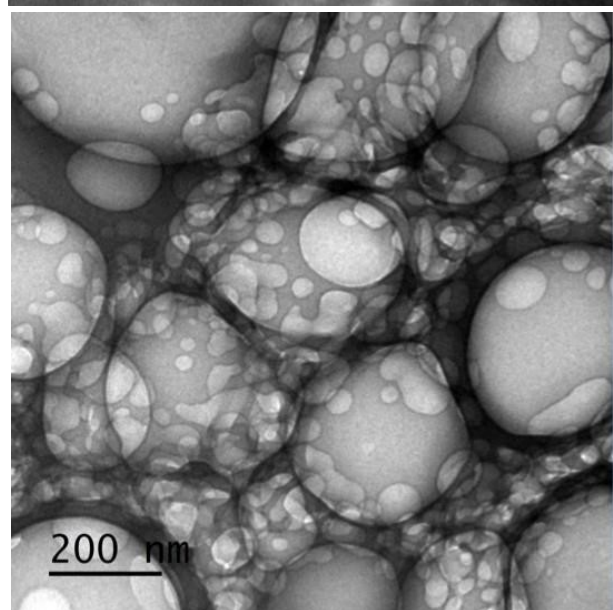
UZORAK RD1



UZORAK RD1



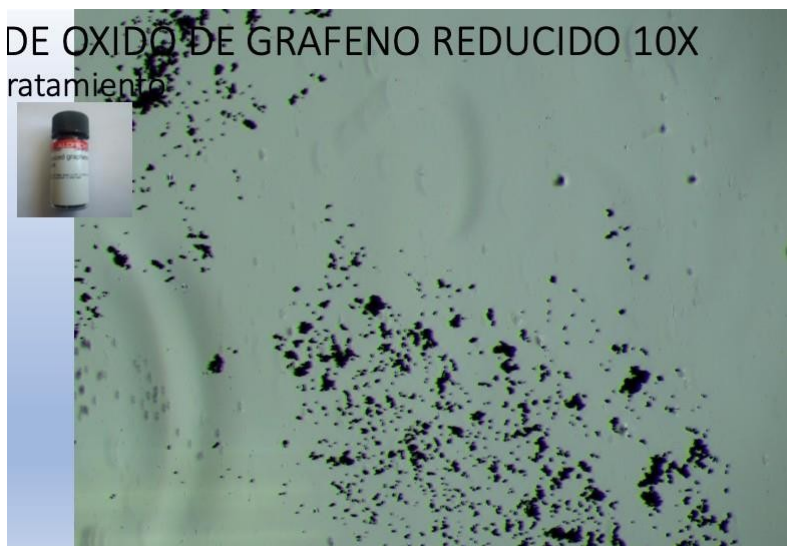
UZORAK RD1



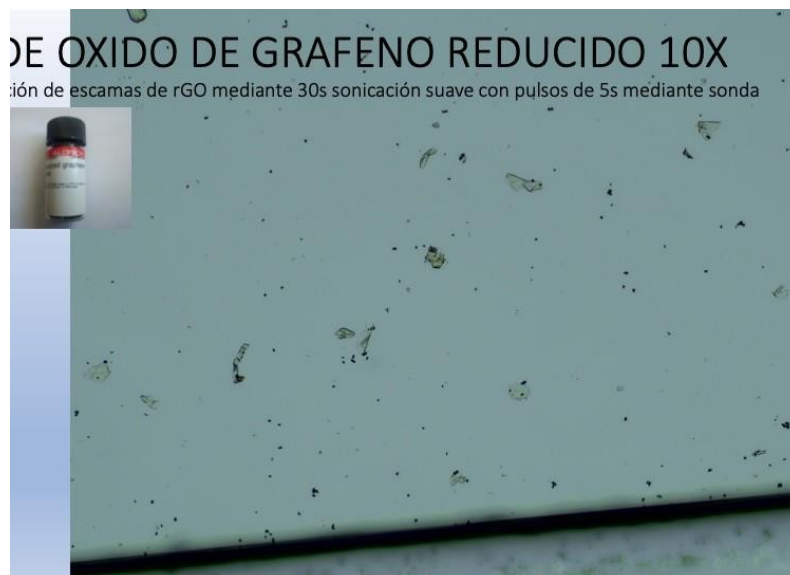
## OPTIČKA MIKROSKOPIJA

10X SMANJENI GRAFEN  
STANDARDNI UZORAK OKSIDA  
Prije liječenja

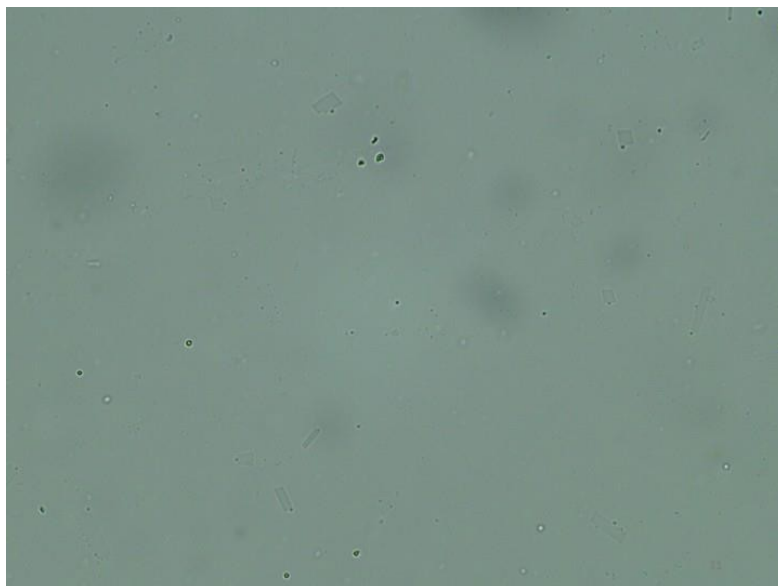
DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO 10X  
tratamiento



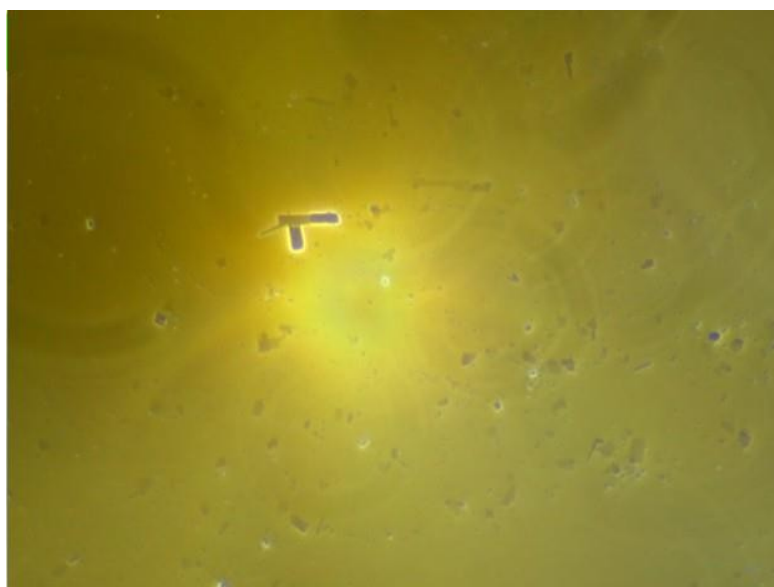
10X SMANJENI GRAFEN  
STANDARDNI UZORAK OKSIDA  
Liječenje: Piling rGO  
skale do 30s nježni ultrazvuk sa  
impulsima od 5s sondom



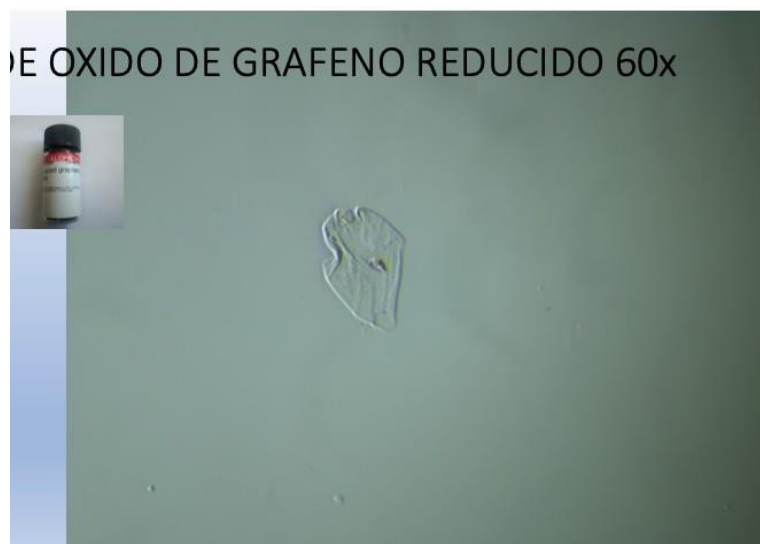
UZORAK RD1



UZORAK RD1 (tamno polje)



60X SMANJENI GRAFEN  
STANDARDNI UZORAK OKSIDA



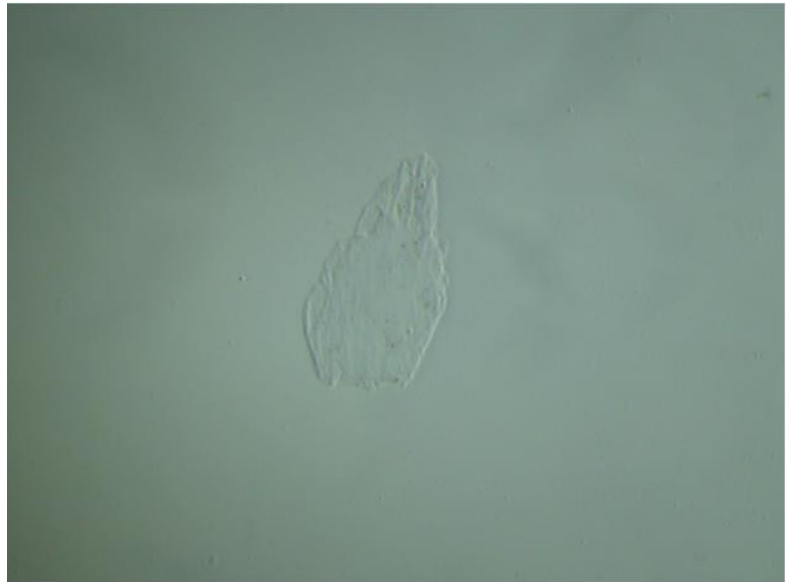
UZORAK RD1 60x



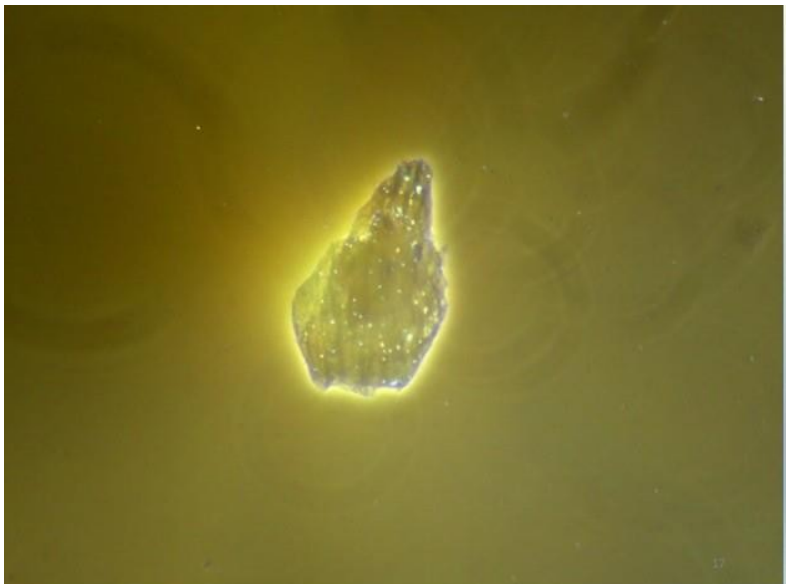
SMANJENI GRAFEN OKSID  
STANDARDNI UZORAK



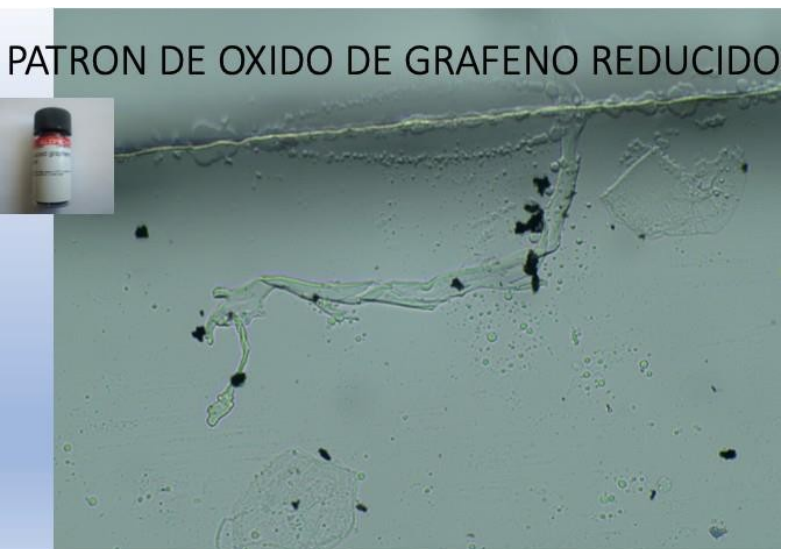
UZORAK RD1



UZORAK RD1 (tamno polje)

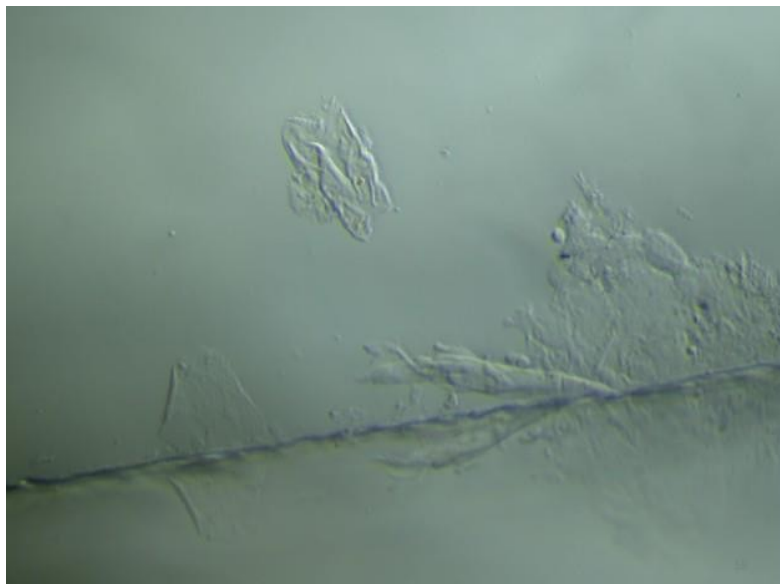


SMANJENI GRAFEN  
STANDARDNI UZORAK OKSIDA





UZORAK RD1



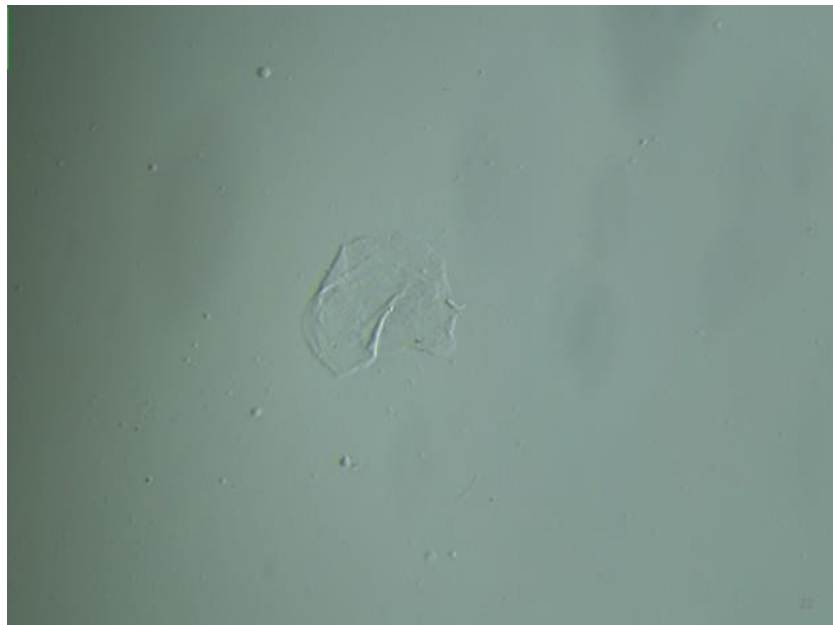
SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK



SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK

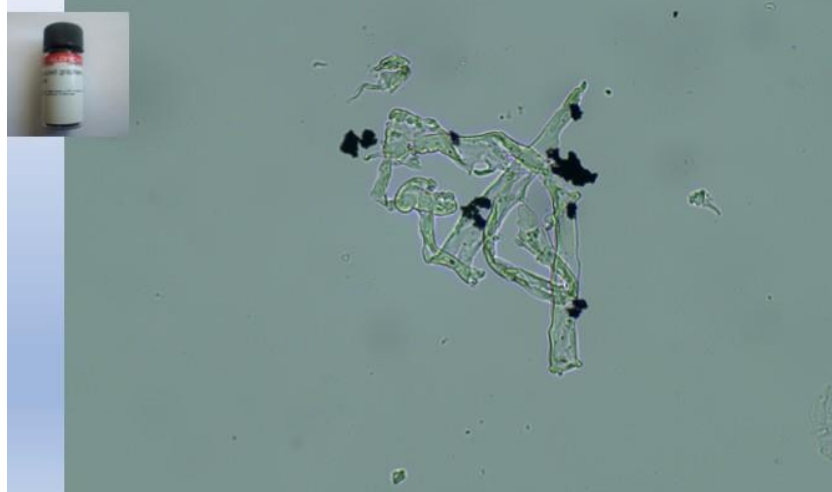


UZORAK RD1



SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK

PATRÓN DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK

PATRÓN DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO





SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK



SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK



UZORAK RD1



SMANJENI GRAFEN  
OKSID  
STANDARDNI UZORAK

## PATRON DE OXIDO DE GRAFENO REDUCIDO



UZORAK RD1



UZORAK RD1

