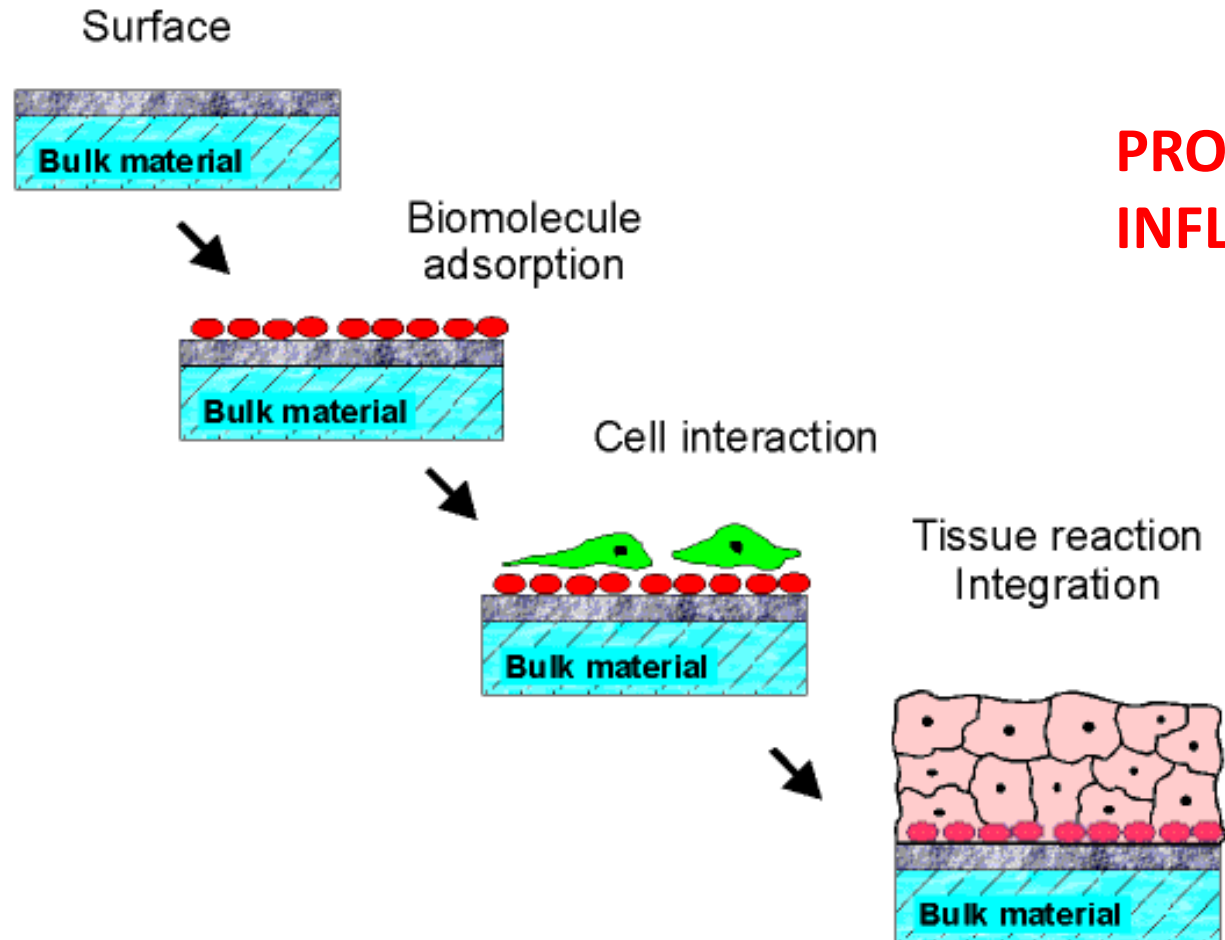


Proprietà SUPERFICIALI dei Materiali

Introduzione

Un biomateriale interagisce con l'ambiente biologico attraverso la sua superficie, che determina risposte quali adsorbimento di proteine, adesione e crescita cellulare e, in ultimo, le prestazioni di un dispositivo medico.



PROPRIETA' SUPERFICIALI CHE INFLUENZANO L'ADESIONE CELLULARE

- Composizione chimica
- Bagnabilità
- Rugosità
- Cariche elettriche
- Cristallinità
- Mobilità

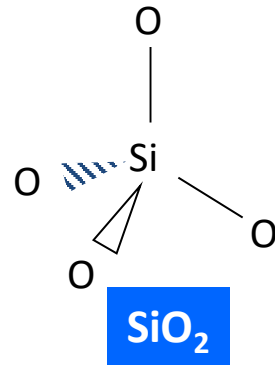
superfici vs bulk

La superficie di un materiale è una zona di discontinuità nella struttura e proprietà di un materiale → SUPERFCICIE ≠ BULK MATERIALE

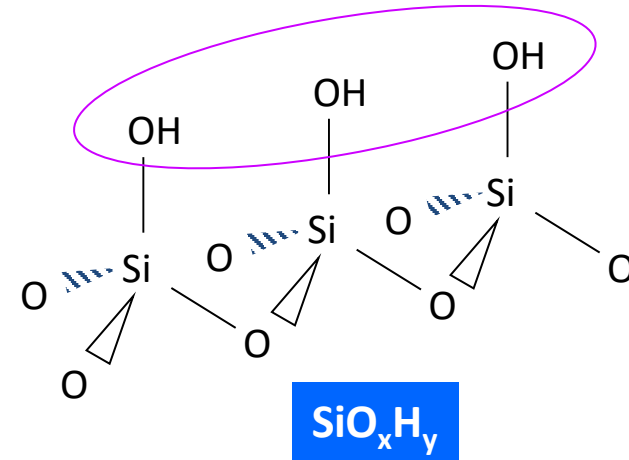
- ACCESSIBILITA'
ELEVATA ENERGIA Molti legami insaturi, elevata reattività: es. ossidazione superficiale, facile contaminazione, ricostruzione superficiale
- TERMODINAMICA Meno legami in superficie, attrazione verso il bulk
→ tensione superficiale, rilassamento strutturale
- MOBILITA' Meno legami, gradiente di densità
→ atomi/molecole/catene polimeriche più mobili di quelli del bulk (es. sublimazione)
- QUANTITA' Quantità di materia minima rispetto al bulk

Problema analitico: necessità di nuove tecniche per distinguere la superficie dal bulk

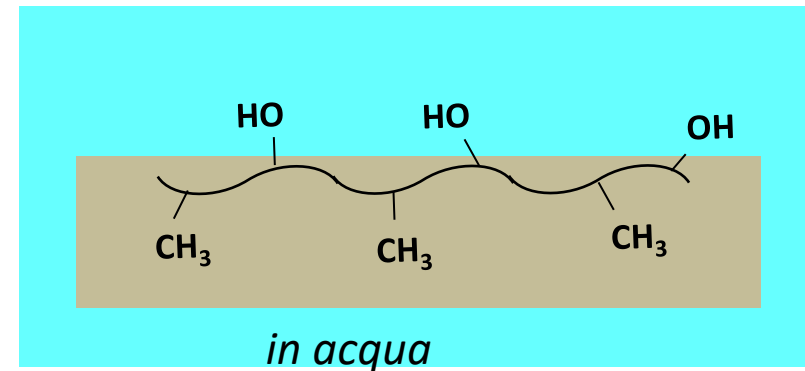
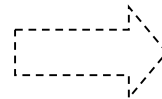
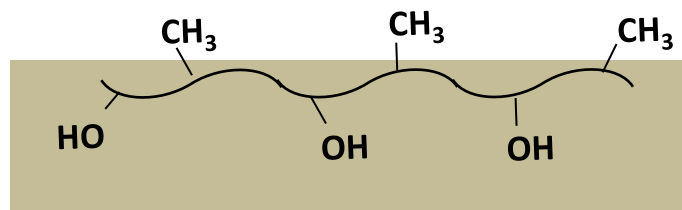
Differenze superficie-bulk: chimica



SILICE



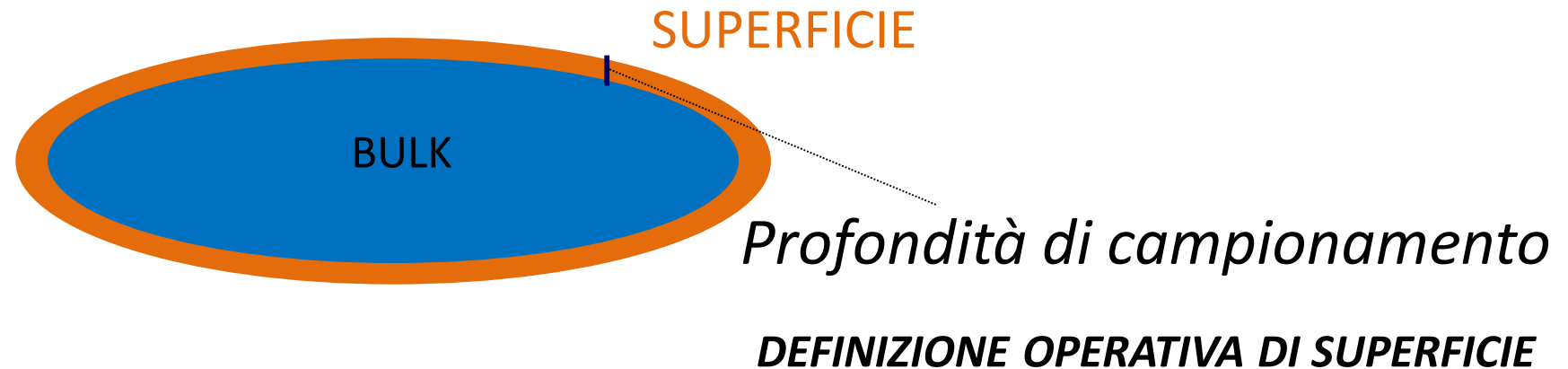
Differenze superficie-bulk: mobilità



Quanto è «profonda» la superficie di un materiale?

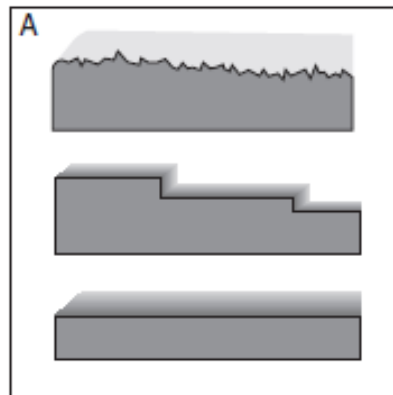
La superficie è la zona in cui struttura e composizione chimica differiscono da quelle del bulk. Questo valore dipende dalle dimensioni degli atomi o molecole che compongono la superficie.

Es. ORO: 0.5-1 nm; POLIMERI: 10-100 nm (a seconda del polimero)

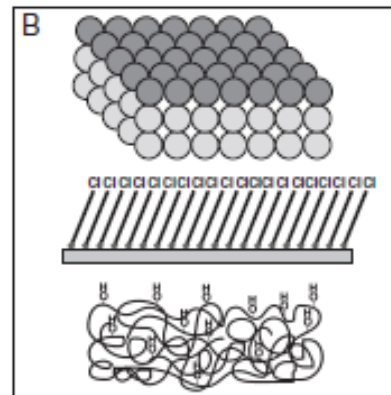


Caratteristiche di una superficie

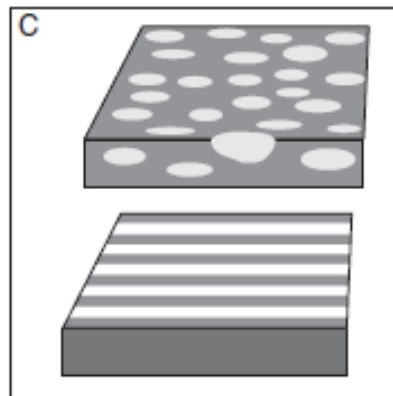
MORFOLOGIA



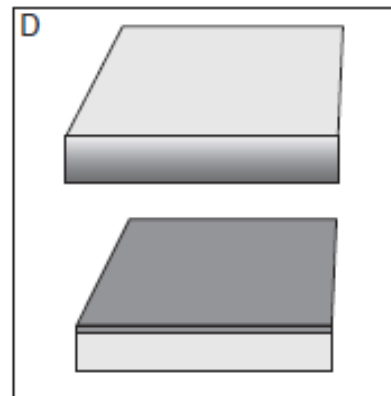
CHIMICA



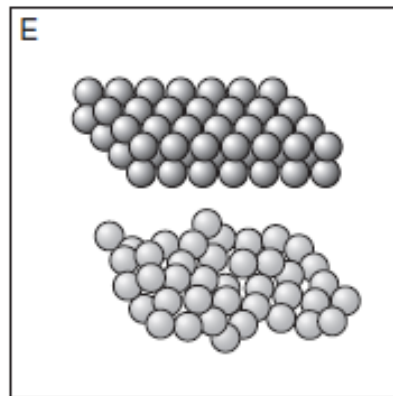
DISOMOGENEITA'
CHIMICA NEL PIANO



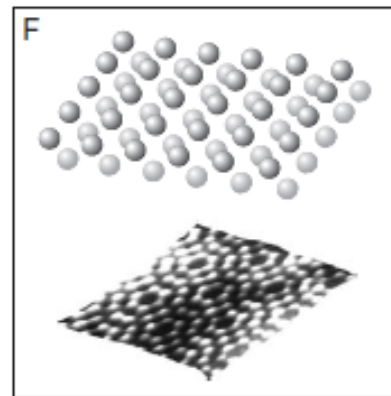
DISOMOGENEITA'
CHIMICA IN PROFONDITA'



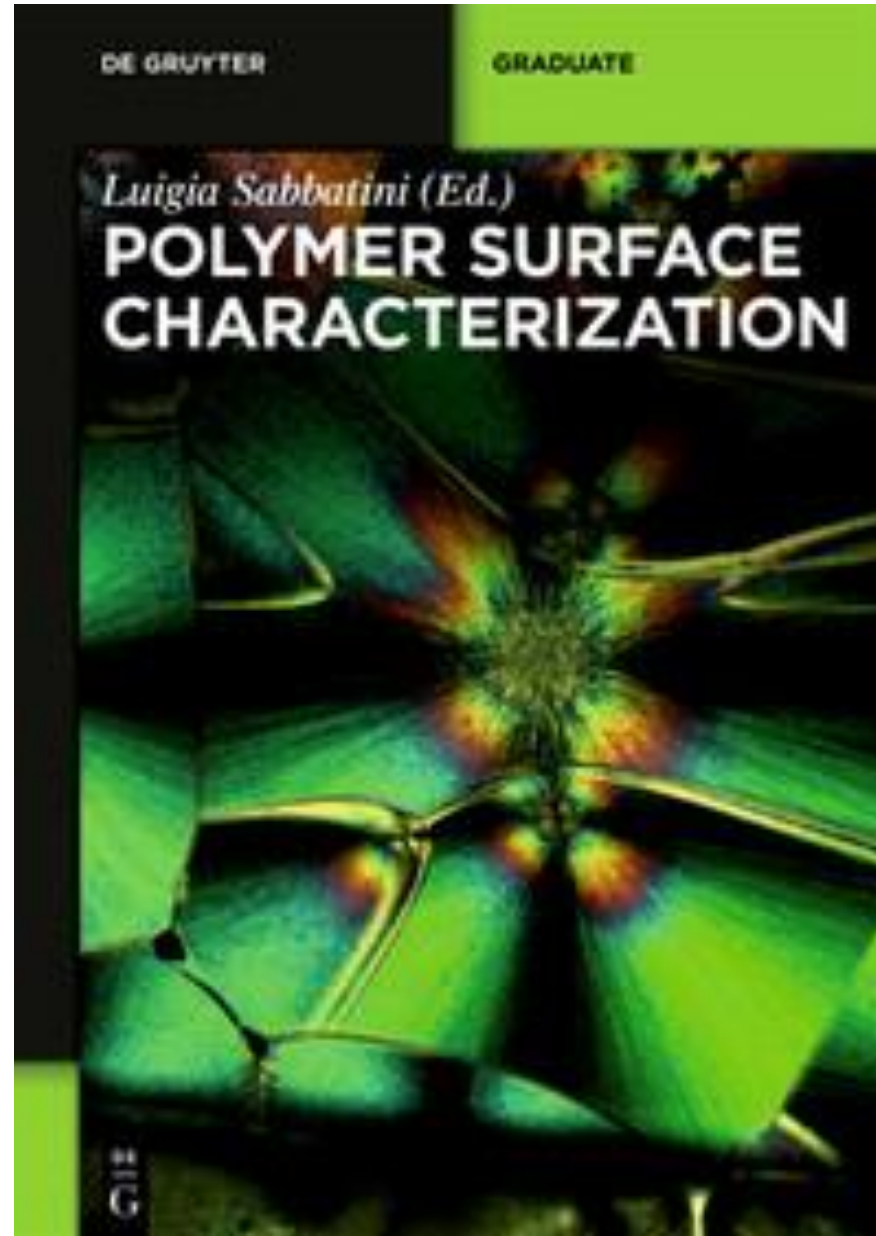
CRISTALLINA
AMORFA



ORGANIZZAZIONE
STRUTTURA
CRISTALLINA



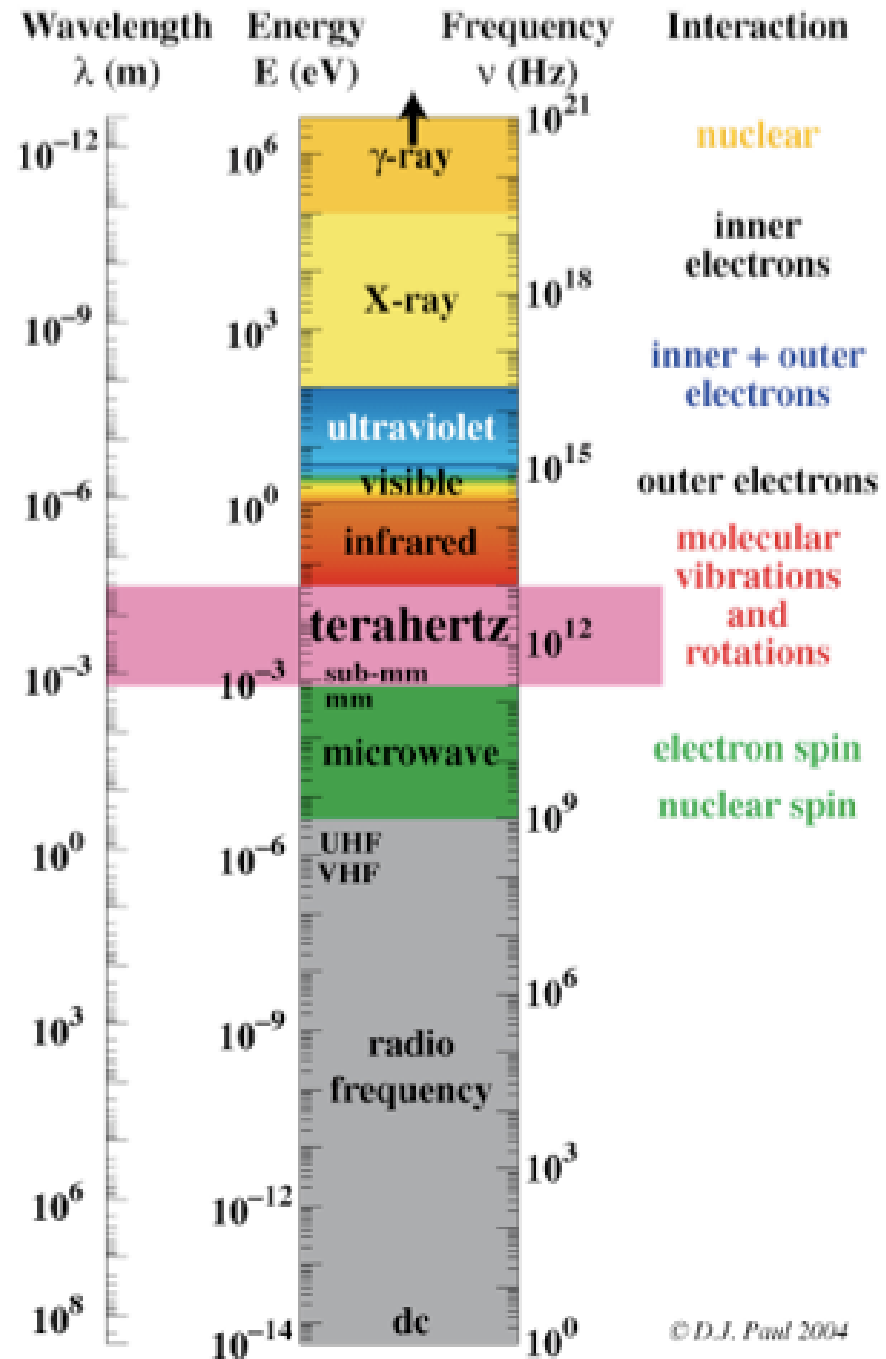
Tecniche di caratterizzazione
chimico-fisiche e morfologiche
delle superfici



*Spettro elettromagnetico
e natura delle interazioni*

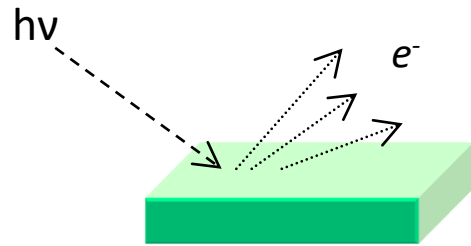
$$h\nu = E$$

$$\lambda\nu = c$$



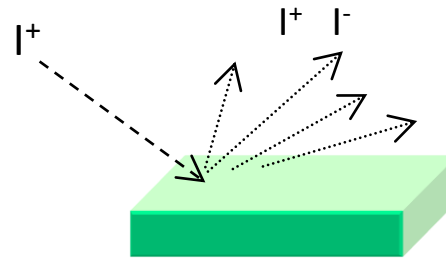
Tecniche di analisi superficiale

Spettroscopie elettroniche



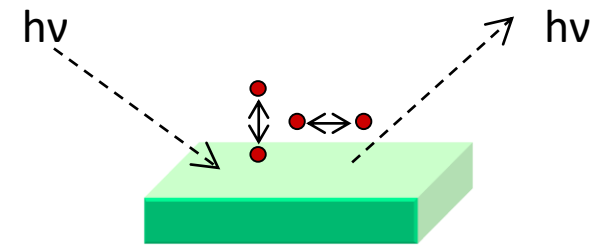
XPS (ESCA) 100 Å

Spettroscopie ioniche



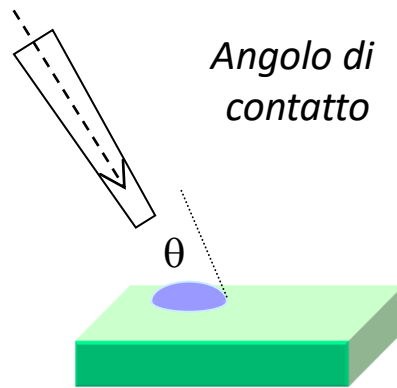
SIMS statico 10 Å
SIMS dinamico 1000 Å

Spettroscopie vibrazionali



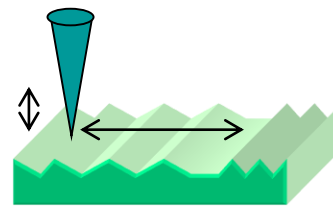
IR-AS 1-5 μm
ATR-IR 2 μm

Angolo di contatto



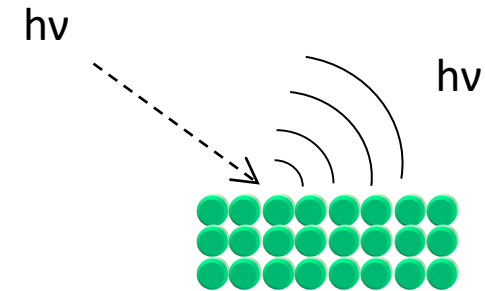
CA 3-20 Å

Microscopie a scansione di sonda



STM, AFM 5 Å

Diffrazione



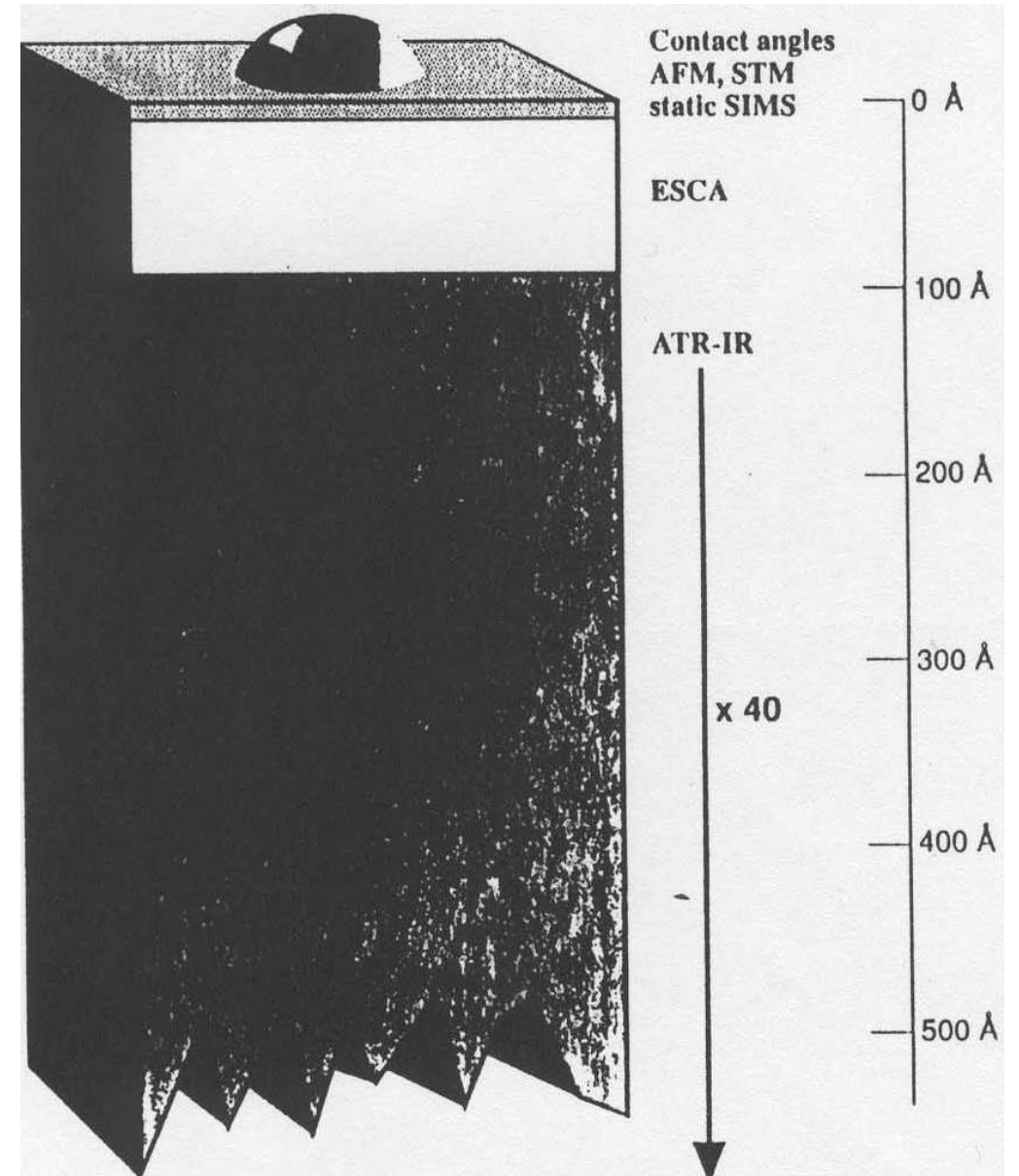
LEED, NEXAFS, EELS 10 Å

Profondità di campionamento

Definizione operativa di superficie

Le tecniche di analisi superficiale massimizzano il contributo della superficie rispetto a quello del bulk

Nel caso delle tecniche spettroscopiche la profondità di campionamento di ciascuna tecnica è proporzionale al libero cammino medio nel solido della particella uscente ($h\nu$, e^- , I^+)



Tecniche di analisi superficiale

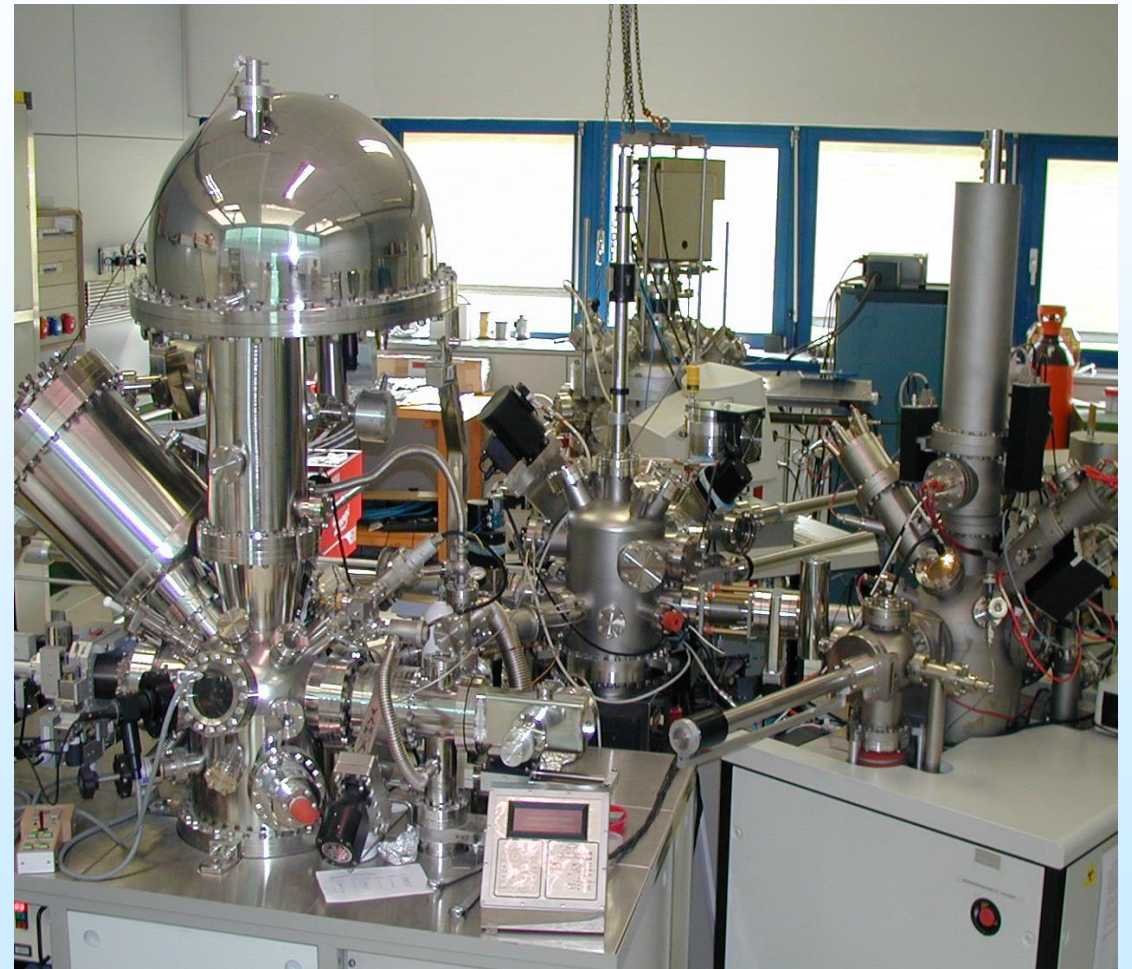
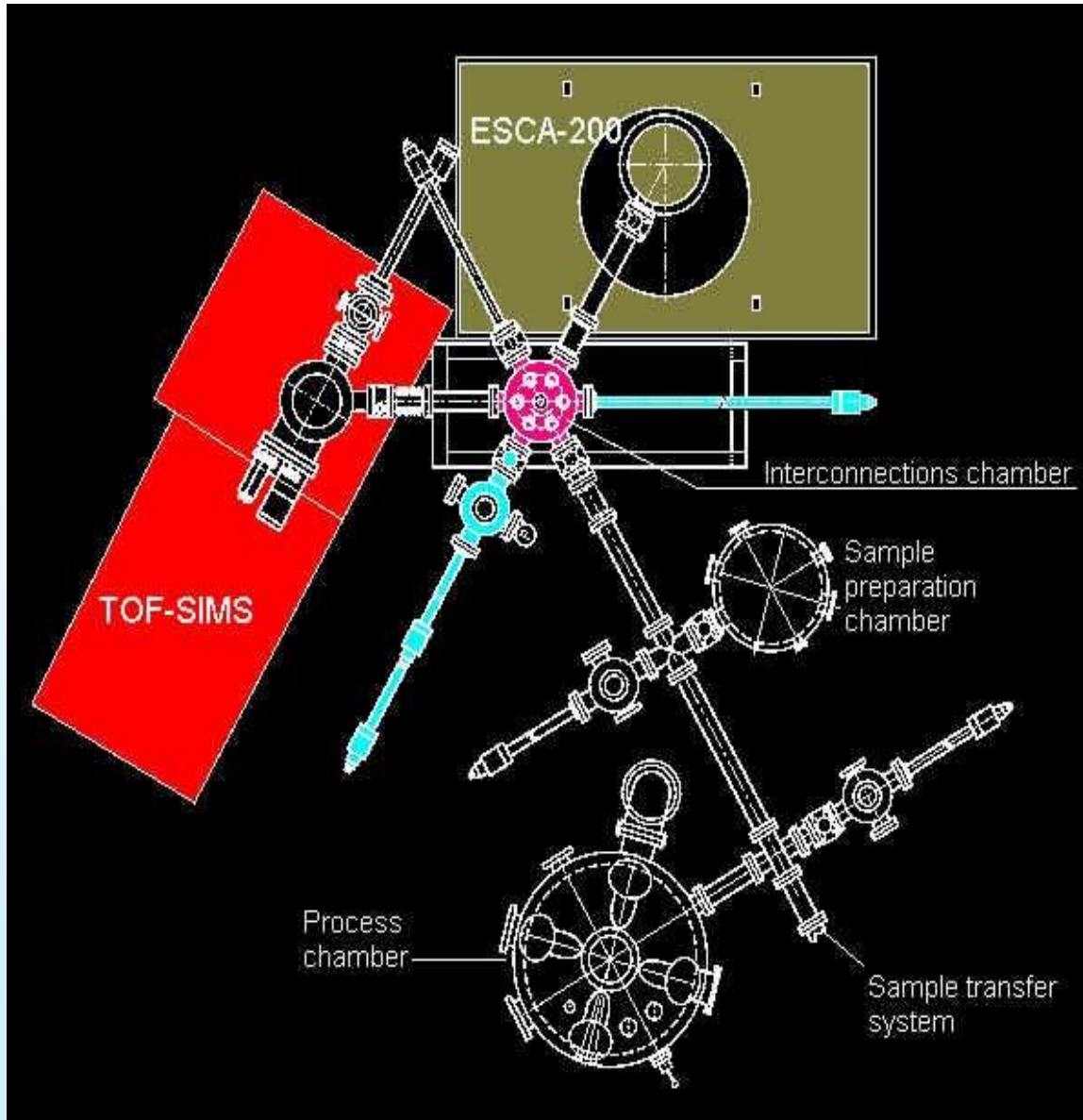
Method	Principle	Depth analyzed	Spatial resolution	Analytical sensitivity	Cost ^c
Contact angles	Liquid wetting of surfaces is used to estimate the energy of surfaces	3–20 Å	1 mm	Low or high depending on the chemistry	\$
ESCA (XPS)	X-rays induce the emission of electrons of characteristic energy	10–250 Å	10–150 μm	0.1 at%	\$\$\$
Auger electron spectroscopy ^a	A focused electron beam stimulates the emission of Auger electrons	50–100 Å	100 Å	0.1 atom%	\$\$\$
SIMS	Ion bombardment sputters secondary ions from the surface	10 Å–1 μm ^b	100 Å	Very high	\$\$\$
FTIR-ATR	IR radiation is adsorbed and excites molecular vibrations	1–5 μm	10 μm	1 mol%	\$\$
STM	Measurement of the quantum tunneling current between a metal tip and a conductive surface	5 Å	1 Å	Single atoms	\$\$
SEM	Secondary electron emission induced by a focused electron beam is spatially imaged	5 Å	40 Å, typically	High, but not quantitative	\$\$

^a Auger electron spectroscopy is damaging to organic materials and is best used for inorganics.

^b Static SIMS ≈ 10 Å, dynamic SIMS to 1 μm

^c \$, up to \$5000; \$\$, \$5000–\$100,000; \$\$\$, >\$100,000.

THE CLUSTER LABORATORY



Spettroscopia fotoelettronica a raggi X (XPS o ESCA)

Gli elettroni sono fotoemessi dalla superficie del campione in conseguenza della interazione con i raggi X, e portano informazioni quali/quantitative sulla composizione chimica superficiale del materiale analizzato.

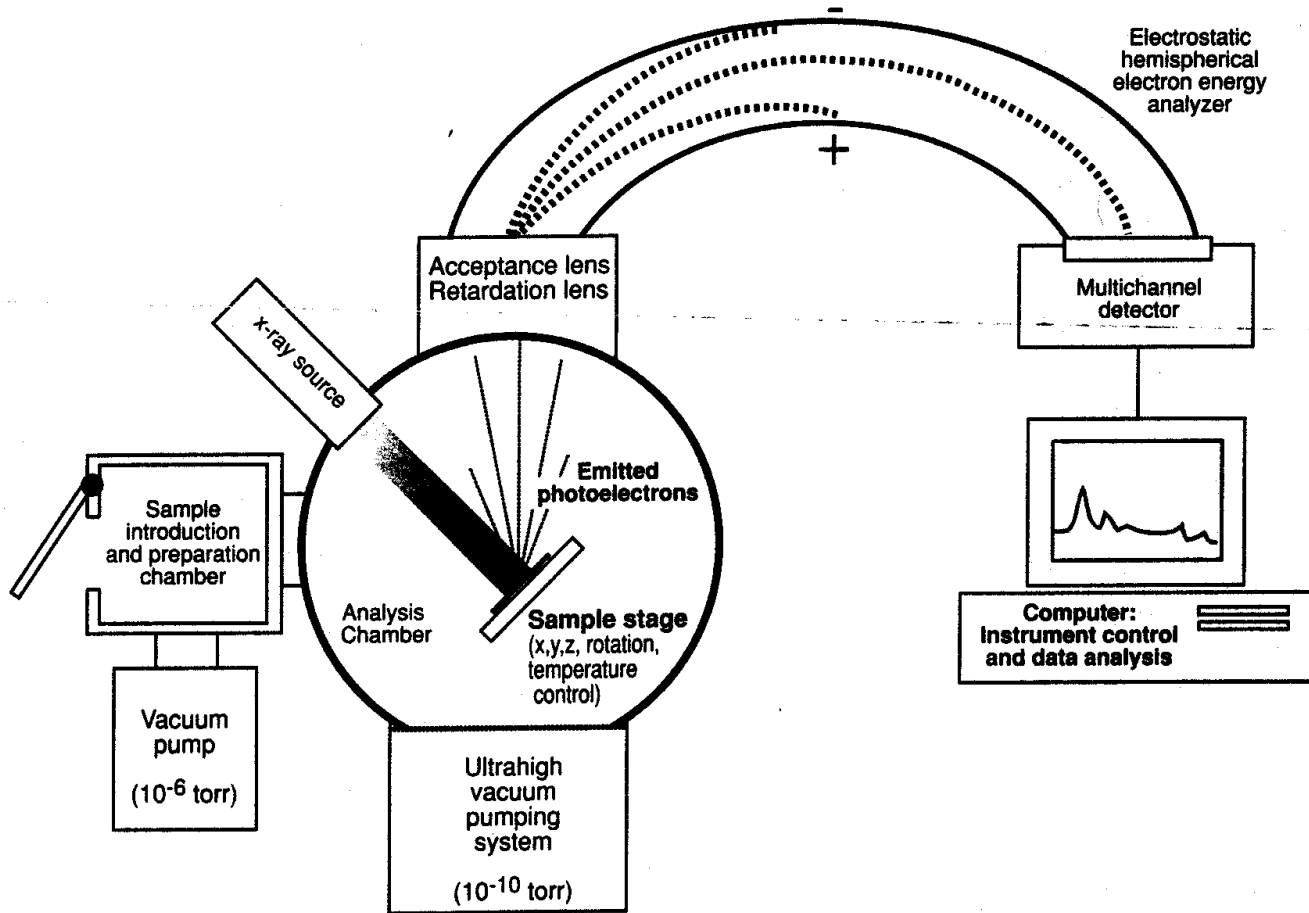
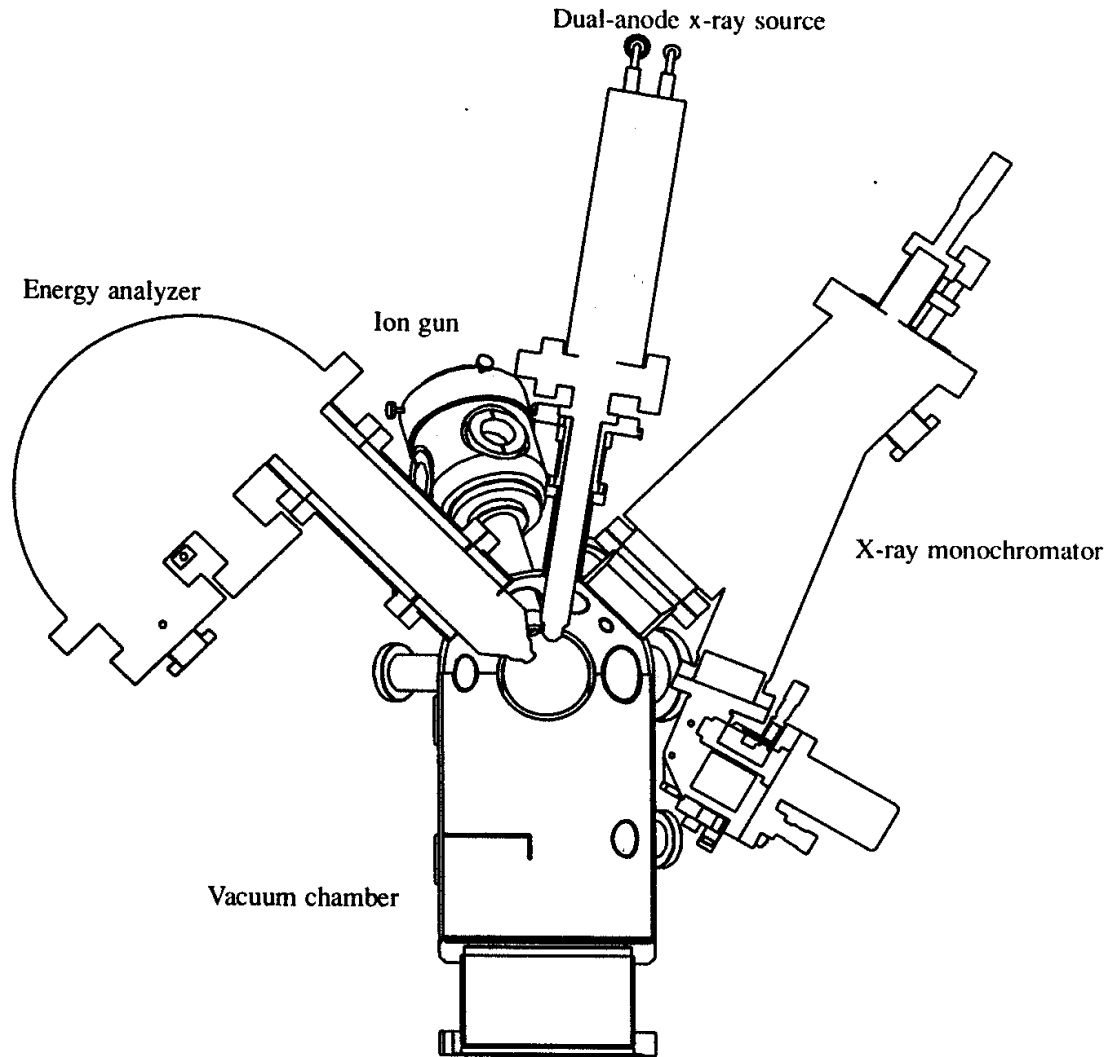


FIG. 6. A schematic diagram of a monochromatized ESCA instrument.

- ❑ Composizione chimica elementare (qualitativa e quantitativa). Eccetto H e He
- ❑ Informazioni sullo stato di ossidazione degli elementi e sull'intorno chimico degli elementi (es. gruppi funzionali di un campione organico)
- ❑ Distribuzione in profondità degli elementi

XPS spectrometer



X-ray sources

	Energy	FWHM
MgK α	1253.6 eV	0.70 eV
AlK α	1486.6 eV	0.85 eV
ZrL α	2042.4 eV	1.70 eV
TiK α	4510.0 eV	2.00 eV

Reference signals

	MgK α	AlK α	BE(eV)
Cu3p	75.1	75.1	
Au4f _{7/2}	84.0	84.0	
Ag3d _{5/2}	368.3	368.3	
Cu _{L3MM}	568.0	334.9	

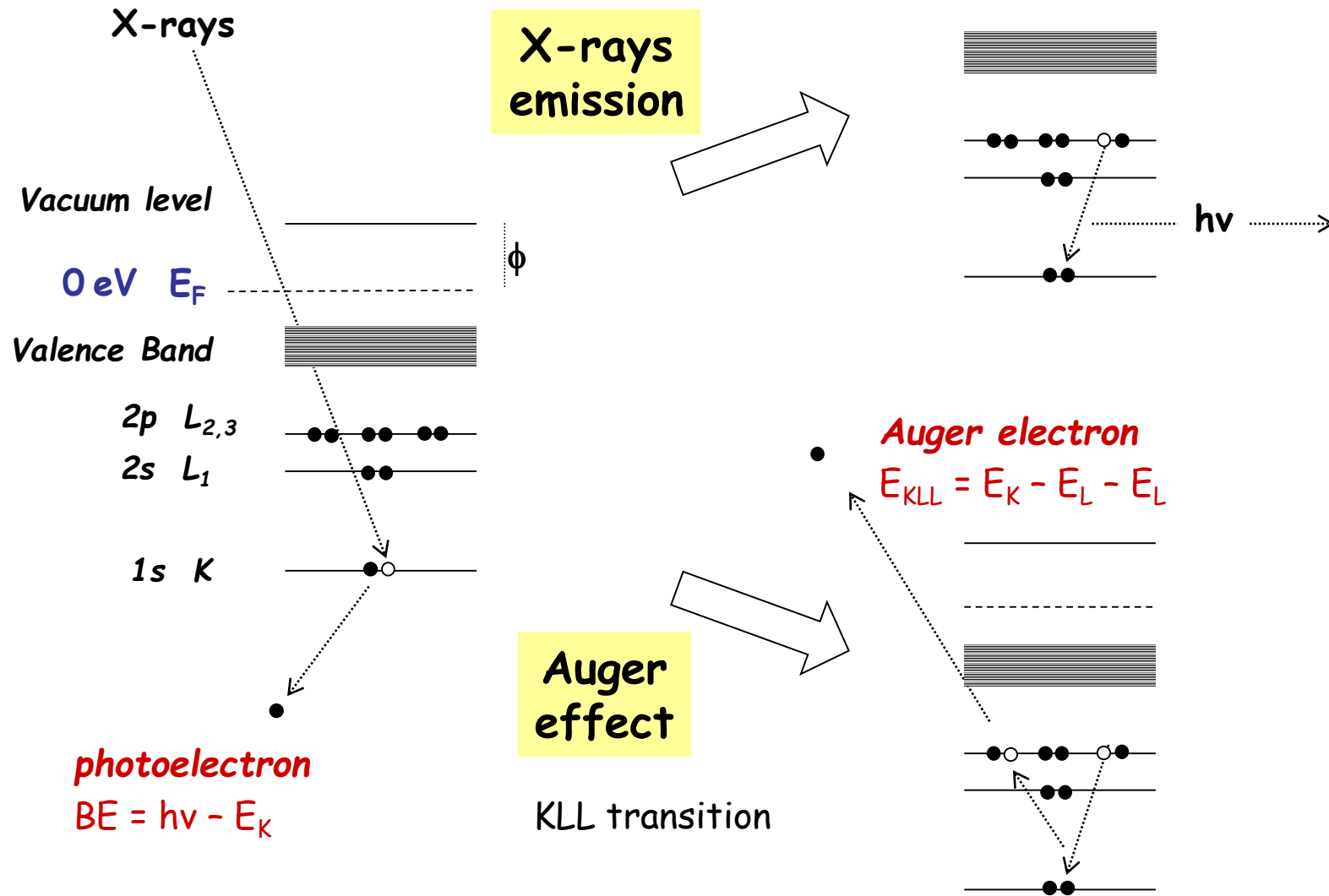
The resolution depends on:

analyser

natural width of excitation line

natural width of emission line

PHOTOEMISSION – photoelectric/Auger effect



$KE = h\nu - BE - (\Phi + C)$ equazione fondamentale dell'XPS

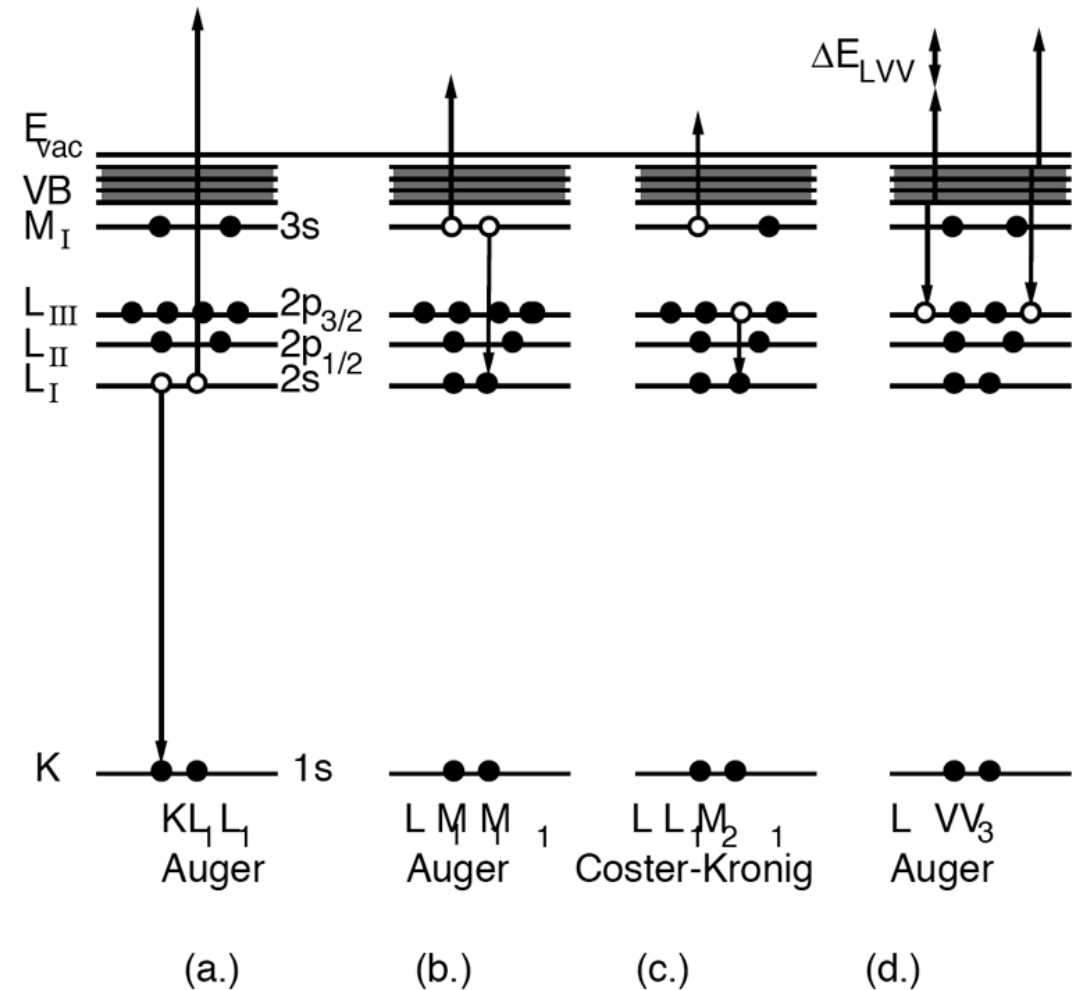
$BE = h\nu - KE - (\Phi + C)$

Origine dei segnali Auger

I segnali Auger derivano da fenomeni complessi di rilassamento. Dopo la fotoemissione di un elettrone interno (*core*) si crea una vacanza che può essere rimpiazzata da un elettrone che rilassa da un livello energetico superiore.

L'energia così liberata può promuovere la fotoemissione di un secondo elettrone dallo stesso livello energetico o da uno superiore. Questo effetto è detto **EFFETTO AUGER**.

Esistono diversi tipi di elettroni Auger corrispondenti a transizioni differenti

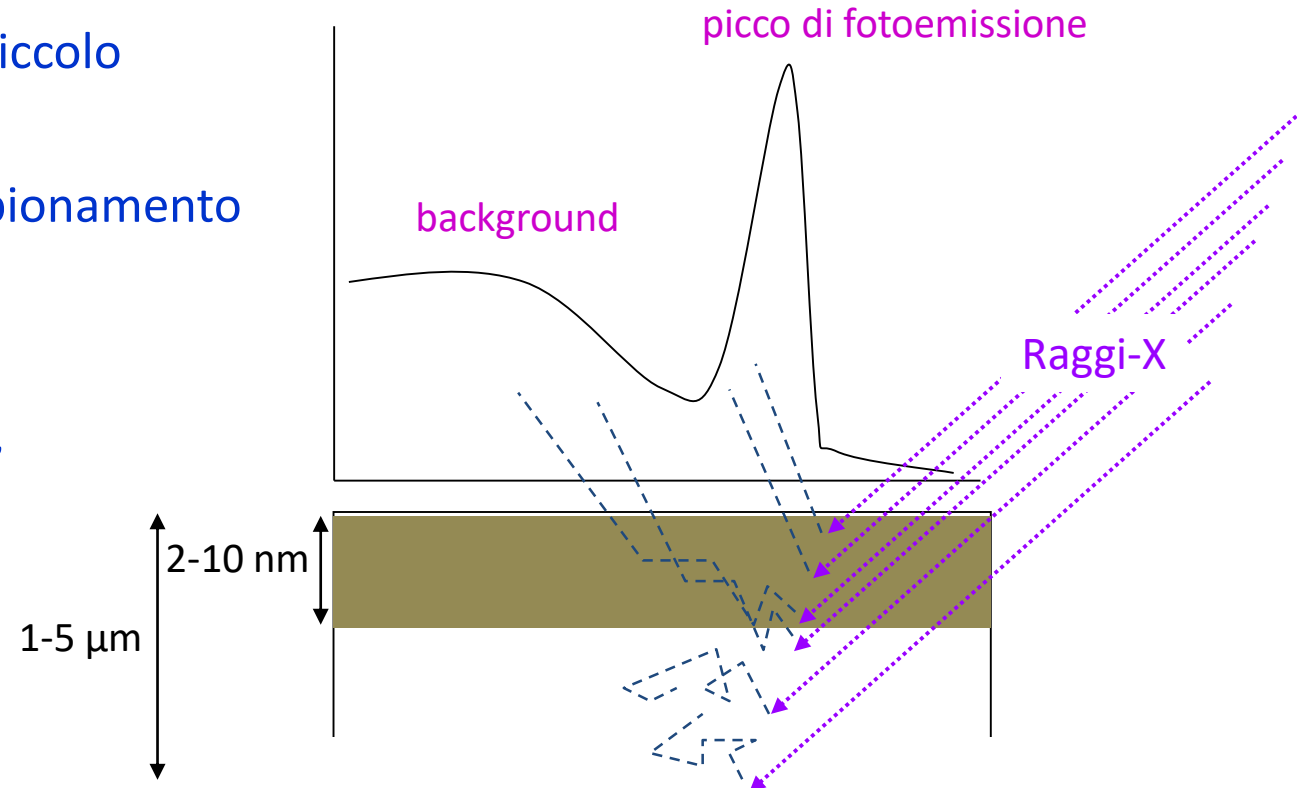


XPS: perché è una tecnica sensibile alla superficie?

La sensibilità superficiale della tecnica è dovuta al piccolo cammino libero medio inelastico degli elettroni **(particella uscente)** nei solidi. La profondità di campionamento dell'XPS è circa 10 nm.

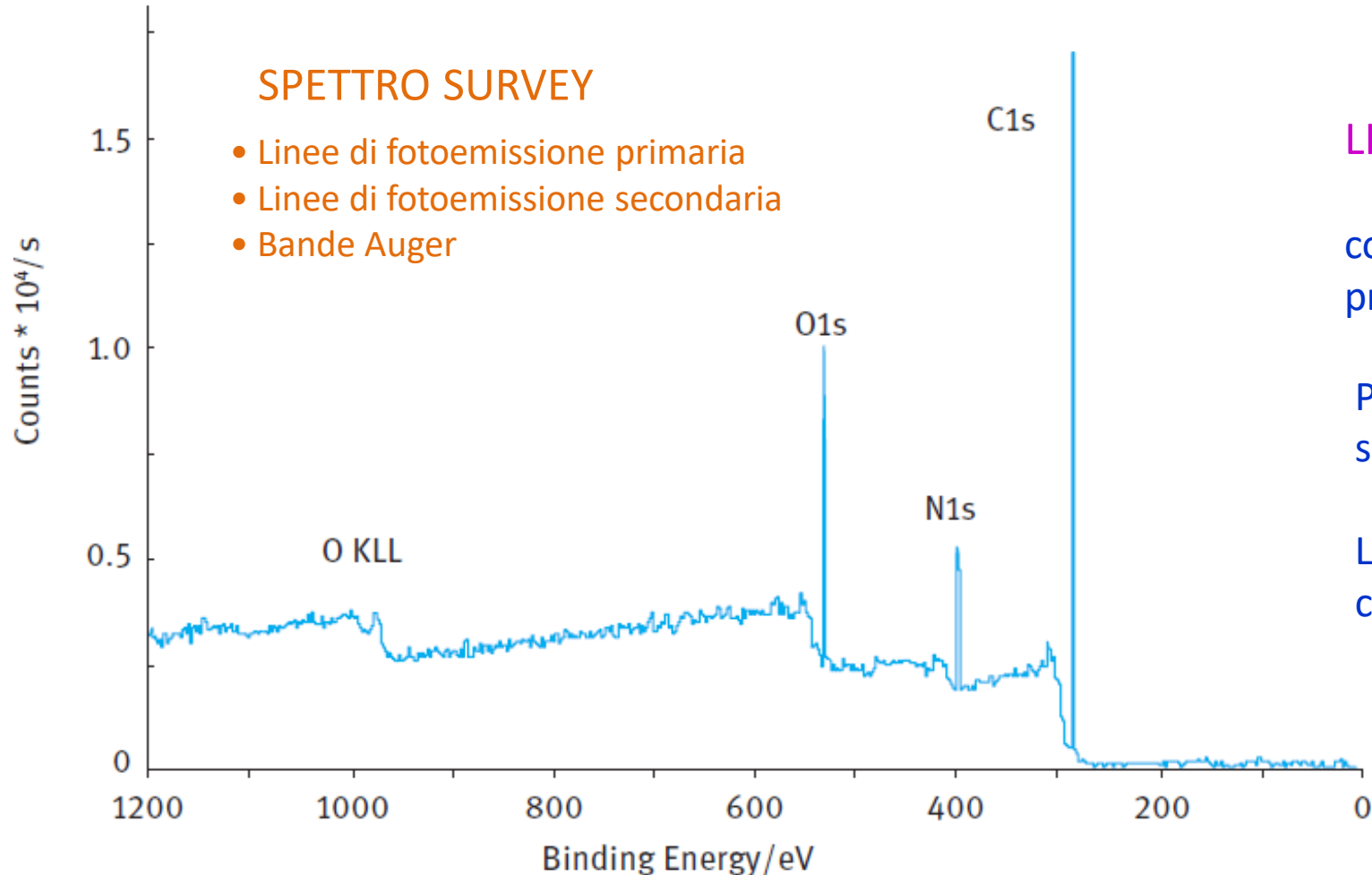
I raggi X penetrano nel materiale per diversi micron, ma solo gli elettroni fotoemessi dagli atomi superficiali emergono senza perdita significativa di energia cinetica per urti inelastici, e superano la funzione lavoro del materiale.

Gli elettroni che perdono energia per urti, ma che riescono comunque ad emergere dal materiale contribuiscono al background nello spettro.



Analisi XPS. Fase 1: acquisizione spettro SURVEY

Nella prima fase dell'analisi viene acquisito uno spettro a bassa risoluzione (survey) campionando gli elettroni su tutto l'intervallo di energie di legame accessibile con i raggi X usati (0 - 1500 eV).



LINEE DI FOTOEMISSIONE PRIMARIA

corrispondenti alle transizioni più probabili (picchi più intensi)

Prima identificazione degli elementi sulla base delle linee principali

Linee secondarie più picchi Auger per confermare le attribuzioni

Analisi XPS. Fase 2. Acquisizione degli spettri ad elevata risoluzione

Determinazione % atomiche

Elementi identificati in fase 1
(es. N, Ca, O, Ar, Al, Si)

$$N_A = I_A / S_A$$

- N_A = Densità atomica elemento A
- I_A = Integrale segnale di A
- S_A : Fattore di sensibilità elemento A
f (elemento, materiale, parametri strumentali)
→ Tabulati

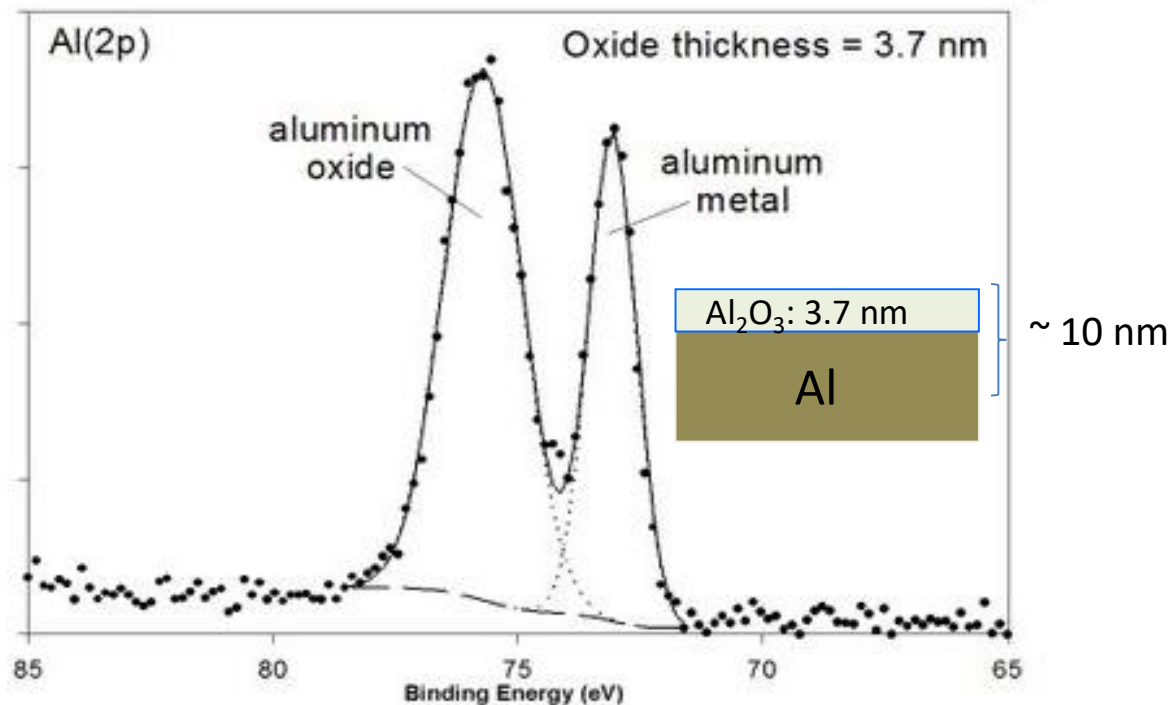
$$\% \text{ at. A} = \frac{N_A}{N_{\text{TOT}}} \cdot 100 = \frac{I_A / S_A}{\sum_i I_i / S_i} \cdot 100$$

Le informazioni ricavate dallo spettro survey possono essere arricchite registrando gli spettri ad alta risoluzione degli elementi identificati in fase 1.

Permettono una determinazione precisa delle percentuali atomiche.

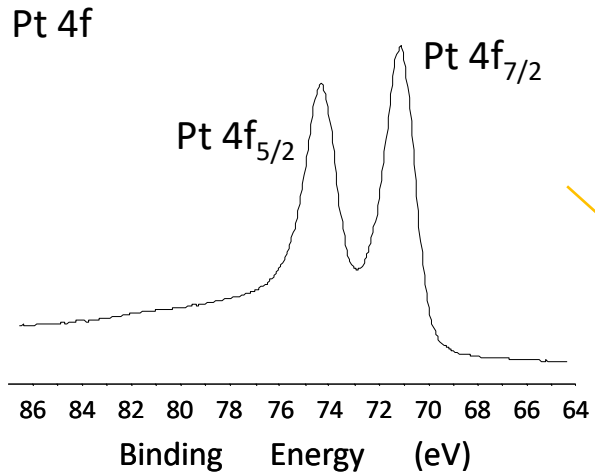
Permettono di ottenere informazioni chimiche sull'intorno chimico degli elementi.

Informazioni intorno chimico elementi

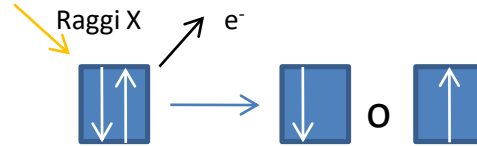


Analisi XPS. Caratteristiche spettri ad elevata risoluzione

Accoppiamento spin-orbita

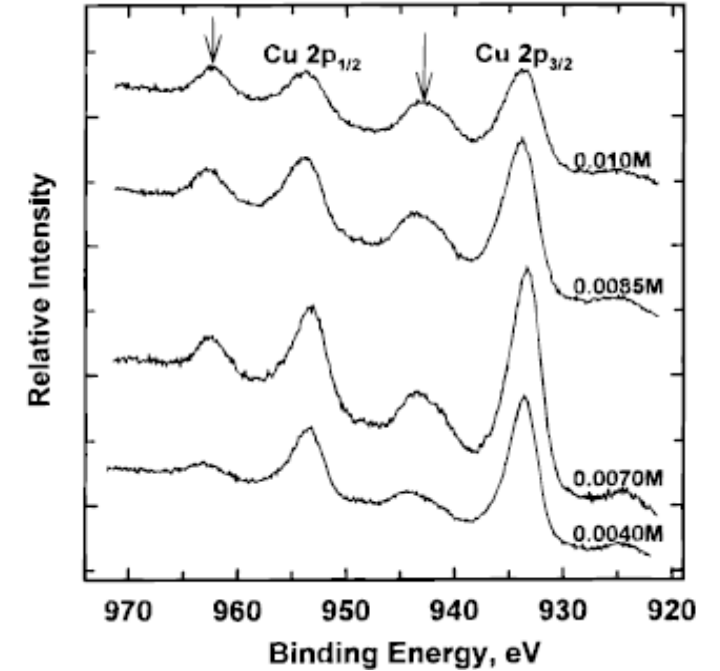


Momento angolare totale: $J = l + s$
Orbitale f: $l = 3, s = \pm 1/2$
 $J = 5/2$ e $7/2 \rightarrow$ BE diverse



Shake-up/Shake-off

Shake-up



- ❑ Nell'**accoppiamento spin-orbita**, lo spin (s) dell'elettrone risente del campo magnetico generato dal suo stesso moto attorno al nucleo (l). In seguito all'emissione di un fotoelettrone, l'elettrone rimanente può avere $s = \pm 1/2$ e la diversa interazione con l porta all'accoppiamento spin-orbita.
- ❑ Contemporaneamente alla fotoemissione si può avere la promozione di un secondo elettrone a un orbitale (vuoto) a maggiore energia (**shake-up**). Il fotoelettrone emesso ha KE minore (BE maggiore) perché parte dell'energia assorbita è usata per promuovere la transizione del secondo elettrone.
- ❑ Contemporaneamente alla fotoemissione si può avere l'espulsione di un altro elettrone (**shake-off**)
- ❑ I fenomeni shake-up/shake-off sono molto frequenti negli elementi di transizione.

Analisi XPS. Chemical shift

- ❑ L'intorno chimico di un atomo influenza la BE dei suoi fotoelettroni.
- ❑ Differenze nello stato di ossidazione e nei gruppi funzionali comportano variazioni di BE per uno stesso elemento (*chemical shift*)-
- ❑ Il *chemical shift* permette di ottenere informazioni chimiche sui materiali.

Stato di ossidazione di un elemento e *chemical shift*

- ❑ Se un elemento in un campione è presente in diversi stati di ossidazione darà luogo a componenti diversi nei suoi segnali XPS.
- ❑ Più positivo lo stato di ossidazione dell'elemento, maggiore sarà la BE dei relativi segnali.

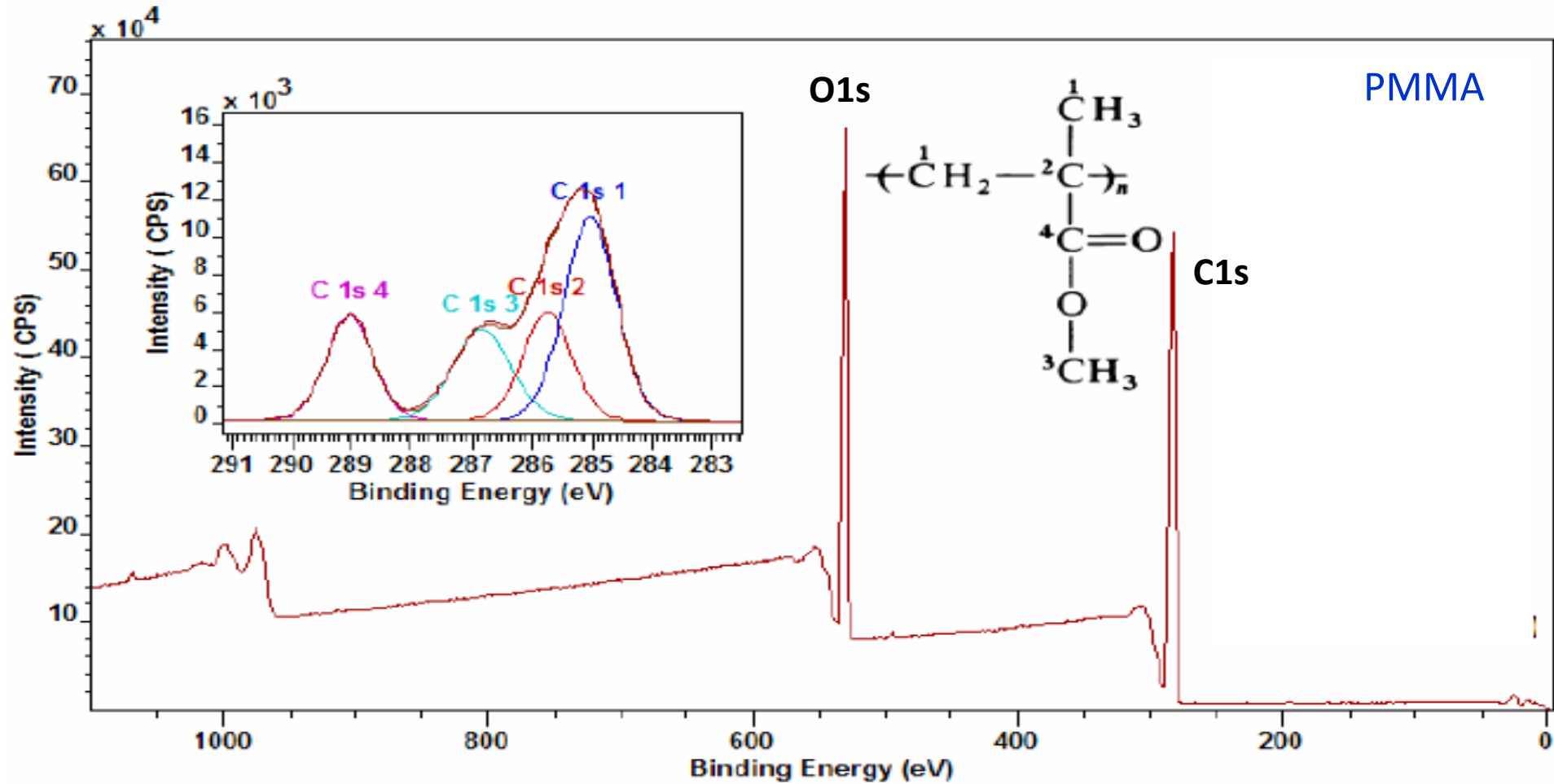
Fe	BE=707.0 eV
FeO	BE=709.4 eV
Fe ₂ O ₃	BE=710.9 eV

Intorno molecolare di un elemento e *chemical shift*

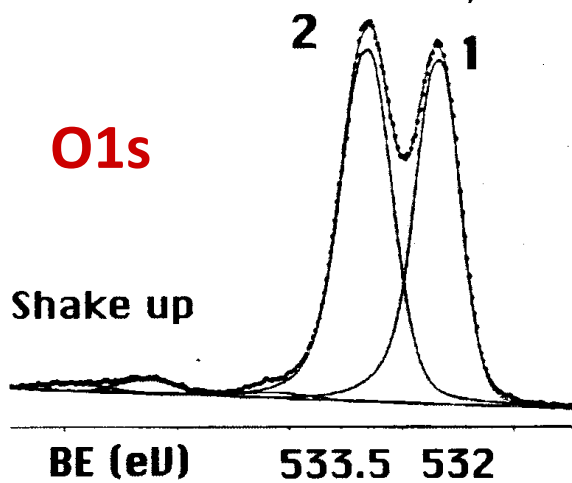
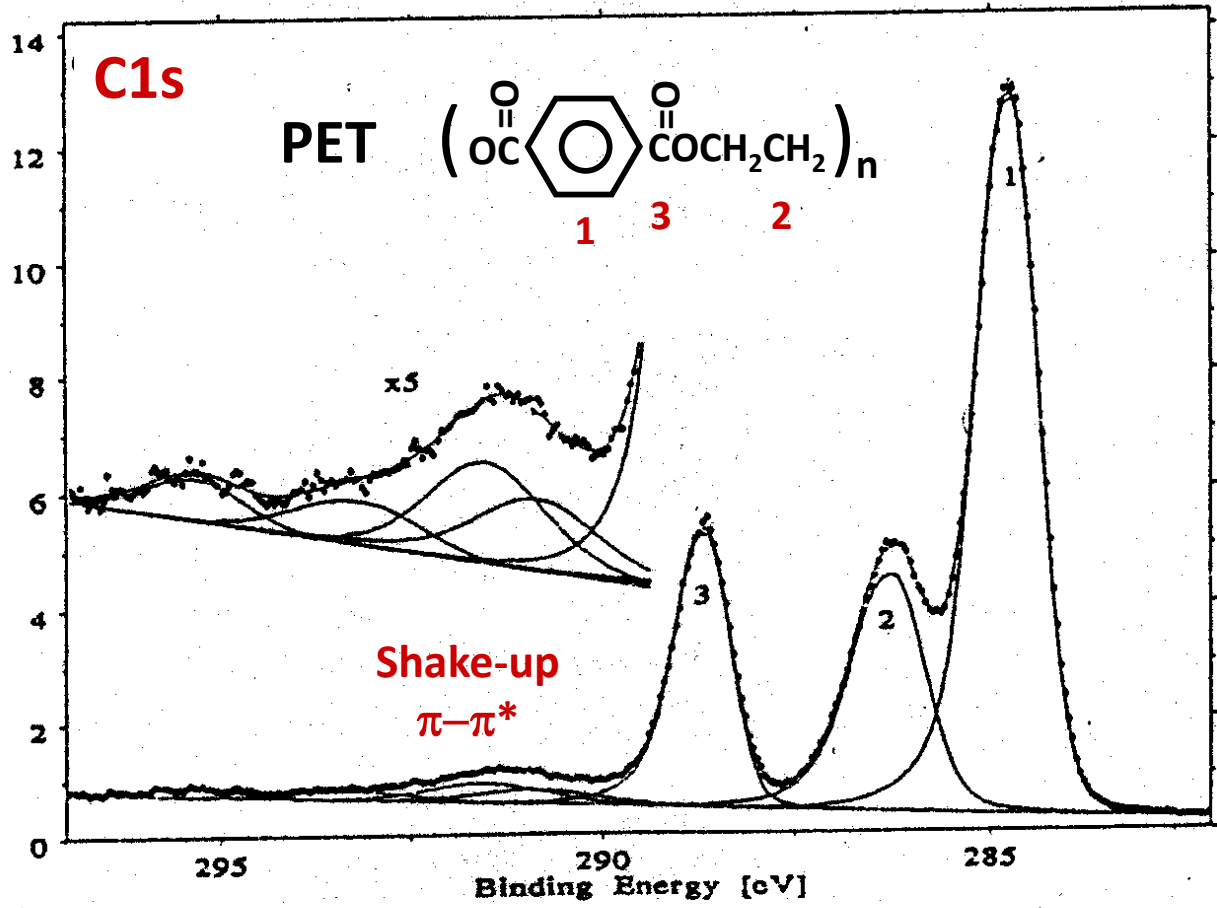
- ❑ Se un elemento rientra in diversi gruppi funzionali (es. -C-OH, -C=O, -COOH) nello spettro ad elevata risoluzione dell'elemento compariranno diverse componenti, ciascuna relativa ai diversi gruppi funzionali.
- ❑ Maggiore è il numero di elementi elettronegativi a cui l'elemento in esame è legato nel gruppo funzionale maggiore sarà la BE corrispondente.

Analisi XPS. Chemical shift

Polimetilmetacrilato (PMMA), lente intraoculare



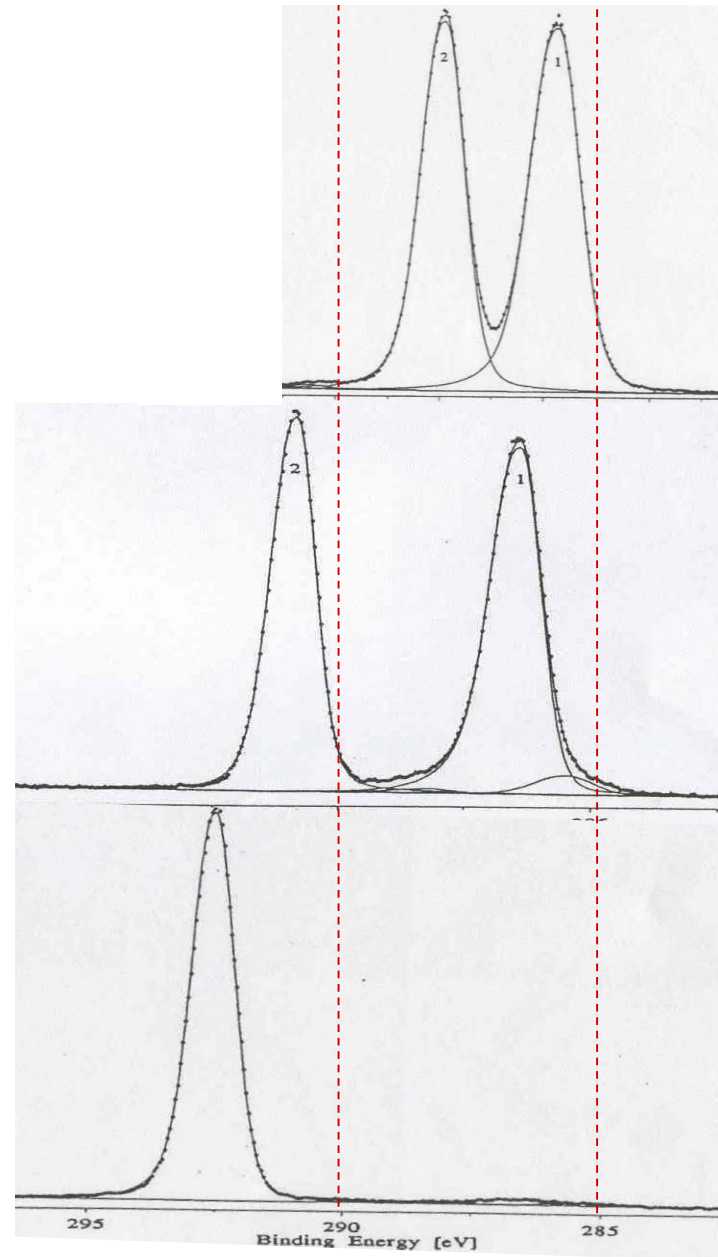
ESCA
 detailed spectra
chemical shift
 &
best fitting



← Electronegativity of the near atoms

Chemical Shift

poliolefine
fluorurate



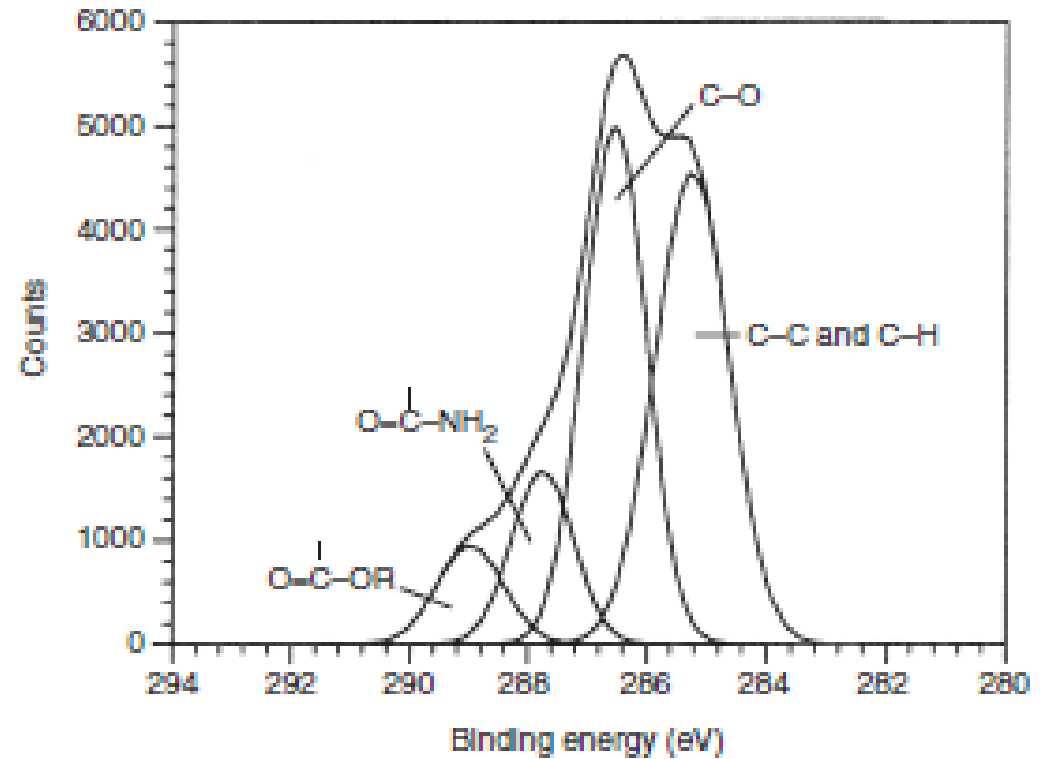
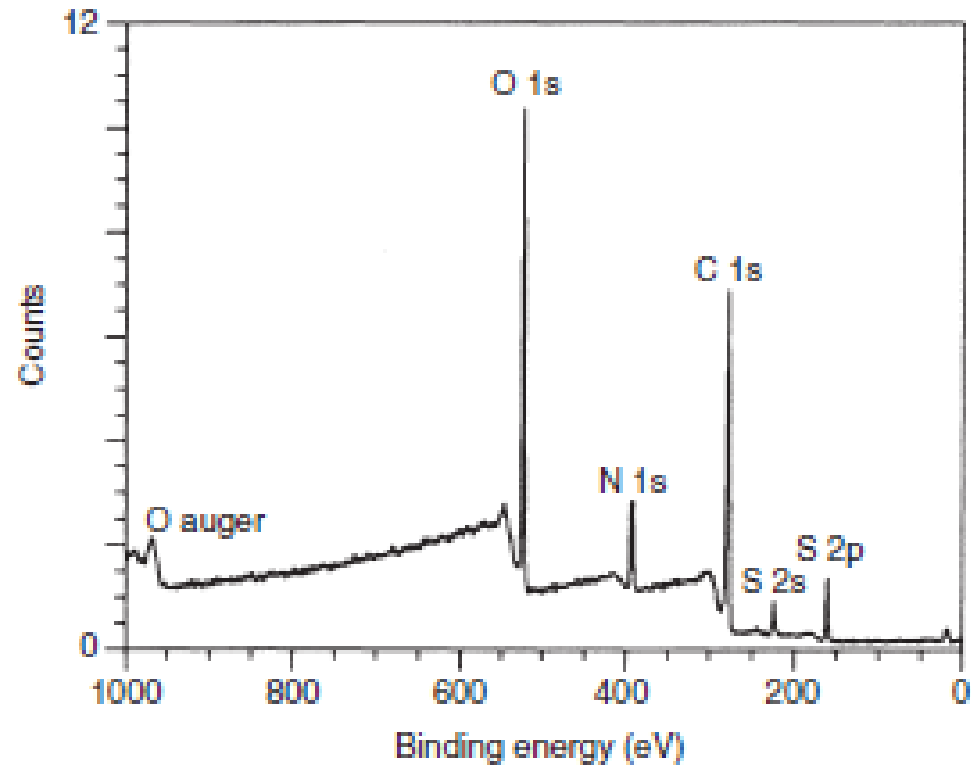
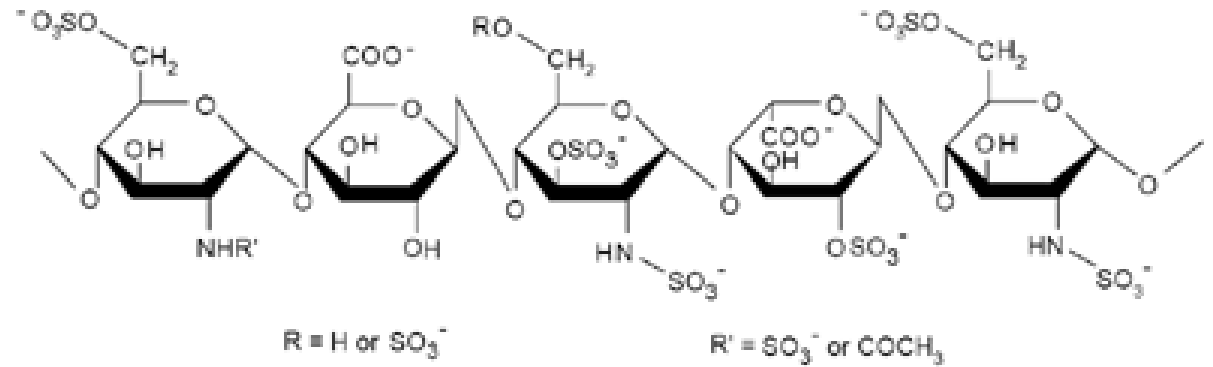
PVF $-(\text{CH}_2\text{CHF})_n-$

PVdF $-(\text{CH}_2\text{CF}_2)_n-$

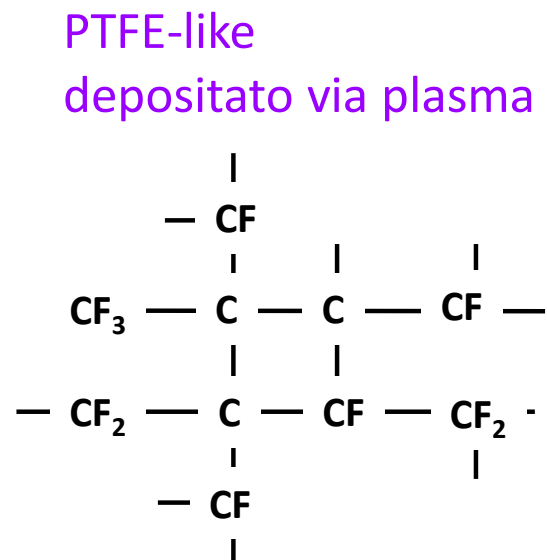
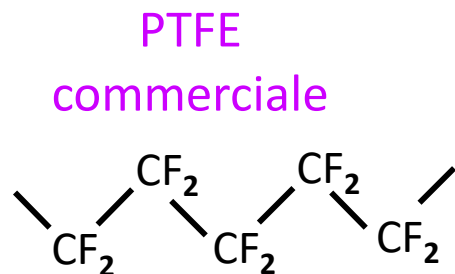
PTFE $-(\text{CF}_2\text{CF}_2)_n-$

Analisi XPS. Chemical shift

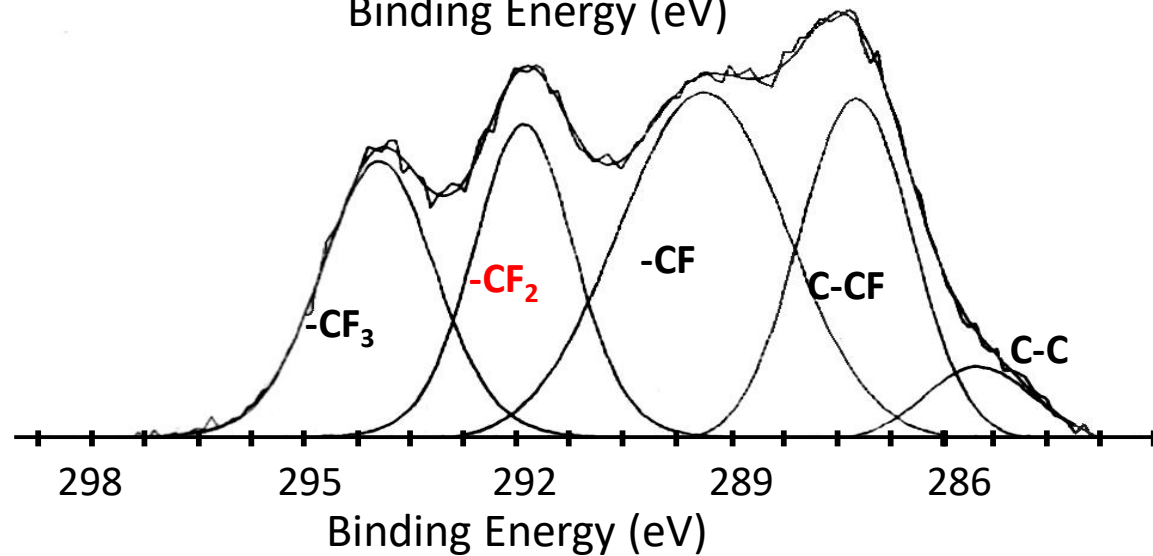
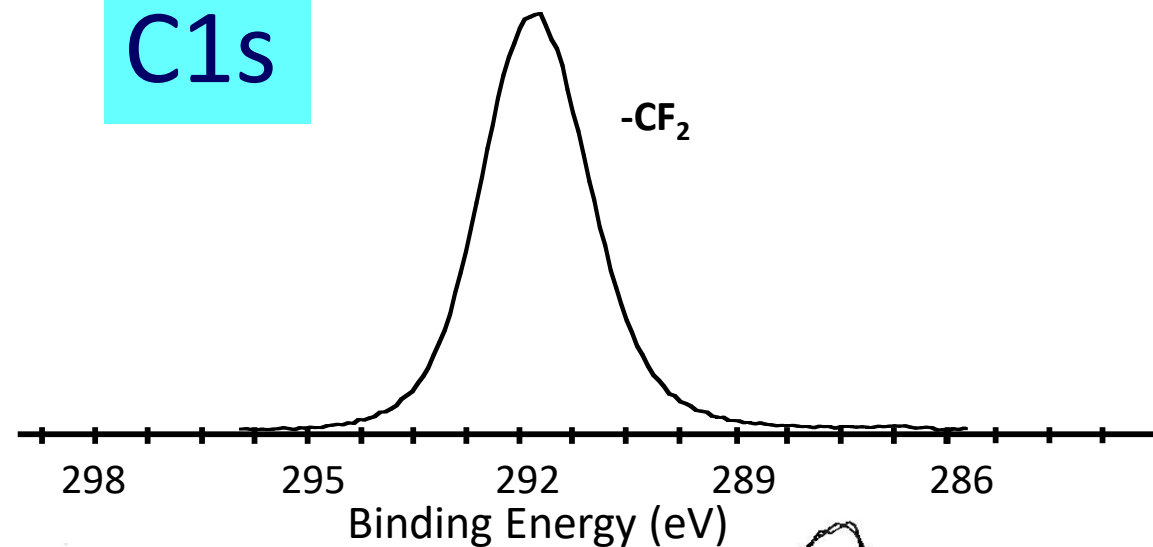
Lente intraoculare
trattata con eparina (anticoagulante)



Analisi XPS. Chemical shift

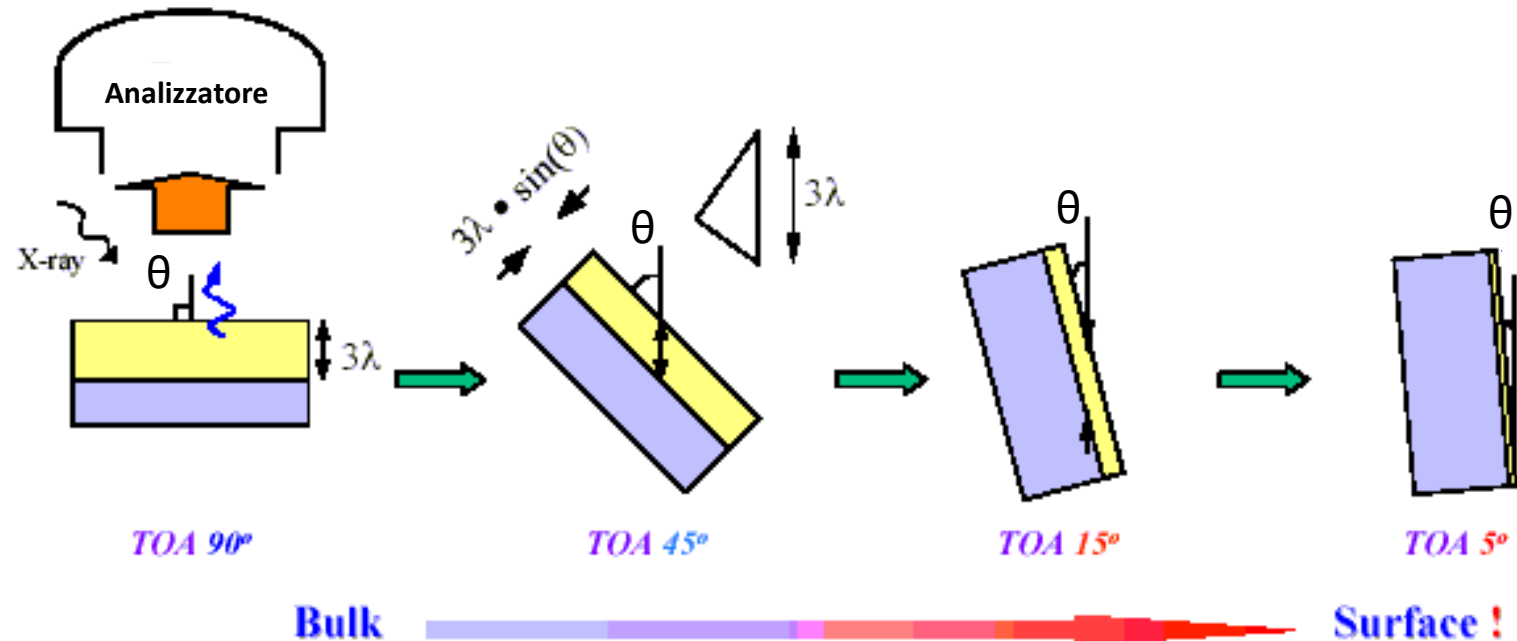


C1s



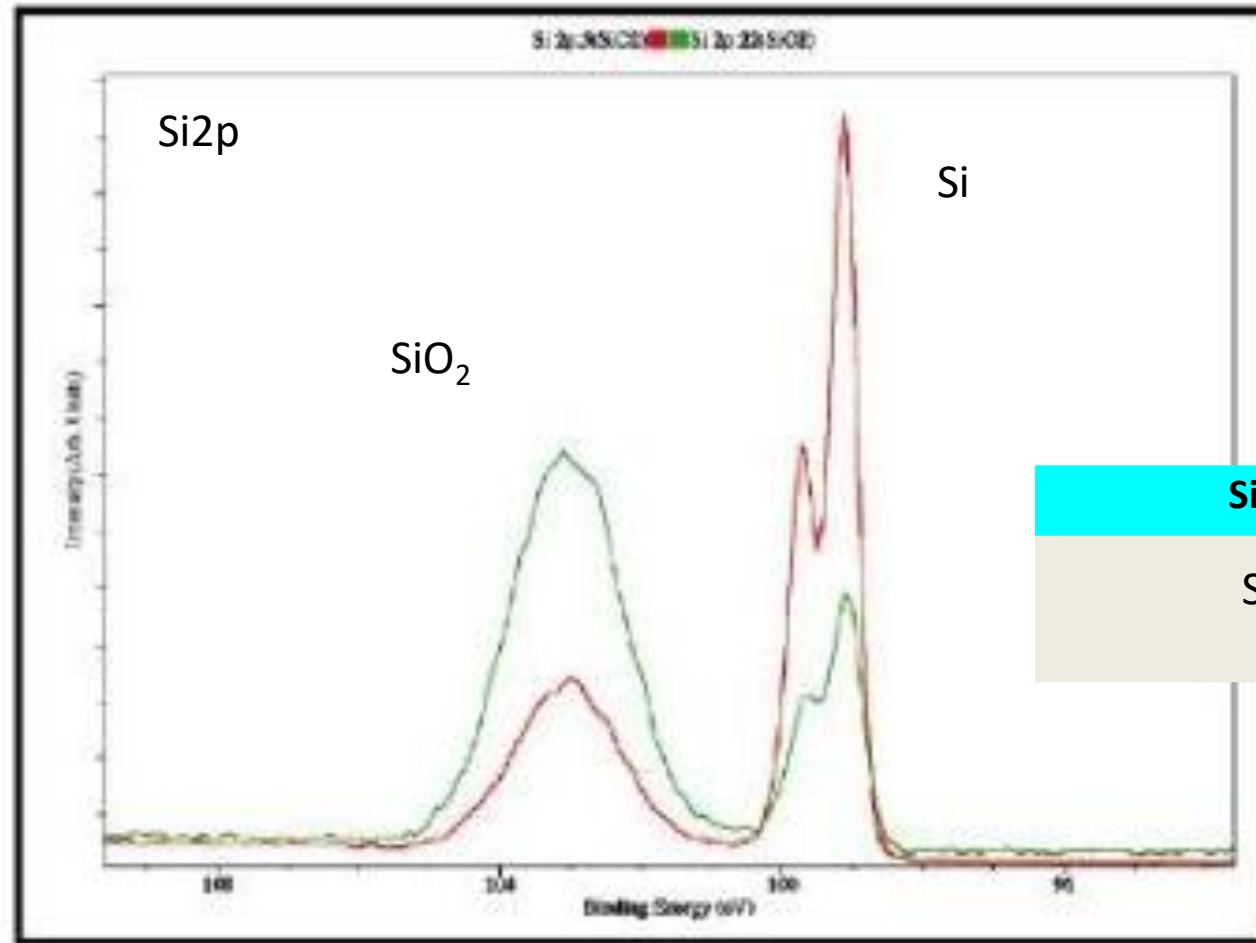
Analisi XPS risolte in angolo

$$d = 3\lambda \cdot \sin \theta \quad \text{SPESSORE CAMPIONATO}$$

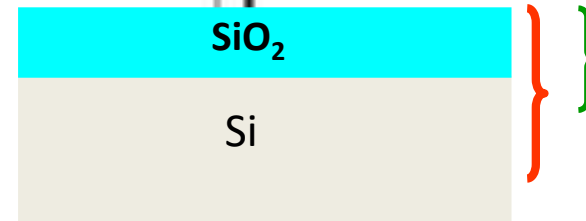


- ❑ Permettono di determinare profili di concentrazione entro 10 nm circa in modo non distruttivo.
- ❑ Gli spettri sono registrati a diversi angoli di *take-off* (TOA); poiché il cammino libero medio degli elettroni non dipende da questo angolo, la rotazione (tilt) del campione determina diverse profondità di campionamento.
- ❑ Diminuendo l'angolo di *take-off* diminuisce lo spessore campionato.

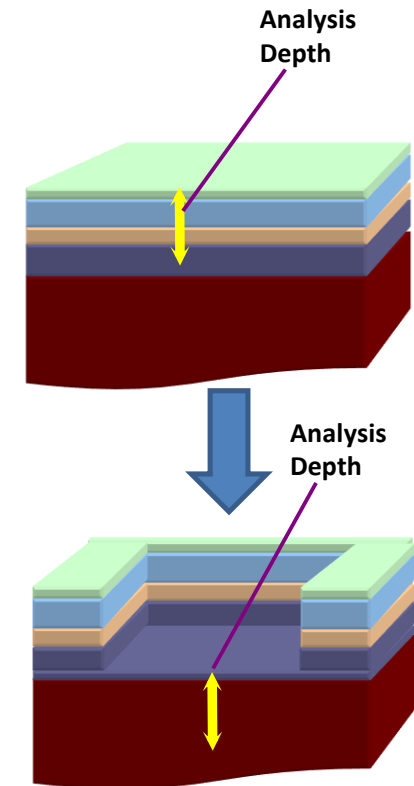
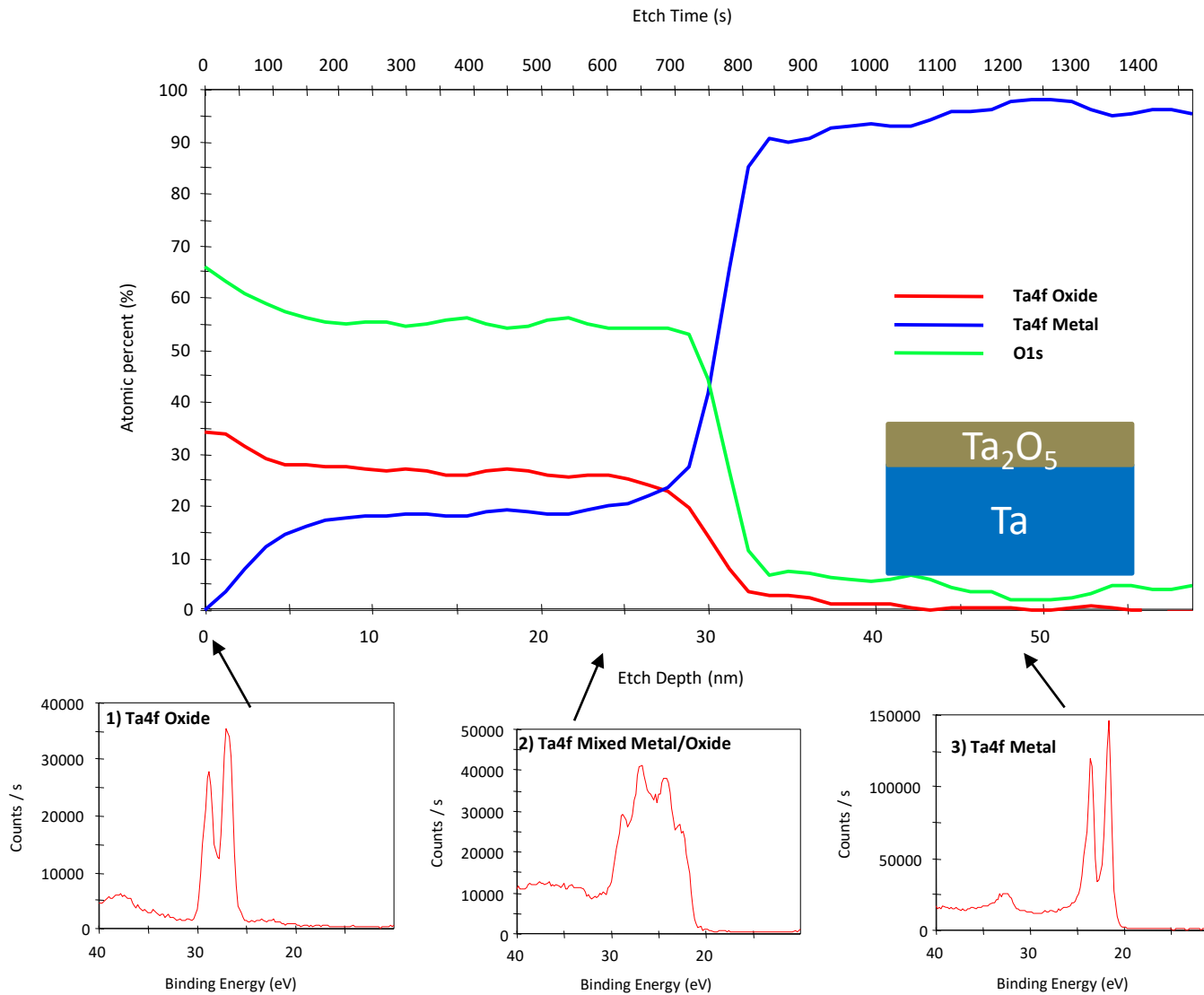
Analisi XPS risolte in angolo



High resolution Si 2p spectra acquired at normal (red) and grazing (green) emission

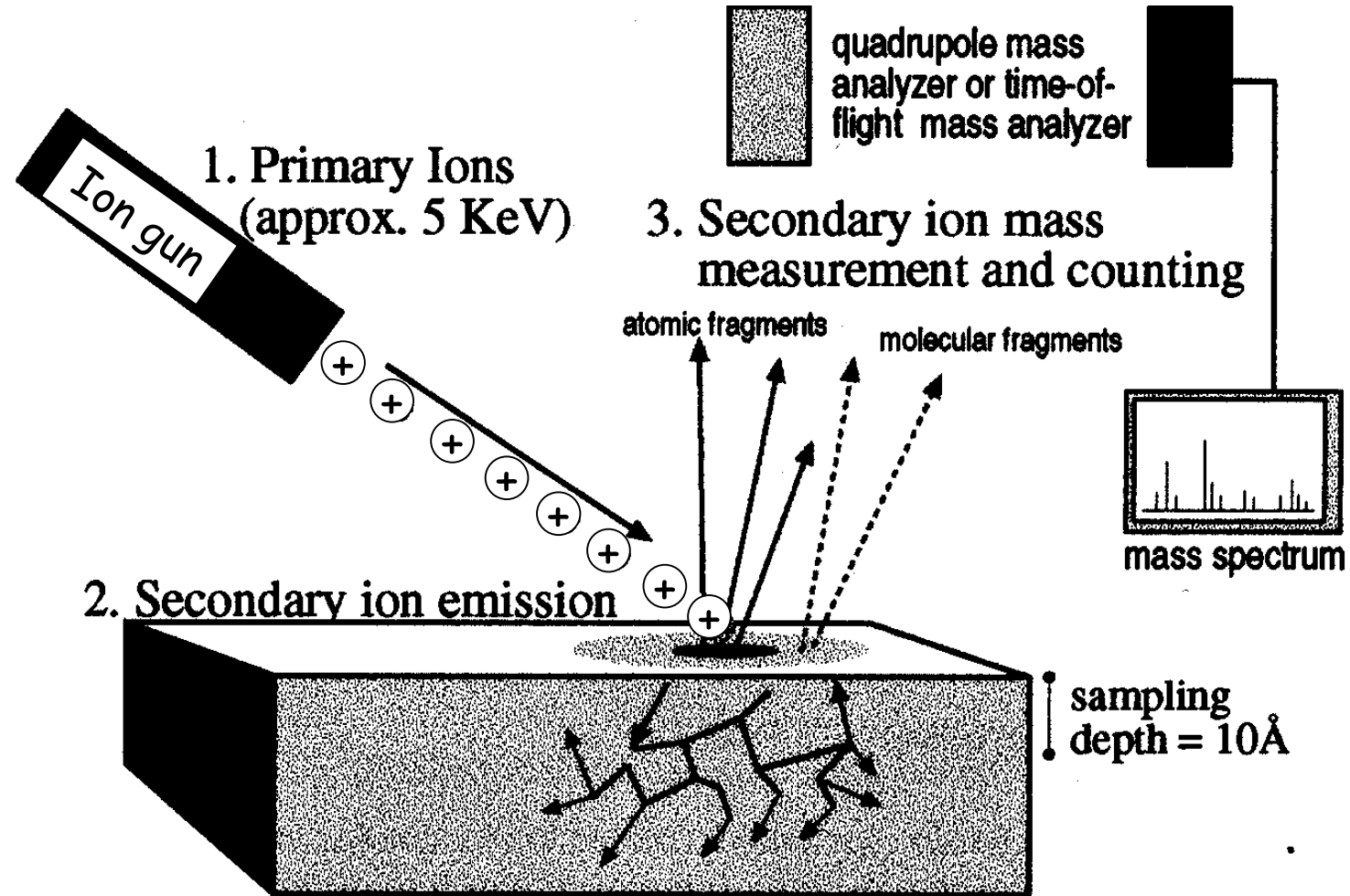


Analisi XPS in depth profile

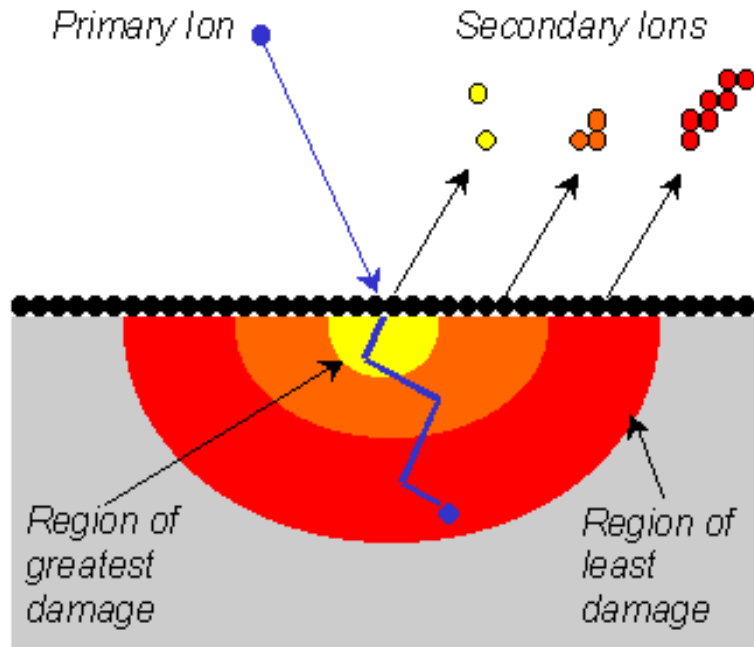


- 1) All'inizio c'è solo ossido
- 2) Quando comincia lo sputtering il Ta risulta parzialmente ridotto per rimozione preferenziale dell'ossigeno.
- 3) Rimosso l'ossido resta esposto il Ta metallico

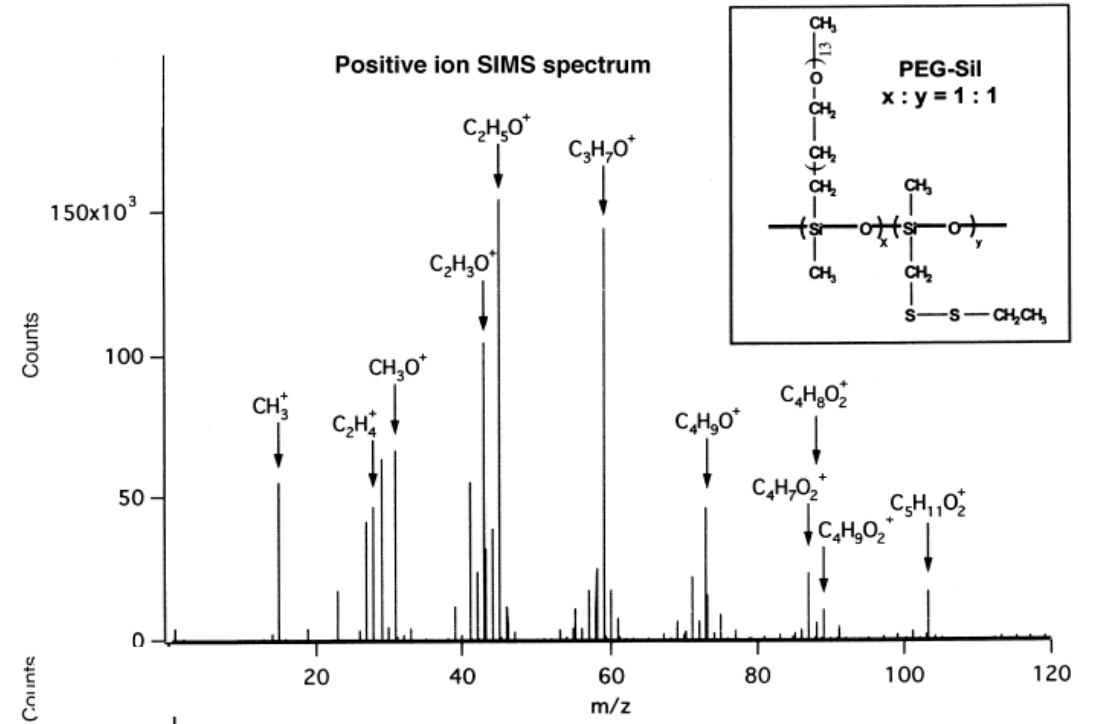
Secondary Ions Mass Spectrometry, SIMS



Spettrometria di massa di ioni secondari (SIMS)



- Atomi e frammenti piccoli nella zona di impatto
- Cluster e ioni molecolari nelle zone più lontane



- ❑ La superficie del campione è bombardata con un fascio di ioni primario accelerati a qualche keV, che origina collisioni a cascata-
- ❑ L'interazione tra il fascio e il campione comporta un trasferimento di e- tale da rompere i legami nella regione interessata e far emettere particelle dalla superficie verso il detector.
- ❑ Vengono emessi ioni positivi e negativi (ioni secondari), radicali, specie neutre nello stato fondamentale o eccitato.
- ❑ La quantità di ioni secondari emessi viene registrata in funzione del rapporto m/z, utilizzando un analizzatore (spettrometro di massa) a tempo di volo (ToF) o a quadrupolo.

SIMS. Modalità operative

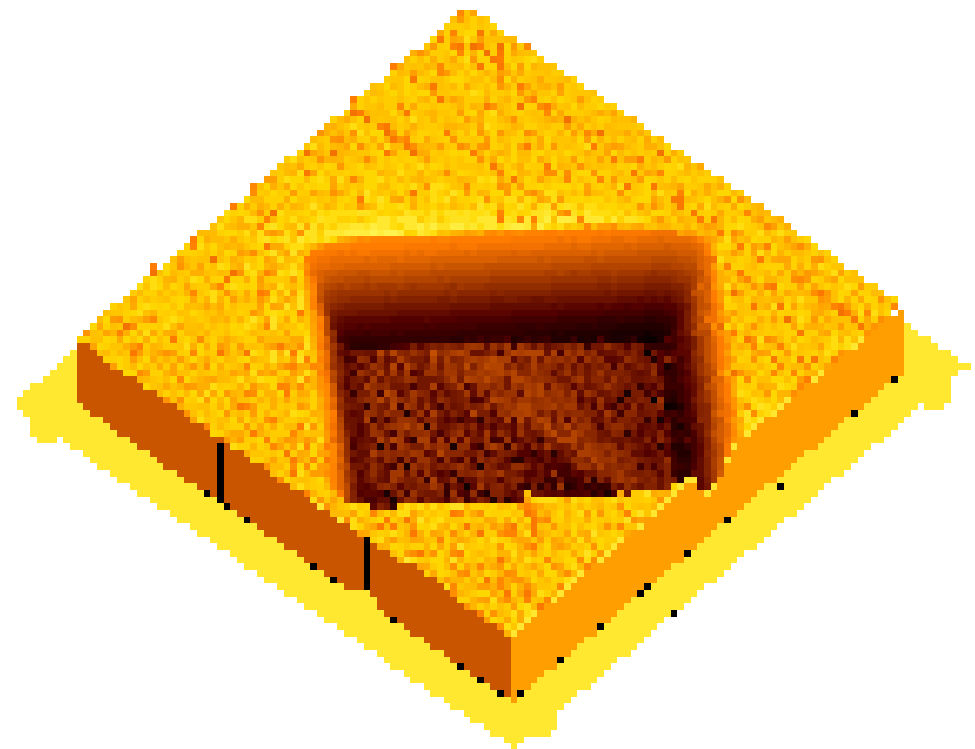
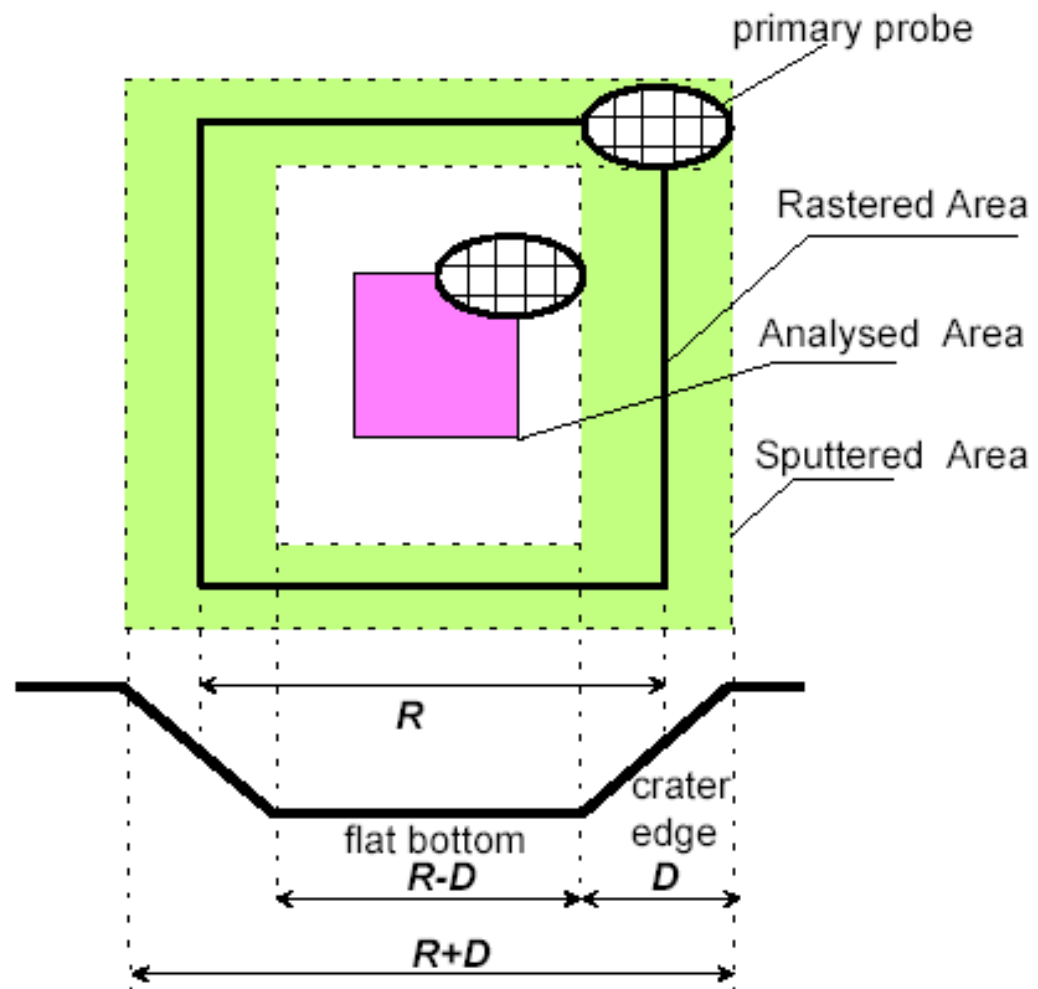
SIMS DINAMICO (profili di concentrazione)

- ❑ La superficie del campione viene bombardata con un fascio primario di ioni ad alta densità di corrente
- ❑ Il fascio erode il campione ad alta velocità, e questo consente di ottenere profili delle specie in profondità (qualche μm)
- ❑ A causa della natura distruttiva del fascio, si possono ottenere solo profili di concentrazione di specie atomiche (utile per campioni inorganici)

SIMS STATICO (analisi superficiale)

- ❑ La bassa dose di ioni primari assicura un minimo danneggiamento del campione
- ❑ Solo le specie adsorbite sulla superficie e il primo *monolayer* di atomi subiscono lo *sputtering* e vengono analizzati. Elevata specificità superficiale: 10 Å di profondità di campionamento
- ❑ A causa della bassa densità di ioni del fascio primario, vengono emessi frammenti molecolari praticamente intatti, la cui struttura è tipica del materiale di origine (utile x analisi polimeri, proteine o farmaci)

Sputtering crater



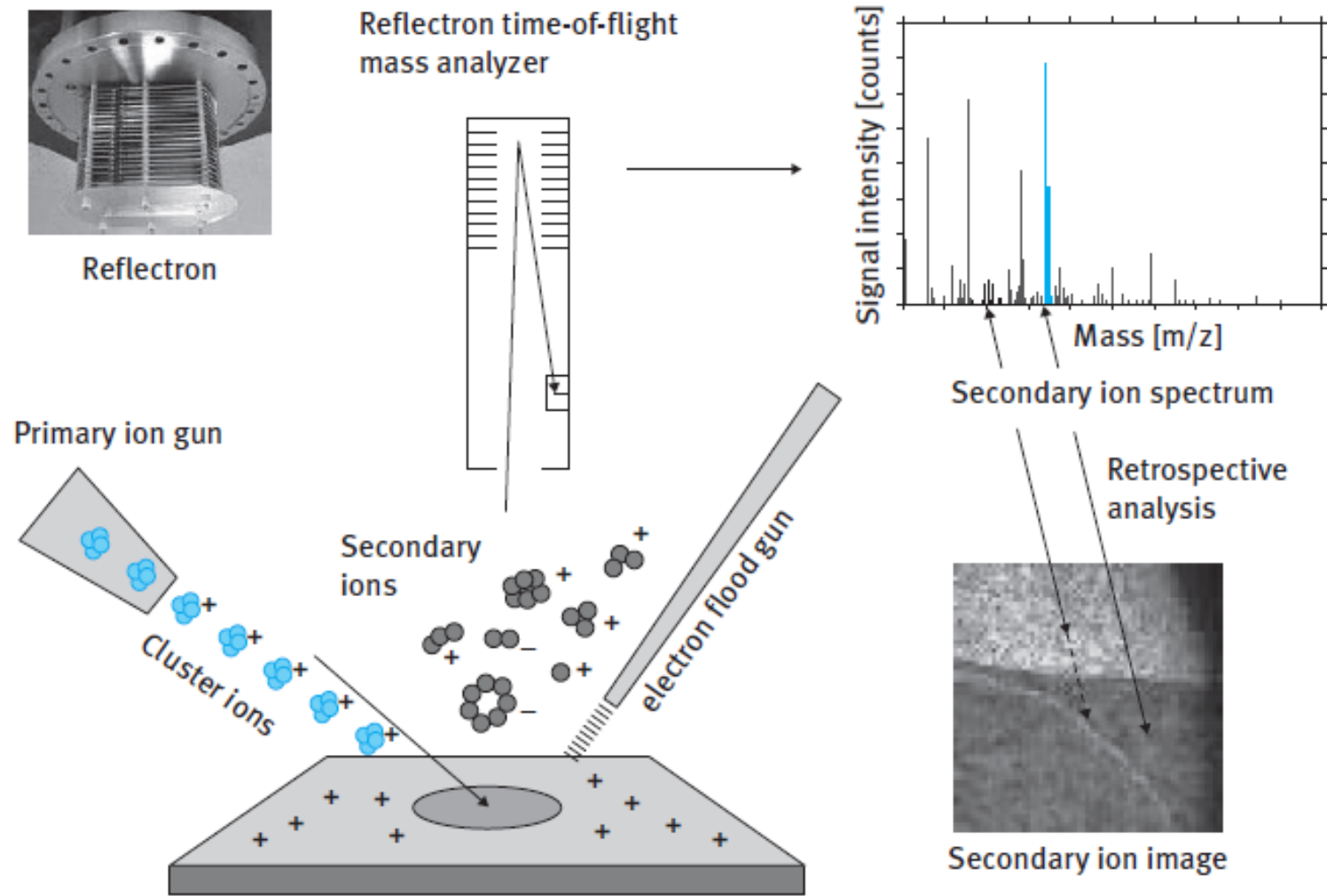
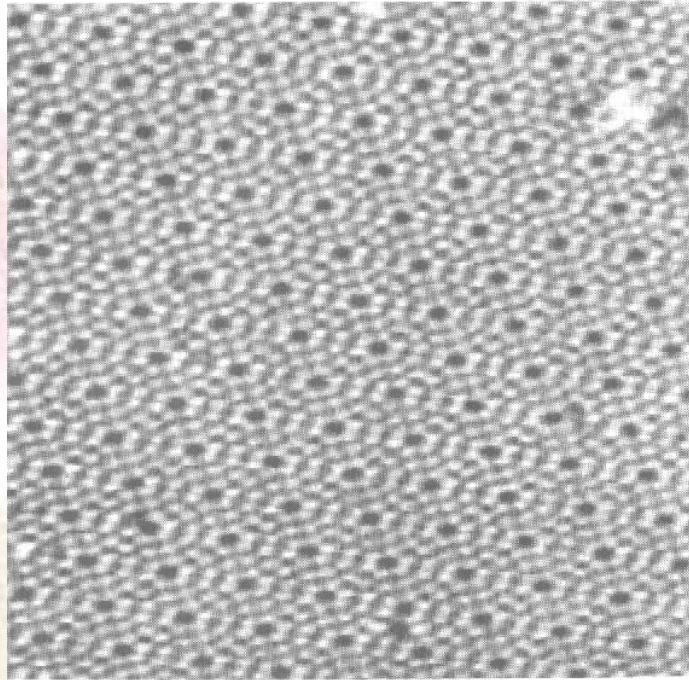
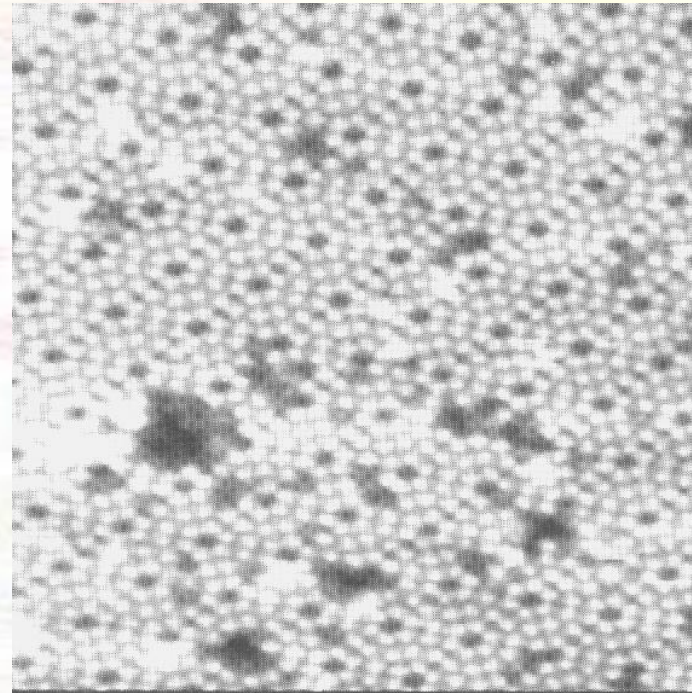


Fig. 2.1: Schematic drawing of a generic TOF-SIMS experiment. Gold or bismuth primary ion sources have replaced classical gallium, indium, or noble gas guns almost completely. The use of a reflectron ion energy-focusing element is standard equipment for high-mass-resolution TOF-SIMS applications. Data can be represented as mass spectrum or mass-resolved ion image. The electron flood gun operates between measurement cycles to compensate excessive surface charging. Copyright 2012, Empa.

STM Images before and after static SIMS

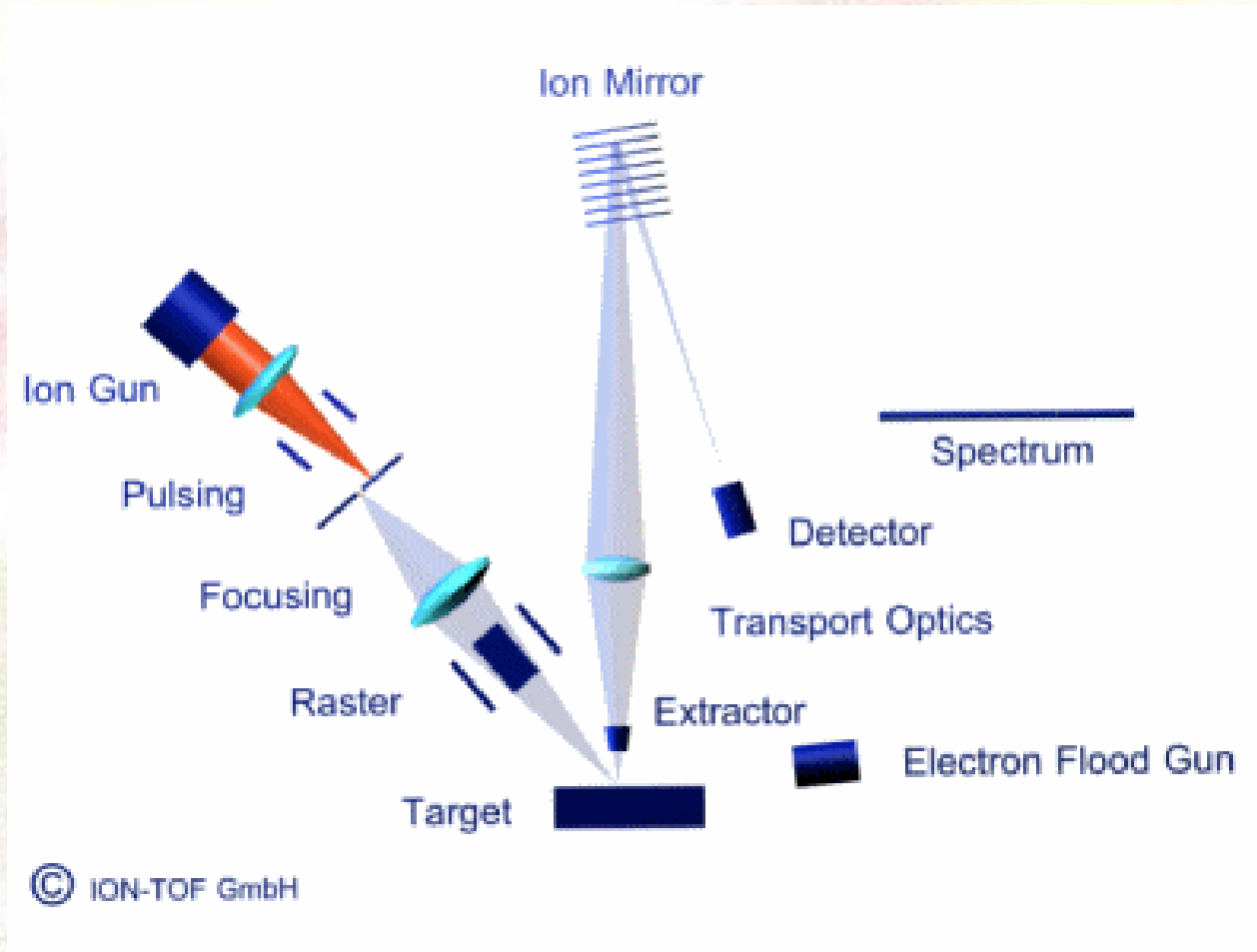


Si surface



Si surface exposed
to 3×10^{12} ions/ cm^2

Static SIMS: Time of flight



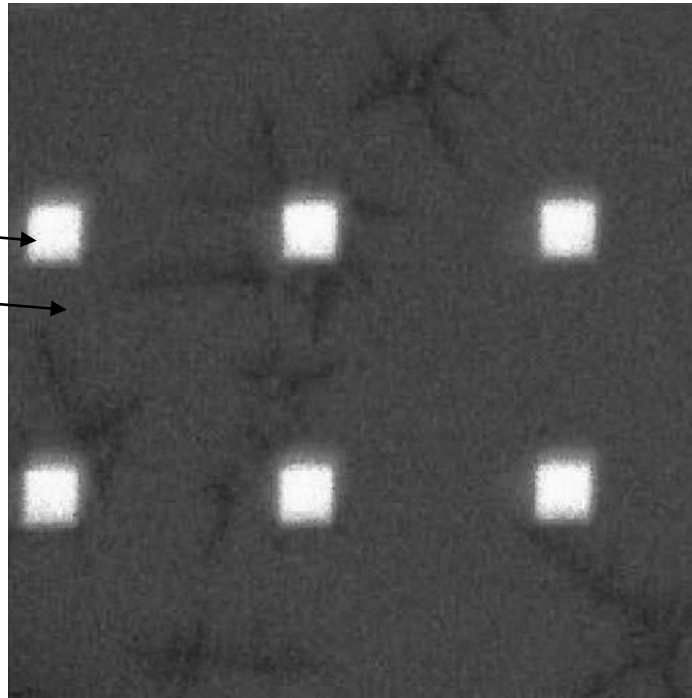
SIMS. Modalità operative

IMAGING SIMS (risoluzione spaziale)

- ❑ Usando fasci ionici estremamente focalizzati è possibile ottenere immagini con alta risoluzione laterale (~ 50 nm)
- ❑ Il fascio di ioni viene passato sulla la superficie che si vuole analizzare e la posizione x, y viene associata al segnale emesso (spettro SIMS). Alla fine i dati vengono convertiti in immagini di elementi

Isole di
proteine

PEO



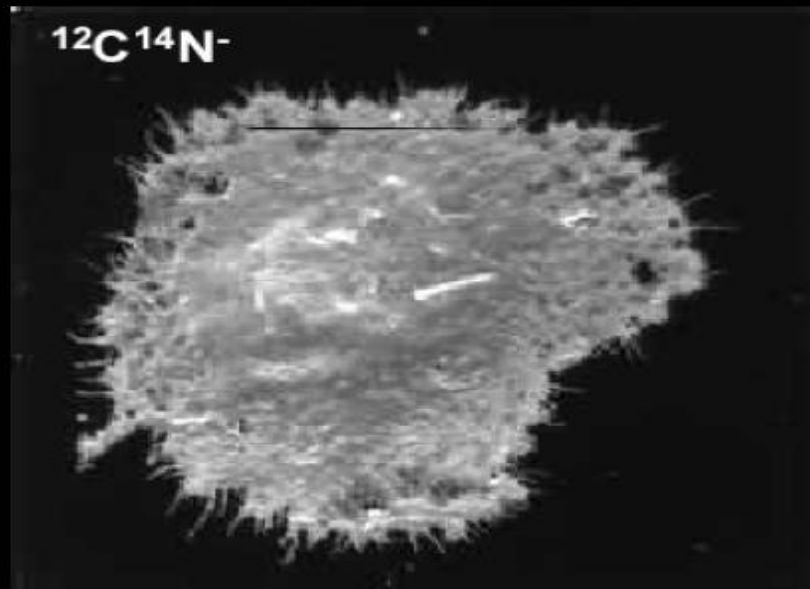
Images

magini

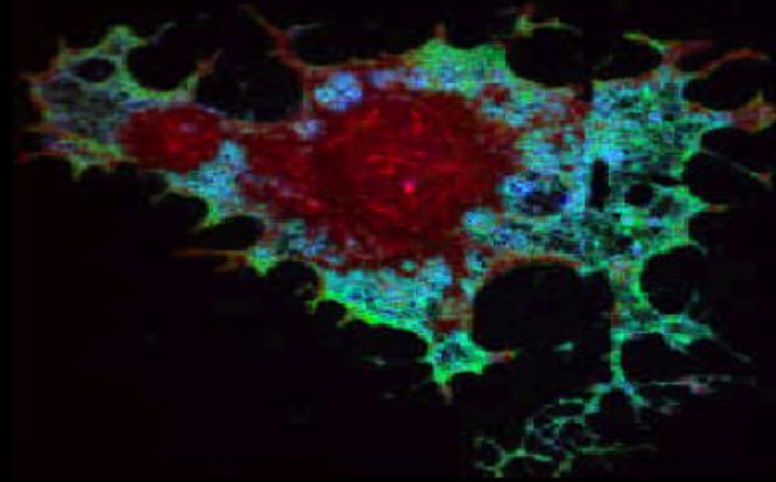
NanoSIMS

SIMS

Courtesy: C. Lechene, M.A. Schwartz, Harvard Medical School, Brigham & Women's Hospital (NRIMS, NCRR, NIH), Boston, MA.
Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA.



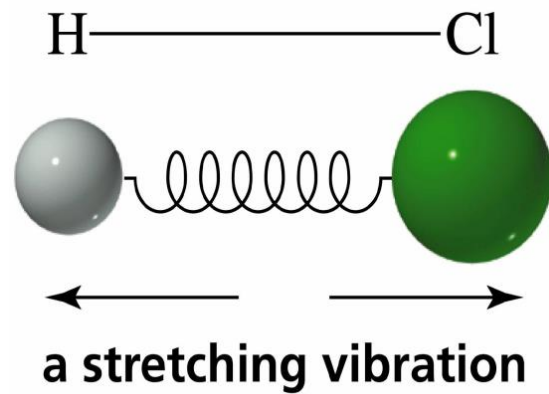
31-P 12-C 14-N



Field of view 50 x 50 μm

Multiple isotope imaging
on cultured endothelial cells

Spettroscopia Infrarossa (IR)



La spettroscopia IR utilizza la regione dello spettro elettromagnetico compresa tra 10000 e 100 cm^{-1} (numero d'onda: $1/\lambda$)

L'interazione con la radiazione elettromagnetica provoca transizioni vibrazionali: cambia l'energia della vibrazione di due o più atomi legati

La frequenza di *stretching* di un particolare gruppo funzionale può essere calcolata in modo approssimato usando la **legge di Hooke dell'oscillatore armonico** semplice:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{m^*}}$$

$\bar{\nu}$ = lunghezza d'onda espressa in numeri d'onda (cm^{-1})

c = velocità della luce

k = costante di forza del legame

m^* = massa ridotta degli atomi coinvolti

$(m_A m_B / (m_A + m_B))$

Spettroscopia Infrarossa (IR)

Solo le vibrazioni che provocano una variazione di momento di dipolo del legame provocano assorbimento della radiazione infrarossa (IR attive). L'intensità dei segnali dipende dalla variazione del momento di dipolo

H—H IR inattivo

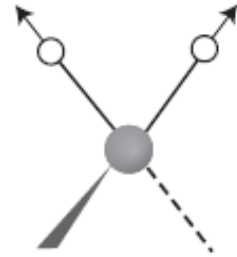
H—Cl IR attivo

O=C=O IR inattivo
↔

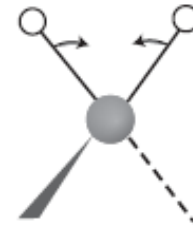
O=C=O IR attivo
← ←



asymmetrical stretching
2925 cm⁻¹

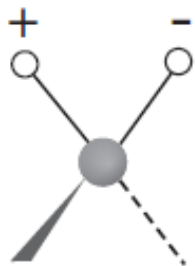


symmetrical stretching
2850 cm⁻¹

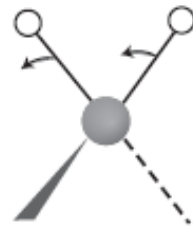


scissoring, or bending in-plane
1465 cm⁻¹

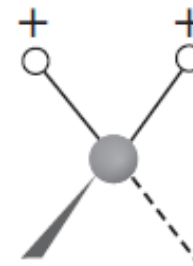
STRETCHING:
variazione della distanza di legame
BENDING:
variazione dell'angolo di legame



twisting, or bending out-of-plane



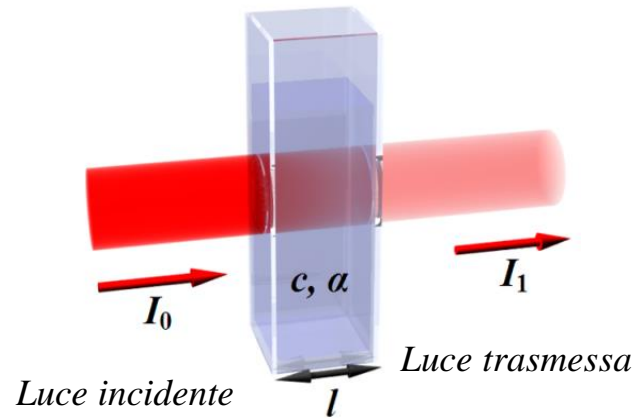
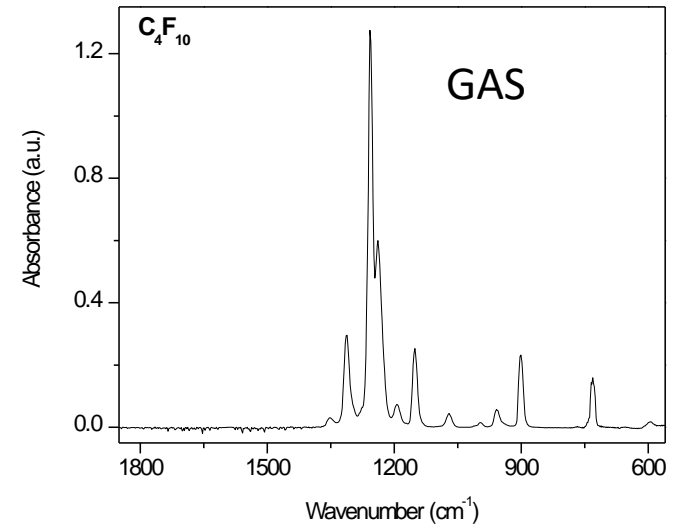
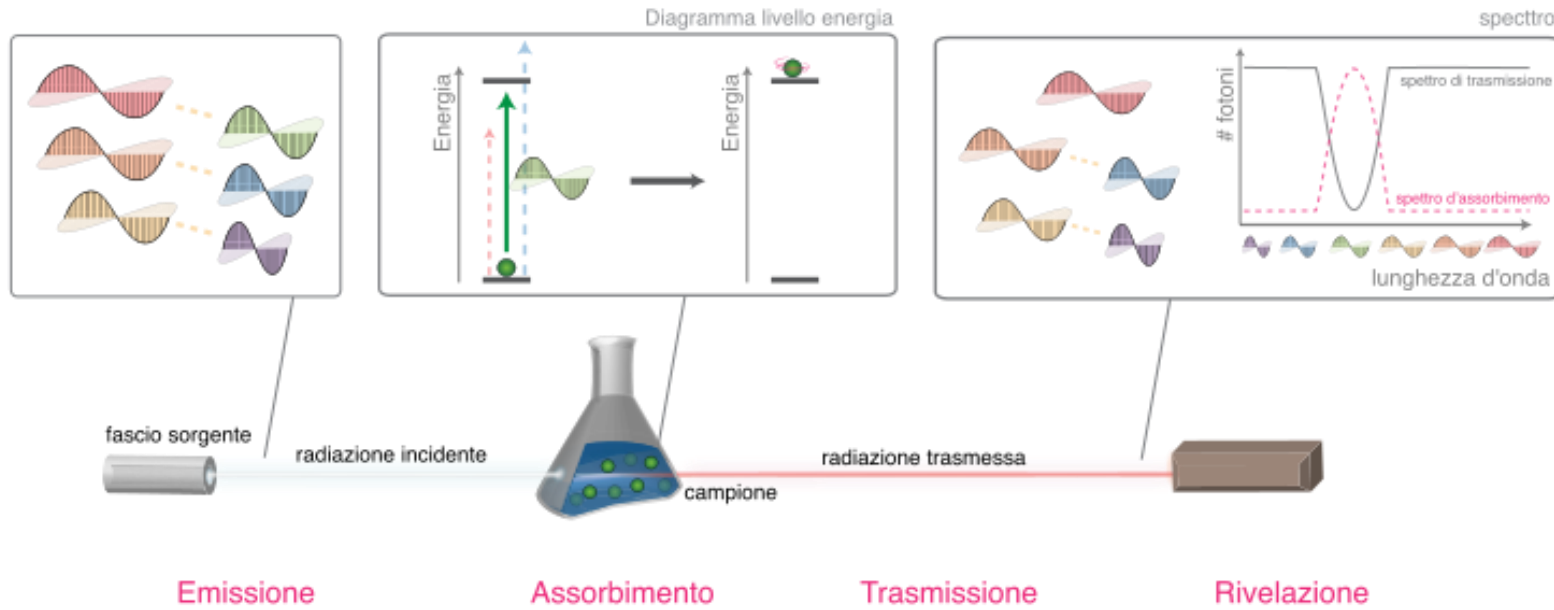
rocking, or bending in-plane



wagging, or bending out-of-plane

Spettroscopia Infrarossa (IR)

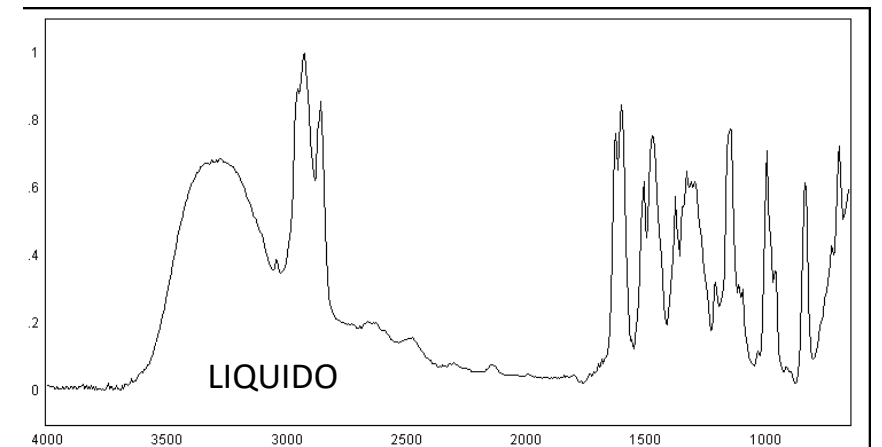
analisi di bulk



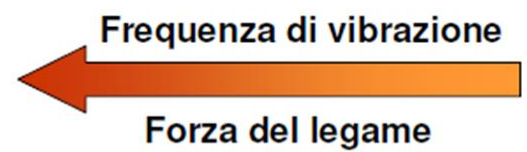
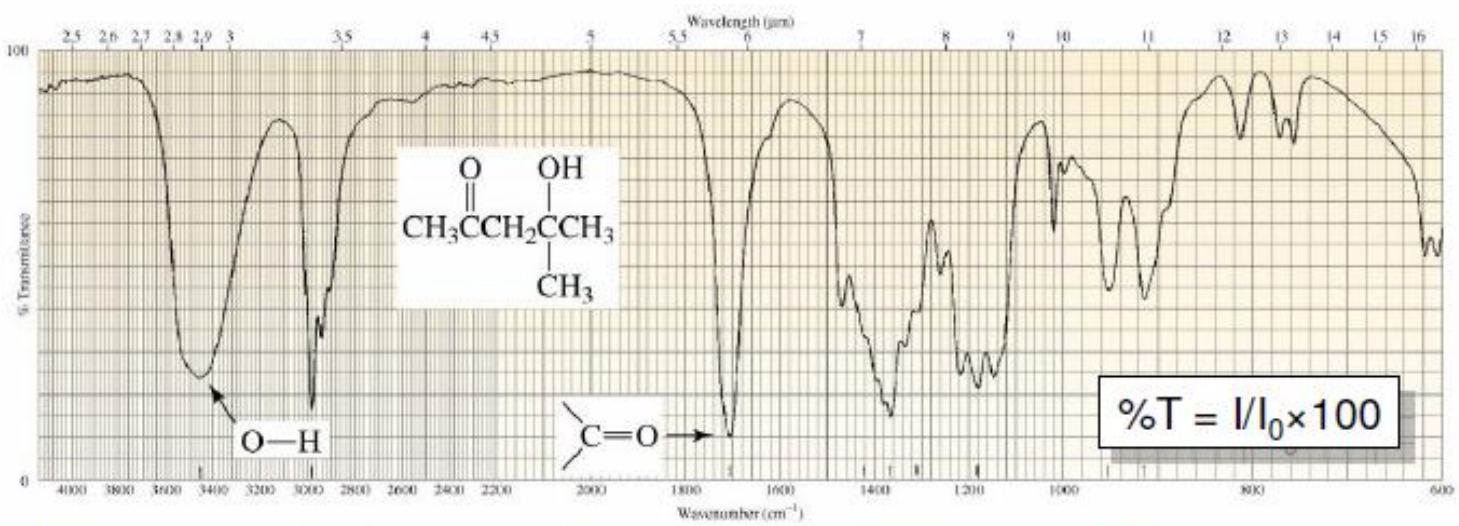
solido, liquido, gassoso

$$T\% = \frac{I_1}{I_0} * 100$$

$$A = \log_{10} 1/T$$



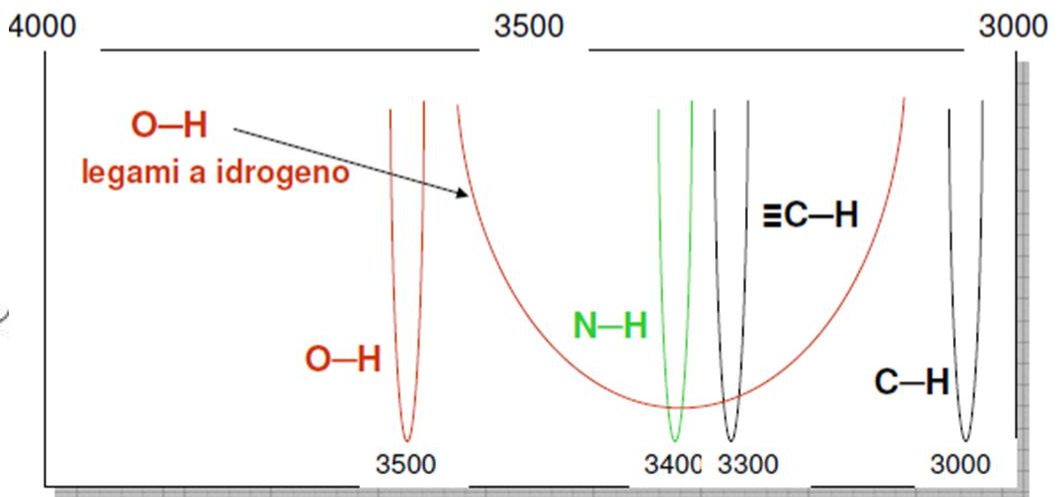
Spettroscopia Infrarossa (IR)



$$O-H > N-H > C-H$$

4000	3000	2000	1500	1000
Legami con l'idrogeno	Legami tripli	Legami doppi	Legami singoli	
O—H	C≡C	C=C	C—Cl	
N—H	C≡N	C=O	C—O	
C—H				

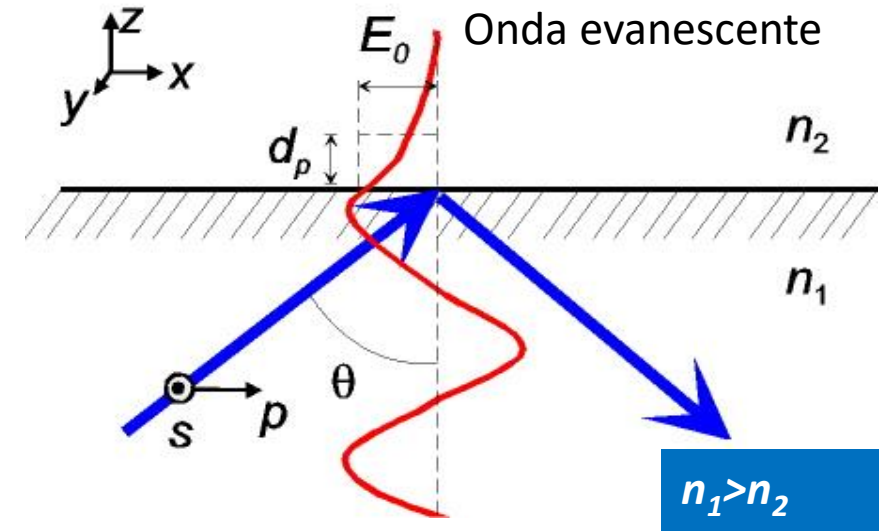
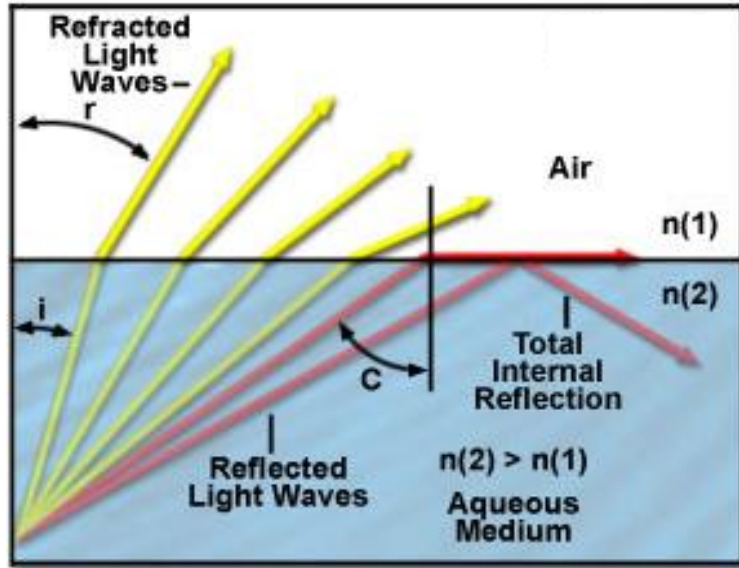
Impronta digitale



La frequenza di vibrazione aumenta all'aumentare della forza del legame
 La presenza di legami intermolecolari produce allargamento del segnale

Spettroscopia IR in riflettanza totale attenuata (ATR)

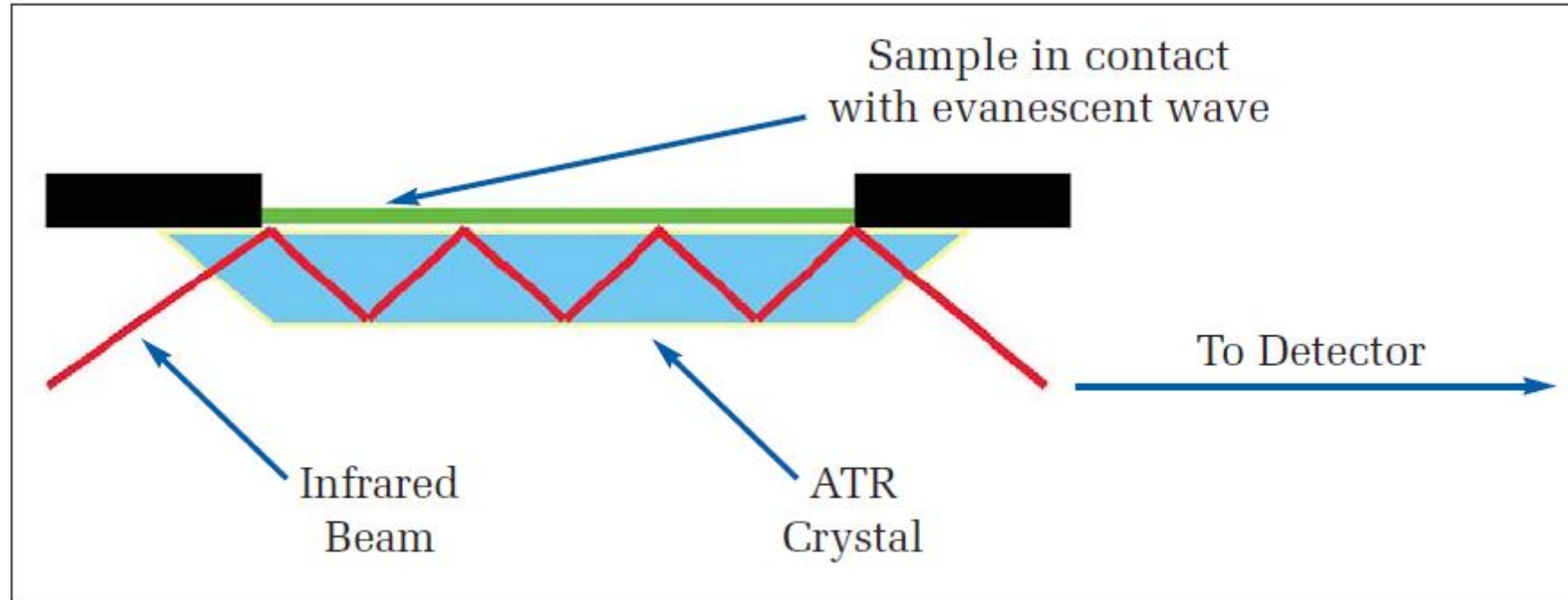
Usata per film sottili e sostanze opache, rispetto all' IR classico ha sensibilità superficiale (1-5 μm)



Quando un fascio di radiazioni passa da un mezzo più denso a uno di densità inferiore si ha RIFLESSIONE. La frazione di raggio incidente riflessa dipende dall'angolo di incidenza, e oltre un certo angolo è totale

E' dimostrato che il raggio riflesso penetra (ONDA EVANESCENTE) comunque nel mezzo meno denso, per una profondità che dipende dalla lunghezza d'onda della radiazione incidente, dagli indici di rifrazione dei due materiali, e dall'angolo di incidenza del fascio. Se il mezzo meno denso assorbe la radiazione evanescente, si ha attenuazione del fascio in corrispondenza delle lunghezze d'onda di assorbimento (RIFLETTANZA TOTALE ATTENUATA, ATR).

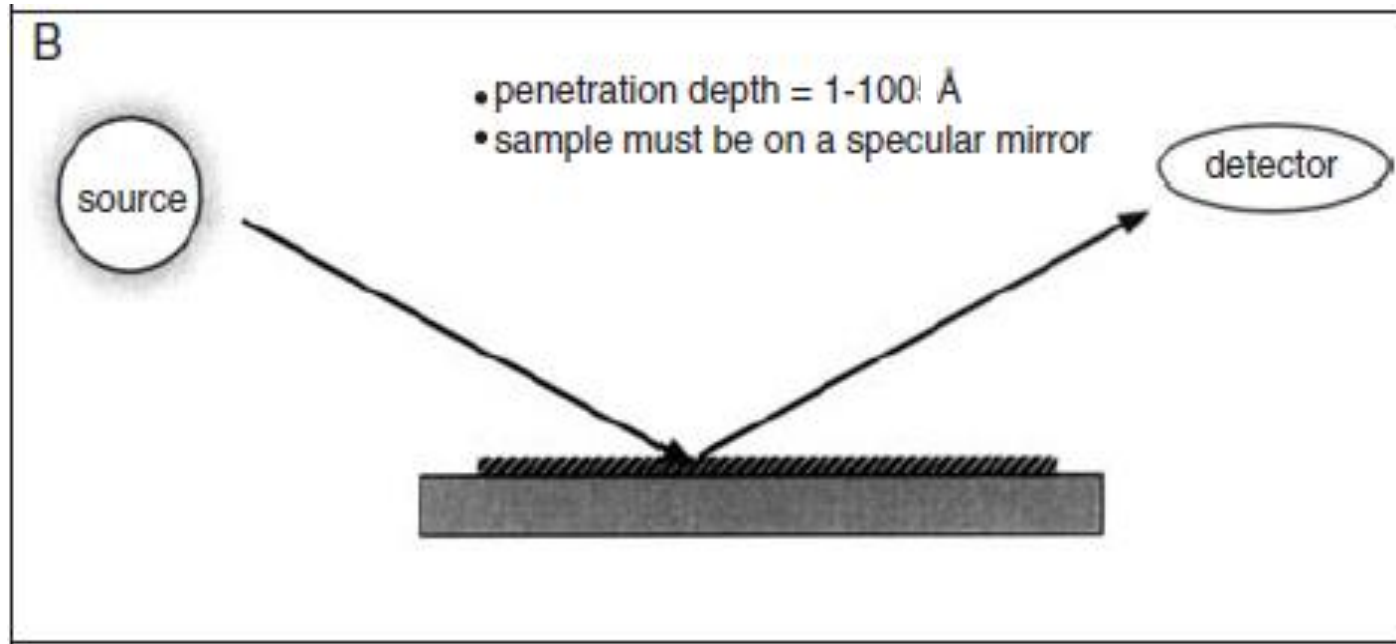
Spettroscopia IR in riflettanza totale attenuata (ATR)



Il campione è in intimo contatto con un cristallo ad alto indice di rifrazione (es. Si, Ge, diamante, ZnSe ... KRS-5).

Variando opportunamente l'angolo di incidenza, la radiazione subisce molte riflessioni interne prima di arrivare al rivelatore. Ad ogni riflessione si verifica un assorbimento e una attenuazione del fascio, che amplificano segnale IR.

Spettroscopia IR in riflessione esterna (IRRAS)



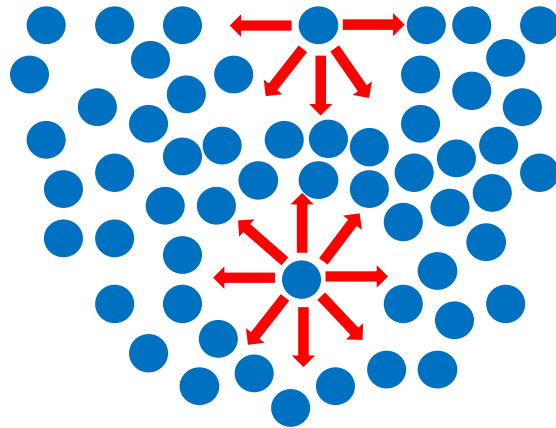
Estremamente sensibile ai film sottili (< 10 nm).

Il film viene depositato su una superficie metallica molto liscia.

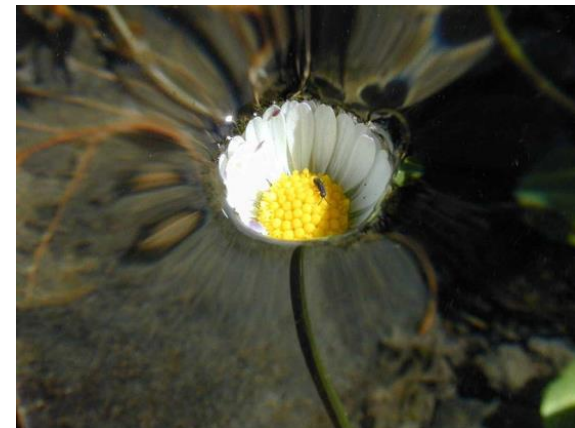
Angoli di contatto. Premessa

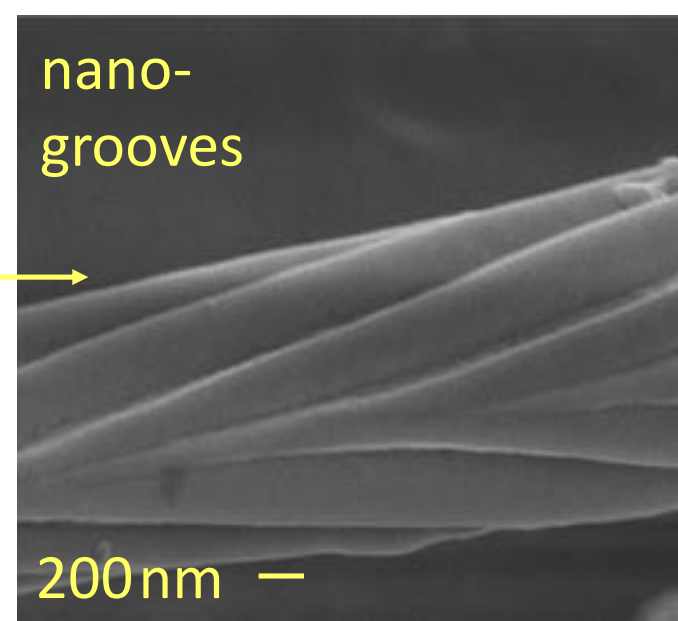
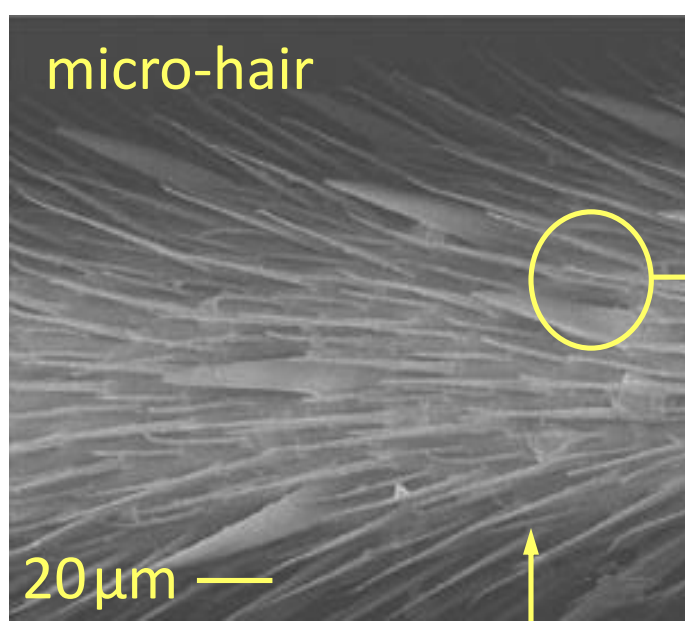
Per le **molecole all'interno di un liquido** la risultante delle forze intermolecolari (legami idrogeno e forze di Van der Waals) è nulla.

Per le **molecole in superficie** la risultante delle forze non è nulla, e le molecole sono attratte verso l'interno del liquido. Il fenomeno è noto come **TENSIONE SUPERFICIALE**, che porta tutti i liquidi a contrarre la propria superficie.

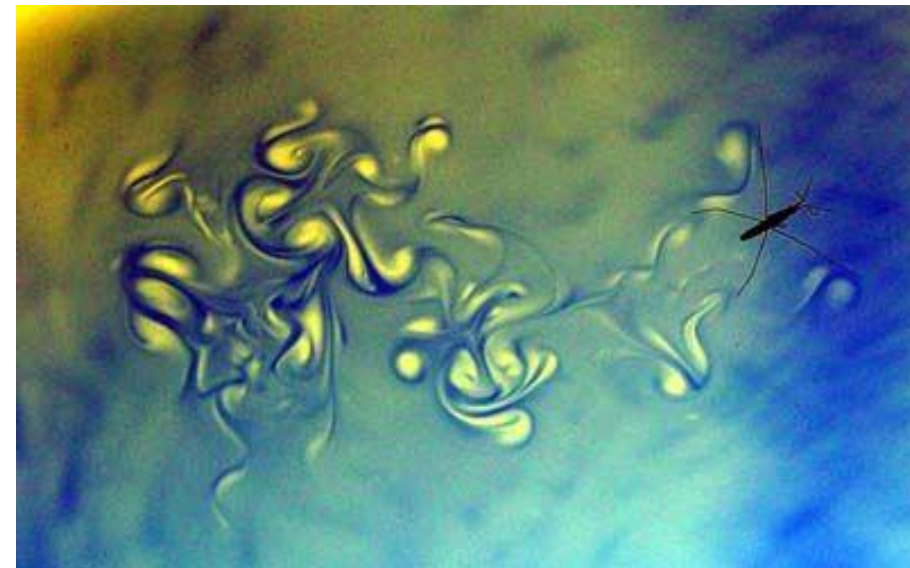
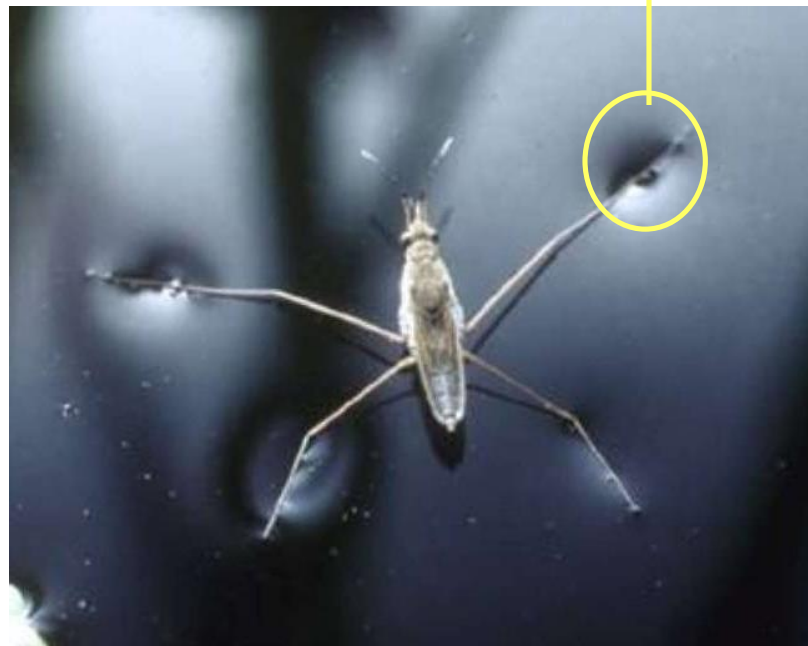


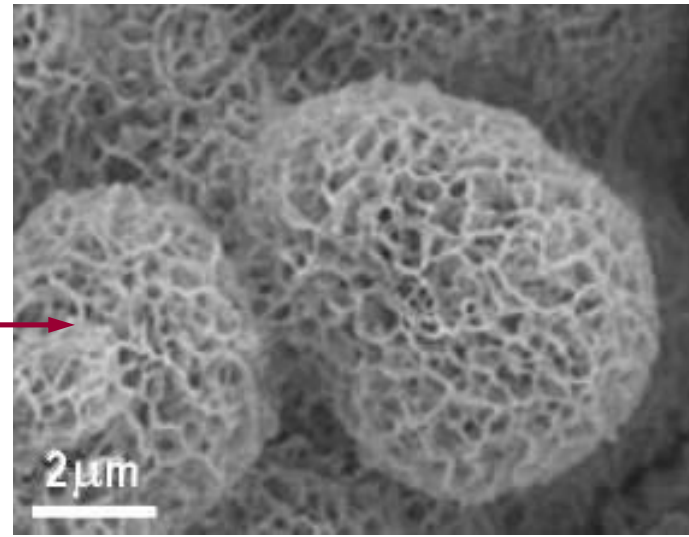
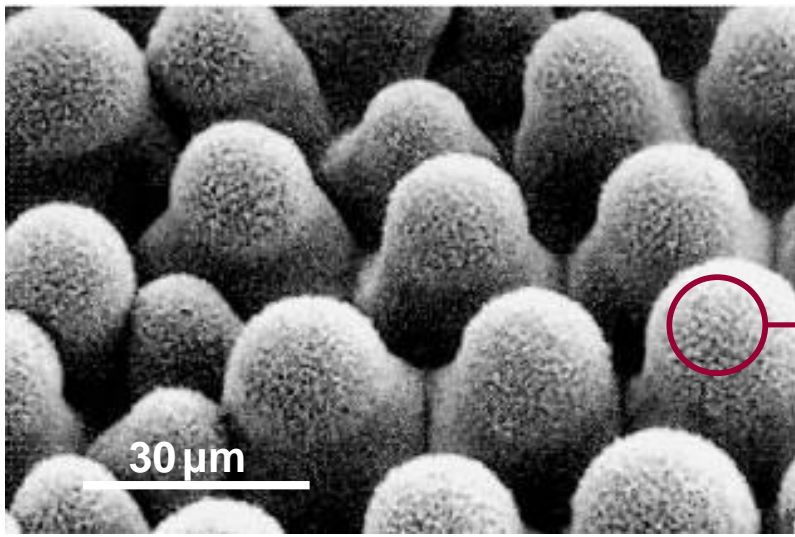
La **tensione superficiale (γ)** è il lavoro necessario per aumentare di una unità la superficie di un liquido (J/m^2).



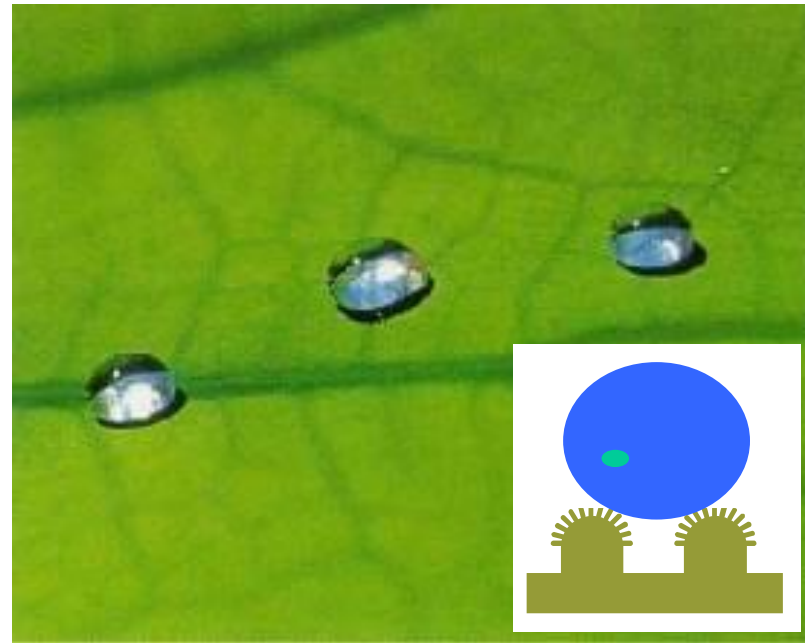


NANOSTRUCTURES IN NATURE
water strider





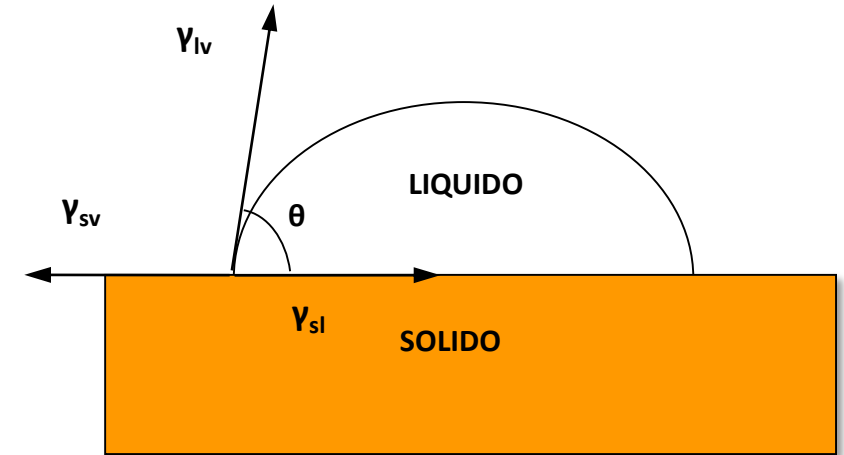
NANOSTRUCTURES IN NATURE
lotus leaves



Angoli di contatto

L'angolo di contatto si forma per il bilanciamento tra le forze di coesione tra le molecole di liquido e le forze di adesione tra le molecole del liquido e quelle della superficie solido

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta_Y \quad \text{Equazione di Young}$$



γ_{SV} : tensione superficiale solido-vapore

γ_{SL} : tensione superficiale solido-liquido

γ_{LV} : tensione superficiale liquido-vapore

Acqua

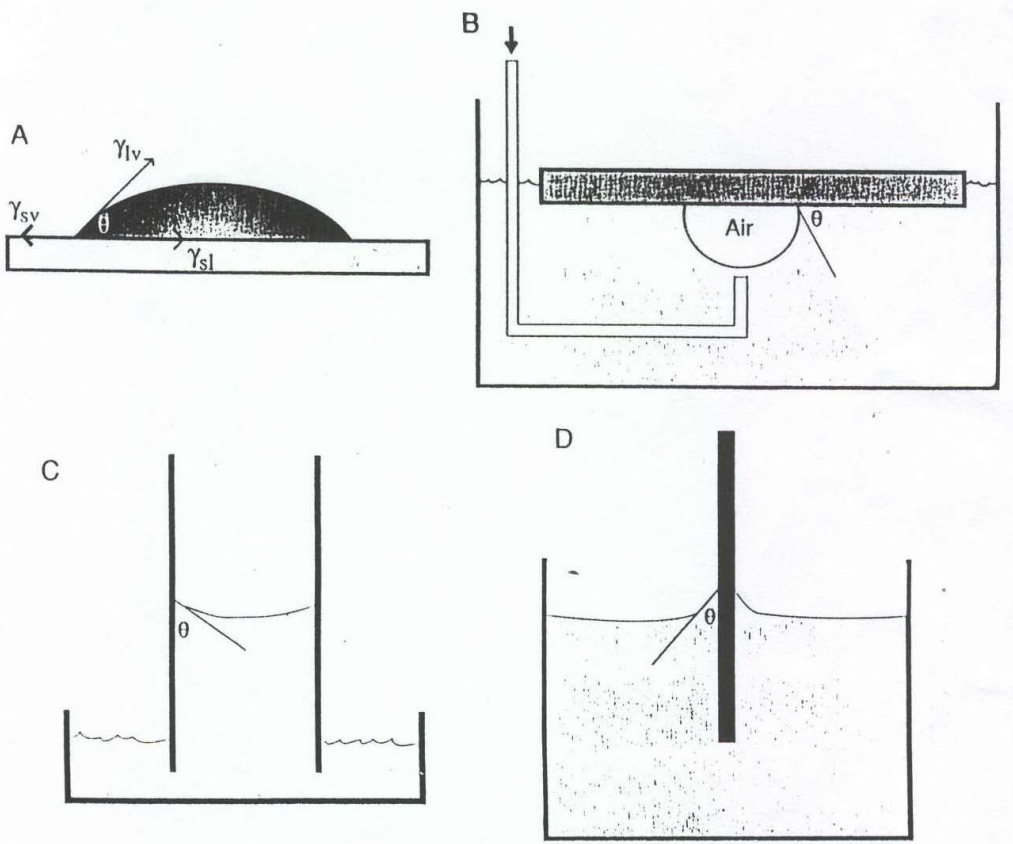
$\theta < 90^\circ \rightarrow$ Superficie idrofila (!!?!?)

$\theta > 90^\circ \rightarrow$ Superficie idrofoba

$\theta > 160^\circ \rightarrow$ Superficie superidrofoba

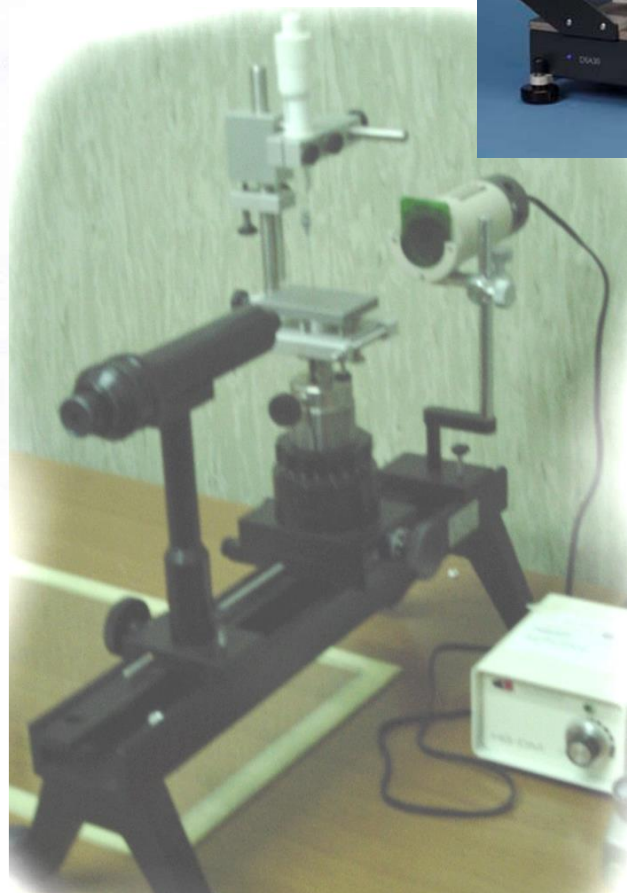
L'equazione di Young è valida per **superfici ideali**, ovvero chimicamente omogenee, morfologicamente lisce e rigide. La superficie del solido non deve interagire in nessun altro modo con il liquido, se non per l'instaurarsi dell'equilibrio fra le tre fasi.

Contact Angle Methods

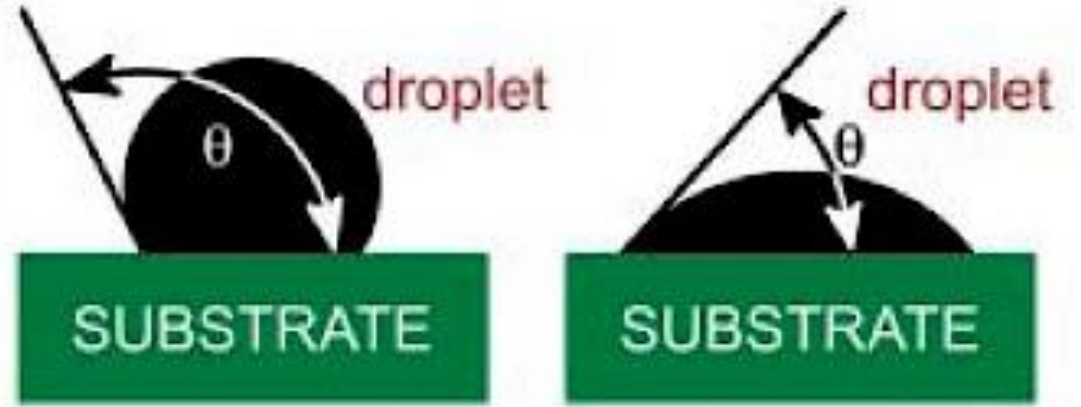
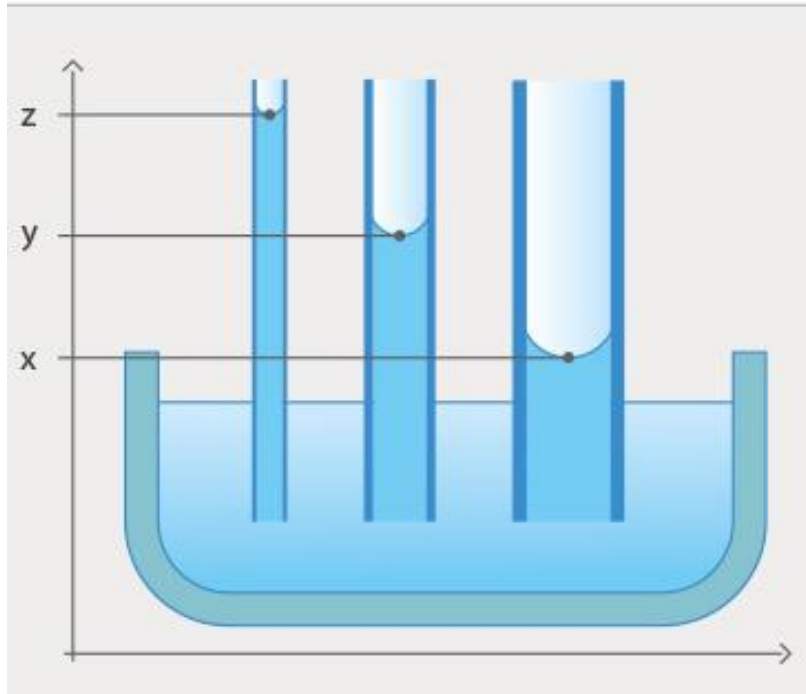


A- Sessile drop
B- Under water

C- Capillary rise
D- Wilhelmy plate

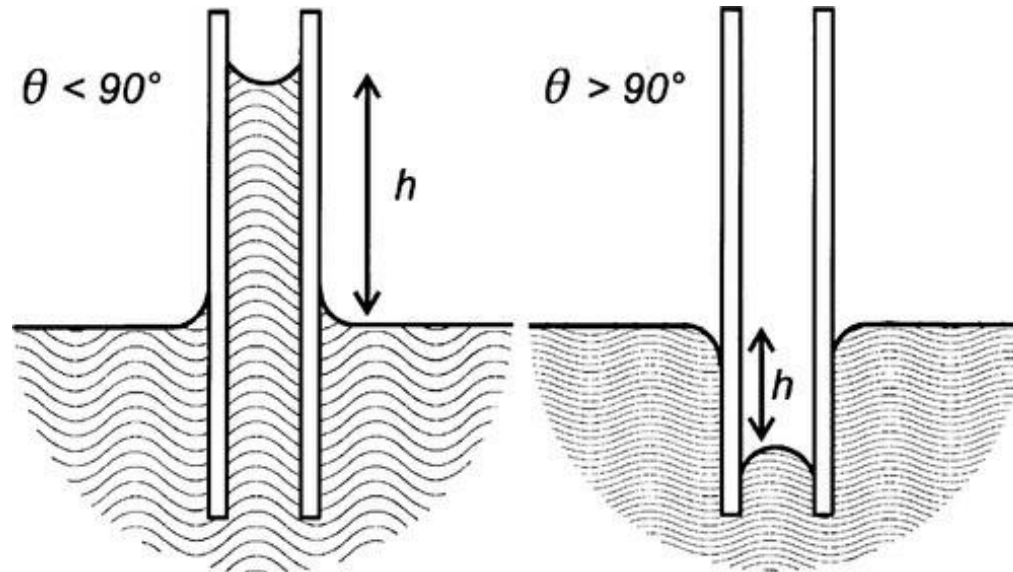


CA goniometers



Poor surface wettability
 Low surface energy
 Contact angle $>90^\circ$

Good surface wettability
 High surface energy
 Contact angle $<60^\circ$



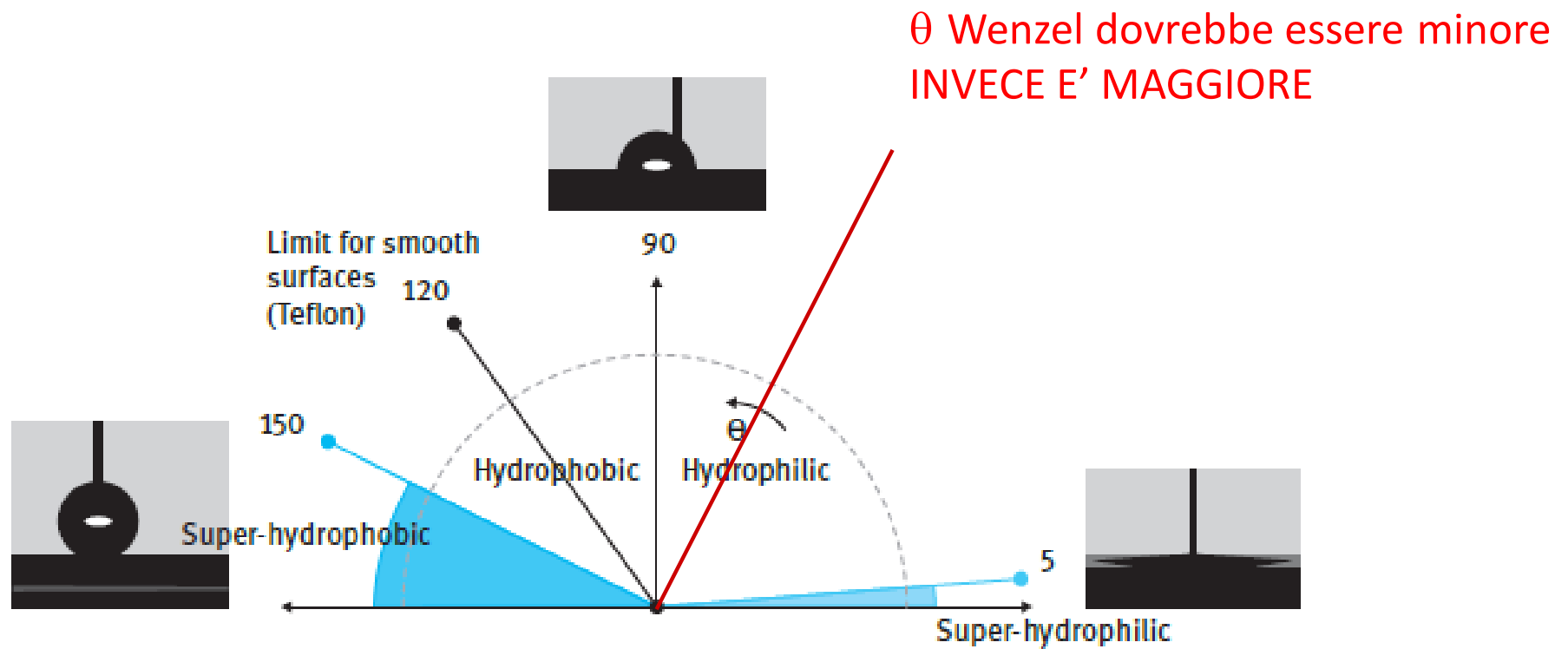
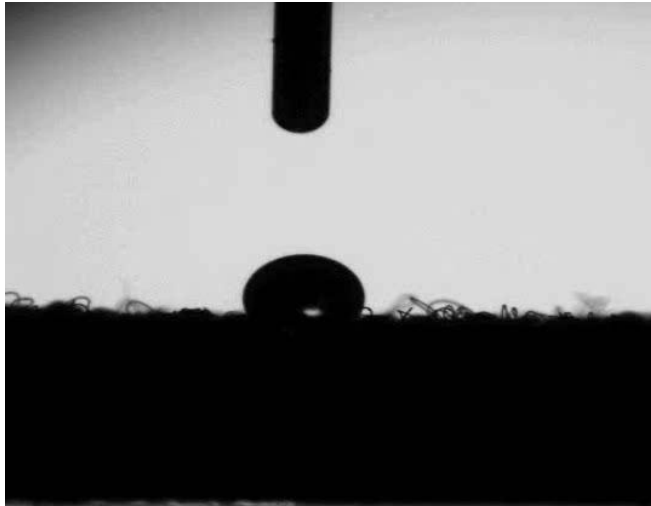


Fig. 7.9: Representation of the CA (θ) scale in the full range 0° – 180° . The hydrophilic (0° – $70^\circ/90^\circ$), hydrophobic ($70^\circ/90^\circ$ – 180°), super-hydrophilic (0° – 5°), and super-hydrophobic (150° – 180°) ranges are indicated with images of drops with $\theta = 2^\circ, 90^\circ, 170^\circ$.

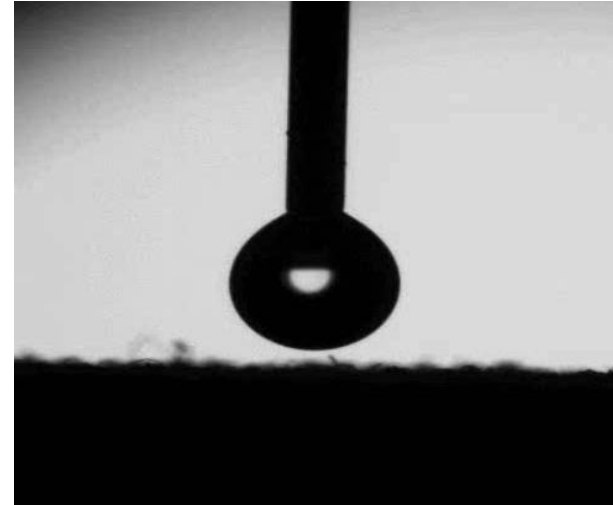
HYDROPHILIC TEXTILE

untreated

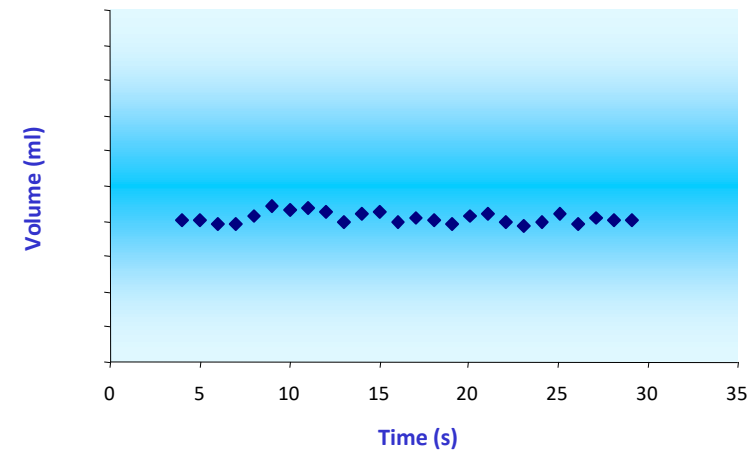
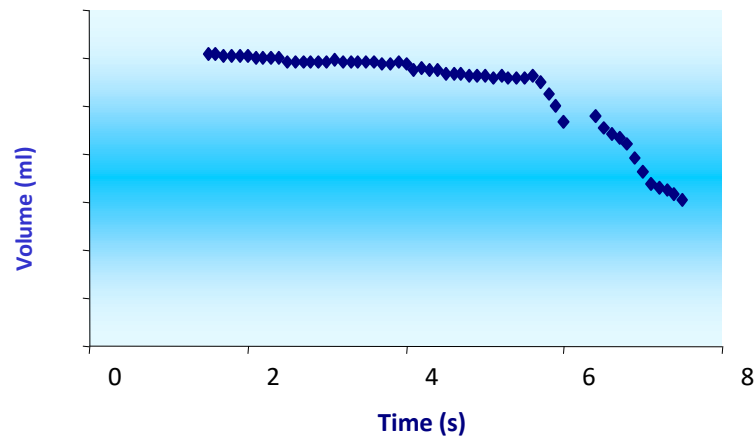


CF₄ plasma treated

WCA
122±3°



water adsorption kinetics



Energia superficiale dei solidi Metodo di Zisman

$$\gamma_{LV} \cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} = \gamma_C$$

$$\gamma_{LV} \cos \theta \xrightarrow{\theta \rightarrow 0^\circ} \gamma_C$$

La tensione superficiale di un liquido γ_{LV} si può misurare facilmente

γ_{SV} non può essere determinata direttamente perché anche γ_{SL} nell'equazione di Young non è nota. La tensione critica superficiale $\gamma_C = (\gamma_{SV} - \gamma_{SL})$ si misura col metodo di Zisman misurando gli angoli di contatto con liquidi di cui è nota la tensione superficiale.

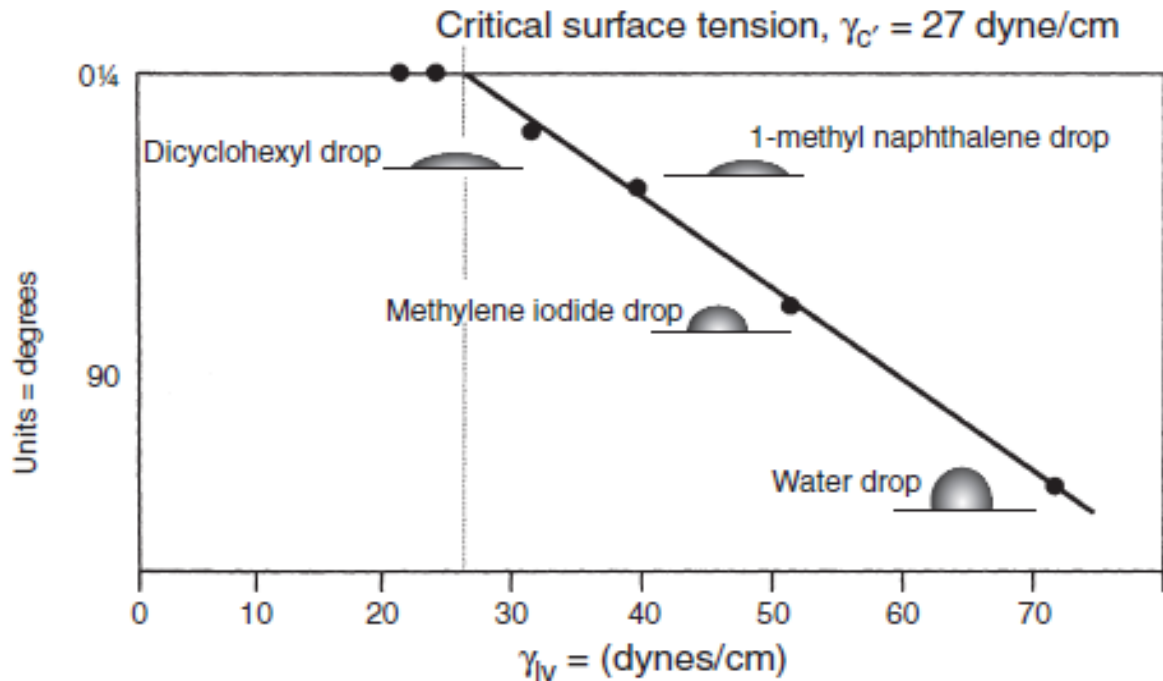


TABLE 2 Critical Surface Tension Values for Common Polymers^a

Material	Critical surface tension (dynes/cm)
Polytetrafluoroethylene	19
Poly(dimethyl siloxane)	24
Poly(vinylidene fluoride)	25
Poly(vinyl fluoride)	28
Polyethylene	31
Polystyrene	33
Poly(hydroxyethyl methacrylate)	37
Poly(vinyl alcohol)	37
Poly(methyl methacrylate)	39
Poly(vinyl chloride)	39
Polycaproamide (nylon 6)	42
Poly(ethylene oxide)-diol	43
Poly(ethylene terephthalate)	43
Polyacrylonitrile	50

^aValues from Table 5.5 in *Polymer Interface and Adhesion*, S. Wu, ed. Marcel Dekker, New York, Table 5.5, 1982.

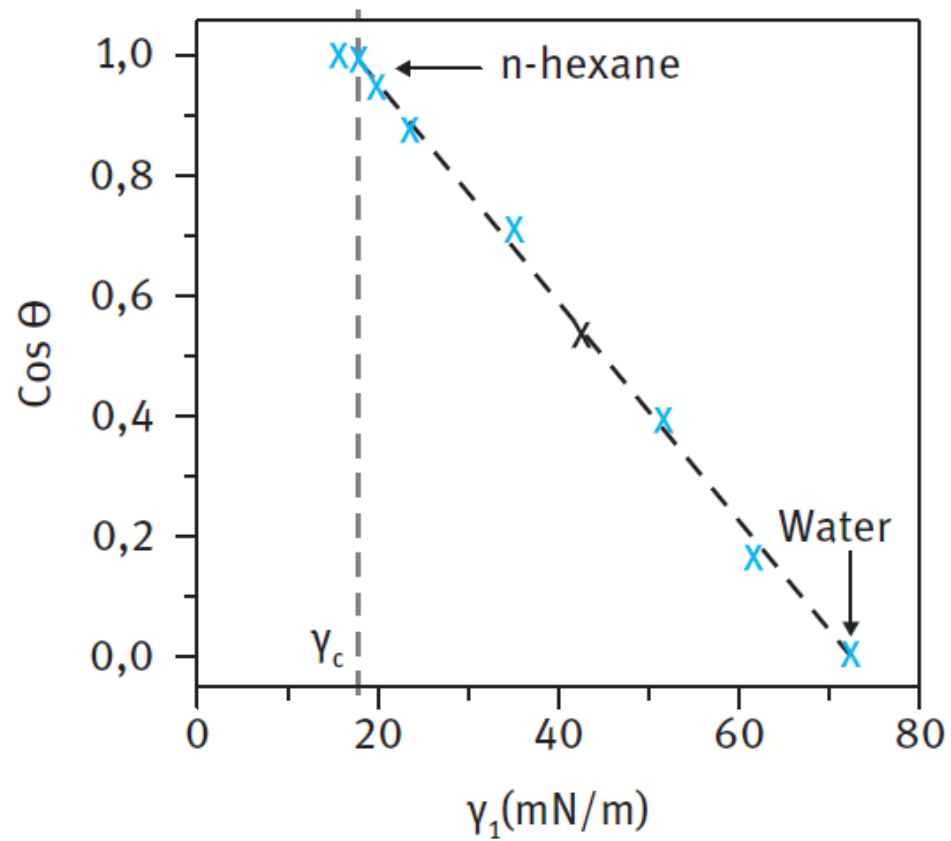


Fig. 7.3: Cosine of WCA vs surface tension of different liquids for a generic PE-like polymer. γ_c is the critical surface tension of the polymer.

advancing and receding contact angles

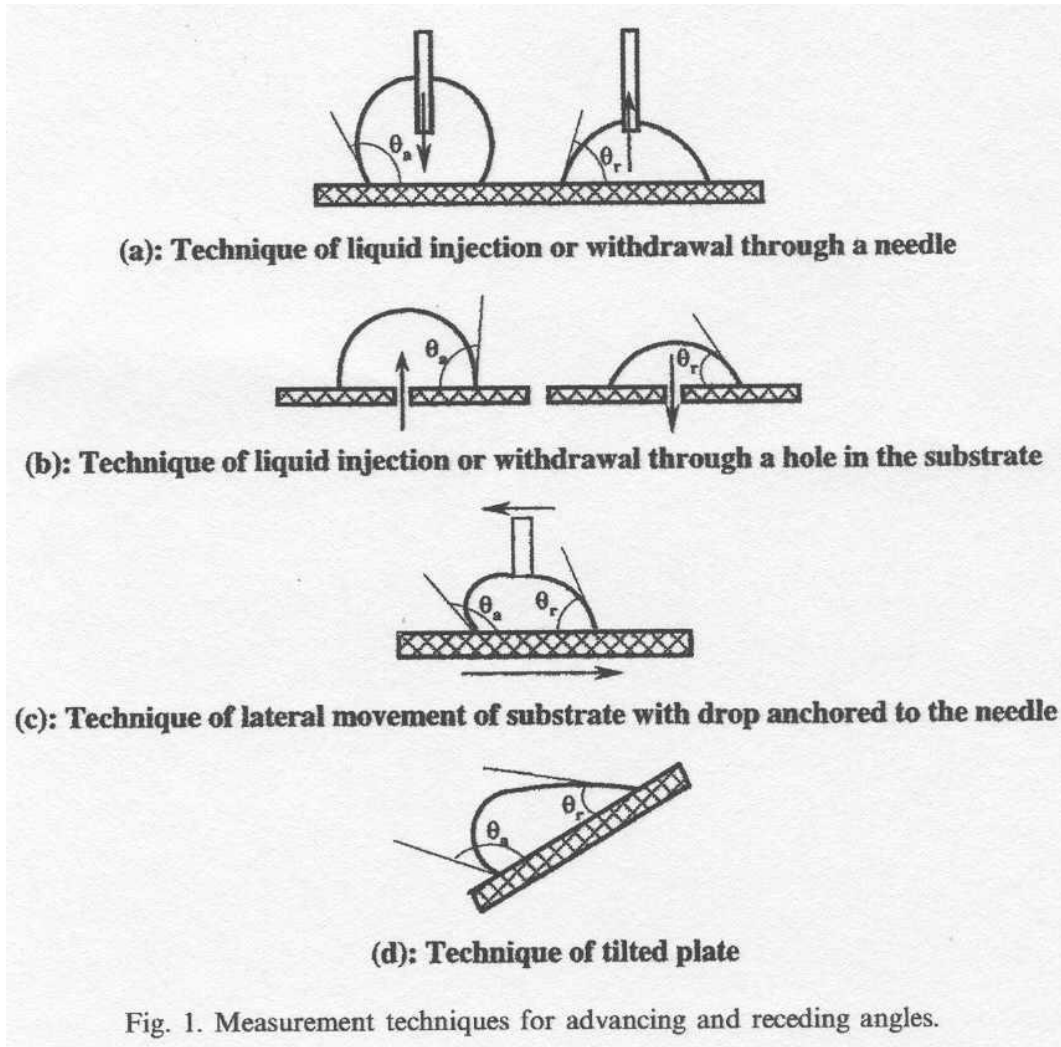
CA

HYSTERESIS

$$H = \theta_{adv} - \theta_{rec}$$

CA hysteresis is due to roughness and heterogeneity of a solid surface

Measures how interface interactions are far from ideality (many reasons)



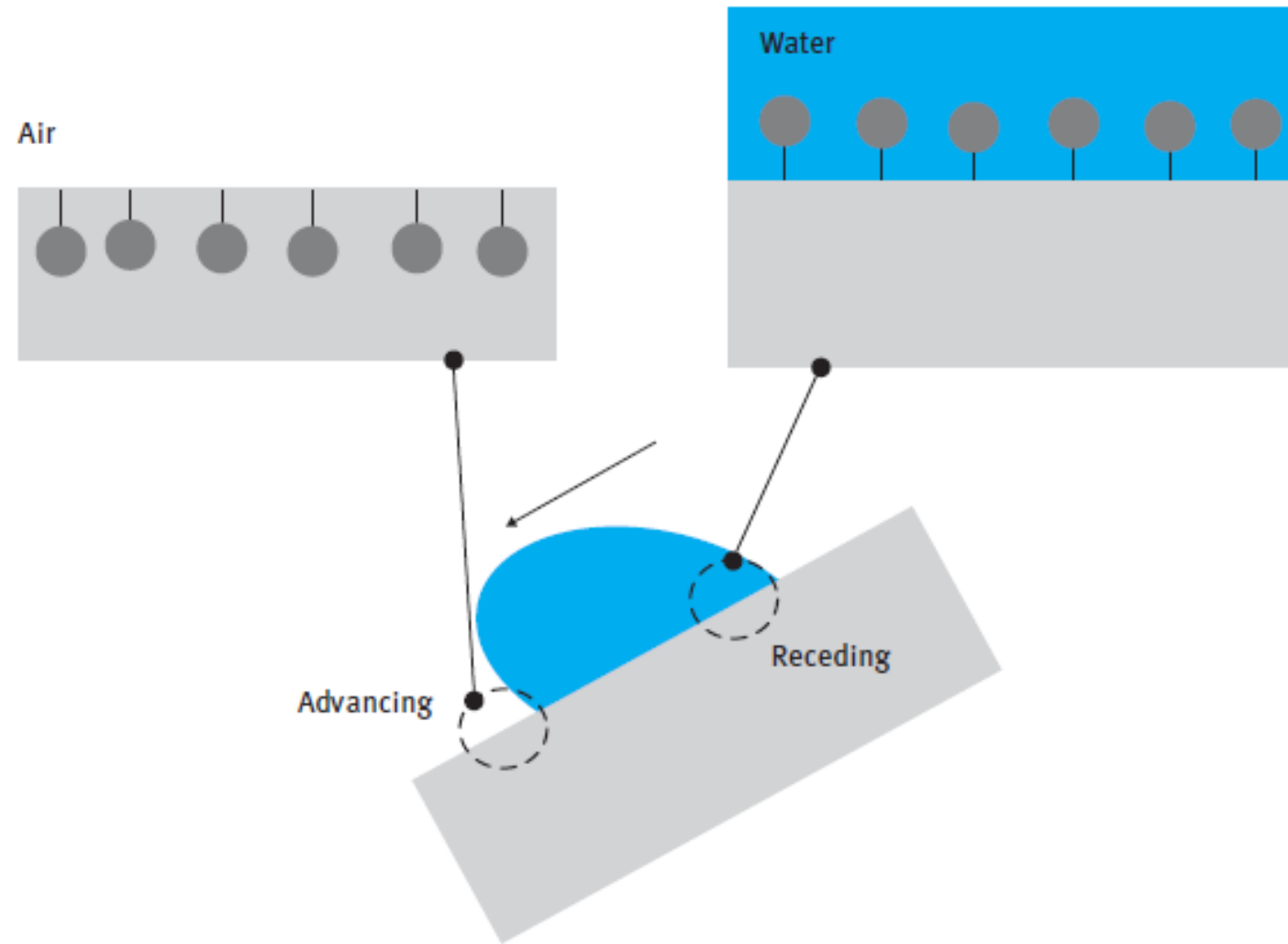
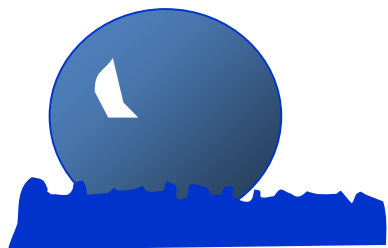


Fig. 7.4: Sketch of the different orientations of polar surface groups (grey circles) grafted on the surface of an unpolar polymer (e.g. by plasma treatment) in air, after a certain time from the treatment: advancing and receding angles are affected by the different configurations that can be achieved by the surface.

Superfici reali. Isteresi termodinamica

effetto della rugosità



contatto bagnato

$$\cos \theta_W = r \cdot \cos \theta_Y$$

equazione di Wenzel

r , fattore di rugosità

$r = \text{area superficiale} / \text{area geometrica}$

$r \geq 1$

$$\theta_Y < 90^\circ (?) \rightarrow$$

$$\theta_W < \theta_Y$$

La superficie rugosa è più idrofila di quella liscia

$$\theta_Y > 90^\circ \rightarrow$$

$$\theta_W > \theta_Y$$

La superficie rugosa è più idrofoba di quella liscia

La rugosità esalta sia il carattere idrofilo che quello idrofobo di una superficie

Superfici reali. Isteresi termodinamica

Le **superfici reali** non verificano una o più delle condizioni di validità dell'equazione di Young.

Quando una goccia di liquido è posta su una superficie reale, essa assume diversi valori di angoli di contatto e non uno solo (θ_Y)

La differenza tra l'angolo di contatto massimo (**di advancing, θ_A**) e quello minimo (**di receding, θ_R**) prende il nome di *isteresi dell'angolo di contatto*.

Effetto della disomogeneità chimica (Equazione di Cassie)

L'effetto dovuto alla presenza di domini chimicamente differenti sulle superfici reali fu studiato da Cassie, il quale propose di modificare l'equazione di Young per una superficie eterogenea, con due componenti:

$$\cos \theta_C = Q_1 \cos \theta_1 + Q_2 \cos \theta_2$$

dove i pedici 1 e 2 si riferiscono alle due diversi componenti della superficie, Q_1 è la frazione di superficie occupata dal componente 1 e Q_2 quella occupata dal componente

Superfici reali. Isteresi termodinamica

Wenzel

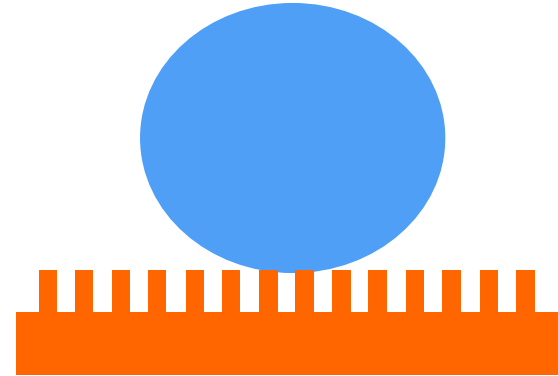


$$\cos \theta_W = r \cdot \cos \theta_Y$$

r = area superficiale / area geometrica

Il liquido è in contatto con tutta la superficie
(CONTATTO BAGNATO)

Cassie-Baxter



$$\cos \theta_{CB} = -1 + Q_s \cdot (1 + \cos \theta_Y)$$

Q_s frazione superficiale del solido

Aria intrappolata nei pori
(CONTATTO ASCIUTTO)

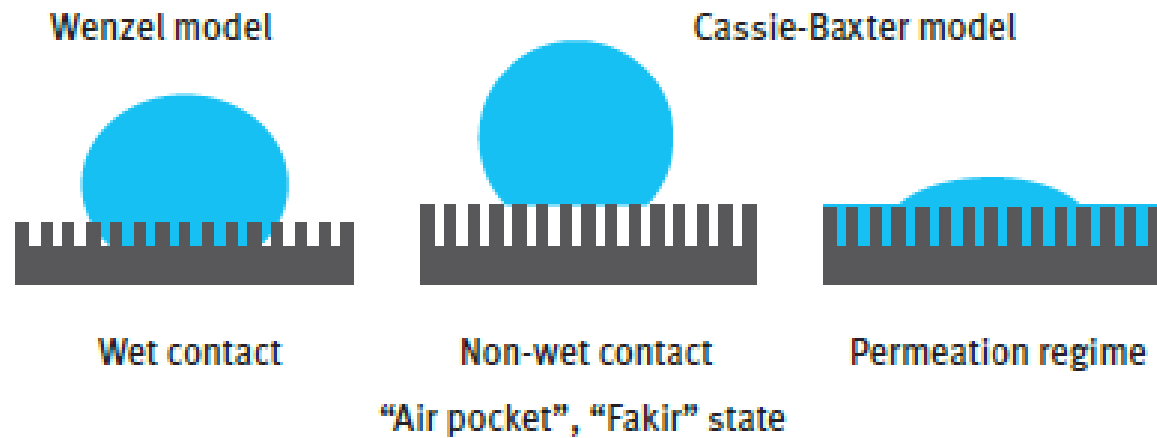


Fig. 7.12: Liquid drop on a rough hydrophobic surface according to the Wenzel model (left) and CB (center). Imbibition/permeation CB state on rough hydrophilic surface (right).

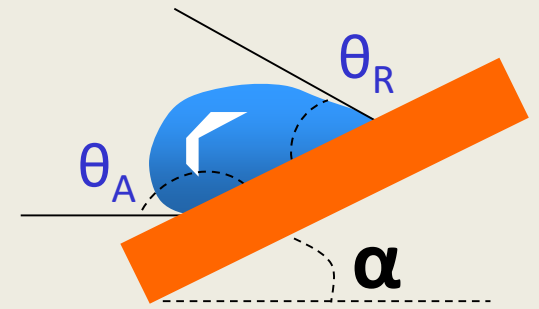
Superfici reali
Isteresi termodinamica

forza di adesione

$$F_a = \gamma_{lv}(\cos \theta_{\text{rec}} - \cos \theta_{\text{adv}})$$

forza gravitazionale

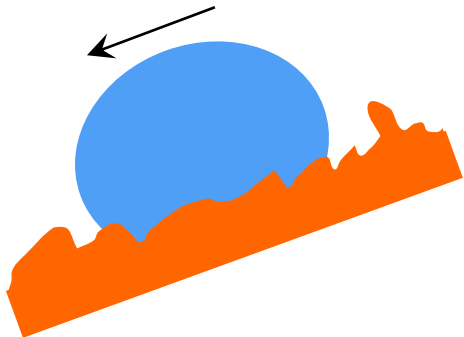
$$F_g = \rho V g \sin \alpha$$



la goccia si muoverà
se $F_g \geq F_a$

Wenzel

alta isteresi \rightarrow Alta F_a

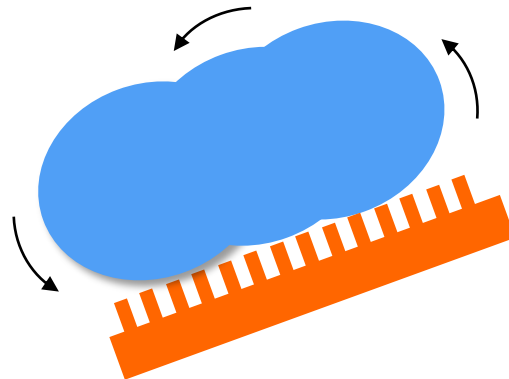


La goccia resta ancorata (o scivola)

superfici superidrofobe
ma non self-cleaning

Cassie-Baxter

bassa isteresi \rightarrow Bassa F_a



La goccia rotola

superficie superidrofobe
e self-cleaning

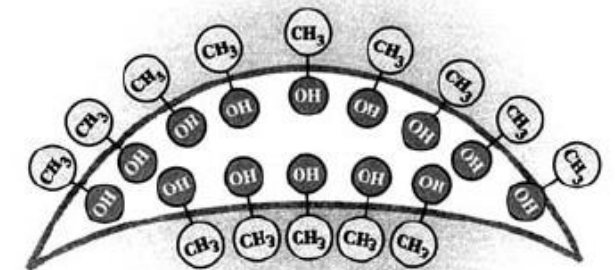
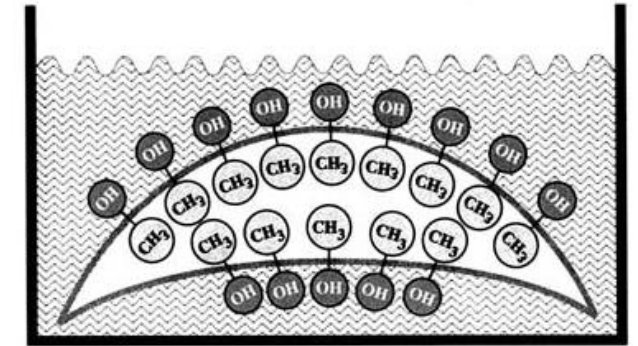
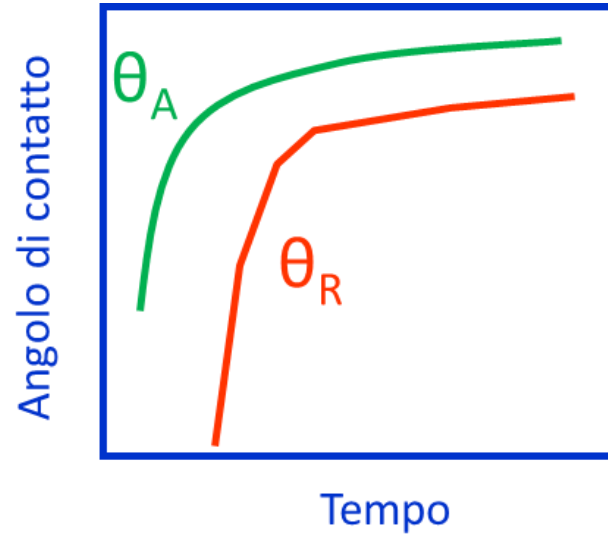
Superfici reali. Isteresi cinetica

L'isteresi termodinamica è la differenza, indipendente dal tempo, tra gli angoli di contatto *advancing* e *receding*. Nel caso in cui l'interazione solido-liquido varia nel tempo, si parla di isteresi cinetica.

Innesto di funzionalità polari su un polimero

Si crea una superficie instabile ad alto contenuto energetico.

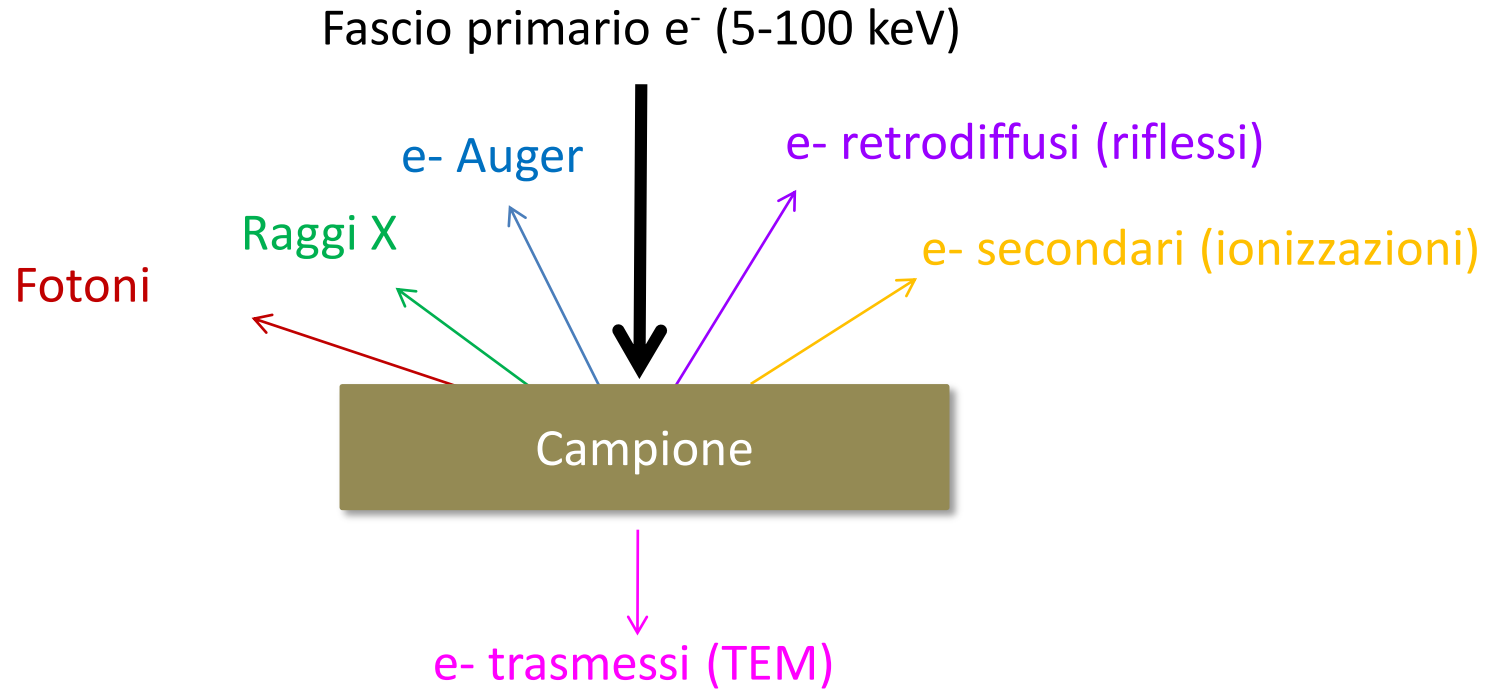
Quando l'ambiente in cui viene conservato il polimero è l'aria, questo tende a minimizzare l'energia superficiale riducendo la densità di gruppi polari in superficie, attraverso moti di rotazione e traslazione degli stessi, per esempio dopo che il polimero è stato bagnato in acqua. Questo si traduce in un aumento dei valori di angolo di contatto nel tempo.



In air



Microscopia elettronica a scansione (SEM)

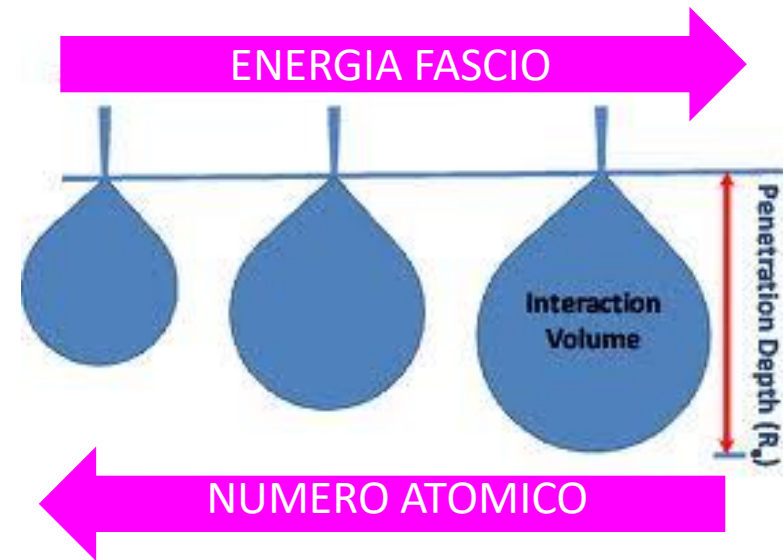
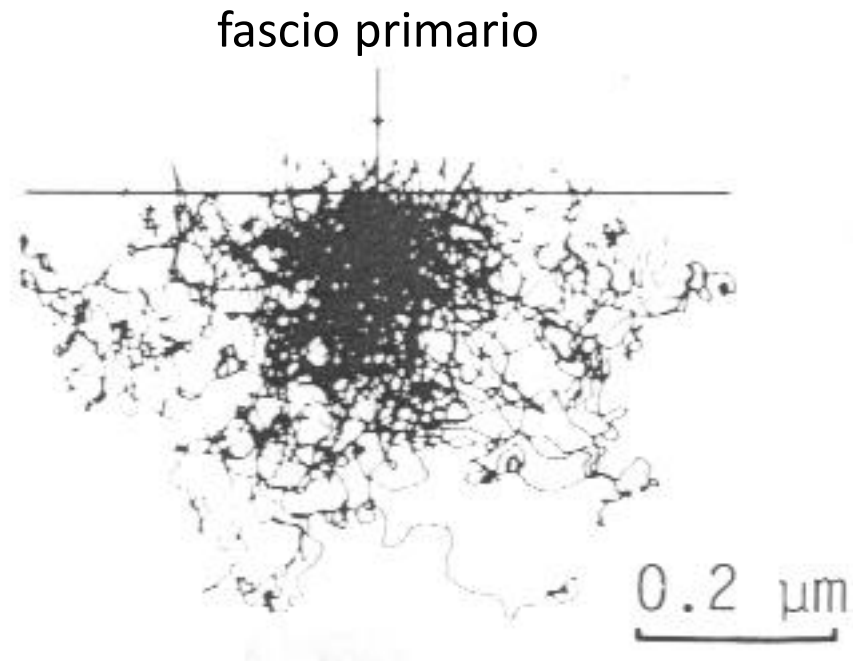


URTI ELASTICI conservazione energia cinetica iniziale (elettroni retrodiffusi)

URTI INELASTICI trasferimento parziale o totale di energia cinetica
(e- secondari, e- Auger, raggi X, altri tipi di fotoni)

A bassa energia (< 50 keV) gli elettroni secondari sono la quasi totalità degli elettroni emergenti dal campione

Microscopia elettronica a scansione (SEM)



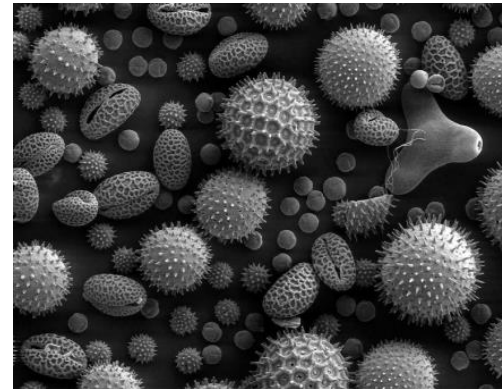
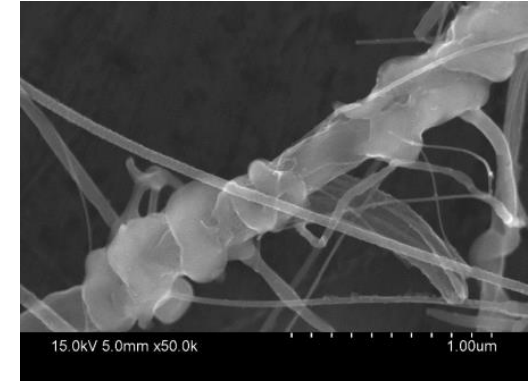
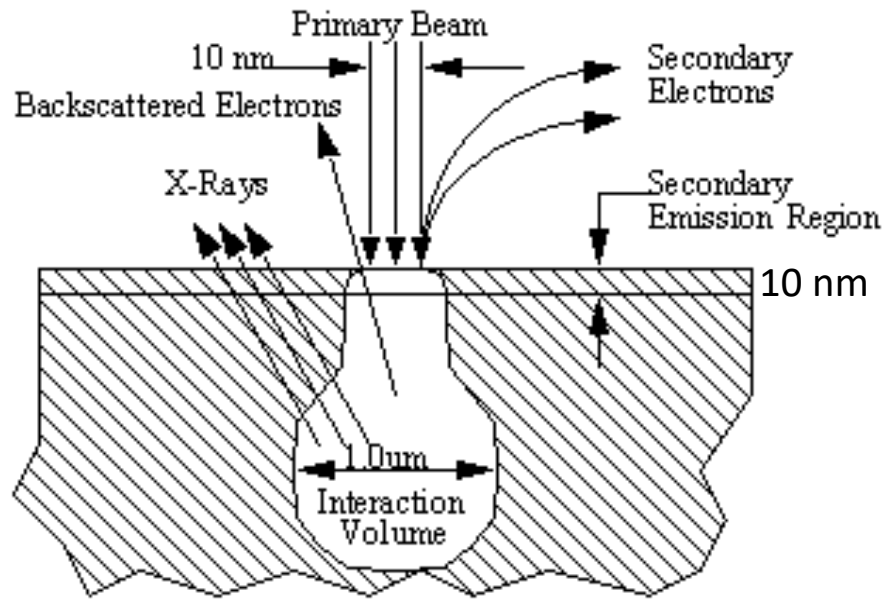
Il fascio primario può essere molto focalizzato (1-100 nm) permettendo elevate risoluzioni laterali

A causa degli urti a cascata si osserva un allargamento notevole del fascio e perdita in risoluzione laterale (ordine del μm)

L'allargamento del fascio dipende dall'energia del fascio e dal tipo di materiale

Microscopia elettronica a scansione (SEM)

Elettroni secondari



Le immagini ottenute dagli elettroni secondari forniscono **informazioni topografiche**. La risoluzione spaziale nel caso degli elettroni secondari è molto elevata, poiché essendo caratterizzati da bassa energia possono emergere solo dagli strati appena sotto la superficie del campione (10 nm) per essere analizzati. Il contrasto nelle immagini è determinato dall'angolo tra il fascio incidente e la superficie del campione, e cambia punto per punto con la morfologia del campione.

Microscopia elettronica a scansione (SEM)

elettroni retrodiffusi
energia simile
agli e- del fascio primario



Lega Al-Cu

Al: scuro

Cu: chiaro

La probabilità di avere elettroni retrodiffusi per urto elastico è direttamente proporzionale a Z^2

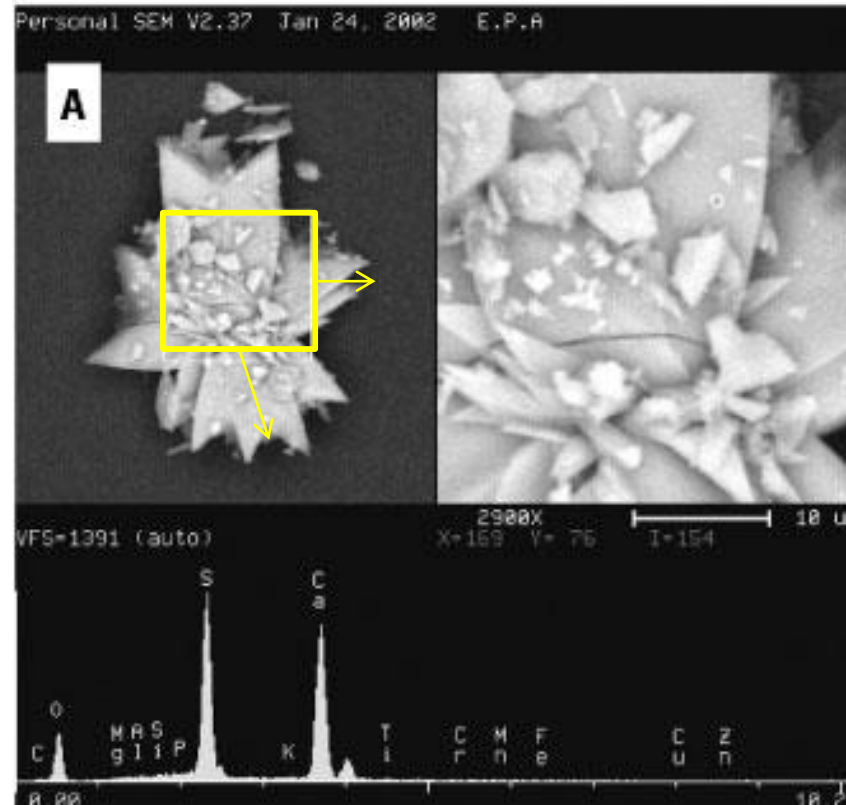
Possibilità di mappare zone del campione caratterizzate da atomi con Z diverso

Si misura l'intensità degli elettroni retrodiffusi in funzione della posizione del fascio, e si ottiene un'immagine il cui contrasto è dominato da differenze di Z nelle micro aree del campione

Si ottengono anche informazioni topografiche

Microscopia elettronica a scansione (SEM)

Raggi X



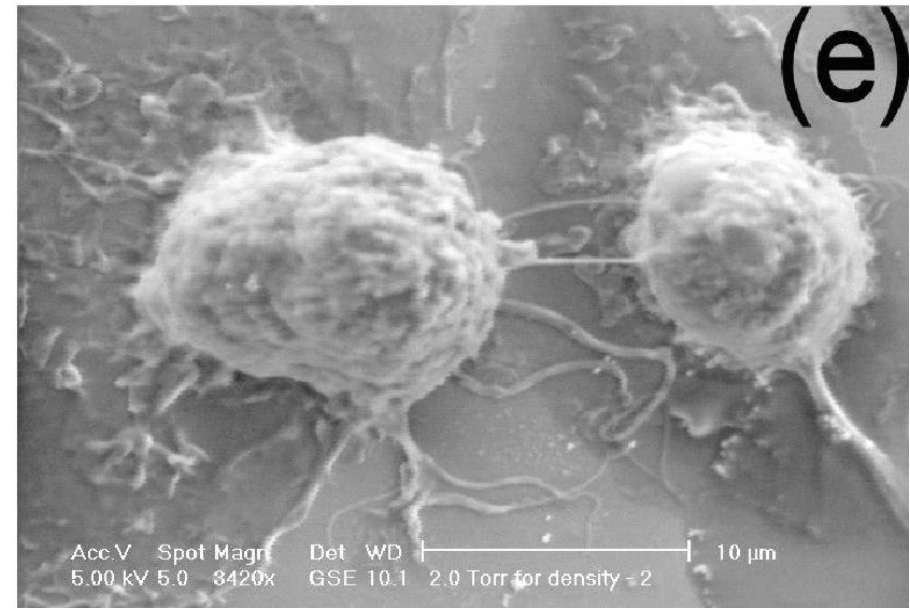
Quando un atomo viene ionizzato per impatto elettronico e perde un elettrone dei livelli di core, si ha rilassamento che porta all'emissione di raggi X

I fotoni X possono essere registrati e danno informazioni chimiche qualitative e semiquantitative (sono necessari standard a composizione nota)

Il volume analitico interessato è di 1-3 μm in diametro e profondità

Microscopia elettronica a scansione (SEM)

campioni
isolanti



Durante l'analisi i campioni isolanti si caricano negativamente a causa dell'interazione col fascio di elettroni.

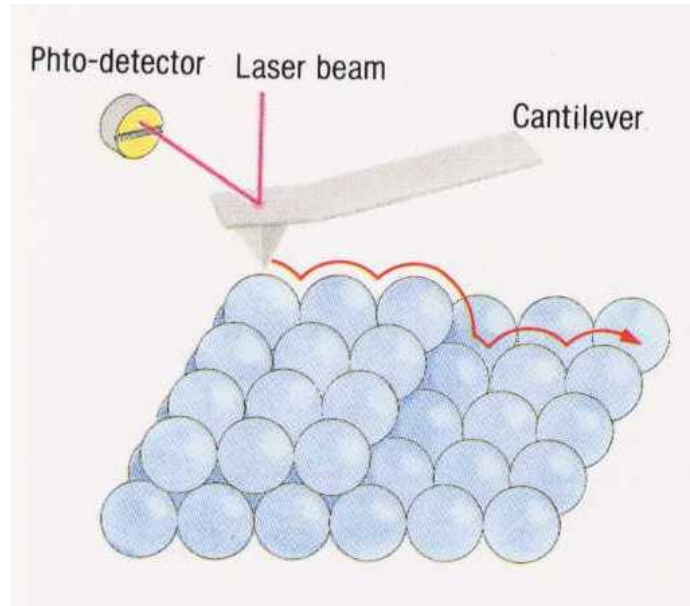
Vengono quindi preventivamente ricoperti per evaporazione/sputtering con film metallici di 20-30 nm. Dato che vengono monitorati gli elettroni emessi dalla superficie del rivestimento, se questo è perfettamente conforme riproduce la morfologia del campione

L'alternativa alla metallizzazione è usare fasci a basso voltaggio (~ 1k eV)

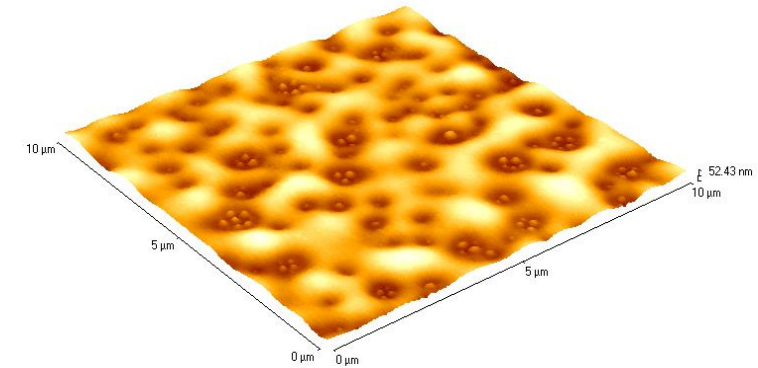
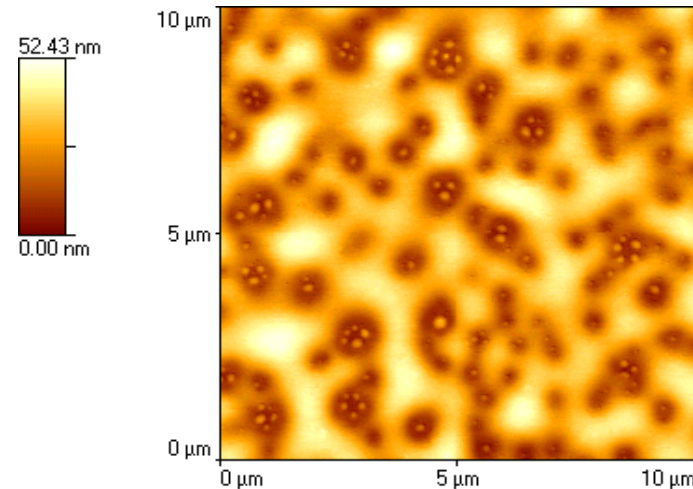
SEM Ambientale: permette di analizzare campioni umidi (es. cellule)

Microscopie a scansione di sonda (SPM)

Sonde microscopiche (con punta di dimensioni nanometriche) che esplorano la superficie del campione



Mappe superficiali 2-D e 3-D



Il segnale misurato dalla sonda è registrato in funzione della posizione x-y e può essere:

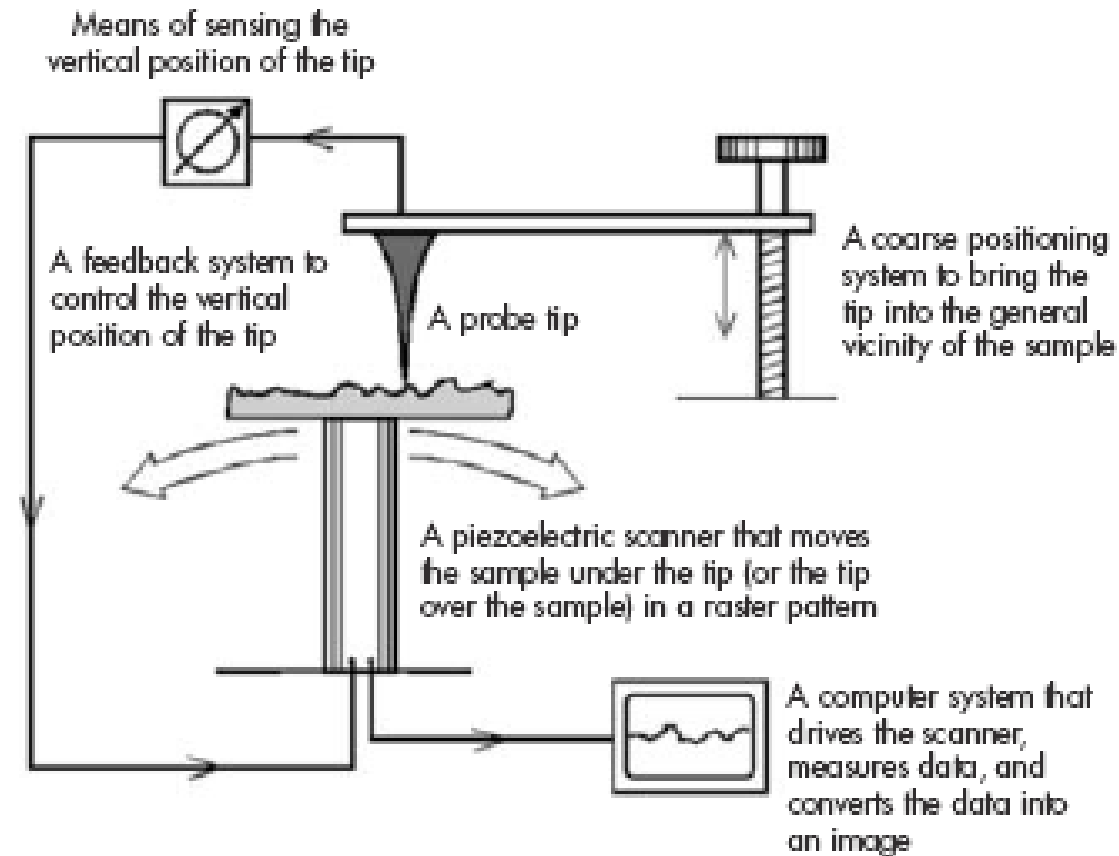
corrente di tunnel microscopia a scansione a effetto tunnel, STM

forze diverse microscopia a forza atomica, AFM; microscopia a forza magnetica, MFM;
microscopia a forza elettrica, EFM; ...

corrente ionica microscopia di conduttanza ionica a scansione, SICM

radiazione e-m microscopia ottica a campo vicino a scansione, SNOM

Microscopie SPM

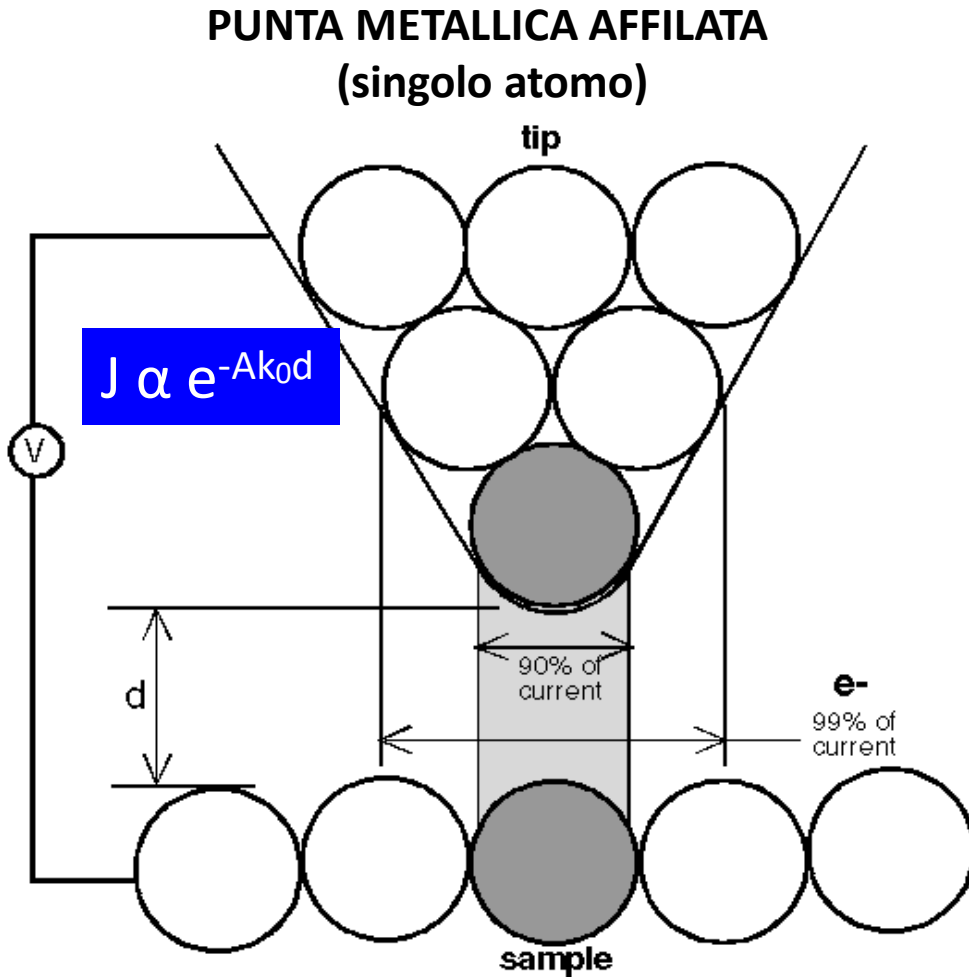


Variazioni di topografia del campione comportano variazioni della forza di interazione punta-campione, che si traducono in piegamento o deflessione della leva. Questi vengono registrati da un rivelatore mentre la punta viene fatta passare sul campione (il campione viene spostato sotto la punta).

Le deflessioni registrate permettono ad un PC di generare una mappa topografica della superficie.

Microscopia a scansione a effetto Tunnel (STM)

Effetto tunnel. Descrive la probabilità che un elettrone penetri attraverso una barriera di energia superiore alla sua energia cinetica



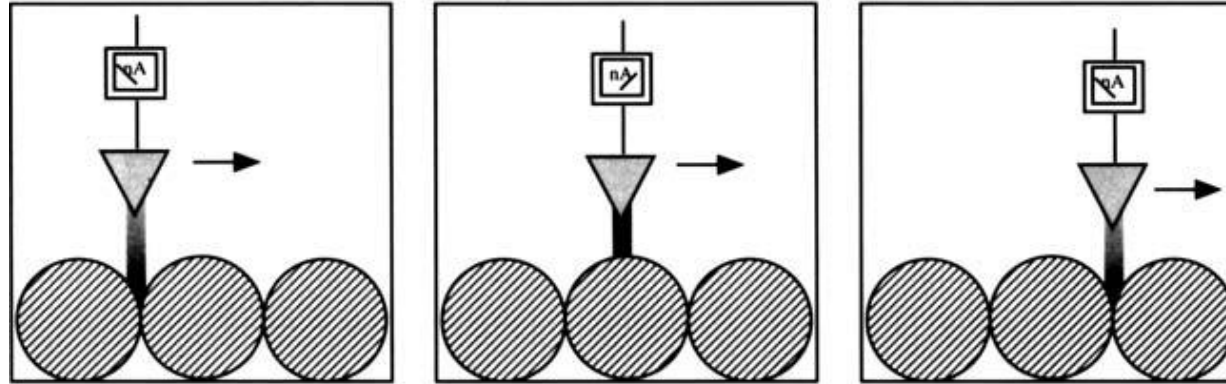
A 5-10 Å dal campione gli e⁻ possono attraversare la barriera energetica tra punta e superficie del campione (separate dal vuoto) entrando nella punta o viceversa, a seconda del segno del potenziale applicato.

Si ottengono **mappe di densità elettroniche a livello atomico della superficie analizzata** sfruttando la corrente di tunnel che dipende dalla distanza punta-campione.

La dipendenza esponenziale della corrente dalla distanza punta-campione rende la STM sensibilissima (la variazione di 1 Å nella distanza comporta variazioni di corrente di circa un ordine di grandezza). Questo comporta per la tecnica una **risoluzione laterale e verticale ATOMICA**.

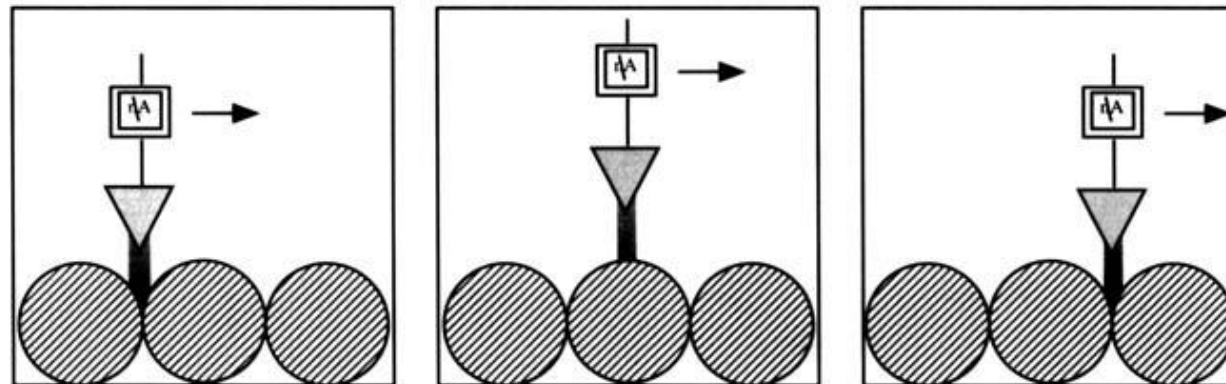
STM Modalità operative

ALTEZZA
COSTANTE



- Più veloce
- Superfici lisce a livello atomico

CORRENTE
COSTANTE



- Più lenta
- Superfici non lisce a livello atomico

ALTEZZA COSTANTE

La posizione verticale della punta è fissa e si registrano le variazioni della corrente di tunnel.

CORRENTE COSTANTE

Si varia la posizione verticale della punta in modo che la corrente sia costante. Si registrano le distanze punta-campione in funzione della posizione sul campione.

Microscopia a scansione a effetto Tunnel (STM)

L'STM in vuoto/ultra-alto vuoto applicata a superfici pulite a livello atomico permette la caratterizzazione della struttura topografica ed elettronica di campioni conduttori.

L'STM in aria è molto difficile a causa di contaminanti che interferiscono con la corrente di tunnel.

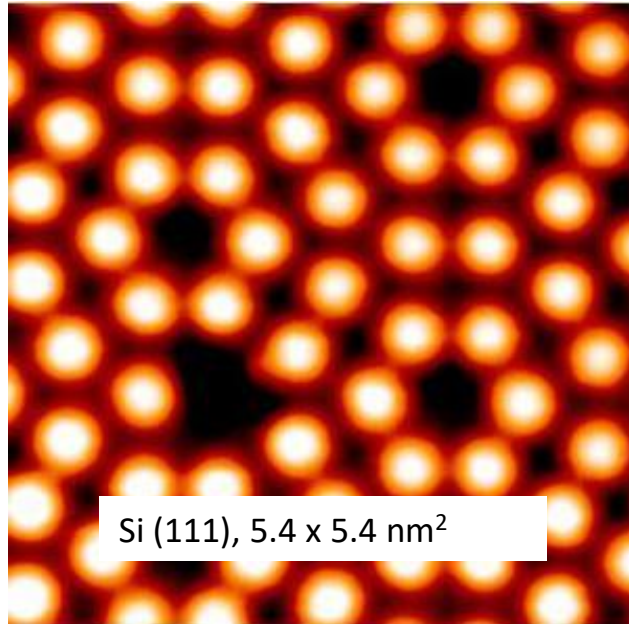
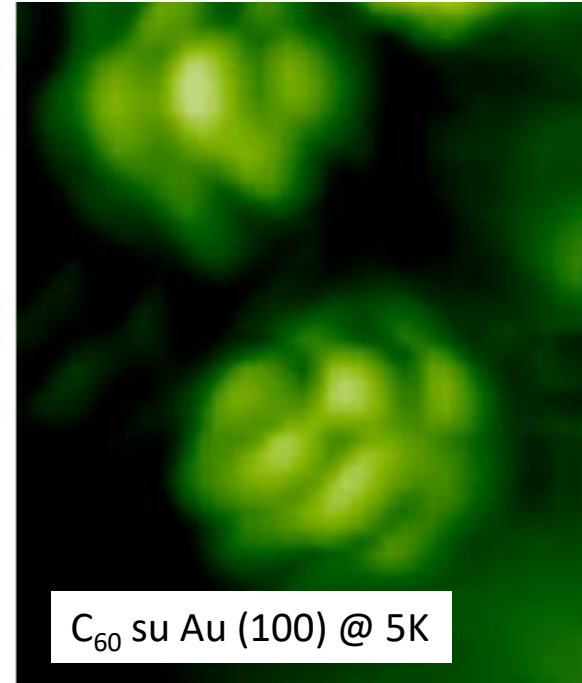
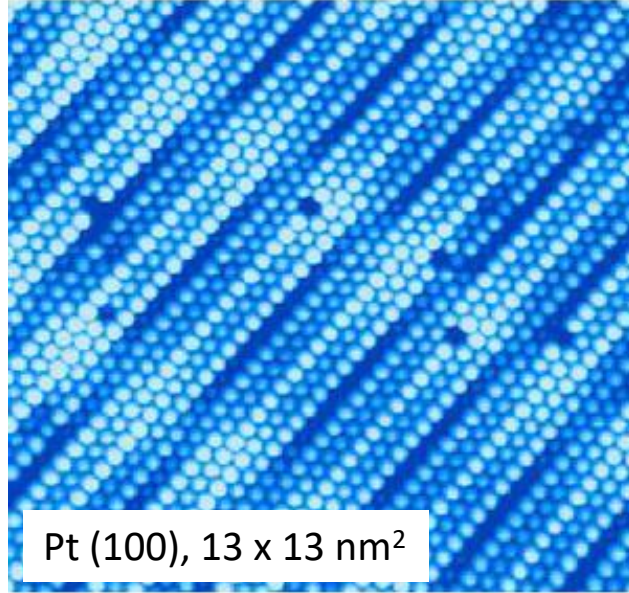
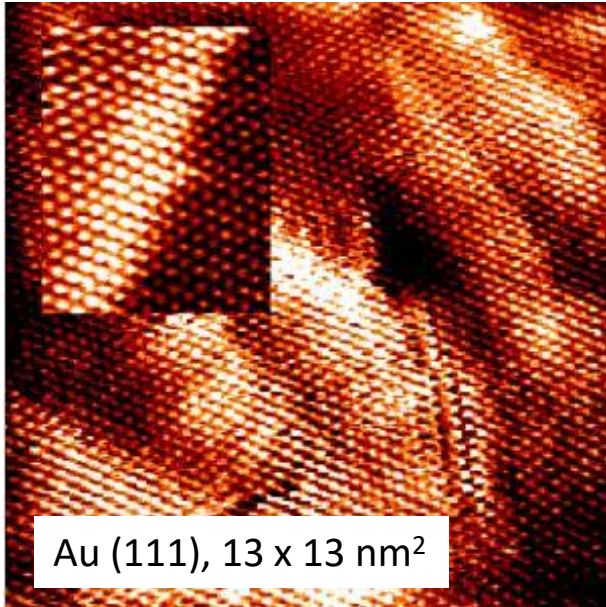
Vantaggi

- Informazioni sulla struttura elettronica dei materiali
- risoluzione atomica REALE, laterale e verticale

Svantaggi

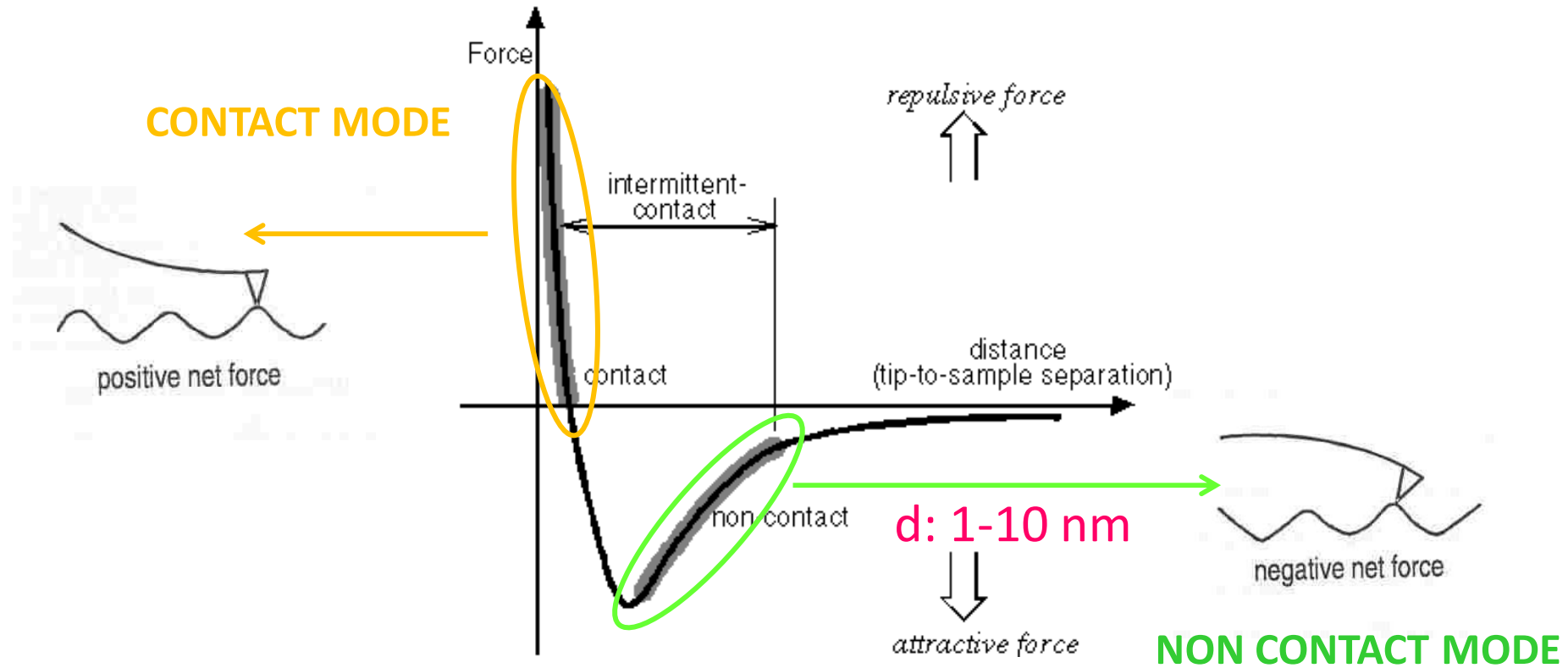
- Solo campioni conduttori o semiconduttori (anche su proteine depositate su conduttori)
- Difficile operare in ambienti diversi dal vuoto
- Punte molto costose che si degradano velocemente

Microscopia a scansione a effetto Tunnel (STM)



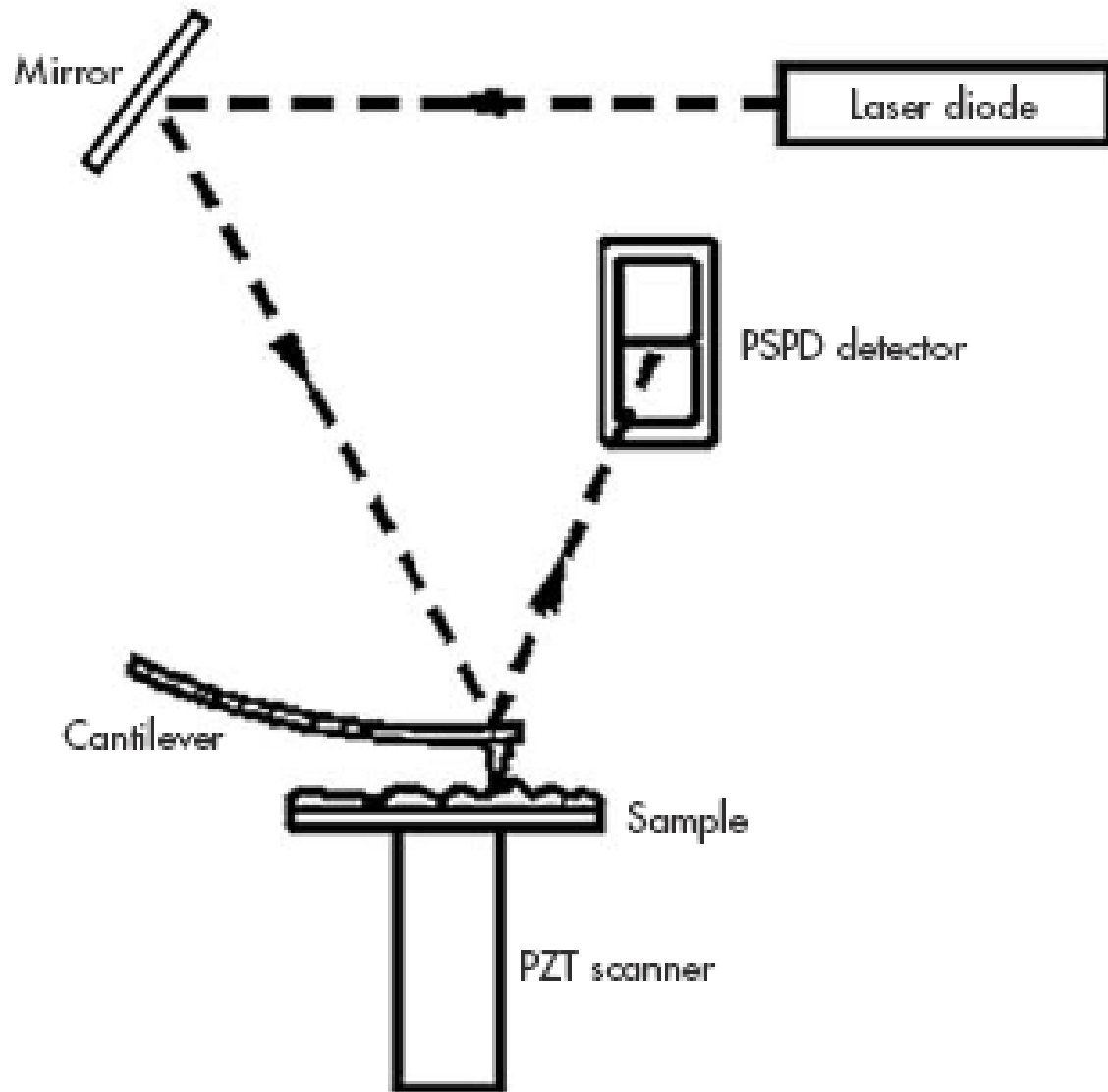
Microscopia a forza atomica (AFM)

Le forze che contribuiscono alla deflessione della leva dipendono dalla distanza punta-campione. Le più importanti sono le forze di van der Waals (dip-dip, dip-dip.ind, dip.ist-dip.ind).



Le forze tra punta e campione (attrattive o repulsive) determinano il piegamento o la deflessione della leva, che vengono registrati da un rivelatore durante la scansione.

AFM. Tecniche ottiche per seguire la posizione della leva



Un raggio laser viene riflesso sul retro della leva ed inviato su un fotodetector sensibile alla posizione (PSPD), per cui quando la leva si piega la posizione del raggio laser sul detector cambia. Il PSPD può misurare spostamenti della luce fino a 0.1 nm.

RISOLUZIONE VERTICALE ATOMICA

AFM. Modalità di contatto (c-AFM)

La punta è in contatto con il campione:
le «nuvole» elettroniche della punta e della superficie del campione si sovrappongono

FORZE PUNTA-CAMPIONE

La forza totale tra punta e campione è 10^{-7} - 10^{-6} N

1. Forza di van der Waals

La forza di contatto provoca deflessioni della leva in risposta alle variazioni topografiche (variazione molto sensibile in funzione della distanza)

2. Forza esercitata dalla leva

Come in una molla compressa, modulo e segno dipendono dalla flessione della leva e dalla sua costante di forza. La pressione scaricata sulla punta può danneggiare il campione. Esistono leve «morbide» con bassa costante di forza, minore di quella che tiene insieme gli atomi del campione, e leve «dure».

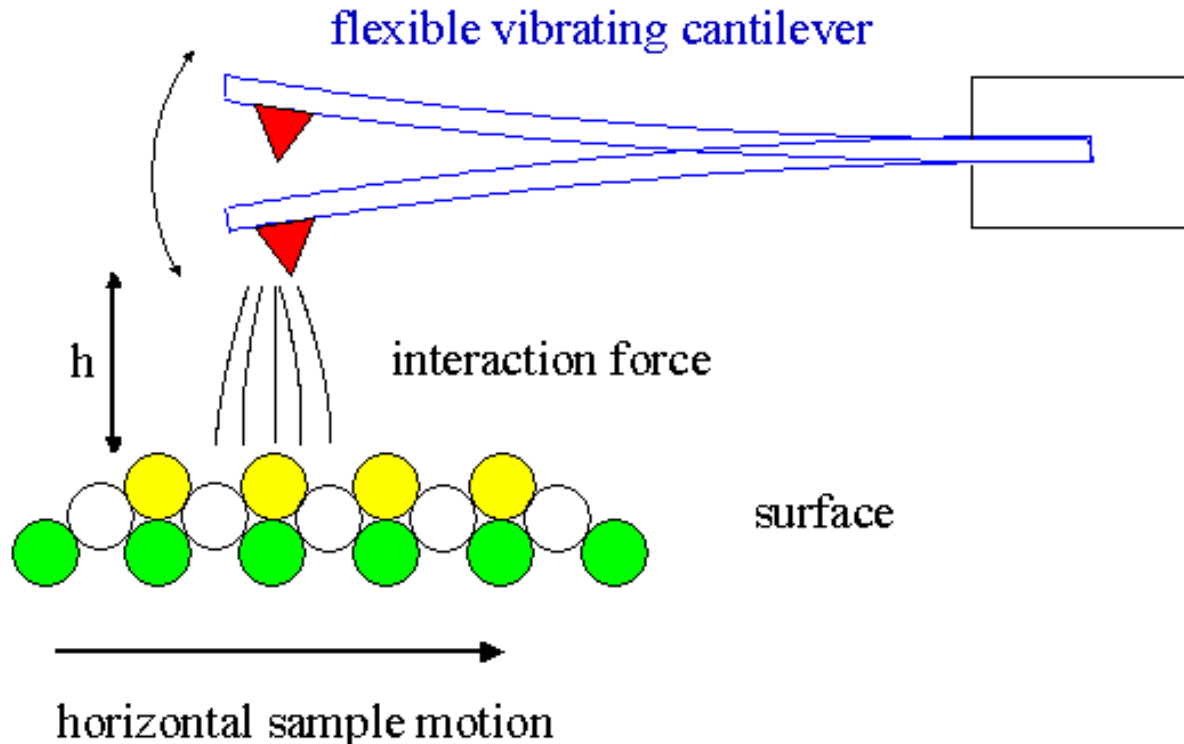
3. Forze capillari

Dovuti a film sottili acqua condensata dall'ambiente. L'acqua esercita una forza attrattiva forte (10^{-8} N), che porta la punta in contatto con la superficie. Il modulo dipende dalla distanza punta-campione

AFM. Modalità di non contatto (nc-AFM)

Punta non in contatto con il campione (forza di interazione VdW attrattiva)

- Variazione di forza meno sensibile alla distanza rispetto a c-AFM
- La forza totale tra punta e campione è molto bassa, $\sim 10^{-12}$ N, difficile da misurare



- La leva viene fatta vibrare durante la scansione, e se ne misurano le variazioni di frequenza o di ampiezza di vibrazione in seguito all'interazione punta-campione
- Si risale alle variazioni di distanza punta-campione attraverso elaborazione del segnale

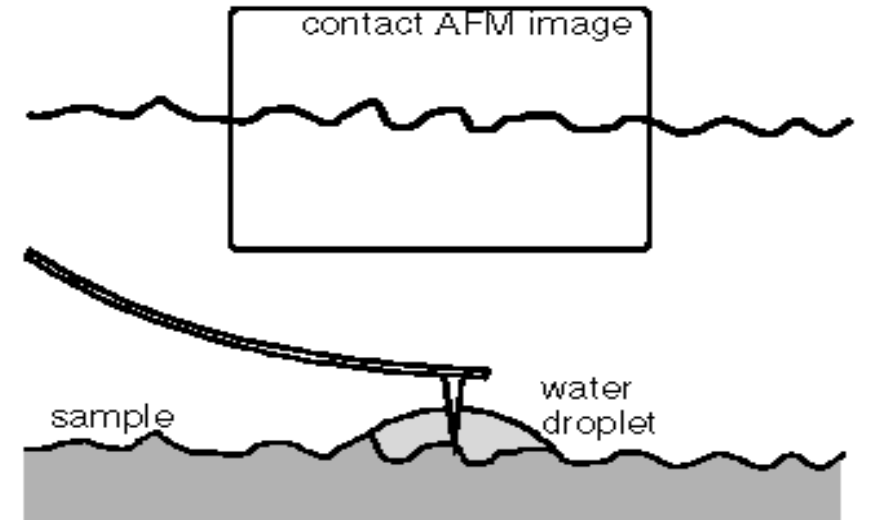
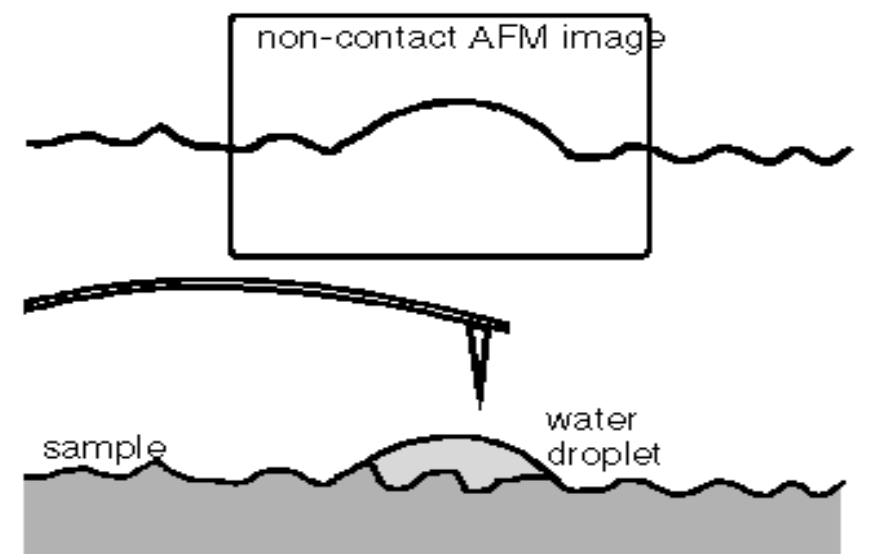
AFM. Modalità di non contatto vs. contatto

Vantaggi

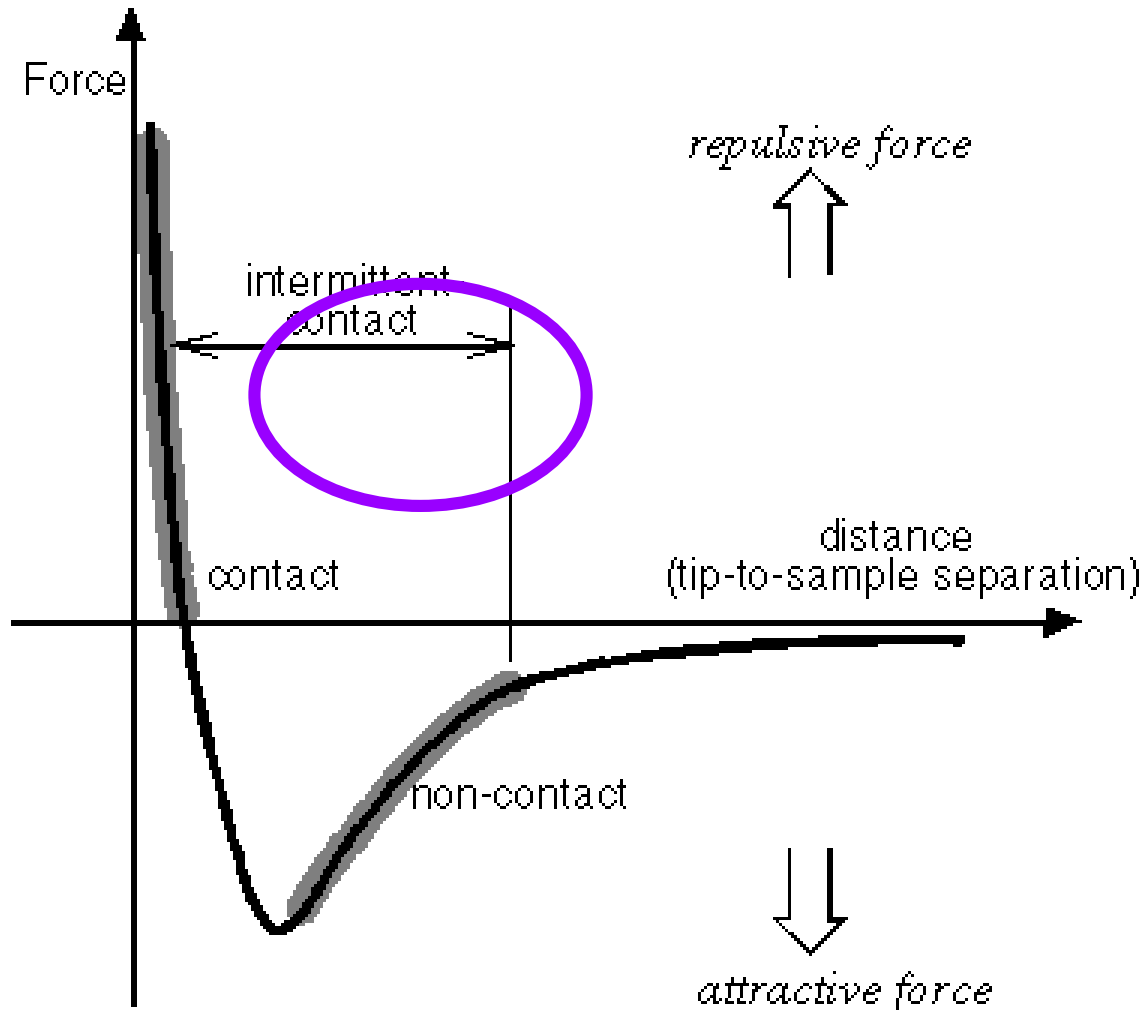
- ❑ Studio di campioni «soft» ed elastici
- ❑ Meno effetti di degradazione (punta e campione)
- ❑ Il campione non viene contaminato dalla punta

Svantaggi

- ❑ Segnali meno intensi → sistemi di rivelazione molto sensibili
- ❑ In presenza di umidità, la punta in nc-AFM seguirà la superficie delle gocce come se fosse quella del campione, mentre in c-AFM la punta penetra nella goccia e segue il profilo reale della superficie
- ❑ Mentre vibra, la punta può restare adesiva allo strato di umidità



AFM. Modalità ad intermittenza (tipping, t-AFM)

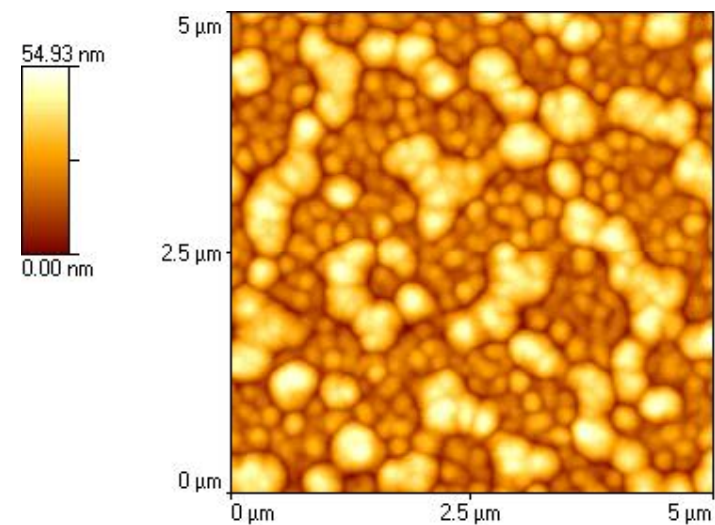
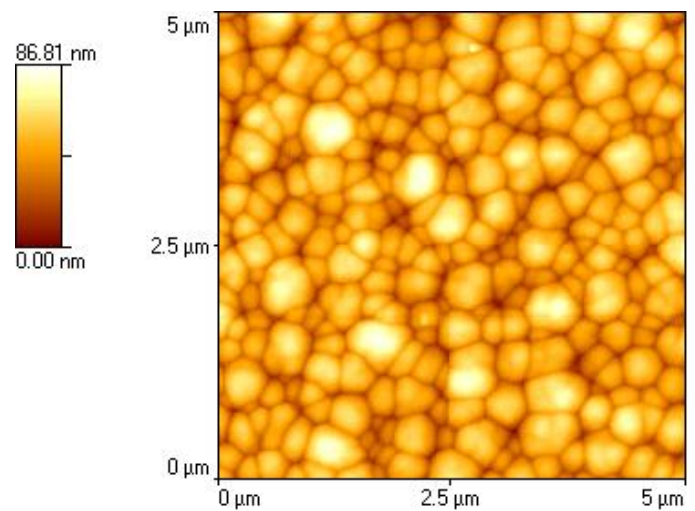
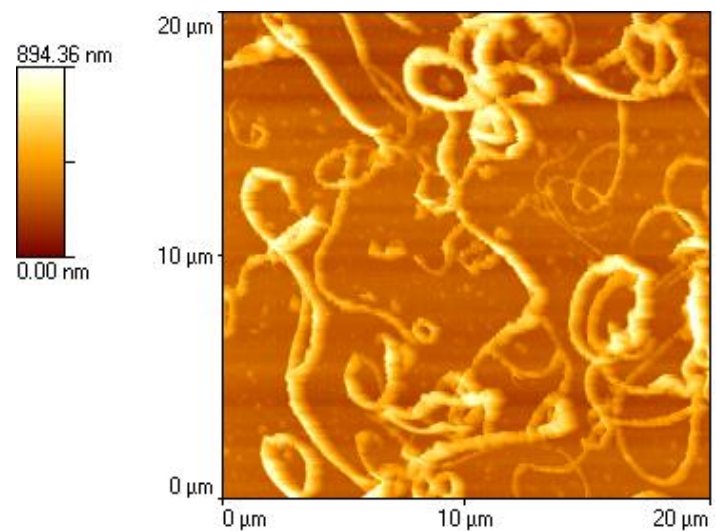
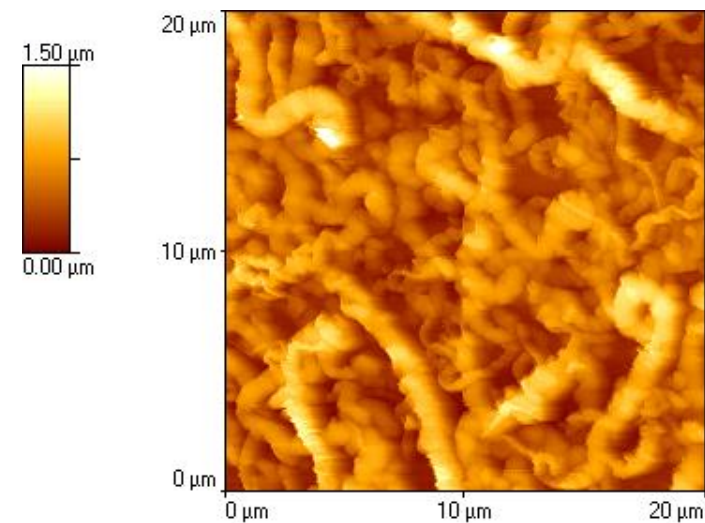
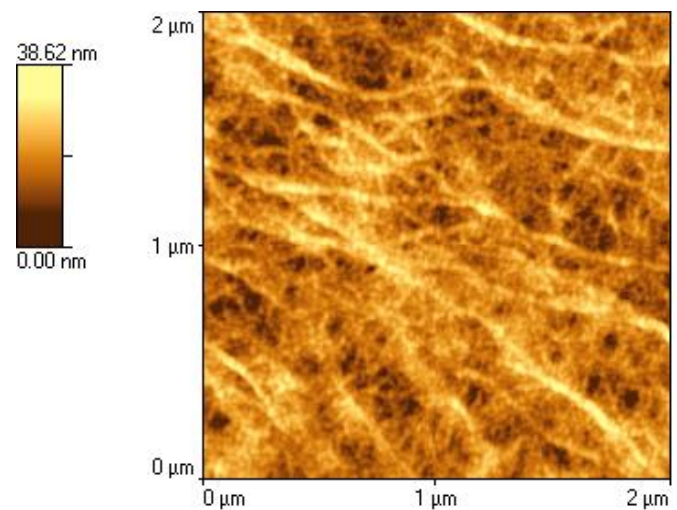
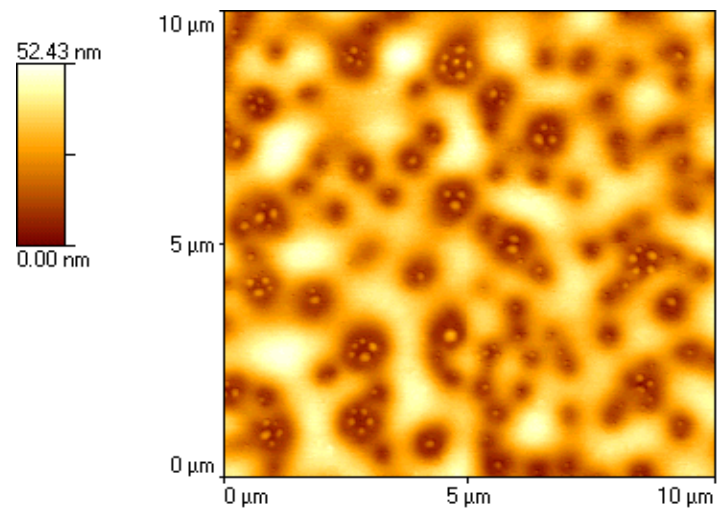


Simile alla modalità *non contact*, ma la leva vibrante è portata più vicino in modo che alla fine del suo viaggio tocchi appena il campione.

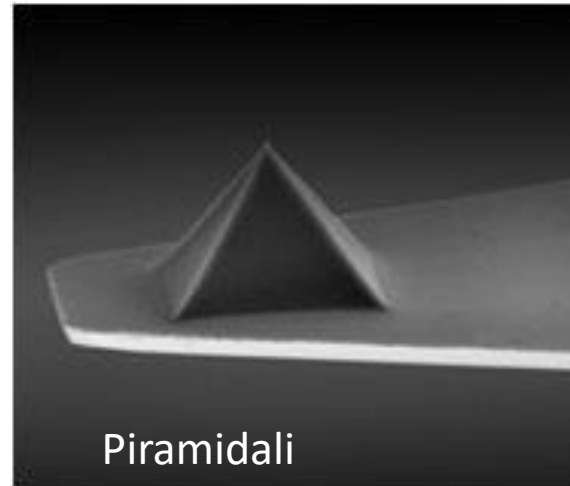
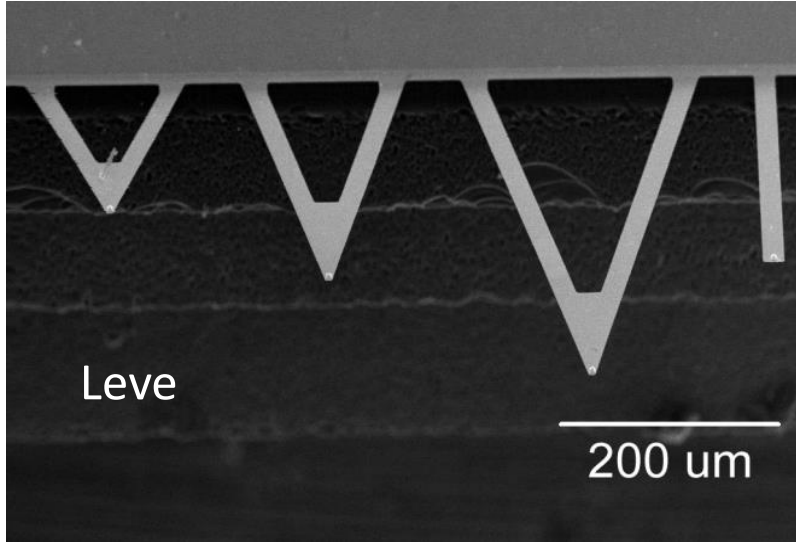
Rispetto al *contact*, è meno probabile che danneggi il campione

Rispetto al *non contact* fornisce segnali più intensi e permette di superare il problema dell'umidità

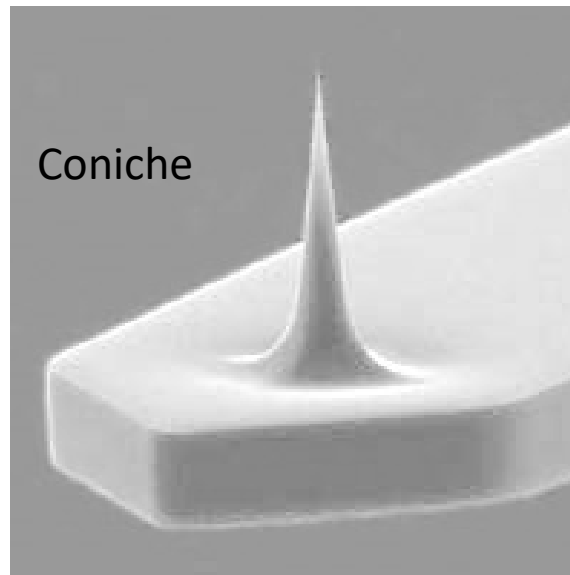
AFM. Esempi di immagini



AFM. Punta



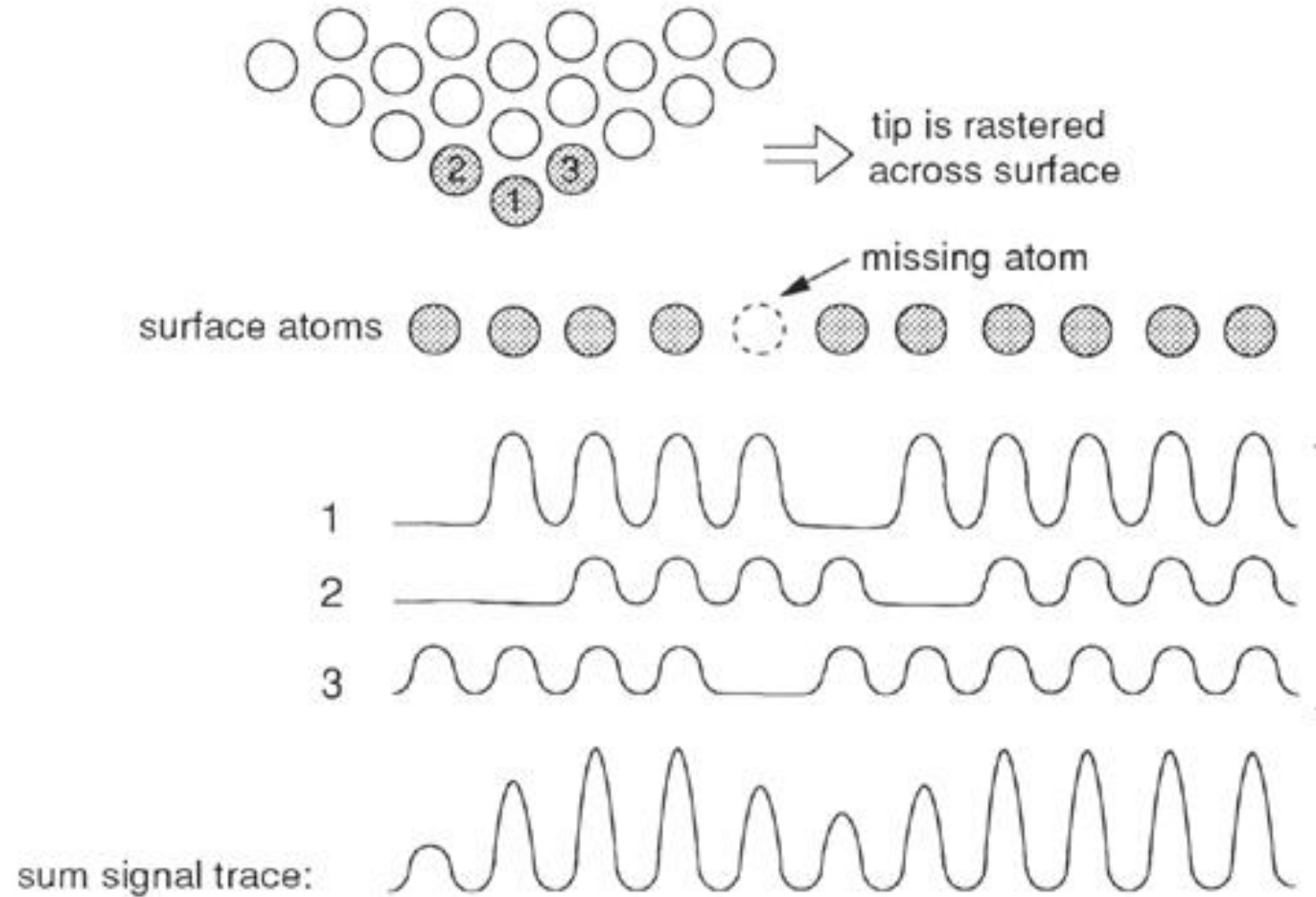
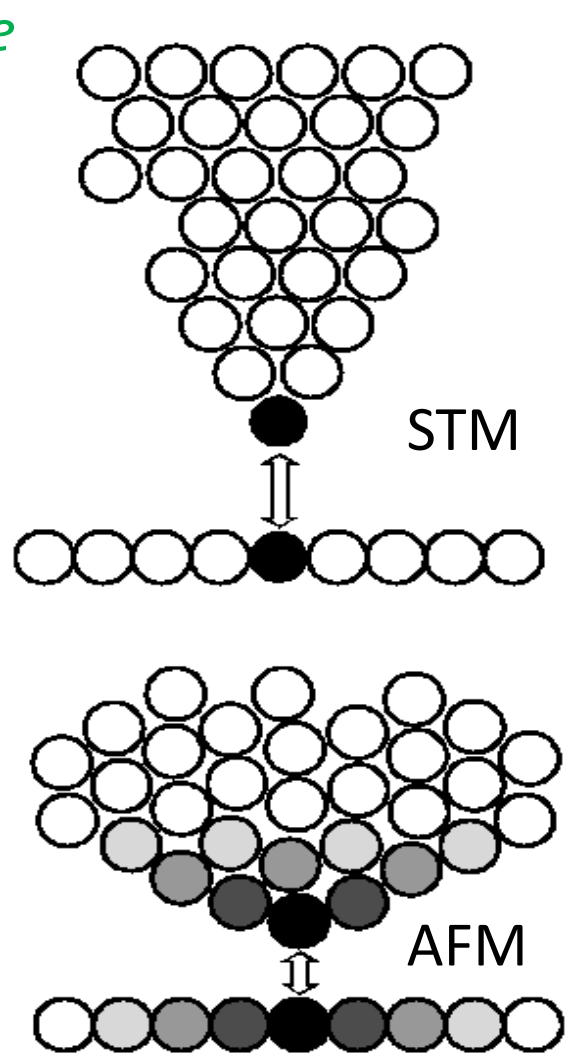
- Meno appuntite
- Più durature



- Più appuntite
- Meno durature

La risoluzione laterale di una immagine AFM dipende dalla punta

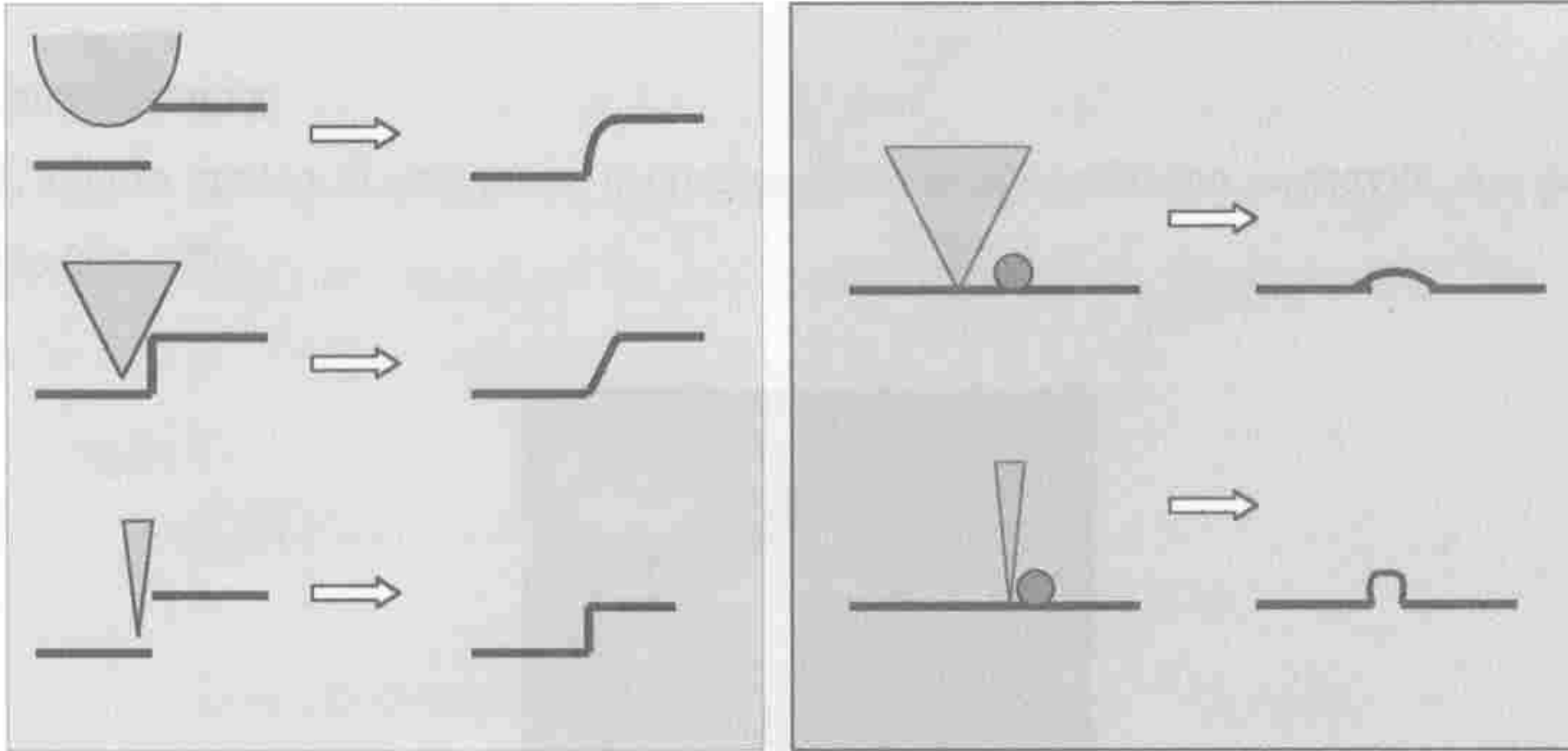
AFM. Punta



La vacanza non viene individuata

Poiché gli atomi della punta sono in posizioni laterali diverse, il reticolo visto da ciascun atomo della punta è spostato rispetto a quello visto dall'atomo più vicino.

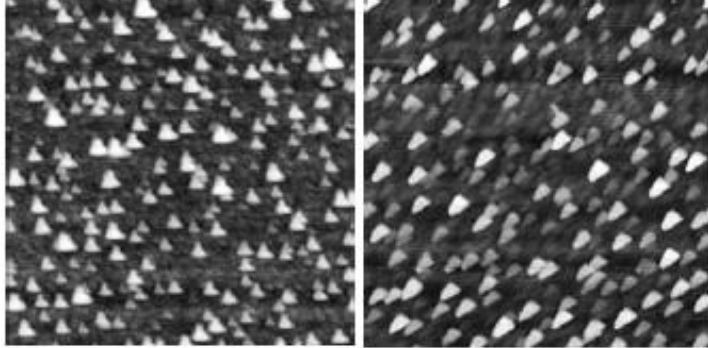
AFM. Convoluzione della punta o tip imaging



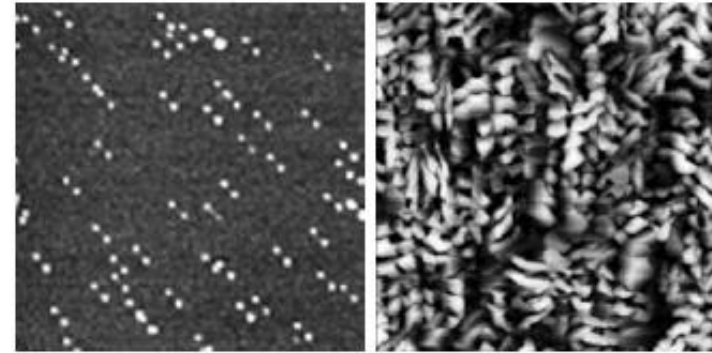
Se la punta è ben più acuminata del particolare si ottiene il vero profilo di quest ultimo.
Se il particolare è più acuminato della punta, l'immagine sarà dominata dalla forma della punta.

AFM. Artefatti di immagine

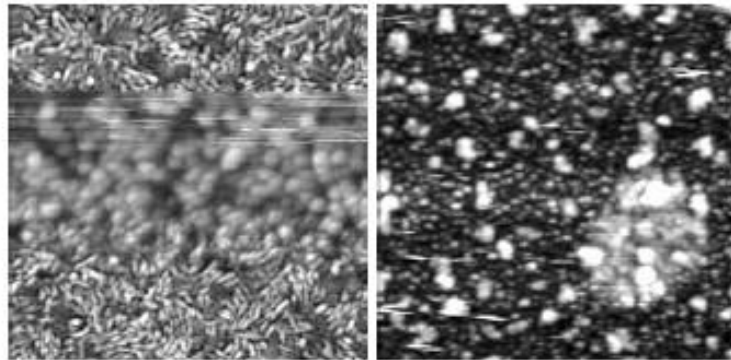
Punta sporca o consumata



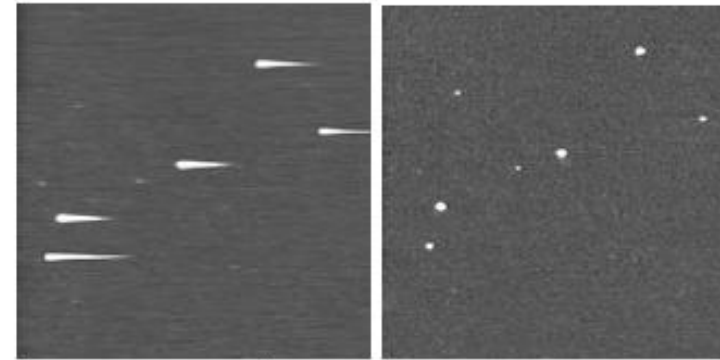
Punta con più punti di contatto



Interferenza tra luce incidente e riflessa dal campione



Parametri di acquisizione non correttamente impostati

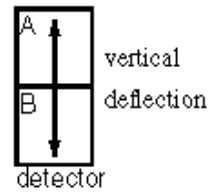
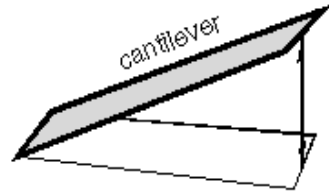


AFM. Tecniche di analisi derivate

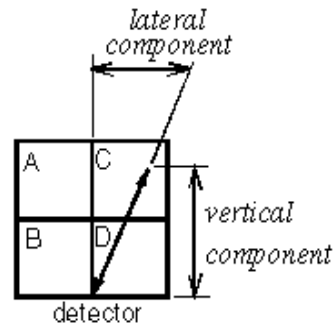
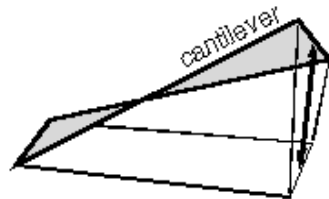
Name	Acronym	Use
Contact mode	CM-AFM	Topographic imaging of harder specimens
Tapping (intermittent force) mode	IF-AFM	Imaging softer specimens
Noncontact mode	NCM-AFM	Imaging soft structures
Force modulation (allows slope of force–distance curve to be measured)	FM-AFM	Enhances image contrast based on surface mechanics
Scanning surface potential microscopy (Kelvin probe microscopy)	SSPM, KPM	Measures the spatial distribution of surface potential
Magnetic force microscopy	MFM	Maps the surface magnetic forces
Scanning thermal microscopy	SThM	Maps the thermal conductivity characteristics of a surface
Recognition force microscopy	RFM	Uses a biomolecule on a tip to probe for regions of specific biorecognition on a surface
Chemical force microscopy	CFM	A tip derivatized with a given chemistry is scanned on a surface to spatially measure differences of interaction strength
Lateral force microscopy	LFM	Maps frictional force on a surface
Electrochemical force microscopy	EFM	The tip is scanned under water and the electrochemical potential between tip and surface is spatially measured
Nearfield scanning optical microscopy	NSOM	A sharp optical fiber is scanned over a surface allowing optical microscopy or spectroscopy at 100-nm resolution
Electrostatic force microscopy	EFM	Surface electrostatic potentials are mapped
Scanning capacitance microscopy	SCM	Surface capacitance is mapped
Conductive atomic force microscopy	CAFM	Surface conductivity is mapped with an AFM instrument
Nanolithographic AFM		An AFM tip etches, oxidizes, or reacts a space permitting pattern fabrication at 10 nm or better resolution
Dip-pen nanolithography	DPN	An AFM tip, inked with a thiol or other molecule, writes on a surface at the nanometer scale

Lateral Force Microscopy (LFM)

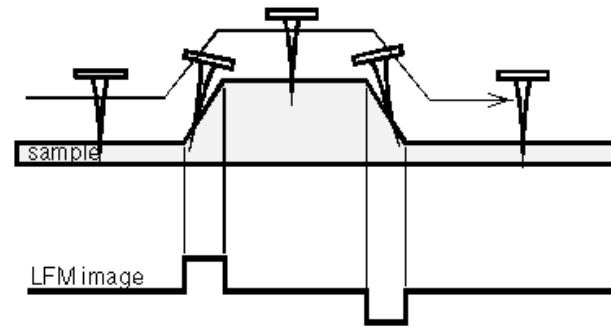
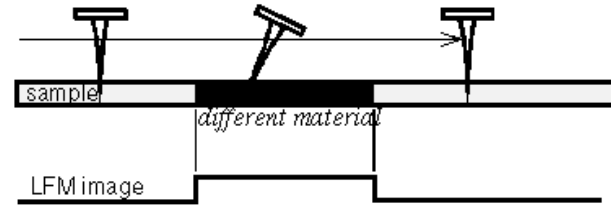
Permette di ottenere mappe di forze di attrito (materiali compositi). Modalità di contatto



AFM: Deflessione verticale leva



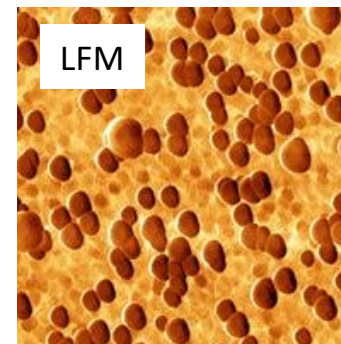
LFM: Deflessione laterale leva



- I bordi delle caratteristiche topografiche possono influenzare il segnale

- Acquisizione simultanea immagini AFM e LFM

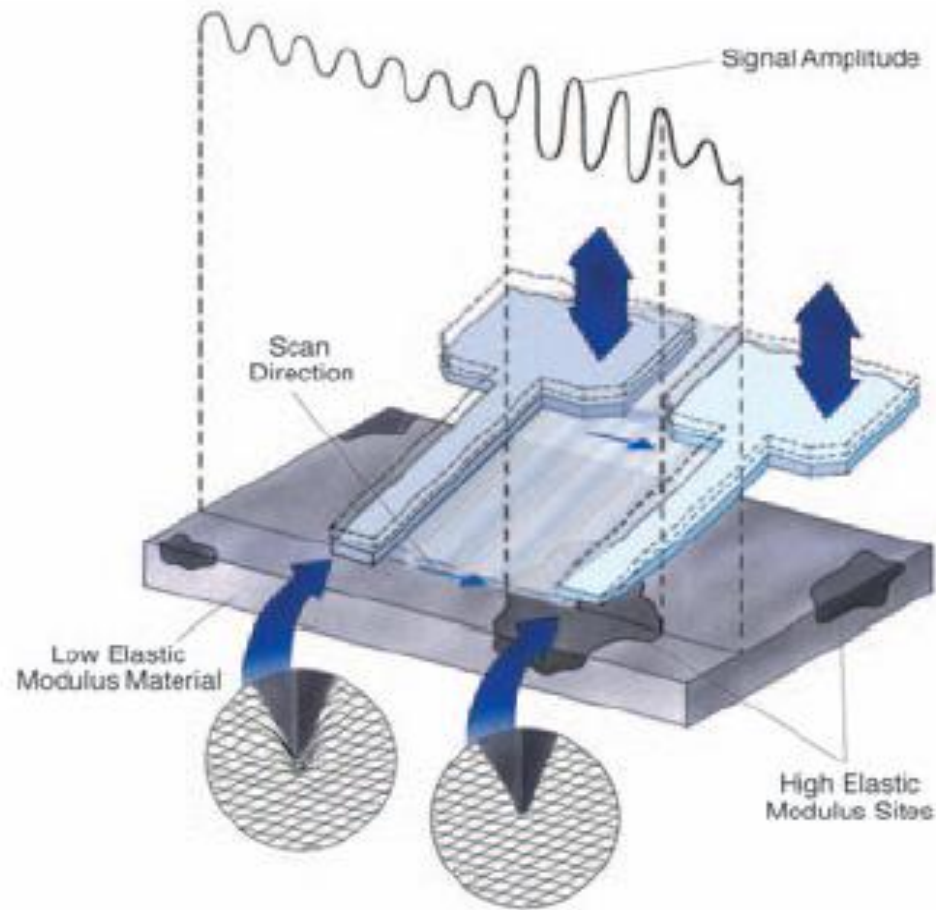
MATERIALE COMPOSITO
CON CLUSTER DI Au



I cluster di Au sono
zone a minore frizione

Force Modulation Microscopy (FMM)

Permette di ottenere mappe di elasticità/rigidità (compositi). Modalità ad intermittenza

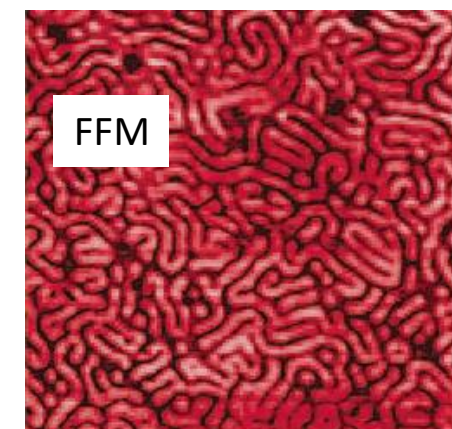
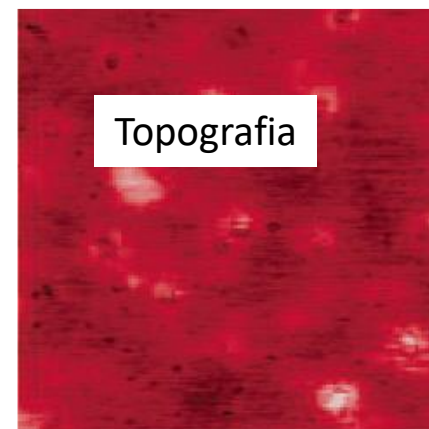


COPOLIMERO A BLOCCHI.

la componente più morbida è mappata in nero

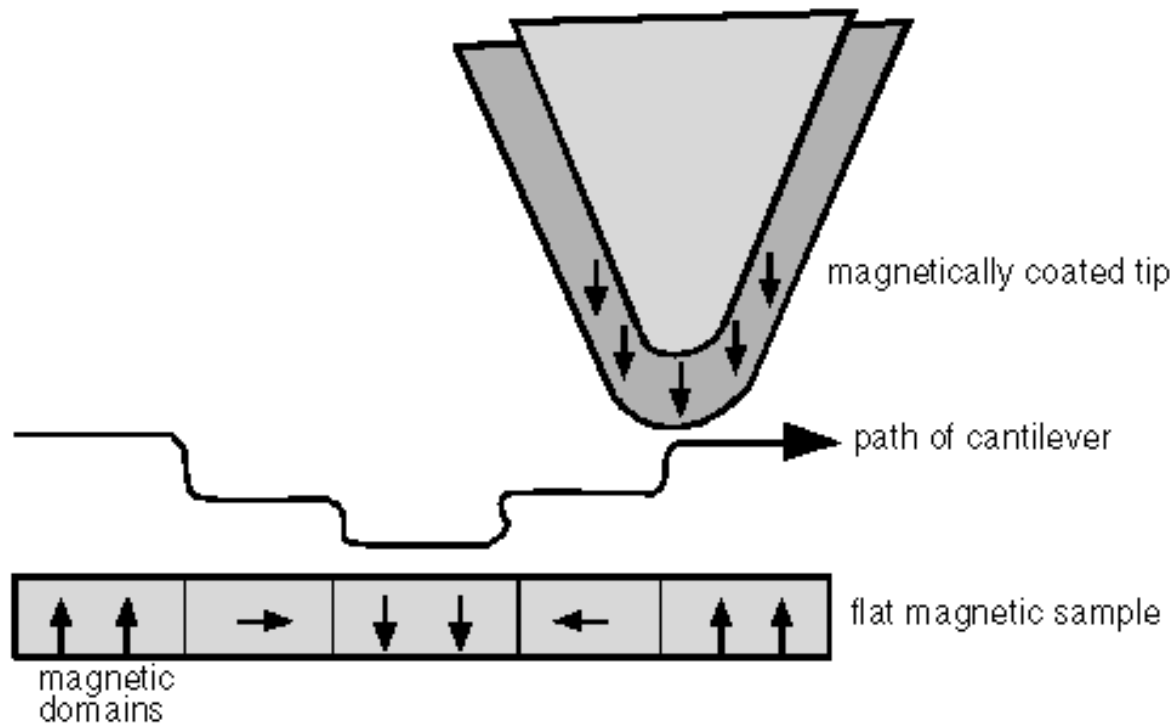
Durante la scansione della punta sul campione si applica un segnale meccanico periodico alla base della leva ($< 5\text{Hz}$). L'ampiezza del segnale modulato varierà in funzione delle proprietà elastiche del campione.

Le aree più rigide si deformano meno di quelle più soffici, oppongono più resistenza all'oscillazione e provocano una maggiore deflessione della leva.



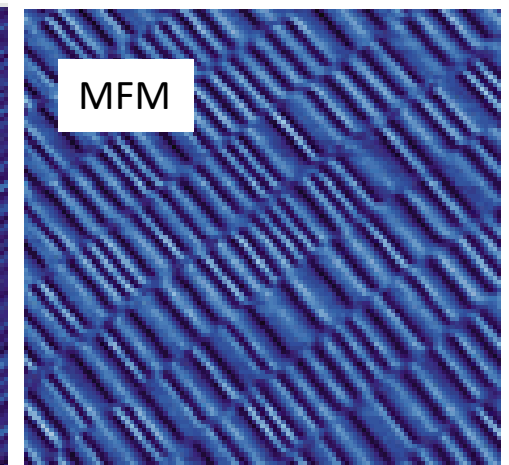
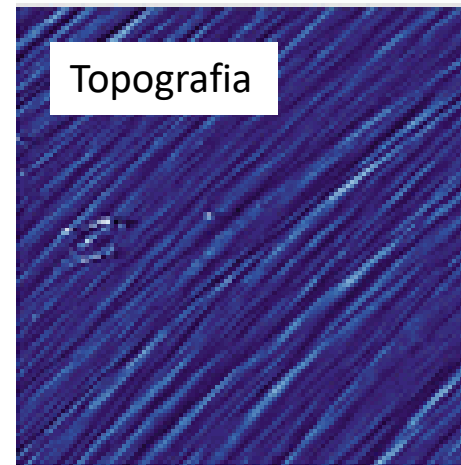
Magnetic Force Microscopy (MFM)

Permette di ottenere mappe di gradienti di forza magnetica. Modalità non contact

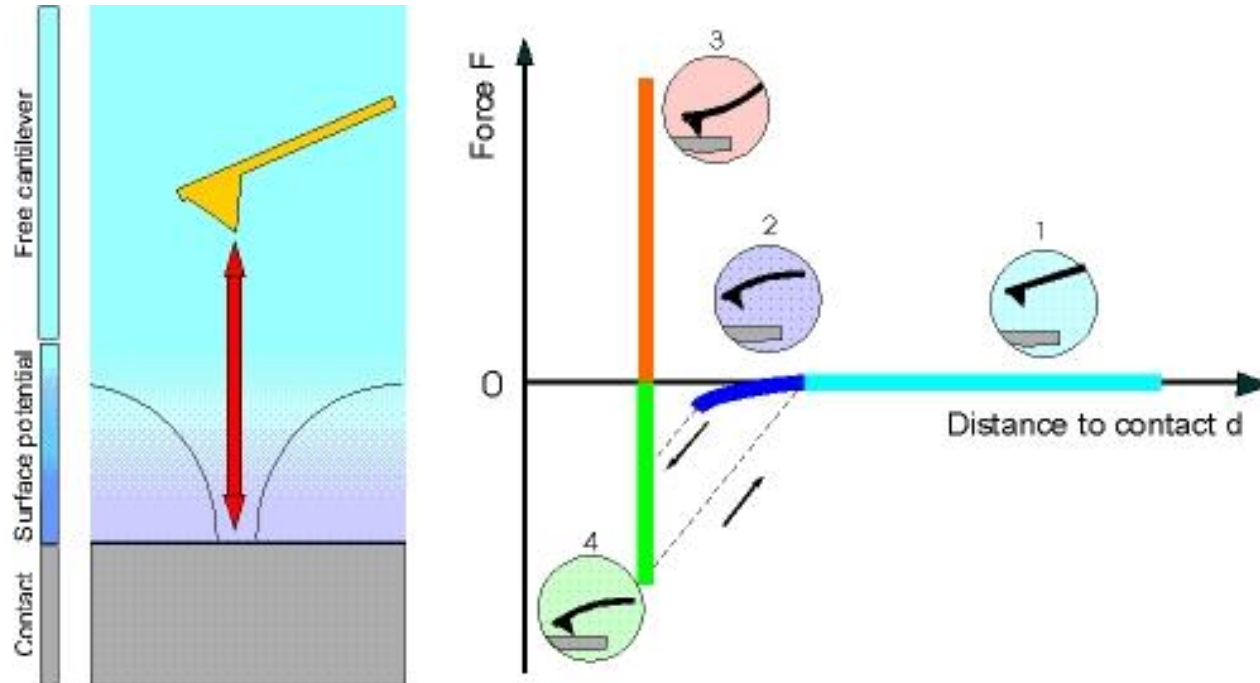


HARD DISK

La punta viene ricoperta con un film sottile ferromagnetico. Durante la scansione la variazione della forza di interazione punta-campione varia l'ampiezza di oscillazione della punta stessa.



Force Spectroscopy

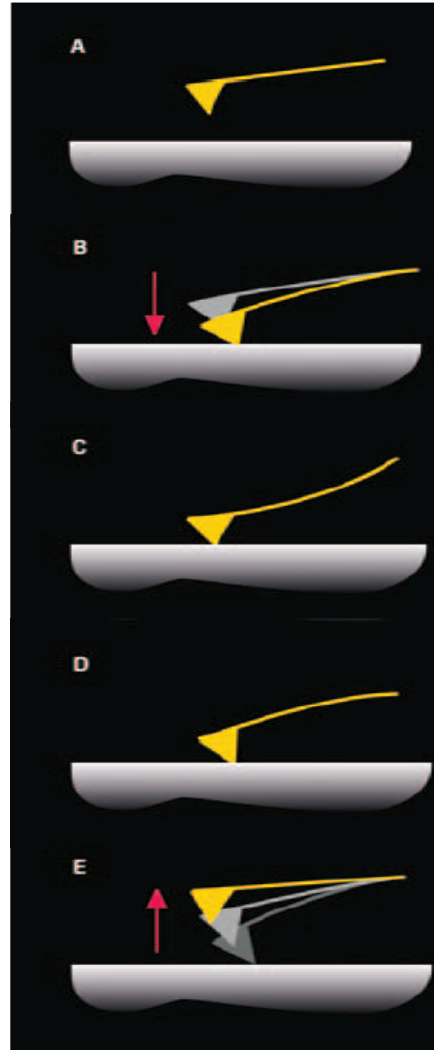
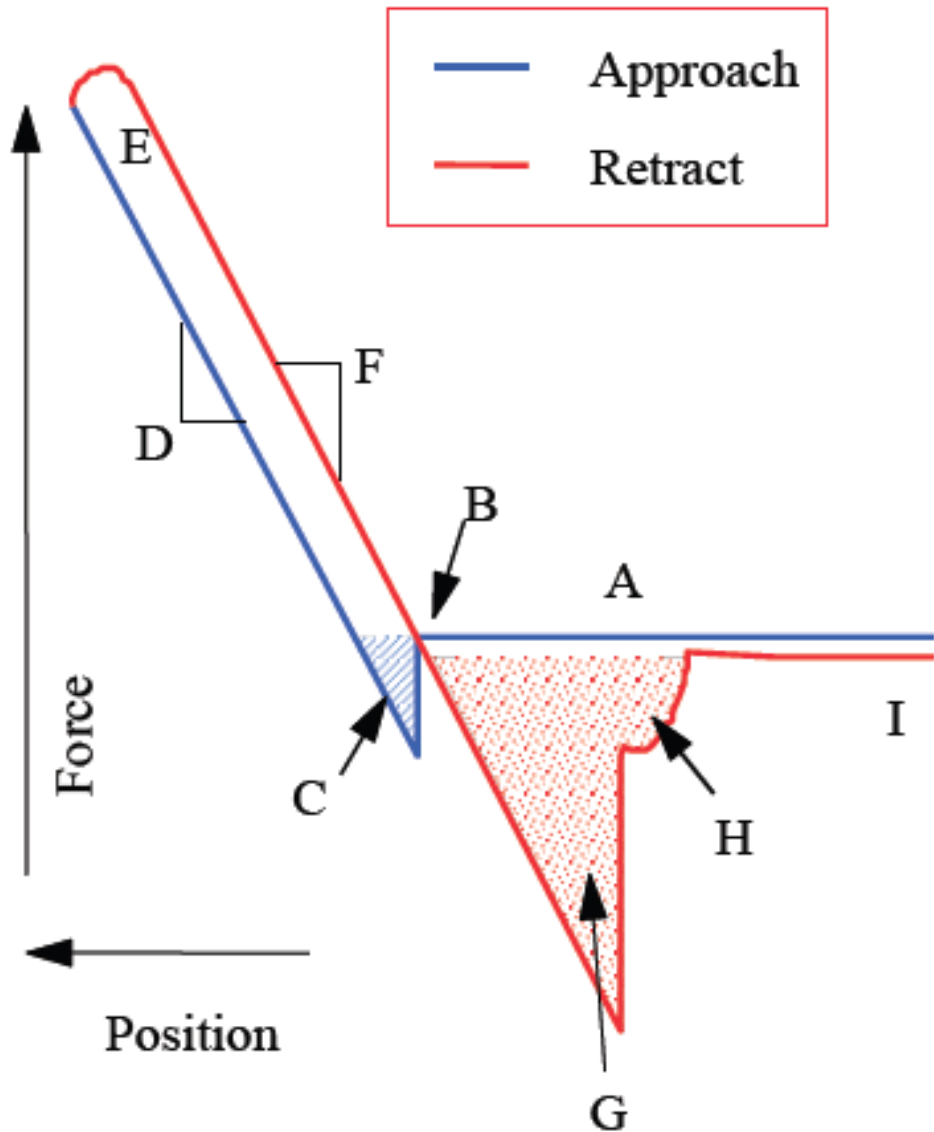


Si misura la forza di interazione punta-campione ad una posizione (X,Y) sul campione, in funzione della distanza, attraverso l'estensione o la ritrazione del traslatore piezoelettrico.

Vengono così prodotte curve forza-distanza, che misurano la forza di interazione punta-campione al variare della loro separazione.

- STUDI DI**
- o Elasticità
 - o Adesione
 - o Legami intramolecolari (es. DNA o proteine)
 - o Legami intermolecolari (es. antigene-anticorpo)

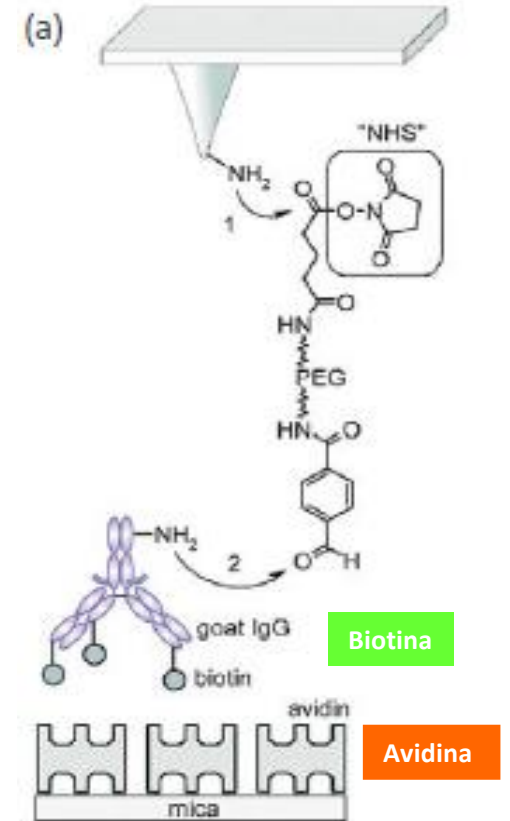
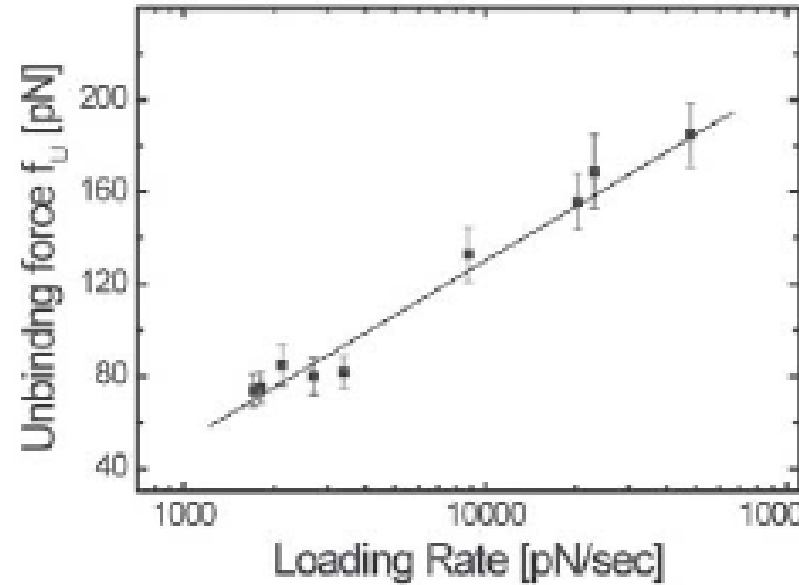
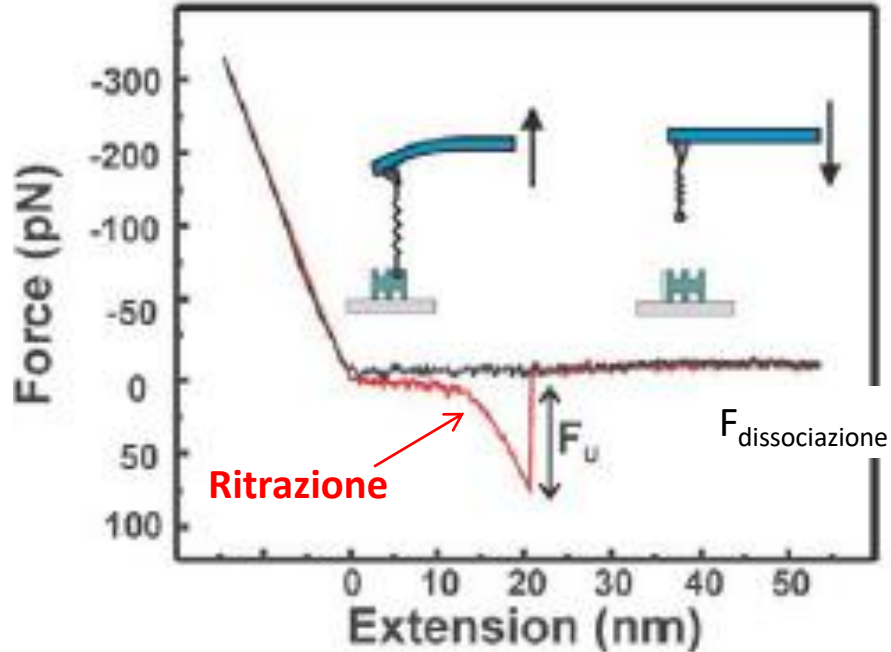
Force Spectroscopy



- A. La punta si avvicina alla superficie
- B. La punta viene a contatto con la superficie
- C. Lavoro di attrazione
- D. La punta penetra nel campione. La pendenza della retta dipende dalla rigidità superficiale
- E. Isteresi
- F. Lo scanner viene ritratto. La pendenza della retta dipende dalla rigidità superficiale
- G. Lavoro di adesione (energia per separare le due superfici)
- H. Ultimi legami da rompere (forze dei singoli legami)
- I. La punta si allontana dal campione

Applicazioni spettroscopia di forza

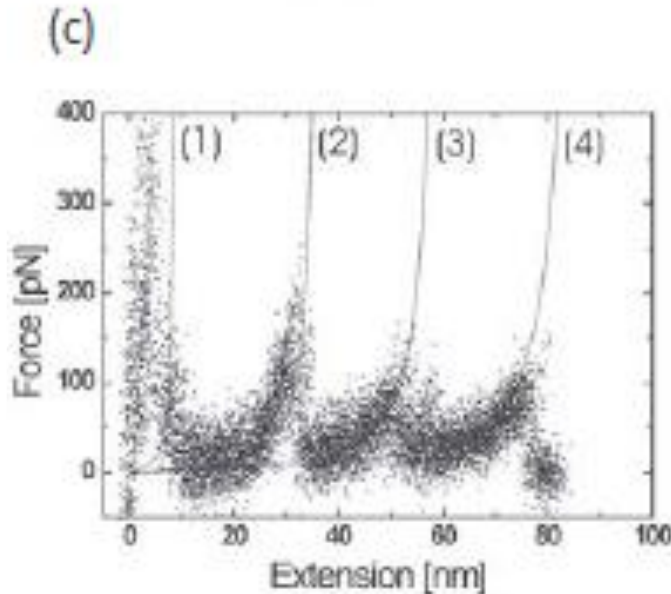
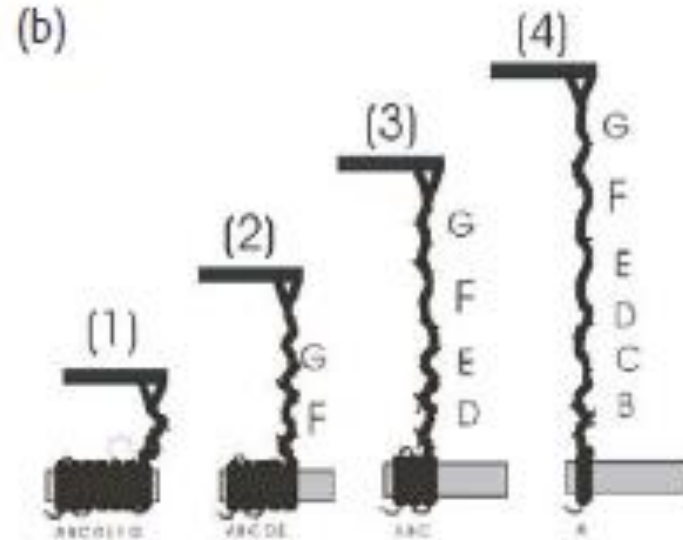
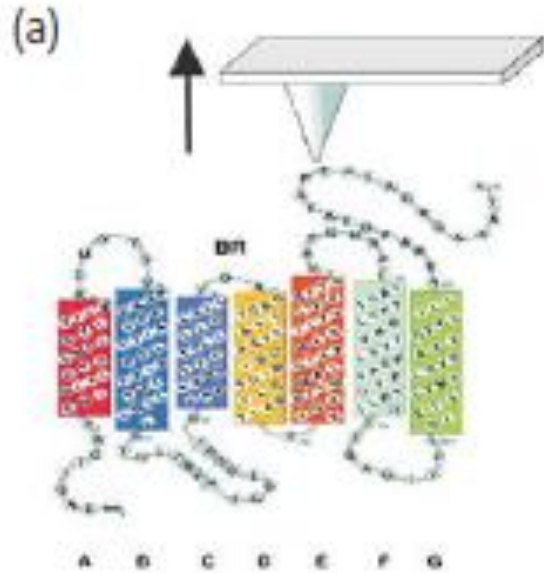
Riconoscimento molecolare: AVIDINA-BIOTINA



Durante la fase di ritrazione il contatto fisico punta-superficie esercita una forza crescente fino a che il complesso si dissocia ad un dato valore di forza. E' così possibile determinare la forza del legame

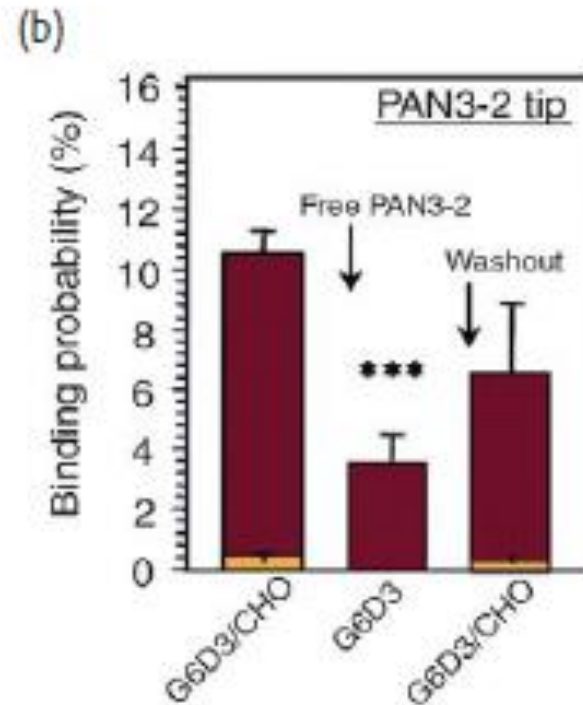
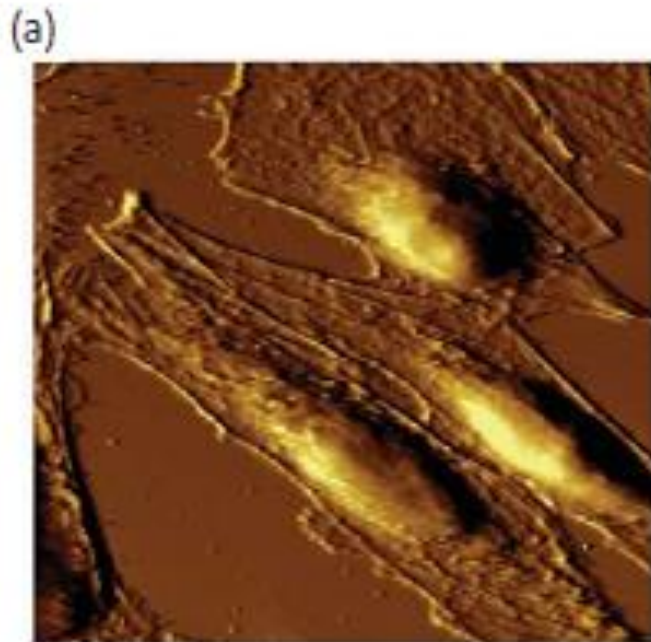
Variando la v di ritrazione è possibile studiare la formazione e la rottura del complesso

Può studiare i legami intramolecolari stirando una singola molecola tra substrato e punta AFM, misurando così forze di legame e cambiamenti conformazionali.



Una punta non funzionalizzata è portata contro uno strato di proteine legate ad un substrato, quindi si seguono le curve di ritrazione. Se la punta ha legato una molecola per adsorbimento aspecifico, la ritrazione determina il dispiegamento della molecola sospesa.

Es. Studio dell'interazione di anticorpi con il cotrasportatore Na^+ /glucosio (SGLT1) in cellule ovariche



L'AFM permette di riprodurre le condizioni fisiologiche durante le analisi, permettendo di effettuare studi su cellule vive variando, nel buffer di misura, condizioni quali temperatura, pH, concentrazione salina, presenza di effettori o inibitori, ecc.

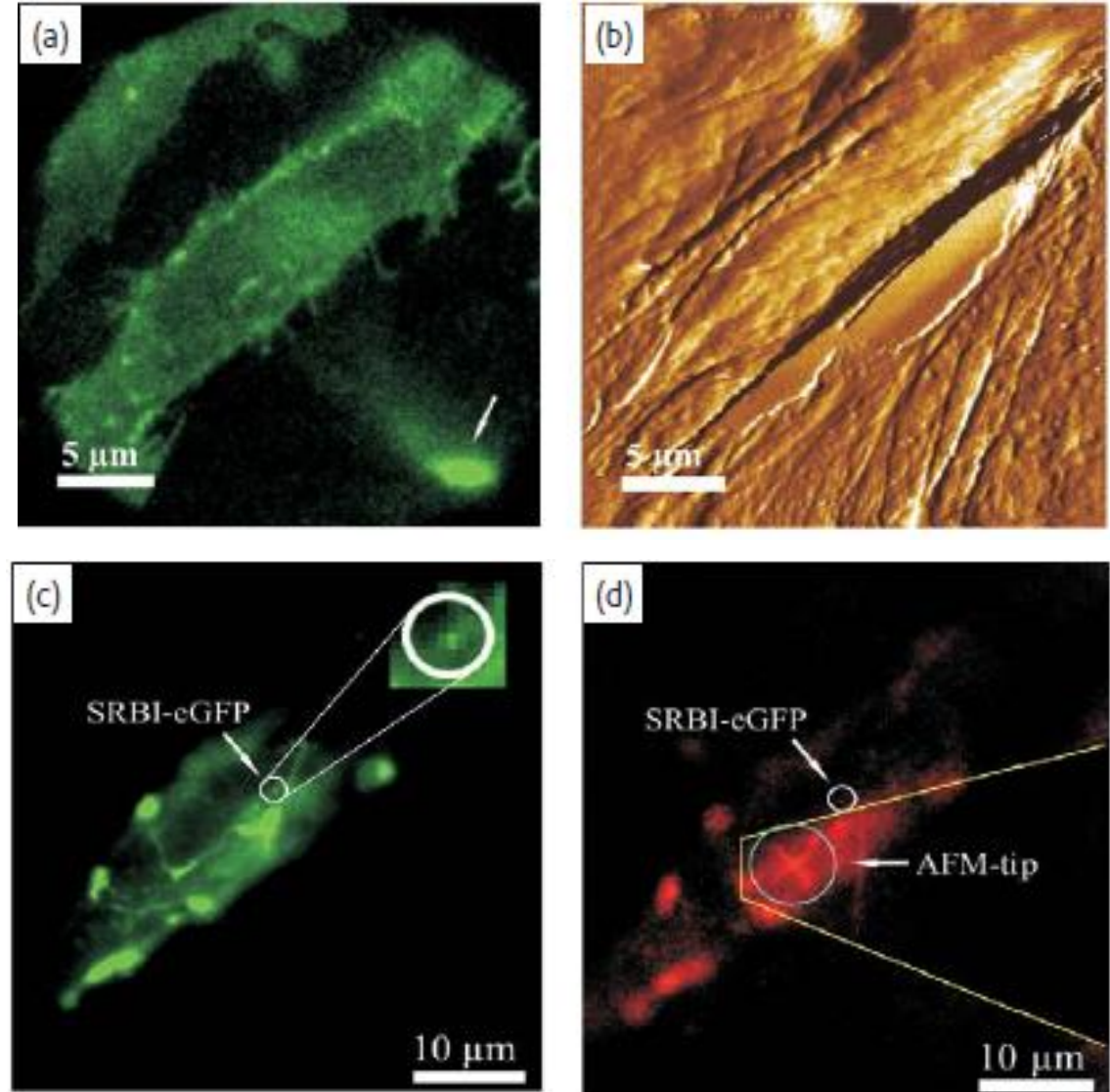
Le curve forza-distanza sono state eseguite su cellule trasfettate con SGLT1, funzionalizzando la punta con l'anticorpo di interesse.

AFM e microscopia a fluorescenza

La microscopia AFM può essere accoppiata alla microscopia a fluorescenza.

Mentre l'AFM risolve le caratteristiche della superficie cellulare e del citoscheletro, le immagini in fluorescenza mostrano, per esempio, la distribuzione dei recettori sulla superficie e all'interno della cellula

Le immagini a fluorescenza possono inoltre aiutare a scegliere il punto di maggiore interesse qualora si sia interessati a registrare curve forza-distanza per studiare un evento di riconoscimento specifico.



Analisi di superficie di materiali: linee guida

Preparazione

Conoscere la “storia” del campione

Evitare contaminazioni

Utilizzare materiali appropriati per la conservazione

Fare analisi prima e dopo la spedizione

Analisi

Indagine visiva e microscopica

Scegliere le tecniche di analisi più appropriate (necessarie più di una)

Sensibilità - risoluzione spaziale - profondità di campionamento

Consapevolezza di danneggiamenti/riarrangiamenti indotti dall'analisi

Le superfici possono cambiare nel tempo (invecchiamento)

e con l'ambiente circostante (mobilità)

Risultati

Confrontare risultati derivati con tecniche differenti

Ogni tecnica è “sensibile” a proprietà diverse

Metodi di indagine avanzati potrebbero essere necessari