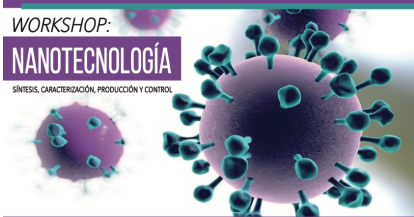




UDELAR
FACULTAD DE QUÍMICA

WORKSHOP:
NANOTECNOLOGÍA
SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN, PRODUCCIÓN Y CONTROL





UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

Microscopía Raman

Confocal y Microscopia de Fuerza Atómica



Mayo de 2019

Dr. Ricardo Faccio
Centro NanoMat/DETEMA
Facultad de Química
Universidad de la República
rfaccio@fq.edu.uy



1

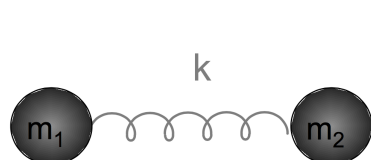
Punteo

- ❑ Modos Vibracionales
- ❑ Reglas de Selección: IR vs Raman
- ❑ Microscopia Óptica y Confocal
- ❑ Microscopia Raman Confocal
- ❑ Aplicaciones de Microscopía Raman Confocal
- ❑ Microscopia de Fuerza Atómica
- ❑ Modos de Medida
- ❑ Aplicaciones de Microscopía de Fuerza Atómica

Mayo de 2019

2

1. Modos Vibracionales



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

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

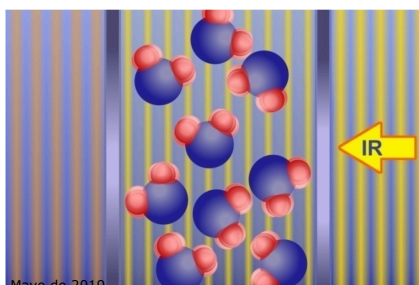
Bond	Bond Energy [kcal (kJ)]	Stretching Frequency (cm ⁻¹)
<i>Frequency dependence on bond energies</i>		
C—C	83 (350)	1200
C=C	146 (611)	1660
C≡C	200 (840)	2200
	↓ stronger bond	↓ $\bar{\nu}$ increases
Bond	Bond Energy [kcal (kJ)]	Stretching Frequency (cm ⁻¹)
<i>Frequency dependence on atomic masses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

Mayo de 2019

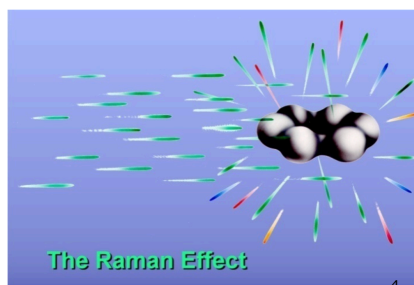
3

2. Reglas de Selección

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



Mayo de 2019



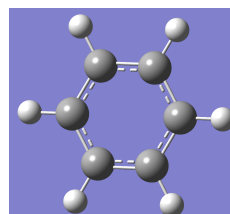
4

1. Modos Vibracionales

□ Número de modos depende de los grados de libertad

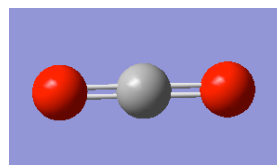
■ Moléculas no Lineales

- N° modos = $3N - 6$
- Ejemplo: Benceno
 - 30 modos



■ Moléculas Lineales

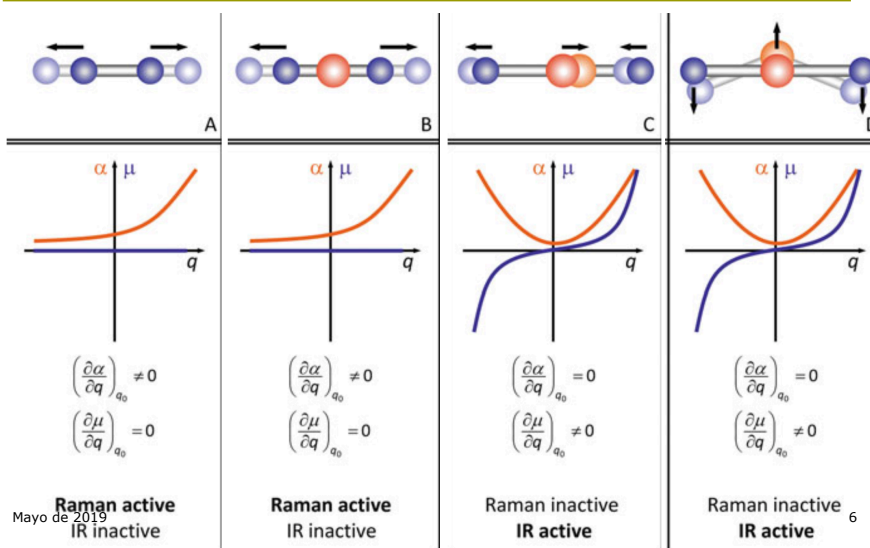
- N° modos = $3N - 5$
- Ejemplo: CO_2
 - 4 modos



Mayo de 2019

5

2. Reglas de Selección: IR vs Raman

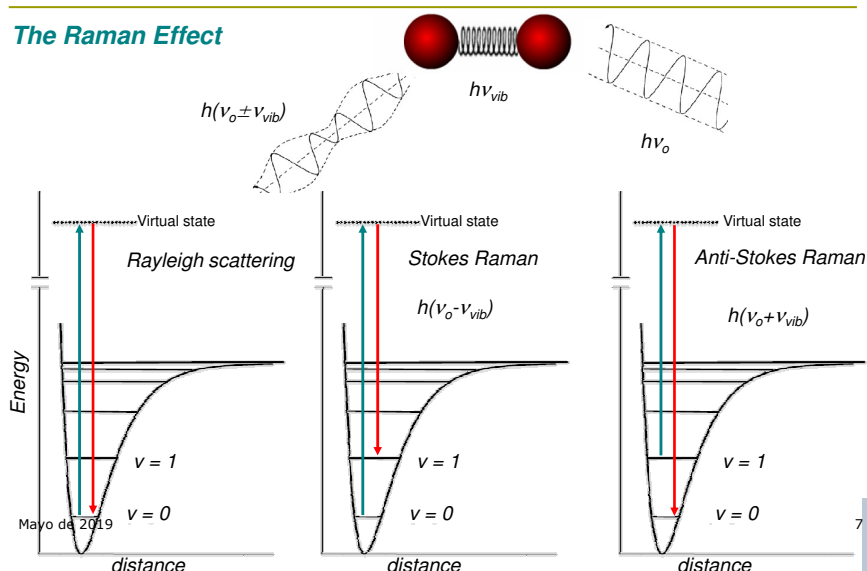


Mayo de 2019

6

2. El efecto Raman

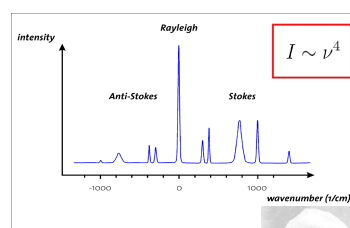
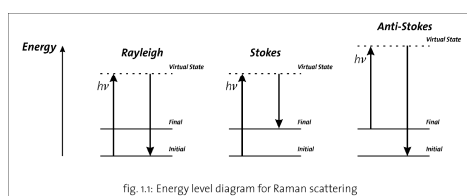
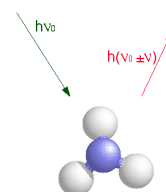
The Raman Effect



2. El efecto Raman

The Raman Effect

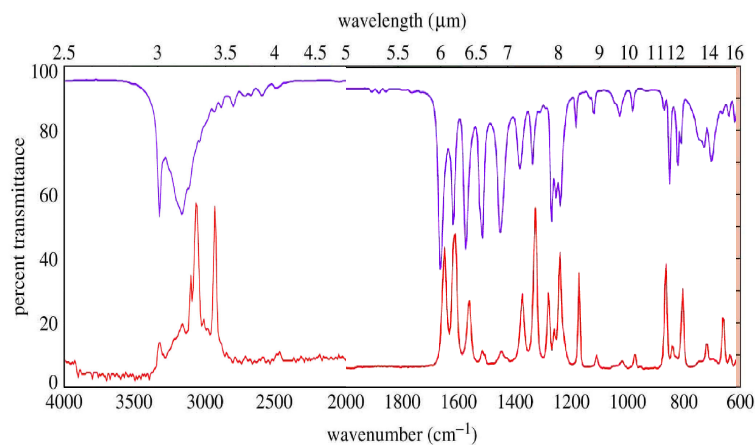
- non-resonant excitation (Stokes) or annihilation (Anti-Stokes) of a vibrational quantum
- energy shift between the exciting and scattered photon is characteristic for the molecules involved in the scattering process



- theoretical prediction 1923 by A. Smekal
 - experimentally discovered 1928 by Sir Chandrasekhara Raman, Nobel Prize 1930
- Mayo de 2019

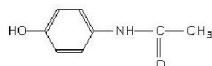


2. Infrarrojo vs. Raman



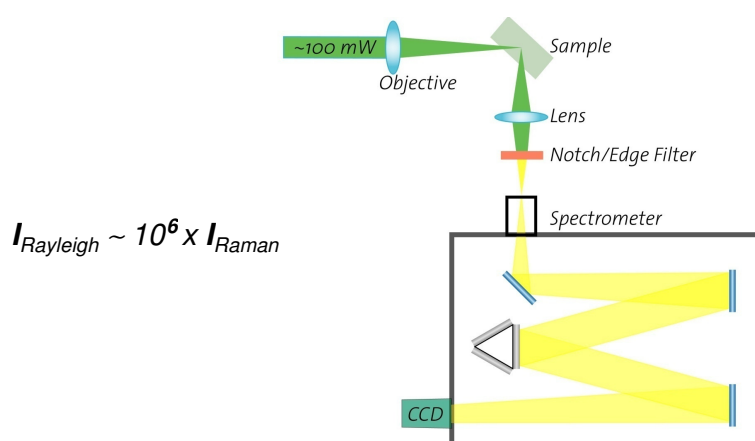
Mayo de 2019

Paracetamol



9

2. Esquema Típico de Experimento

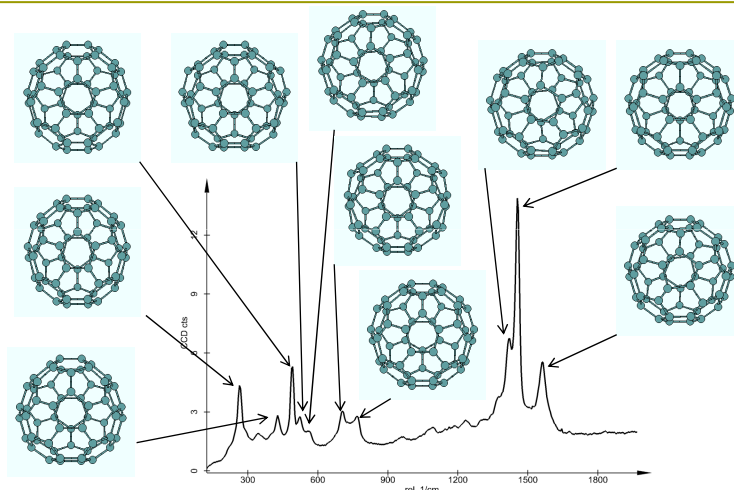


Mayo de 2019

- typical integration times: seconds - several minutes

10

2. Espectroscopia Raman



Mayo de 2019

chemical, but NO spatial resolution

11

2. Identificación de Bandas

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

Mayo de 2019

12

$\nu(\text{CC})$ allicyclic, aliphatic chain vibrations	600 - 1300 cm^{-1}	medium	Medium
$\nu(\text{C}=\text{S})$	1000 - 1250 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{CC})$ aromatic ring chain vibrations	*1580, 1600 cm^{-1}	strong	medium
	*1450, 1500 cm^{-1}	medium	medium
	*1000 cm^{-1}	strong/medium	weak
$\delta(\text{CH}_3)$	1380 cm^{-1}	medium	strong
$\delta(\text{CH}_2)$ $\delta(\text{CH}_3)$ asym	1400 - 1470 cm^{-1}	medium	medium
$\delta(\text{CH}_2)$ $\delta(\text{CH}_3)$ asym	1400 - 1470 cm^{-1}	medium	medium
$\nu(\text{C}-(\text{NO}_2))$	1340 - 1380 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{C}-(\text{NO}_2))$ asym	1530 - 1590 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(\text{N}=\text{N})$ aromatic	1410 - 1440 cm^{-1}	medium	-
$\nu(\text{N}=\text{N})$ aliphatic	1550 - 1580 cm^{-1}	medium	-
$\delta(\text{H}_2\text{O})$	~1640 cm^{-1}	weak broad	strong
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1610 - 1680 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1500 - 1900 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C}=\text{O})$	1680 - 1820 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(\text{C}\equiv\text{C})$	2100 - 2250 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	2220 - 2255 cm^{-1}	medium	strong
$\nu(\text{-S-H})$	2550 - 2600 cm^{-1}	strong	weak
$\nu(\text{C-H})$	2800 - 3000 cm^{-1}	strong	strong
$\nu(\text{=C-H})$	3000 - 3100 cm^{-1}	strong	medium
$\nu(\text{=C-H})$	3300 cm^{-1}	weak	strong
Mayo de 2019 $\nu(\text{N-H})$	3300 - 3500 cm^{-1}	medium	medium
$\nu(\text{O-H})$	3100 - 3650 cm^{-1}	weak	strong

13

2. Métodos Teóricos

▣ Cálculos *ab initio* o *Primeros Principios*

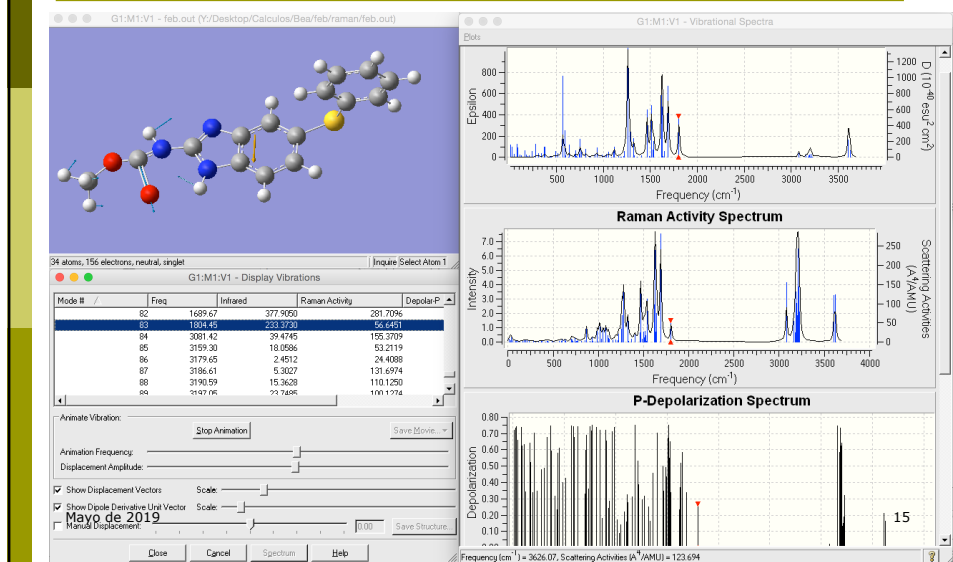
▣ *DFT*

■ *Gaussian*

Mayo de 2019

14

2. Simulación de IR y Raman

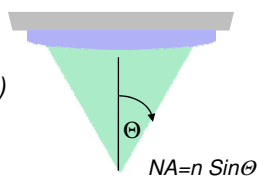


3 Microscopia Óptica Clásica

What is the resolution limit of a classical optical microscope?

Ernst Abbé (1840-1905): diffraction theory

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



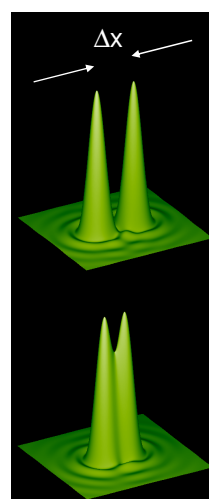
air: $NA \leq 0,95$ (340nm @ 532nm exc.)

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

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

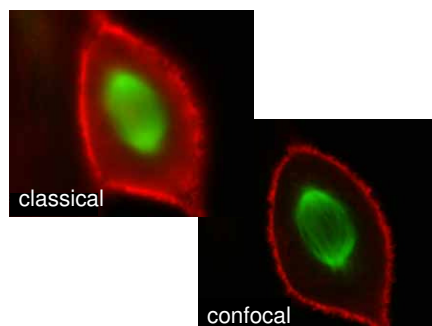
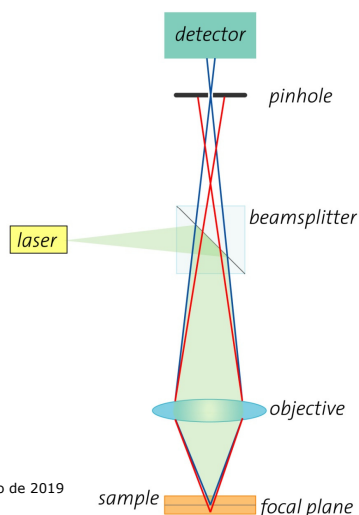
$$\text{resolution limit} \approx \lambda / 2$$

Mayo de 2019



3. Microscopia Confocal

confocal microscopy



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

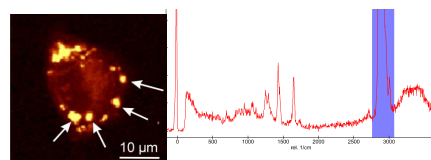
spatial, but NO chemical information

Mayo de 2019

3. Microscopio Confocal + Espectroscopia Raman

3-D Imaging with chemical sensitivity

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

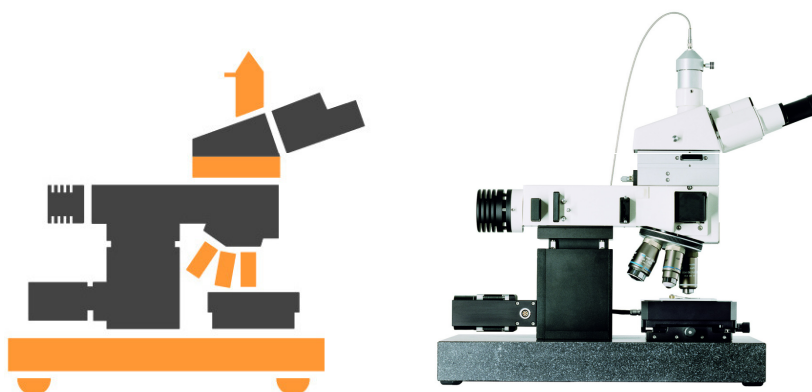


Parque Científico y Tecnológico de Pando (PCTP) /
Instituto Polo Tecnológico de Pando (IPTP)
ANII- Proyecto EQC_X_2012_1_14

Mayo de 2019

18

3. Microscopio Confocal + Espectrómetro Raman

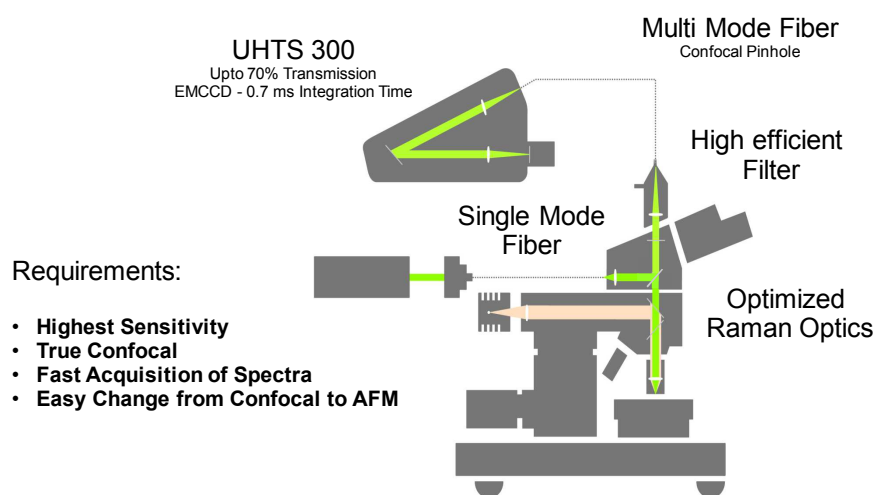


Imaging with chemical sensitivity

Mayo de 2019

19

3. Esquema



Mayo de 2019

20

3. Características de la Técnica

- ❑ No Destructivo
- ❑ Identificación Química Directa
- ❑ Identificación de Propiedades de Materiales
- ❑ Fácil o nula preparación de muestra
- ❑ Sólidos cristalinos, sólidos amorfos y Líquidos
- ❑ Detección 3-dimensional
- ❑ Variación de Temperatura (Linkam)
- ❑ Combinación de detección química con AFM (EFM & MFM)

Mayo de 2019

21

3. WITec Alpha 300 RA

WITec Confocal Raman Microscope System Alpha300R de alta sensibilidad para longitudes de onda de excitación de 532 nm y 785 nm.

- ❑ Imagen Espectral Raman: adquisición de espectros Raman completos en cada pixel (mapping)
- ❑ Adquisición de espectros Raman en áreas seleccionadas (micro-Raman)
- ❑ Imágenes 3D Raman confocal.
- ❑ Microscopía confocal de Reflexión
- ❑ Resolución Óptica: Límite de difracción, típico 300 nm @ 532 nm de longitud de onda de excitación (objetivo NA 1.4)
- ❑ Tamaño de la muestra: máx. 120 mm x e y dirección, 25 mm de altura
- ❑ **Dos espectrómetros y detectors CCD optimizados, uno para IR cercano y otro para rango Visible.**

Mayo de 2019

- ❑ Criostato para micro-confocal rango T= -196 C a 600 C (Linkam)

22

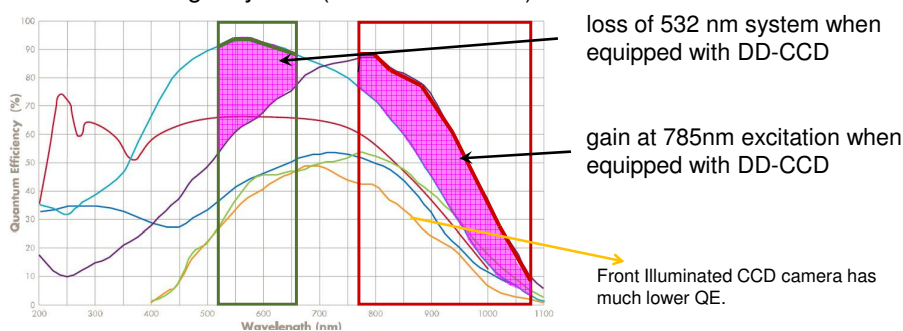
3. Plataforma Piezoeléctrica

- Plataforma piezoeléctrica para el barrido de muestras.
- Rango continuo de barrido de hasta 200µm en ejes X e Y y 20 µm en eje Z.
- Dispositivo de barrido lineal con feedback de loop cerrado
- Resolución de barrido:
 - Precisión de posicionamiento:
 - < 2 nm en eje ejes X e Y
 - < 0.2 nm (2 Å) en eje Z
- AFM, MFM y EFM
 - FSE_1_2014_1_102008 Fondo Sectorial de Energía - ANII
 - “Nanomateriales para almacenamiento de energía: nueva serie de cátodos₂₃ para baterías de ion-Litio”

Mayo de 2019

3. Doble CCD optimizada para cada región del espectro

dual wavelength system (532nm + 785 nm)



solution for optimized dual wavelength system:

=> 2 spectrometers + 2 cameras

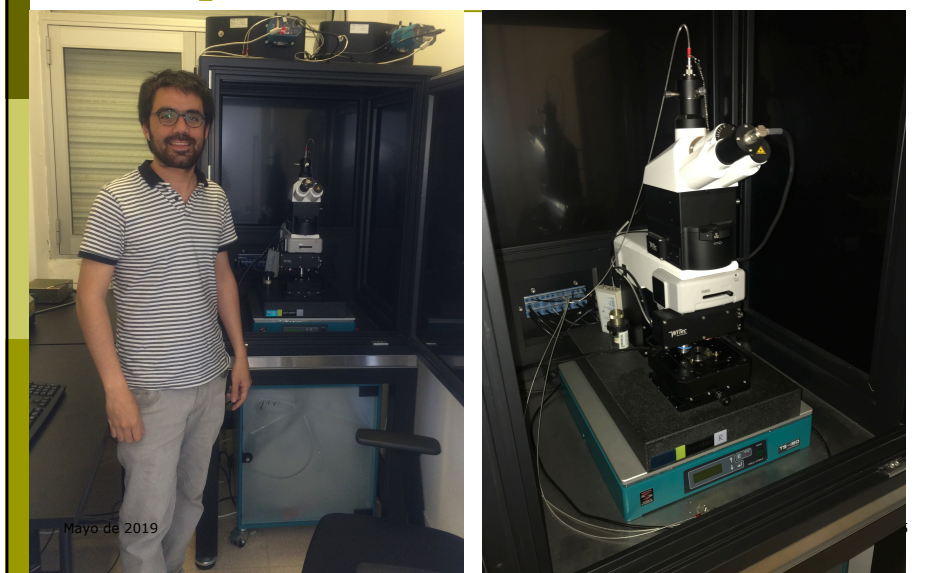
532nm excitation: 500nm blaze, standard BI-CCD

785nm excitation: 750nm blaze, DD-CCD

Mayo de 2019

24

3. Disposición



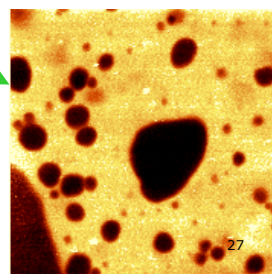
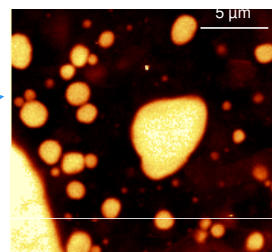
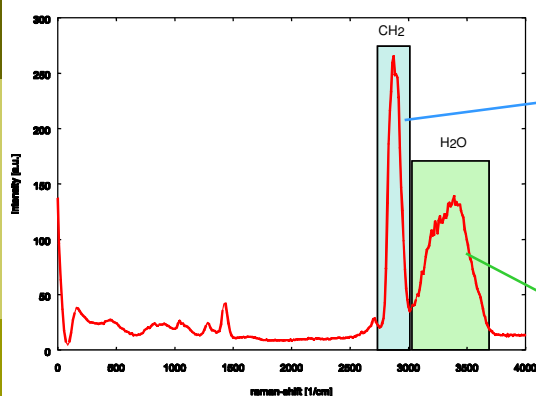
4. Aplicaciones

Microscopia Raman Confocal

Mayo de 2019

26

Imagen Raman: dispersión agua-aceite



Body lotion, imaging parameters:

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

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

Mayo de 2019
50ms/spectrum

Reconstrucción Imagen Raman 3D

Sample: Oil/Water Emulsion

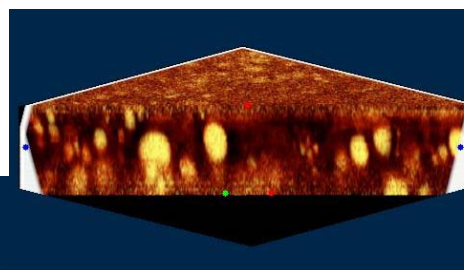
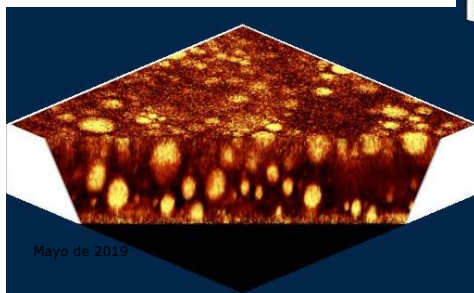
3-D Reconstruction

Evaluated Band: CH-Stretching

Excitation: 532nm

Scan Range XY: 100x100 μm

Scan Range Z: 30 μm/32 layers



Total number of Spectra: 517 500

Total Acquisition Time: 23 min

Mayo de 2019

28

Stents para Drug Delivery



Raman cross-sectional image of a coating of a drug plus polymer on a stent.
 Polymer (red),
 amorphous drug (green),
 crystalline drug (blue),
 polymer + amorphous drug (yellow).
 100x 10 microns scan.

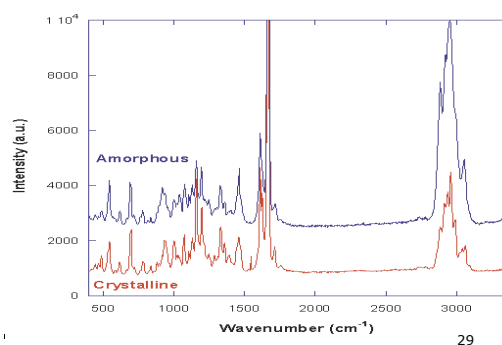
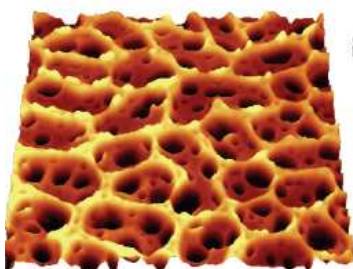


Image Courtesy: Mayo de 2019
 Dr. May de 2019 SurModics (www.surmodics.com)

Polímeros

Thin Film of PMMA - PET

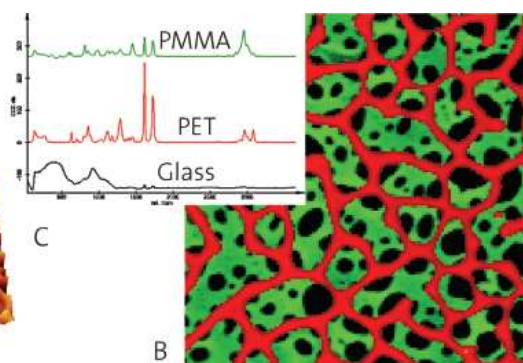
AFM image



20x20x0.2 μm^3 scan area

Mayo de 2019

Raman image



20x20 μm^2 scan area, 150x150 pixel
 •0.05 s integration time
 •total 22500 spectra

30

Blend PMMA+SBR

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

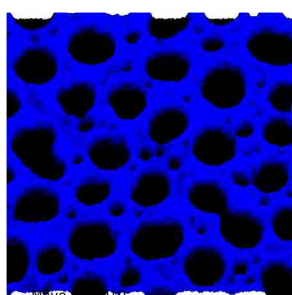
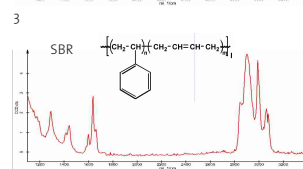
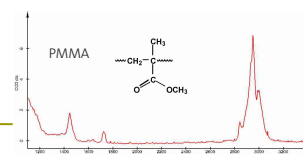
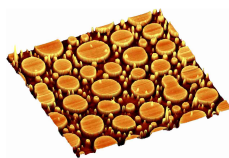


Fig. 9: Color coded Raman image of SBR resulting from the integral intensity of each spectrum.

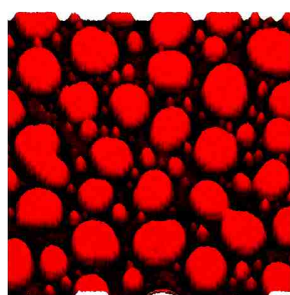


Fig. 10: Color coded Raman image of PMMA resulting from the integral intensity of each spectrum.

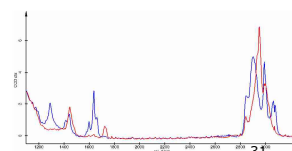


Fig. 11: Corresponding spectra: SBR (blue) and PMMA (red).

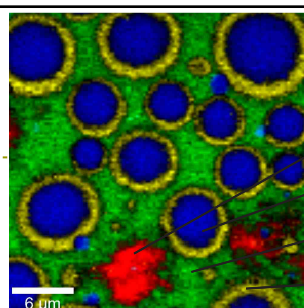


Fig. 2a: Raman Image of an emulsion used in food production. Scan range: 30 μm x 30 μm, 120x120 pixels (=14400 spectra, 532 Nd:Yag Laser for excitation, 100 x oil objective (NA=1.25)). Red + green: fatty matrix, blue: aqueous phase, yellow: emulsifier PGPR

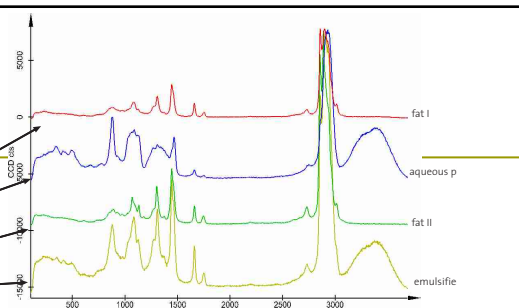
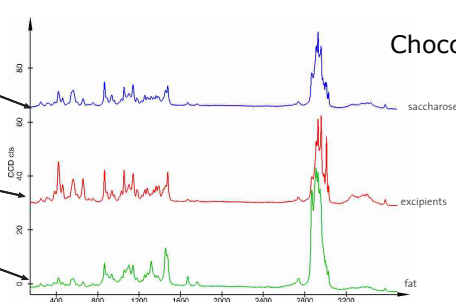
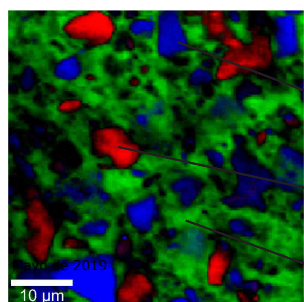


Fig. 2b: Corresponding spectra of the compounds contained within the emulsion.

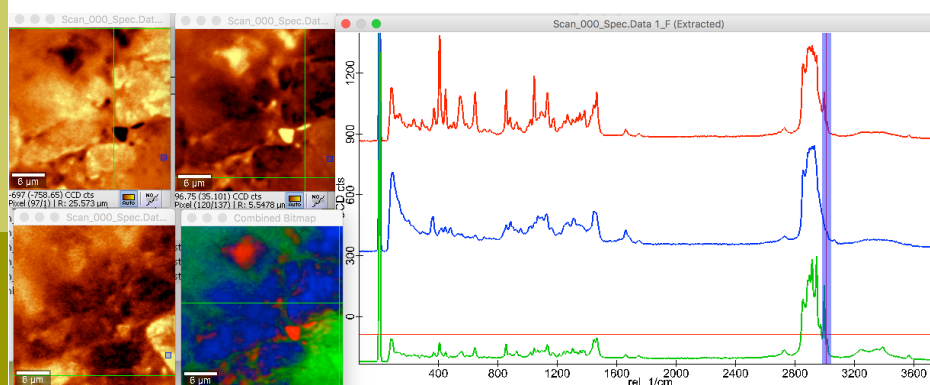


Chocolate blanco

32

Chocolate Blanco (toblerone)

□ Sacharose, Maltose and Fats

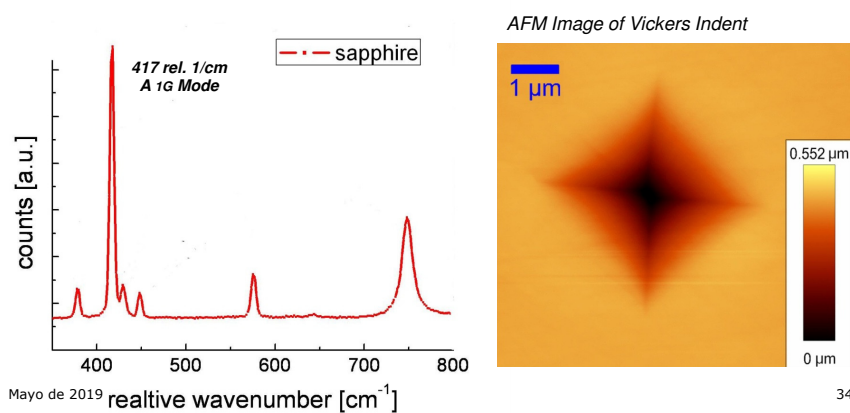


Mayo de 2019

33

Medidas de Tensiones Residuales

Sample: Vickers Indent in Single Crystal Sapphire
Internal Stress Measurement based on Peak Shift of Raman Spectrum

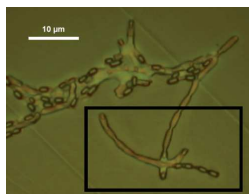


Mayo de 2019

34

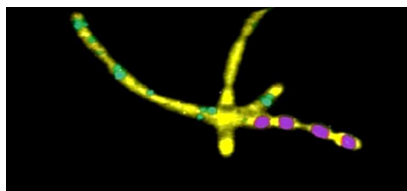
Células Bacterianas

Characterization and Detection of Metabolic Compounds



Bacillus Cereus
Three cellular components

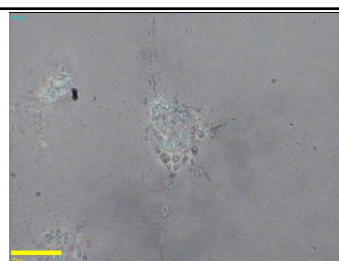
Yellow: vegetative cells
Green: incorporation traces of PHB
Magenta: spores after stationary growth phase



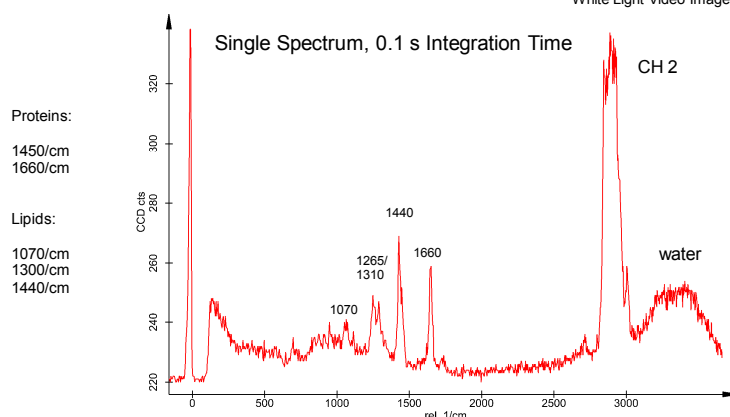
→ Diagnostic power to identifying phenotypic heterogeneity

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

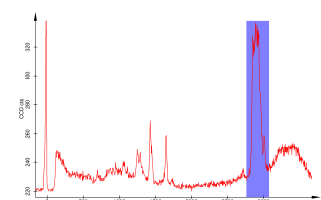
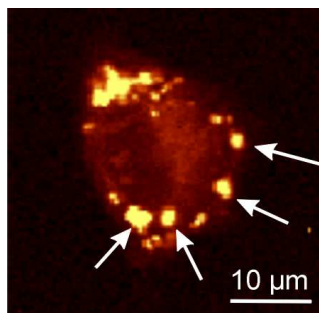
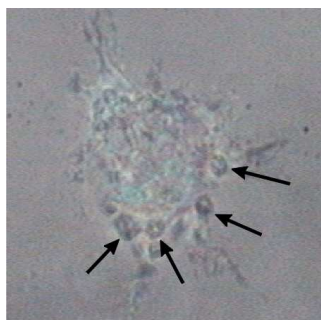
Células Vivas: células epiteliales de Rata



White Light Video Image



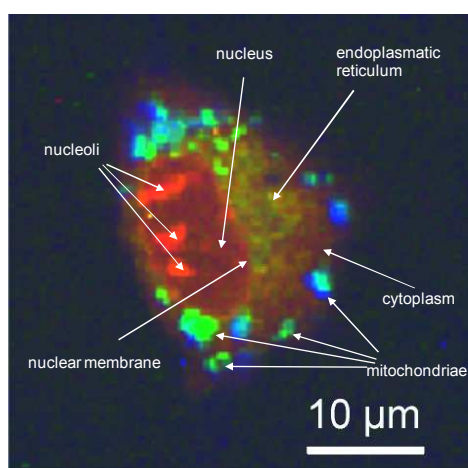
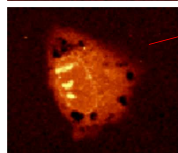
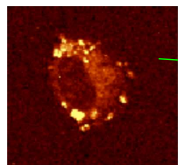
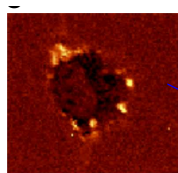
Células epiteliales en Buffer



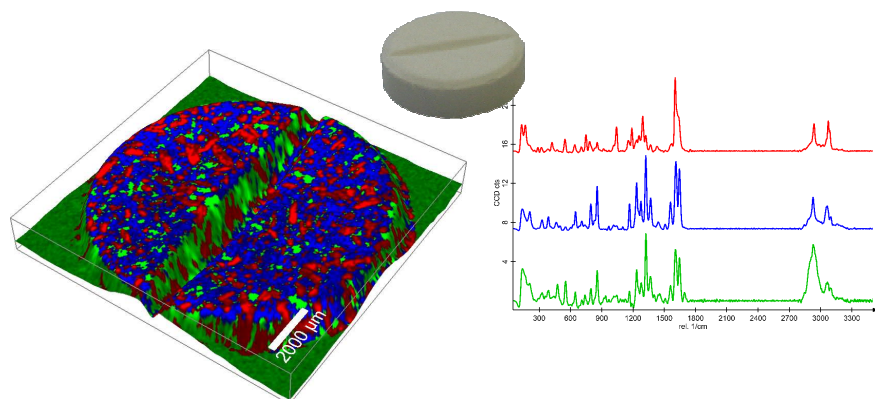
Intensity in the CH₂ stretching band
(2800 - 3000 / cm)

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

Imagen reconstruida



Tabletas: API y Excipientes



Confocal Raman Image overlaid on the topography

Mayo de 2019

Corresponding Spectra

Red & Blue : API

Green : Excipient

39

Stents para Drug Delivery



Raman cross-sectional image of a coating of a drug plus polymer on a stent.

Polymer (red),
amorphous drug (green),
crystalline drug (blue),
polymer + amorphous drug (yellow).
100x 10 microns scan.

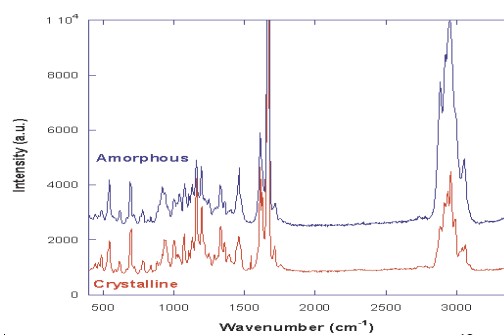
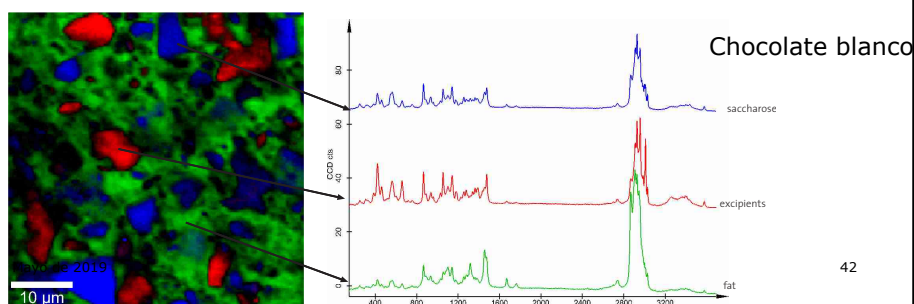
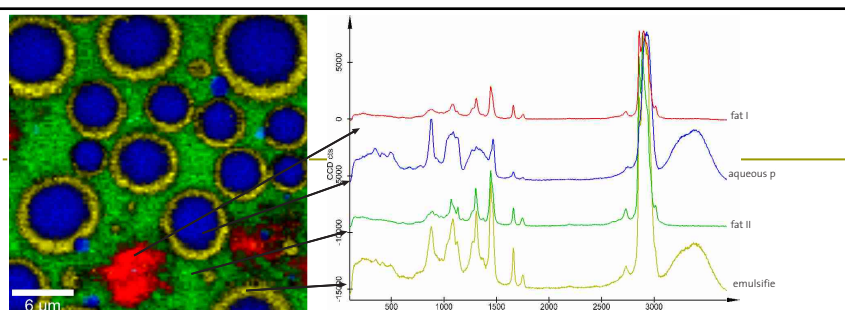
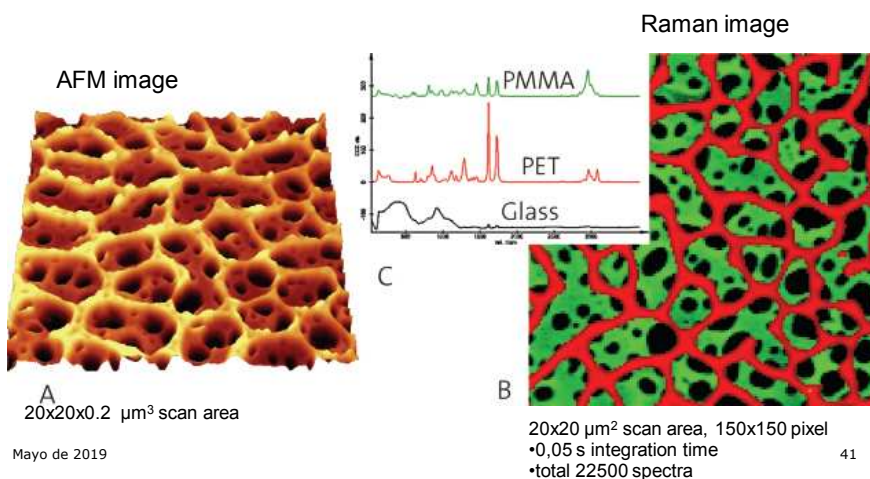


Image Courtesy: Mayo Clinic, SurModics (www.surmodics.com)

40

Polímeros

Thin Film of PMMA - PET



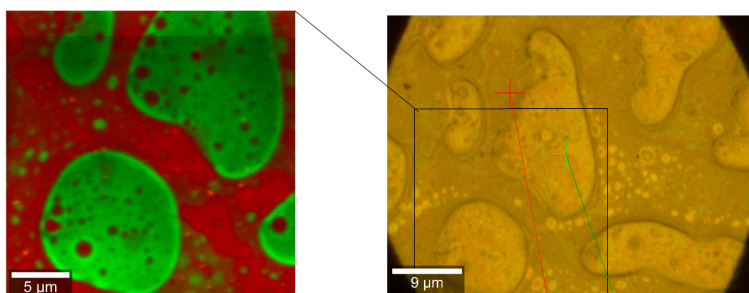
Experiencias

WITec alpha300RA

Mayo de 2019

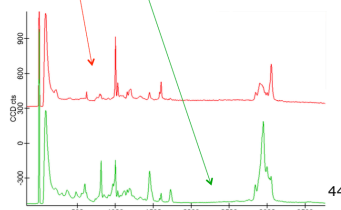
43

Ejemplo 1: Blend PMMA+PS



Mezcla de Poliestireno (PS) con polimetilmetacrilato (PMMA). Se identifican dos zonas (roja y verde), se obtiene un espectro raman en ambos lugares. El espectro indica que la zona marcada en verde es PMMA y la roja PS

Observando las diferencias en el mapping correspondiente al recuadro negro, donde se obtiene la imagen combinada de ambos componentes.

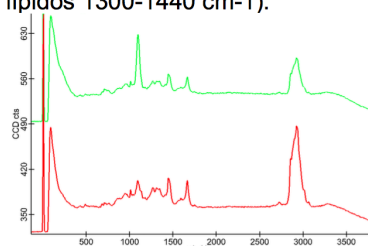


Mayo de 2019

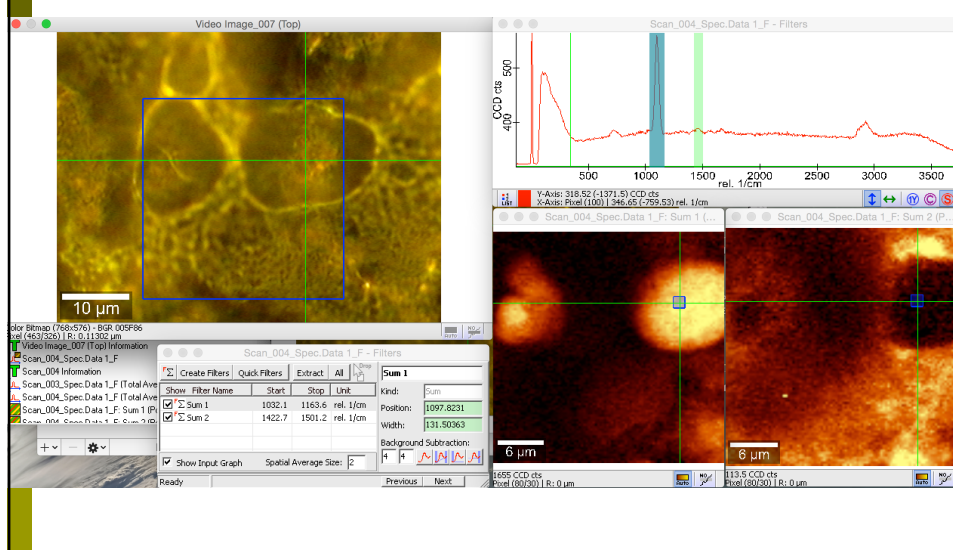
44

Ejemplo 2: Mesocestoides vogae larva tetrathyridea

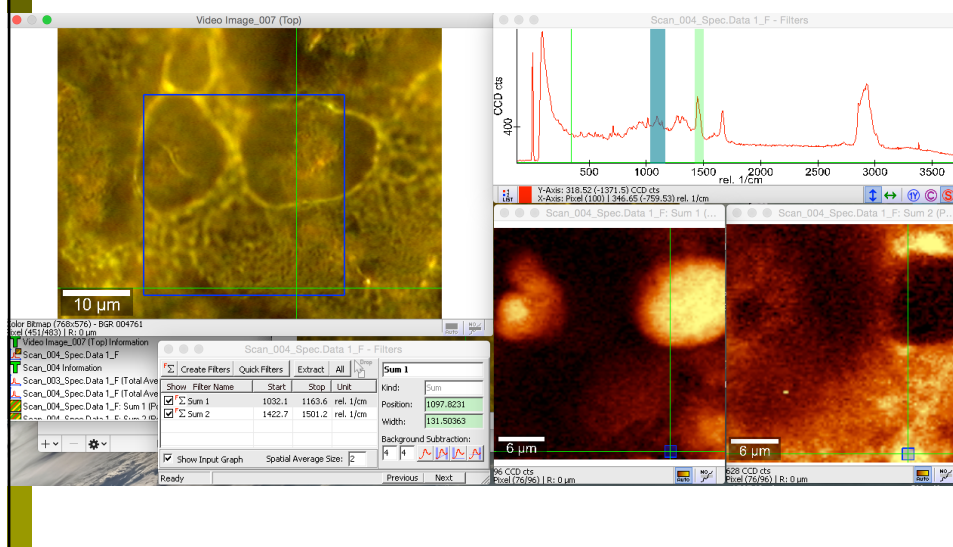
Identificación monohidrocalcita (verde) en *Mesocestoides vogae* (Lab. Farmacología/LEA Fac. de Química), gracias a la presencia de la banda ubicada a 1100 cm^{-1} , notar la imagen con contraste (verde). Por otra parte, las bandas restantes permiten identificar diferentes regiones de la membrana (bandas C-H $2700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, proteínas $1660\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$, lípidos $1300\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$).



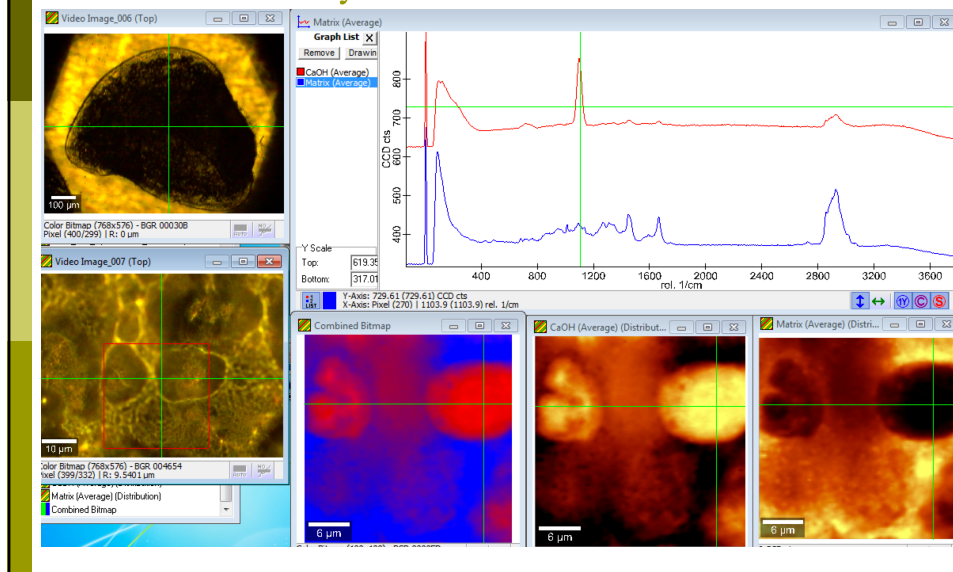
Ejemplo 2: Mesocestoides vogae larva tetrathyridea



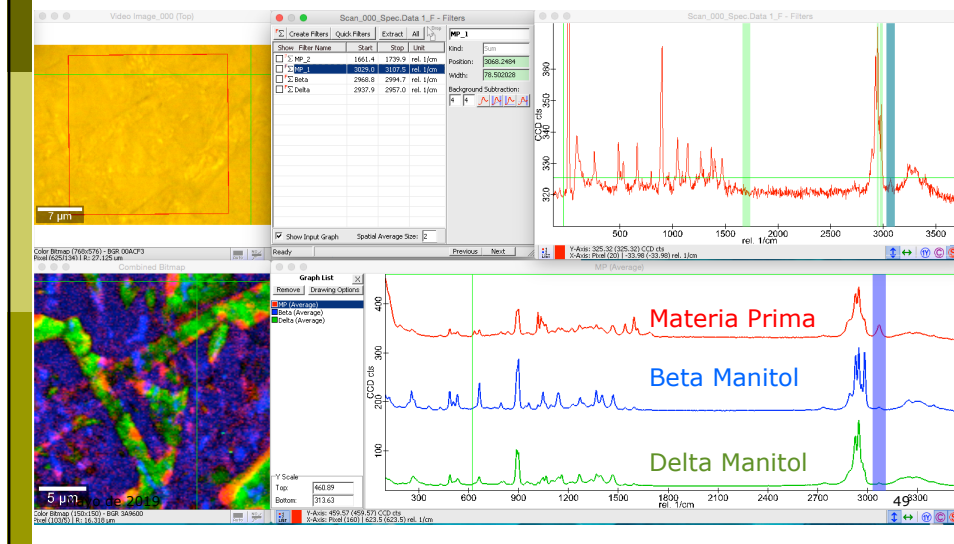
Ejemplo 2: Mesocestoides vogae larva tetrathyridea



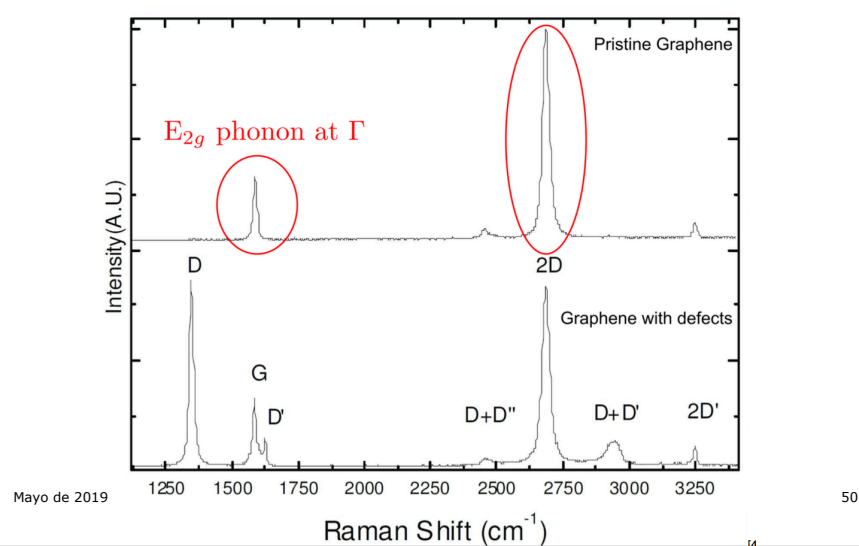
Ejemplo 2: Mesocestoides vogae larva tetrathyridea



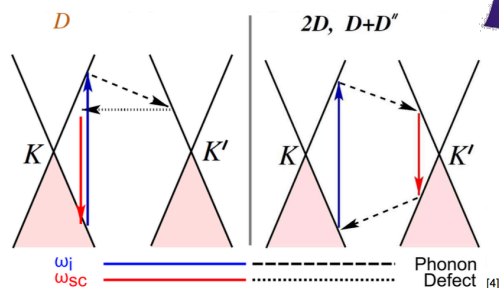
Ejemplo 3: Formulaciones: Mannitol+ API



Ejemplo 4: Grafeno



Ejemplo 4: Grafeno



D

- Intervalley scattering with TO phonon at K-point, $\vec{q}_{ph} \neq 0$
- D peak requires defect scattering to conserve momentum

Mayo et al.

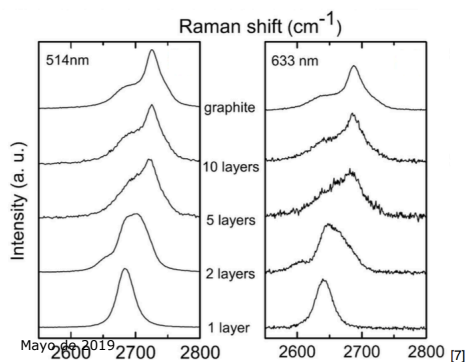
2D

- Double-resonant, intervalley scattering^[5] requires no defects
- Strong e⁻-ph coupling: 2D peak is more intense than G

51

Ejemplo 4: Grafeno

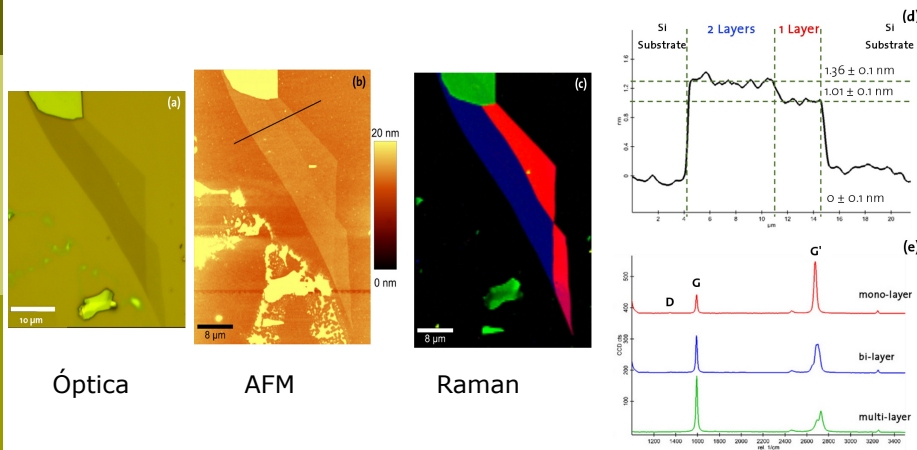
"Position and fwhm of the G and 2D peak(...)confirm presence of single-layer graphene"



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

52

Ejemplo 4: Grafeno y MLG



Óptica

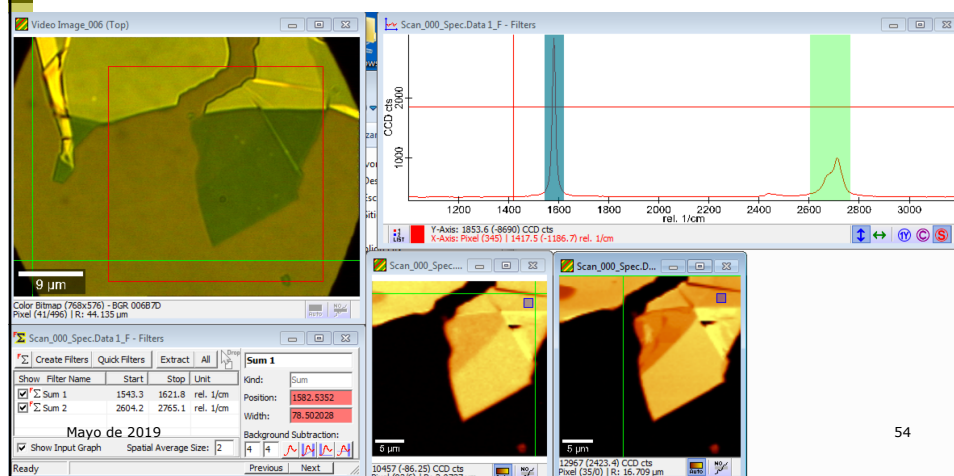
AFM

Raman

Mayo de 2019

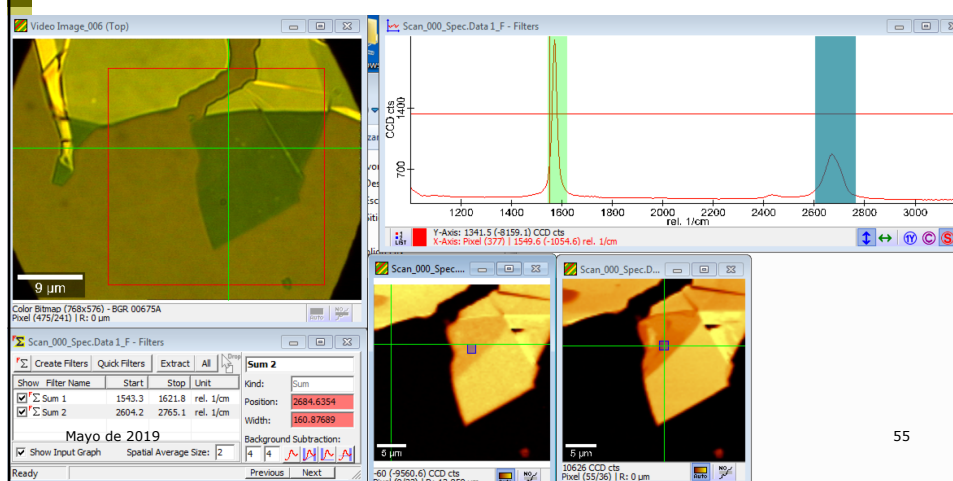
53

Ejemplo 4: Grafeno



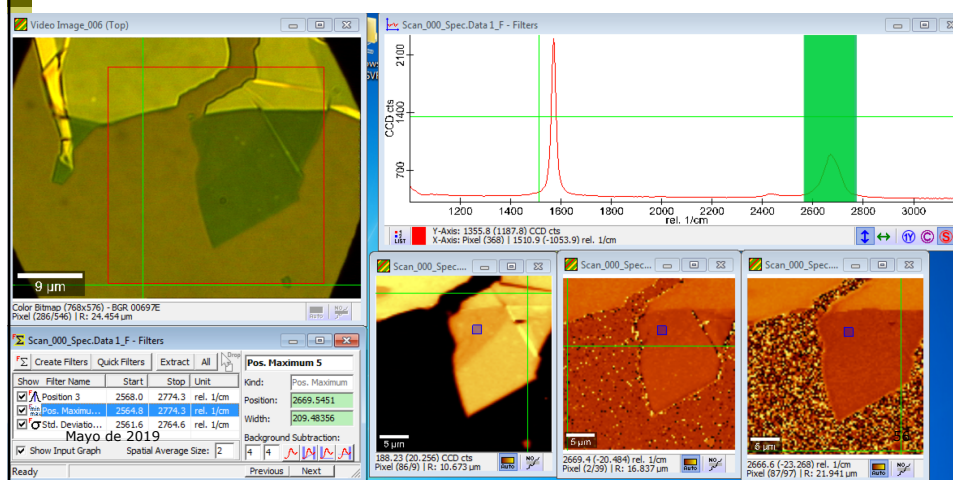
54

Ejemplo 4: Grafeno

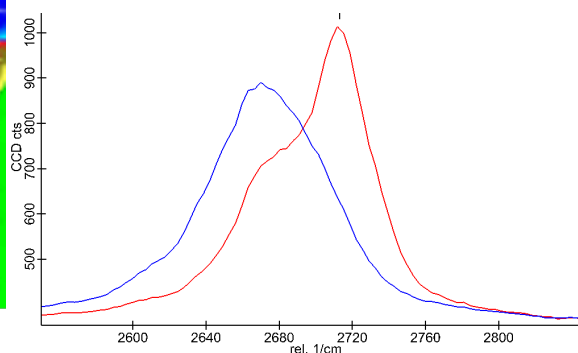
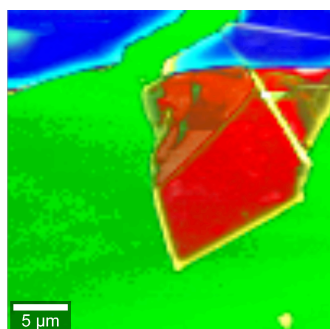


55

Ejemplo 4: Grafeno



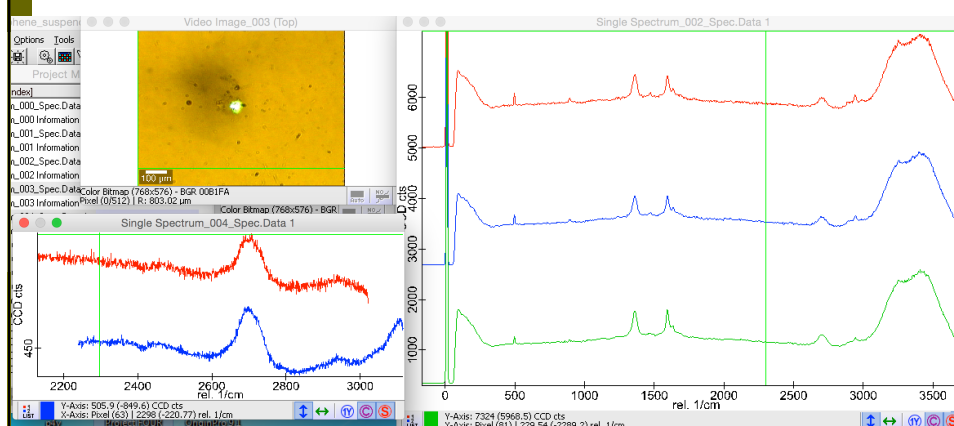
Ejemplo 4: Grafeno



Mayo de 2019

57

Ejemplo 4: Grafeno en Solución



Mayo de 2019

58

Ejemplo 4: Cuantificación de Defectos

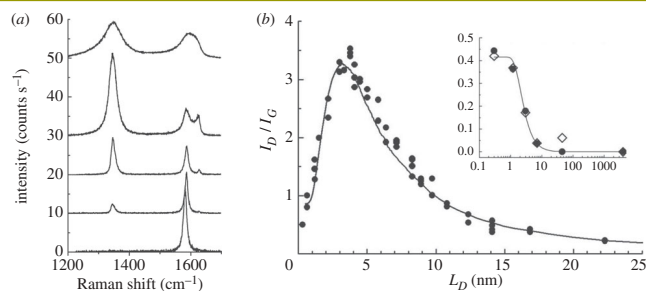


Figure 3. (a) Evolution of the first-order Raman spectra (using a $\lambda = 514$ nm laser) taken from a graphene monolayer sample deposited on an SiO_2 substrate, subjected to Ar^+ ion bombardment. The ion doses are from the bottom to the top, 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} and 10^{14} $\text{Ar}^+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

Mayo de 2019

59

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

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono

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

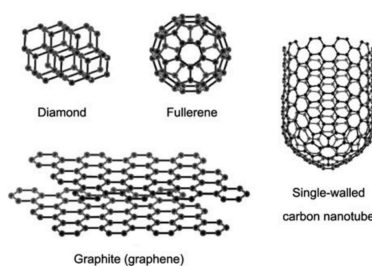
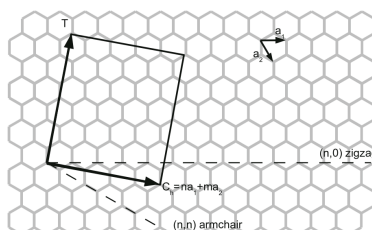


Fig. 5.2 The vector C_h describes how a sheet of graphene is rolled up to create a carbon nanotube [6]

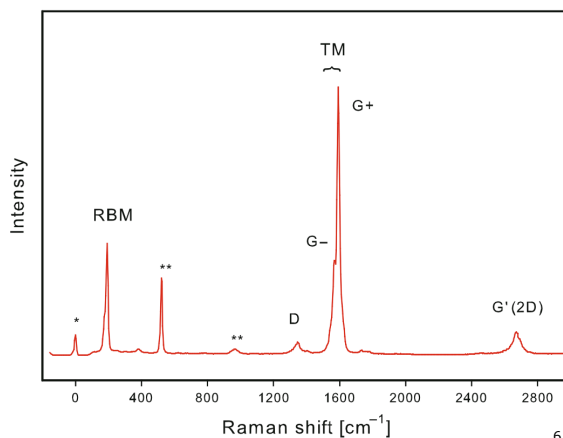


Mayo de 2019

60

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono

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



Mayo de 2019

61

Ejemplo 5: Nanotubos de Carbono

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

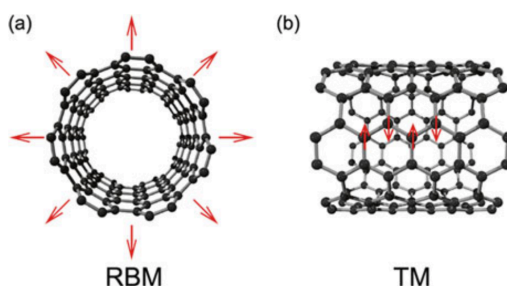
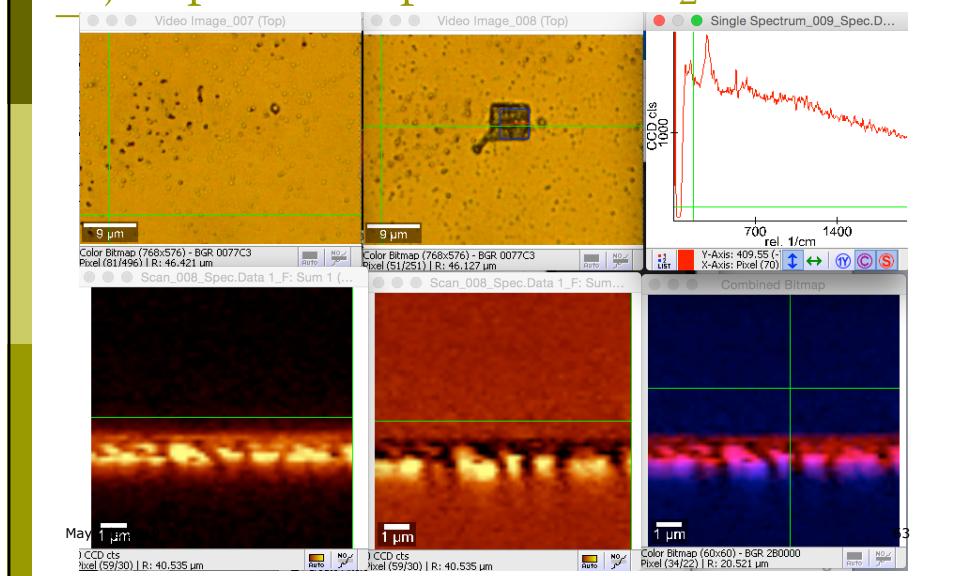


Fig. 5.4 Raman-active vibrational modes of carbon nanotubes. **(a)** The so-called radial breathing mode (RBM) is a prominent feature of the tubular nanostructure and not present in planar graphite. The Raman shift of the RBM is approximatively inversely proportional to the tube diameter. **(b)** Another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

62

Ejemplo 6: Depth Scan Cu_2O

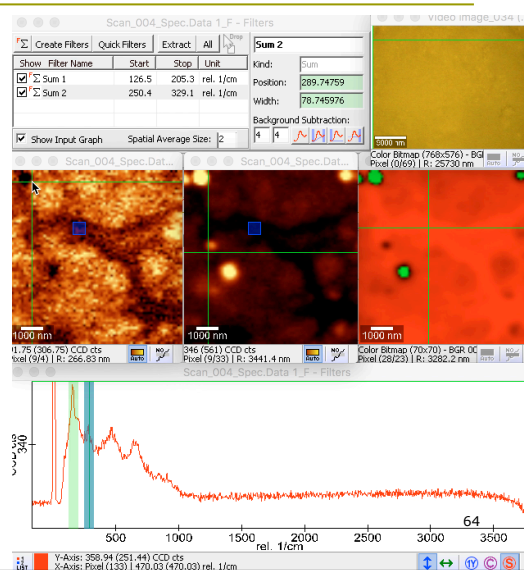


Ejemplo 7: Caracterización de NT

Ejemplo de Funcionamiento:

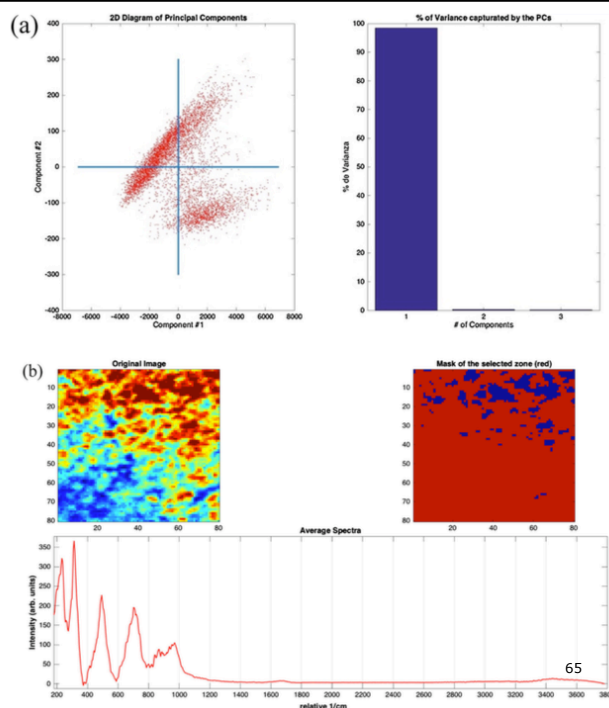
- Muestra de NT calentados a $T=200^\circ\text{C}$.
- Presencia de Nanopartículas de Anatasa en muestra de NT.

Mayo de 2019



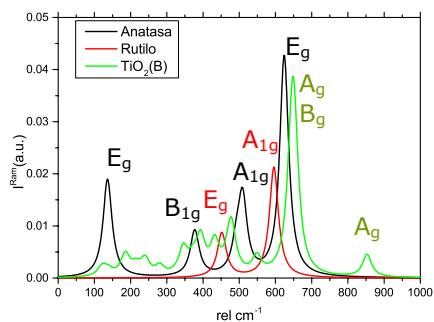
PCA para los fotoelectrodos de HTNT

Mayo de 2019



Modelado: Espectros Raman de polimorfos de TiO_2

Espectros Raman Calculados



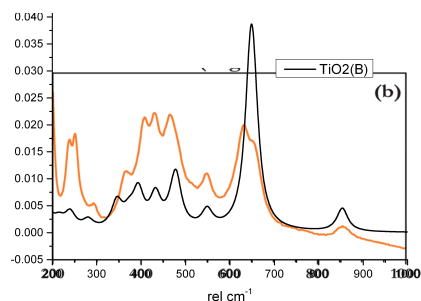
Mayo de 2019

Cálculos DFT: Código VASP

Ecut=400 eV

Ondas Planas

DFPT fonones



Espectros Raman Calculados y Experimental: 66
Dylla et al, J. Phys. Chem. Lett. 2012, 3, 2015 2019

□ Raman con AFM

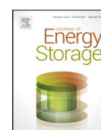
Journal of Energy Storage 12 (2017) 66–77



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Energy Storage

journal homepage: www.elsevier.com/locate/est



Characterization of titanate nanotubes for energy applications

Luciana Fernández-Werner, Fernando Pignanelli, Benjamín Montenegro,
Mariano Romero, Helena Pardo, Ricardo Faccio*, Álvaro W. Mombrú

Centro NanoMat/CryssMat-Lab, DETEMA, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay



Mayo de 2019

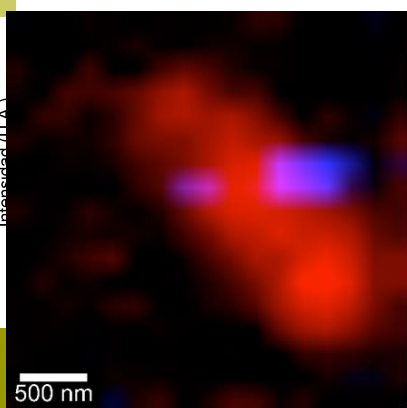
67

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PchNPs-Microorganismo.

Escherichia coli

Microscopía Raman Confocal



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

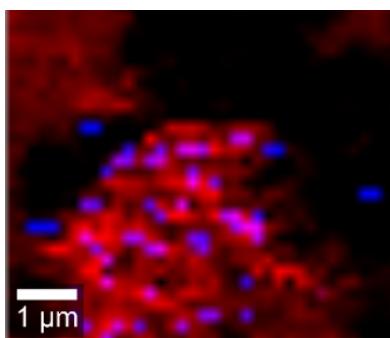
Asignación según De Gelder et al., *J Raman Spectroscopy*, 2007, 38(9), 1133-1147

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PchNPs-Microorganismo.

***Staphylococcus aureus*.**

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm^{-1}) ($\pm 4\text{cm}^{-1}$)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PchNps
663	Ácidos nucleicos	Disminuye
790	Aminoácidos	Disminuye
879	Aminoácidos	Disminuye
929	Polisacáridos	Disminuye
1116	Polisacáridos	Disminuye
1325	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Disminuye
1538	Ácidos grasos	Disminuye

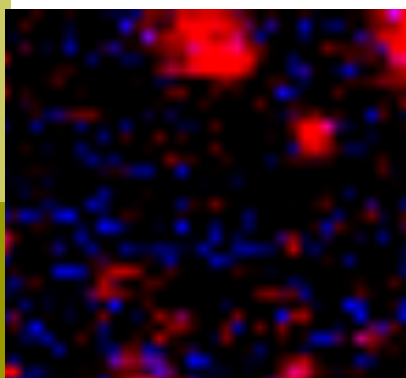
69

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

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PchNPs-Microorganismo. ***Candida albicans*.**

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm^{-1}) ($\pm 4\text{cm}^{-1}$)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PchNps
670	Ácidos nucleicos	Disminuye
788	Aminoácidos	Disminuye
885	Aminoácidos	Disminuye
999	Polisacáridos	Disminuye
1100	Polisacáridos	Disminuye
1319	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Disminuye
1596	Ácidos grasos	Disminuye

70

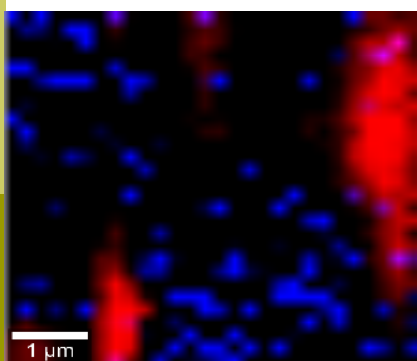
Asignación según De Gelder et al., *J Raman Spectroscopy*, 2007, 38(9), 1133-1147

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PeNPs-Microorganismo.

Escherichia coli.

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm ⁻¹) (±4cm ⁻¹)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PeNp
624	Ácidos nucleicos	Desaparece
810	Aminoácidos	Disminuye
982	Polisacáridos	Aumenta
1186	Polisacáridos	Desaparece
1308	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Aumenta

71

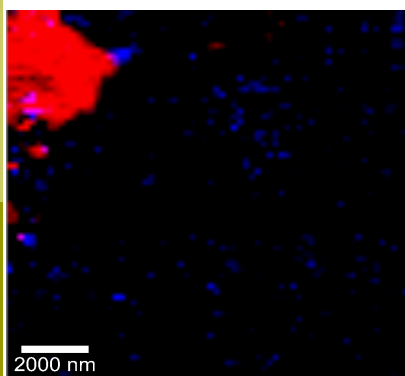
Asignación según De Gelder et al., *J Raman Spectroscopy*, 2007, 38(9), 1133-1147

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PeNPs-Microorganismo.

Staphylococcus aureus.

Microscopía Raman Confocal



Corrimiento Raman (cm ⁻¹) (±4cm ⁻¹)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PeNp
993	Polisacáridos	Disminuye
1092	Polisacáridos	Disminuye
1327	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Disminuye
1587	Ácidos grasos	Disminuye

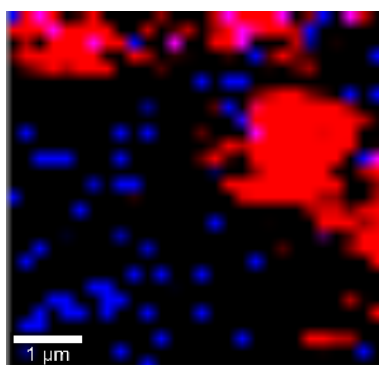
72

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

Ejemplo 8: Interacción de Bacterias con Ag-NP

Evaluación de la Interacción PeNPs-Microorganismo. ***Candida albicans***.

Microscopía Raman Confocal



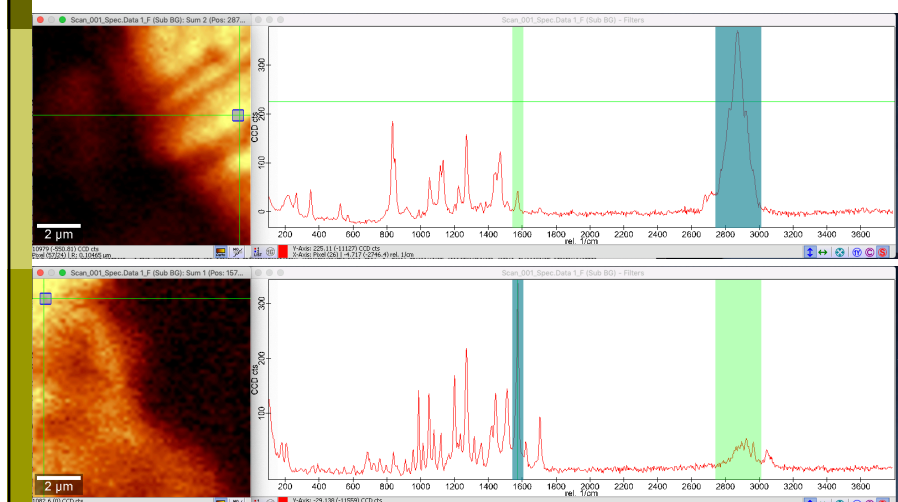
Corrimiento Raman (cm^{-1}) ($\pm 4\text{cm}^{-1}$)	Asignación de bandas	Comparación con células tratadas con PeNP
698	Ácidos nucleicos	Disminuye
750	Aminoácidos	Disminuye
991	Polisacáridos	Igual
1318	Aminoácidos o ácidos nucleicos	Igual
1597	Ácidos grasos	Disminuye

73

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

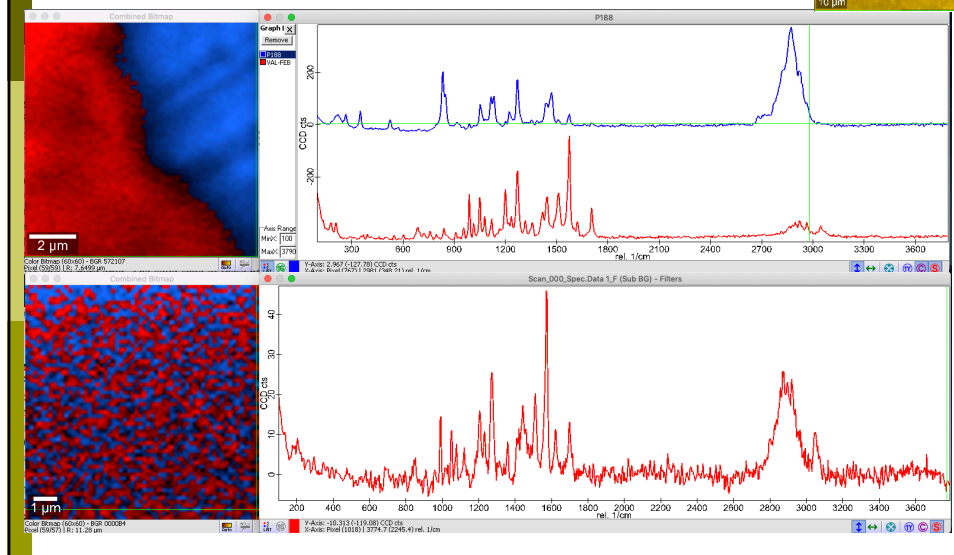
Ejemplo 9: Formulaciones Farmacéuticas

▣ Val-Feb Mezcla Física con P188



74

Ejemplo 9: MF vs Dispersión



Ejemplo 9: MF vs Dispersiones

Journal of Pharmaceutical Innovation
<https://doi.org/10.1007/s12247-017-9306-9>

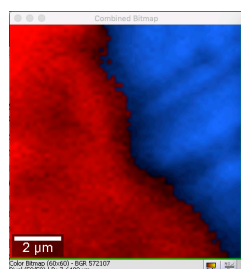
ORIGINAL ARTICLE



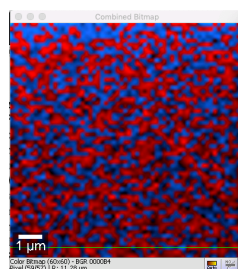
The Impact of Solid Dispersion on Formulation, Using Confocal Micro Raman Spectroscopy as Tool to Probe Distribution of Components

M. Elisa Melian¹ · A. Beatriz Munguía¹ · Ricardo Faccio² · Santiago Palma³ · Laura Domínguez¹

Mayo de 2019



MF



Dispersión de NC

76

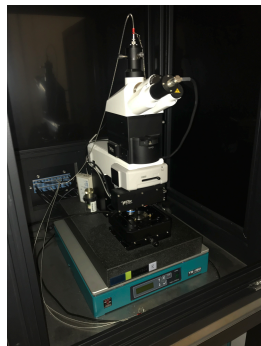
Resumen: Micro Raman Confocal

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

Mayo de 2019

77

Microscopía de Fuerza Atómica

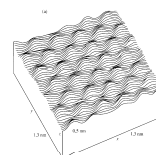
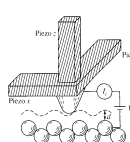


Mayo de 2019

78

1. Introducción

□ Historia



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

Premio Nobel Física 1986



G. Binnig



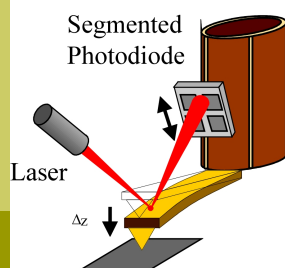
H. Rohrer

Mayo de 2019

79

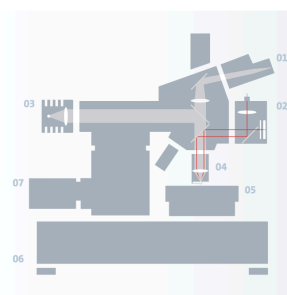
1. Introducción

□ Esquema

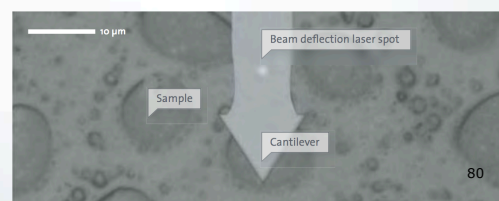


✗ BEAM PATH

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



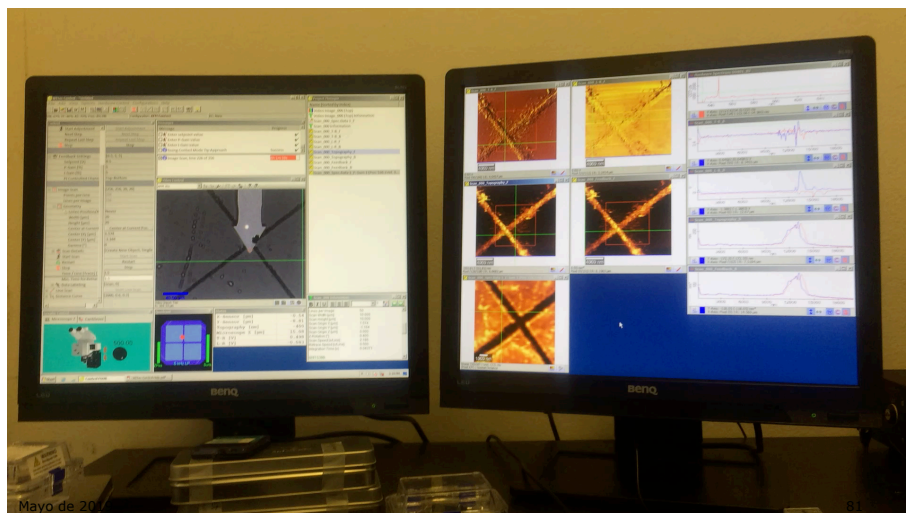
✗ SIMULTANEOUS CANTILEVER AND SAMPLE VIEW



Mayo de 2019

80

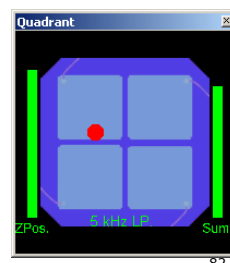
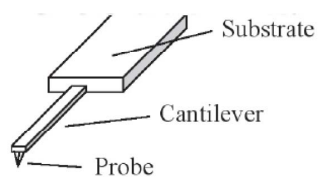
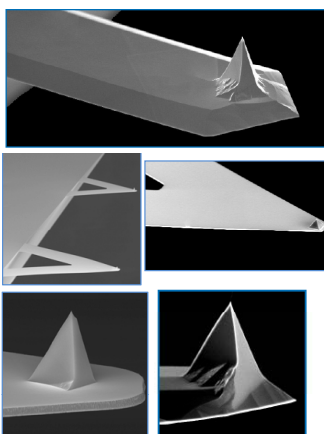
1. Introducción: Raman & AFM Dual



1. Introducción

▣ Partes relevantes:

- Sustrato
- Cantilever
- Probo
- Fotodiodo



Mayo de 2019

2. Modos de Medida

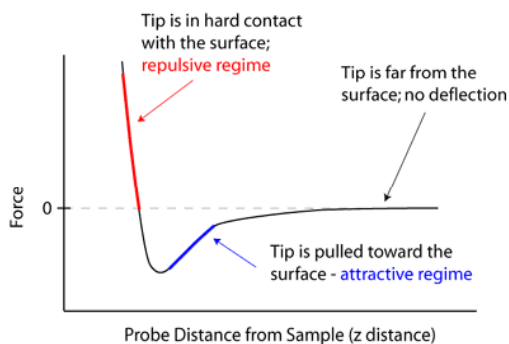
- ❑ Contacto Continuo entre Punta y Muestra
 - Modo Contacto (contact mode)
 - Medida de Fuerzas (Curva de Fuerza)
- ❑ Contacto intermitente entre punta y muestra
 - Contacto Intermitente (Tapping Mode)
 - Contraste de Fase (Phase Contrast mode)
- ❑ Otros Modos:
 - Fuerza Magnética (MFM)
 - Fuerza Eléctrica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

Mayo de 2019

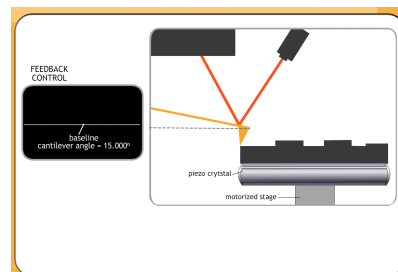
83

2. Modo Contacto

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



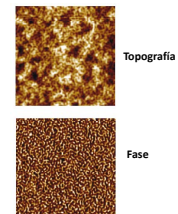
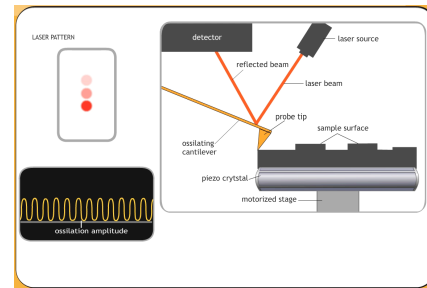
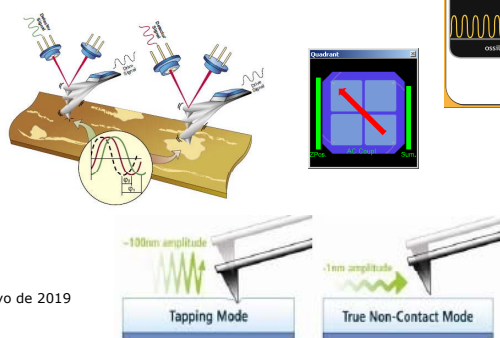
Mayo de 2019



84

3. Modo No Contacto e Intermitente

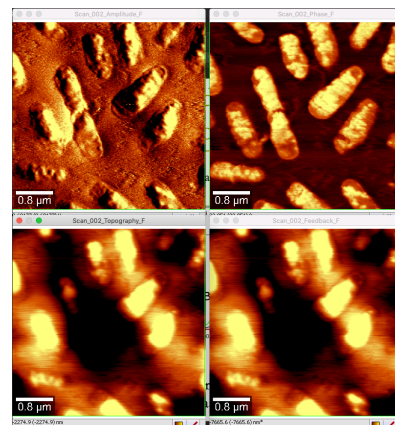
- Contacto Intermitente (Force Modulation):
 - El cantilever oscila, interaccionando con la muestra
- No Contacto
 - El cantilever oscila, sin Interacción con la Muestra



Mayo de 2019

3. Modo No Contacto e Intermitente

- Elección del Cantilever:
 - Tapping Mode (Force Modulation):
 - Resonancia: 65-85 kHz
 - Constante $k=2.8 \text{ Nm}^{-1}$
 - Algo de Interacción con la muestra
 - Modo No Contacto
 - Resonancia: 230-300 kHz
 - Constante $k=42 \text{ Nm}^{-1}$
 - Muestras muy "blandas"
 - (ej.: Polímeros, geles, microorganismos, etc). El Objetivo es la Phase Contrast image.
 - Imágenes de Fase:
 - Propiedades Viscoelásticas.
 - Potencial de Adhesión.



Mayo de 2019

86

3. Modo No Contacto e Intermitente

- ▣ Selección del Modo de Medida
- ▣ Ajuste del Set-Point:
 - Amplitud amortiguada del tip, debe ser inferior a la de la amplitud libre.
- ▣ Tapping Mode (Intermitente)
 - Set Point ↓
- ▣ Modo No Contacto
 - Set Point ↑

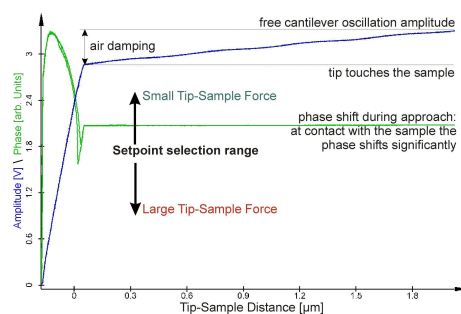
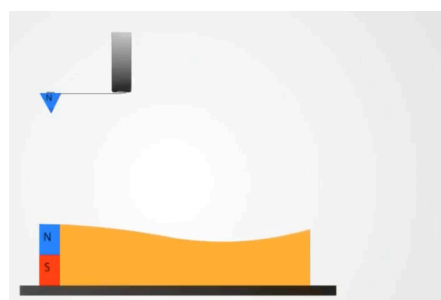
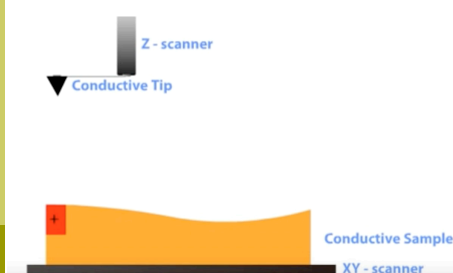


Fig. 1: Phase (green) and Amplitude (blue) as a function of tip→sample distance. The effect of the setpoint selection is also indicated.

Mayo de 2019

87

2. EFM & MFM



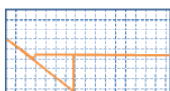
Mayo de 2019

88

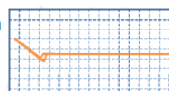
3. Medidas de Fuerza y Adhesión

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

Fuerza de adhesión elevadas



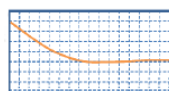
Fuerzas de adhesión pequeñas



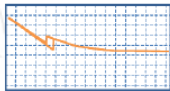
Muestra rígida



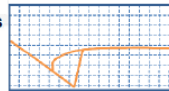
Muestra blanda



Presencia de fuerzas repulsivas de largo alcance



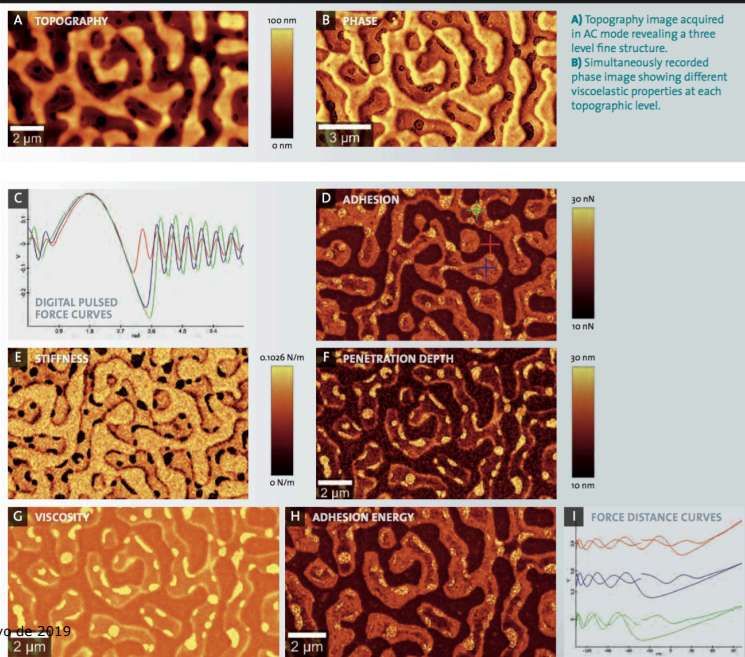
Presencia de fuerzas atractivas de corto alcance



Mayo de 2019

89

COMPREHENSIVE AFM-RAMAN STUDY OF A POLYMER BLEND (Polystyrene:Ethyl-Hexyl-Acrylate:Styrene-Butadien-Rubber; 1:1:1)

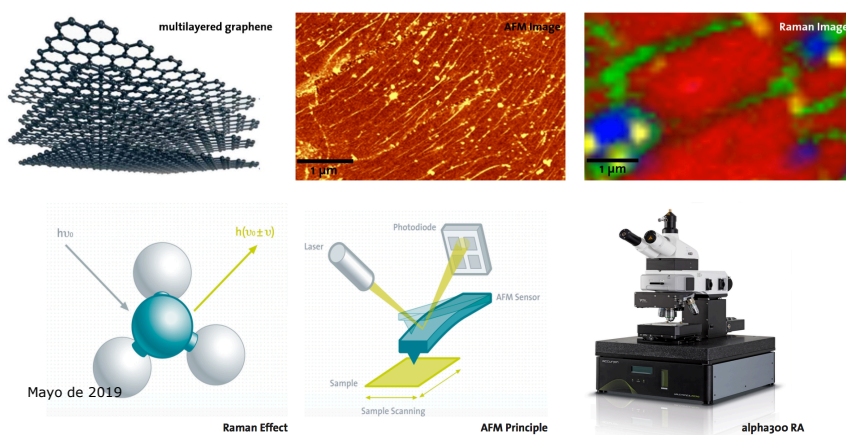


Mayo de 2019

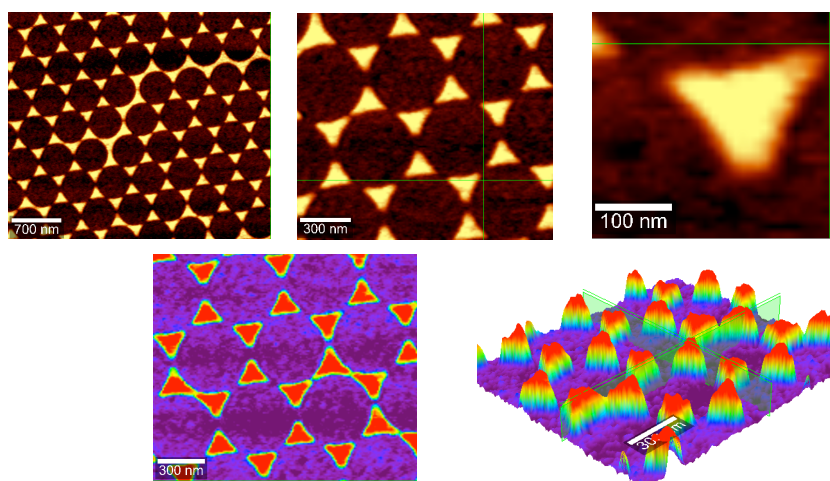
90

Micro Raman AFM Dual

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



4. Ejemplos: Contact mode: Triángulos de Al

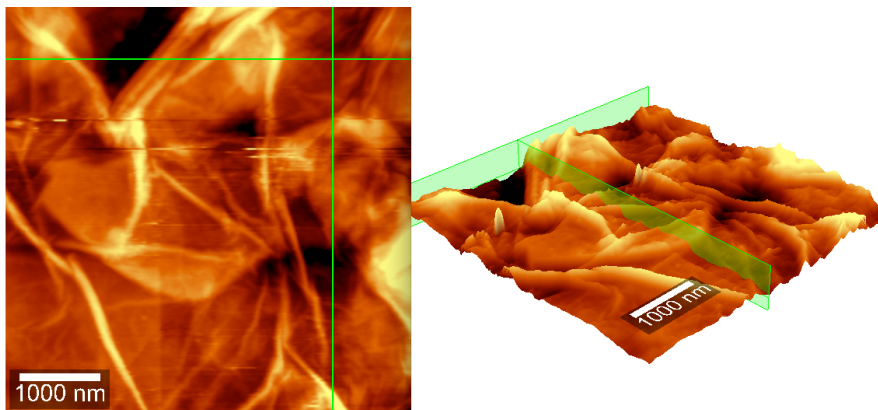


Mayo de 2019

92

4. Ejemplos: Modo No Contacto

▣ Reduced Graphene Oxide

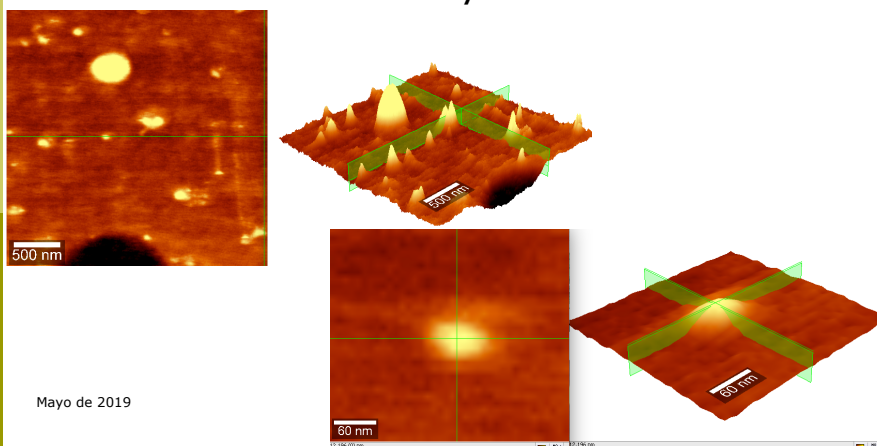


Mayo de 2019

93

4. Ejemplos: Modo No Contacto

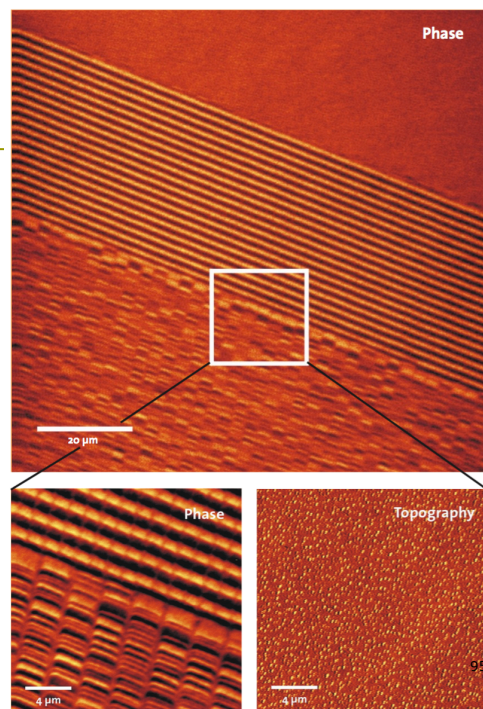
- ▣ GOQD sobre sustrato de silicio
- ▣ 60 nm de diámetro y 13 nm de alto



Mayo de 2019

□ MFM

Mayo de 2019

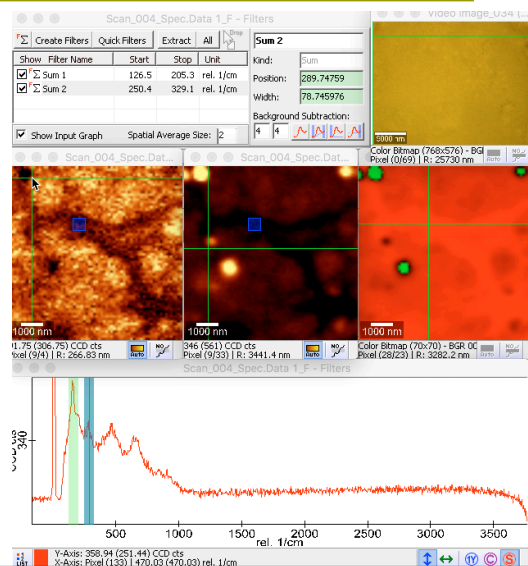


4. Ejemplos: Caracterización de NT: Microscopia Raman

- Muestra de NT calentados hasta $T=200^{\circ}\text{C}$.
- Crecimiento de Nanopartículas de Anatasa en muestra de TNT.

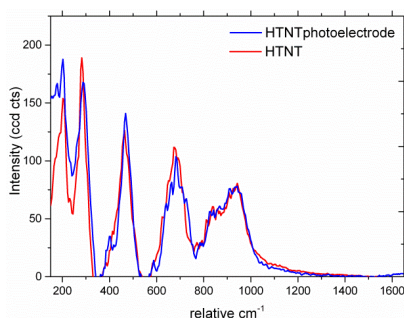
Funcionamiento:

- Cada pixel de la imagen contiene un espectro Raman, constituyendo una técnica hyper-espectral.
- Con esta información es posible reconstruir todo tipo de imágenes, por ejemplo siguiendo la intensidad de una determinada banda Raman

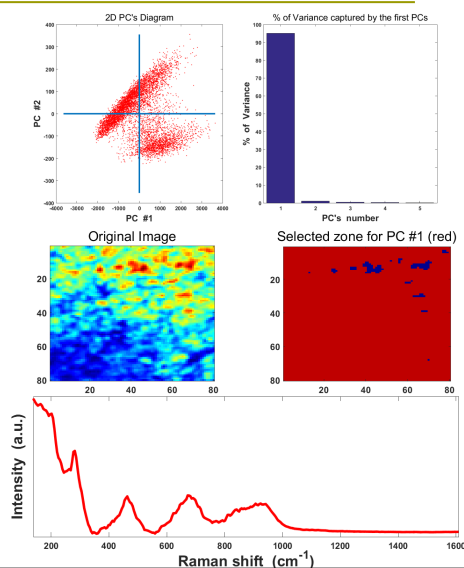


4. Ejemplos: Caracterización de NT: Microscopia Raman

- Espectros de HTNT antes y después de la preparación del fotoelectrodo.



- Análisis por PCA: calidad del fotoelectrodo



4. Ejemplos: AFM

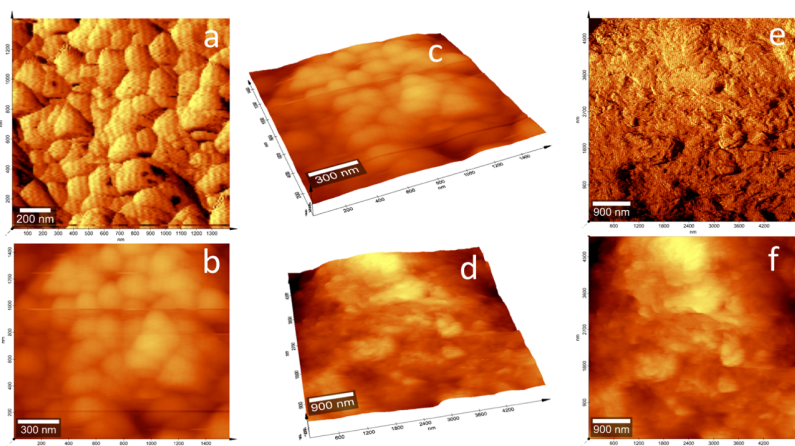
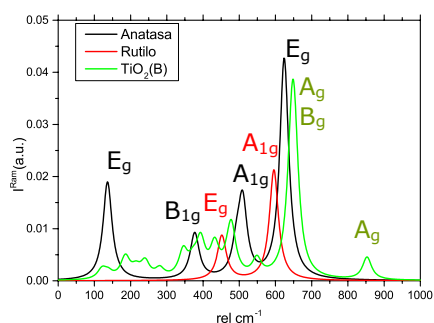


Figure 3.- AFM images for the anatase photoelectrode: (a) contrast phase, (b) topography and (c) 3D-topography images. Idem for HTNT photoelectrode: (d) 3D-topography (e) phase contrast and (f) topography images.

4. Ejemplos: Modelado: Espectros Raman de polimorfos de TiO_2

Espectros Raman Simulados por DFT



Pobre información referente a estructuras de NTs de TiO_2

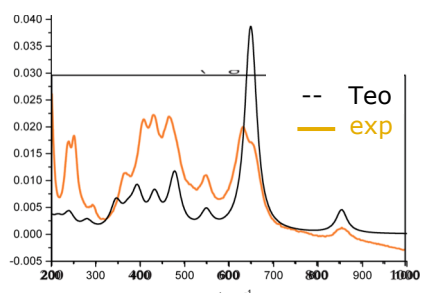
Cálculos DFT: Código VASP

Ecut=400 eV

Ondas Planas

DFPT fonones

Primera derivada de la Polarización

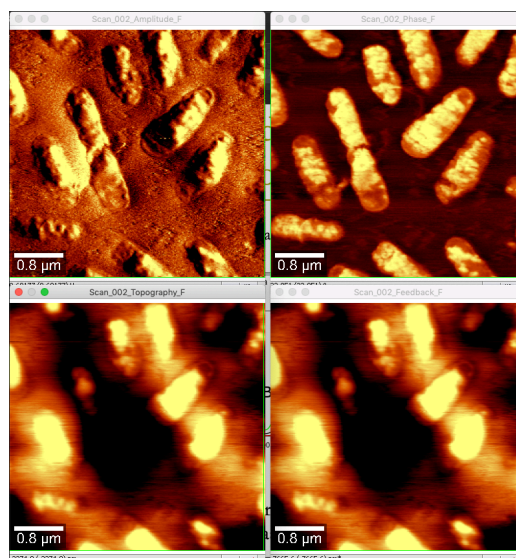


Espectros Raman Calculados y Experimental:
Dylla et al, J. Phys. Chem. Lett. 2012, 3, 2015 2019

4. Ejemplos: Bacterias con Ag-NP

□ NC AFM

- Amplitud
- Fase
- Topografía
- Feedback



Mayo de 2019

Resumen: AFM/EFM/MFM

- Diferentes Modos de Medida:
 - *Contacto*
 - *No Contacto e Intermittente (Tapping)*
 - *Liftmode*
- AFM/EFM/MFM
- Topología y Propiedades Físicas:
 - *Dureza*
 - *Viscosidad*
 - *Adhesión*
- Posibilidad de medir en Líquidos

Mayo de 2019

101

Agradecimientos



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

- Parque Científico y Tecnológico de Pando (PCTP) / Instituto Polo Tecnológico de Pando
- ANII- Proyecto EQC_X_2012_1_14.
- ANII-FSE_1_2014_1_102008 Fondo Sectorial de Energía.
 - Grupo de Farmacología & LEA, CIENFAR - FQ
 - Microbiología-Biotecnología, DEPBIO – FQ.
 - Instituto Nacional de Donación y Trasplante - INDT
 - Grupo Física del Estado Sólido– IF-FING
 - Cátedra de Química Inorgánica –FQ
 - Cátedra de Análisis Instrumental – FQ
 - Cátedra de Fisicoquímica -FQ
 - Laboratorio de Biomateriales – FCIEN



Mayo de 2019

102



UDELAR
FACULTAD DE QUÍMICA





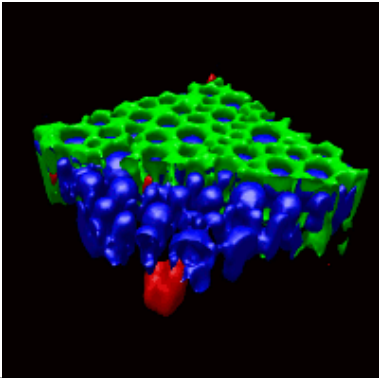
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Gracias



Nano
Mat

Mayo de 2019





PCTP
Parque Científico
Tecnológico de Pando



polo tecnológico
química - biotecnología

103