

DESENVOLVIMENTO DE PROGRAMA DE CONTROLE DE UMA SONDA SNOM PARA ESPECTROCOPIA DE NANOPARTÍCULAS INDIVIDUAIS

Isadora Araújo, Kelly C. Jorge e Leonardo de S. Menezes

Laboratório de Nano Óptica, Departamento de Física/UFPE, Av. Prof. Luis Freire, s/nº
Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil

e-mail: isadora_bac@hotmail.com

Resumo: Neste trabalho, desenvolvemos um programa de controle de uma sonda de varredura em campo próximo óptico (SNOM) e avançamos na implantação do instrumento no Laboratório de Nano Óptica do Departamento de Física da UFPE, através da confecção das pontas da sonda e a sua preparação para a realização de microscopia óptica de ultra-alta resolução de sistemas com interesse biológico, como nanocristais dielétricos dopados com elementos terra-rara.

Palavras-chave: Programa de controle, Instrumentação óptica, Microscopia de ultra-alta resolução, Nanocristais dopados com terras-raras.

Abstract: *In this work, we developed a control program for a scanning near-field optical microscopy (SNOM) probe and we advanced in the implementation of the device in the Laboratório de Nano Óptica, Departamento de Física, UFPE, producing the probe tips and its preparation to apply in a ultra-high resolution optical microscopy system for biological interest, such as rare-earth doped dielectric nanocrystals.*

Keywords: *Control program, Optical instrumentation, ultra-high resolution of optical microscopy, Rare-earth doped nanocrystals.*

Introdução

A interação da luz com nanopartículas (NPs), contendo elementos terra rara (TR), pode gerar alguns fenômenos ópticos, como a geração não linear de luz com uma frequência maior do que a luz incidente usada como bombeamento da amostra de NPs. Este processo é conhecido como conversão ascendente de frequências (CAF) [1]. A CAF em NPs dopadas com TR é muito utilizada nas aplicações biomédicas como em diagnósticos por imagem, detecções e os traçadores biológicos [2], oferecendo vantagens e características favoráveis para trabalhar com meios frágeis e sensíveis termicamente, tal quais os meios biológicos.

A CAF em NPs dopadas com TR pode ser explorada de forma a produzir emissão de luz com frequência ajustável, a depender das características do bombeamento óptico como o comprimento de onda e a intensidade da fonte de excitação [1, 3]. Além disso, nanocristais dopados com TR possuem alta estabilidade óptica e química, raramente apresentam fotodegradação e apresentam ótima biocompatibilidade dependendo das modi-

ficações apropriadas em sua superfície e funcionalidade.

Investigar amostras biológicas usando excitação no infravermelho próximo resulta em uma mínima autofluorescência e, em caso de uso de NPs dopadas com TR o sinal gerado, geralmente é na região visível do espectro. A possibilidade de filtragem óptica, oferece uma alta relação sinal ruído para estudos por imagens de meios biológicos. Por exemplo, excitação de tecidos em 920 nm está na região do espectro em que é chamada de “janela biológica”, em que a luz praticamente não causa dano algum aos tecidos e apresenta alta penetração em aplicações “in vivo” [1].

Além das características de bombeamento óptico e das características químicas das NPs, o tamanho e a estrutura das NPs dopadas com TR são características que determinam a frequência e a intensidade da emissão CAF [1, 3]. Desta forma, o controle e a análise das características dimensionais e ópticas das NPs são essenciais para definir as emissões CAF. Com este fim, neste trabalho apresentaremos o desenvolvimento de um programa de controle da versão “homemade” de uma sonda de varredura por microscopia de campo óptico próximo (SNOM – Scanning Near-field Optical Microscopy) [4] que foi desenvolvida no Laboratório de Nano Óptica (LNO) do Departamento de Física da UFPE. A sonda SNOM é capaz de realizar microscopia óptica além do limite de difração, apresentando uma resolução óptica de cerca de 30 nm. SNOM é uma técnica muito sensível, que adicionalmente pode ser usada para registrar a topografia de uma superfície, tal como um microscópio de força atômica, o que possibilita a caracterização do tamanho e da forma de NPs. No LNO, a sonda SNOM é utilizada juntamente com uma versão “homemade” de um microscópio confocal invertido [4], o qual oferece a caracterização óptica da emissão de luz das NPs.

Materiais e métodos

O programa de controle da sonda SNOM é desenvolvido em LabView [5], através de uma integração software/hardware. Esta plataforma proporciona ao usuário obter os dados de medidas das características tridimensionais das NPs em formato de arquivo imagem, ou seja, uma interface gráfica apropriada para a técnica SNOM do LNO.

Esta primeira versão da sonda SNOM do LNO constituiu-se numa ferramenta que simultaneamente permite a

análise das propriedades ópticas das NPs em função do seu tamanho e da sua estrutura geométrica. Além do desenvolvimento do programa de controle, avançamos no procedimento de fabricação das pontas afiladas da sonda SNOM, assim como sua caracterização e calibração para uso nos experimentos.

O programa de controle da sonda SNOM entra em ação quando a sonda está “em aproximação”, a uma distância ~ 10 nm da superfície da amostra. Isto é feito usando um circuito dedicado de controle por *shear force feedback*, ou retroalimentação por força de cisalhamento, para controlar a tensão sobre o eixo z de um cubo piezoelétrico triaxial. O programa realiza a varredura bidimensionalmente sobre o plano em que se encontra a amostra, variando as tensões aplicadas aos eixos x e y do cubo piezoelétrico, realizando varreduras de linhas sucessivamente: varia a posição em x em todo o seu intervalo, incrementa o valor de y, varia novamente a posição de x em todo o seu intervalo, incrementa o valor de y, e assim sucessivamente. Em tempo real, o usuário acompanha a varredura realizada pela sonda através de imagens topográficas (proporcionais ao valor da tensão aplicada ao eixo z do cubo piezoelétrico triaxial) ou de fotodetectores sensibilizados pela luz coletada localmente pela ponta da fibra óptica da sonda SNOM.

O programa tem uma interface separada em dois painéis: o painel frontal onde o usuário entra com os dados de execução do programa e visualiza os dados medidos no formato de imagem ou gráficos, enquanto o segundo painel, onde está o diagrama de blocos com a estrutura lógica controlada pelo programador. Detalhes de suas funções para controlar e executar o programa de varredura da sonda SNOM serão descritos separadamente:

Conforme mostra a Figura 1, o usuário introduz as condições iniciais da varredura feita pela sonda, ou seja, os valores dos limites a serem deslocados pela sonda. Uma condição que deve ser observada de antemão, é que a tensão a ser enviada para o cubo piezoelétrico responsável pela varredura xy (plano paralelo à superfície a ser investigada) deve ser limitada. Assim, utiliza-se um *scan range* que combinado com o *offset* deve ser menor que a máxima tensão do piezo, correspondente a deslocamentos de aproximadamente $25 \mu\text{m}$. Outros valores também são inseridos pelo usuário, como o *scan speed*, *pixel size*, *pre-line delay* e *end position*.

Scan Range x [μm]	Offset x [μm]	Scan Speed	Pixel Size [μm]	Pre-Line delay [ms]	End Position
25,00	0,00	12,00	0,20	100	Return to
Scan Range y [μm]		Pixel Size [μm]			
25,00	0,00	0,20			

Figura 1: Painel frontal do programa. Seleção das condições iniciais.

Os resultados das medições de varredura da sonda são visualizados em formato de imagens (Figura 2) em tempo real. Essa imagem tanto pode ser por topografia (A), quanto uma imagem óptica (B) a qual está acoplada a um fotodetector (imagem não registrada). Como

exemplo, (A) apresenta uma medida de varredura realizada pela sonda sobre uma grade de padrão de microscópio, com período de $3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$. Ao lado, em (C), gráficos com uma seção reta da imagem também são disponibilizados e suas coordenadas e escalas são definidas pelo usuário.

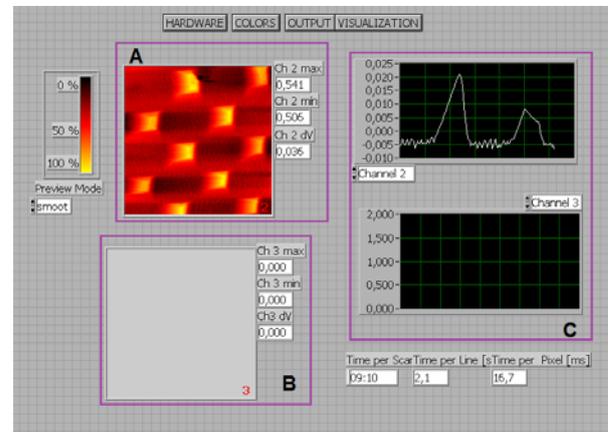


Figura 2: Painel frontal do programa. (A): imagem topográfica; (B): canal para imagem acoplada ao fotodetector; (C): seção reta da imagem mostrada em (A) e em (B), respectivamente.

Na Figura 3, são mostradas opções de exibição dos canais a serem visualizados (*display channel*), do armazenamento dos dados coletados (*record channel*) e do (*remove background*). Vale ressaltar que o número de canais fica a critério do usuário: neste programa, temos seis canais.

	2	3	4	5	6	7
Record Channels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Display Channels	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Remove Background	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Status	waiting for input ...					
START	PAUSE	ABORT	END	Center Device		
latest saved file	%					

Figura 3: Painel frontal do programa. Controle de seleções.

Para a fabricação das pontas da sonda SNOM, peça fundamental para o correto funcionamento de um microscópio de varredura em campo próximo óptico, utiliza-se um procedimento dividido basicamente em duas etapas: afilamento de uma fibra óptica monomodo e a soldagem desta fibra óptica já afilada numa micropipeta de vidro borossilicato.

Em linhas gerais, o método que utilizamos para o afilamento da fibra óptica é realizado por aquecimento e tensionamento (*heating-and-pulling*) através de uma puxadora de micropipetas (*Sutter Instrument* – modelo *P-2000 Micropipette Puller*), que se utiliza um laser de

CO₂ para o aquecimento da fibra óptica, o que irá deixar fluído o material da fibra. Logo em seguida, a máquina aplica uma tensão mecânica à fibra, puxando-a para dois sentidos opostos. O resultado é que, em torno da região aquecida pelo laser de CO₂, a fibra torna-se fina e alongada, cuja ponta pode ter raios de curvatura de até 20 nm. A estrutura obtida pode ser grosseiramente avaliada usando-se um microscópio óptico (Figura 4), em que se acoplou uma câmera CCD (*Fujitsu* modelo TCZ-984P) para registro de imagens.

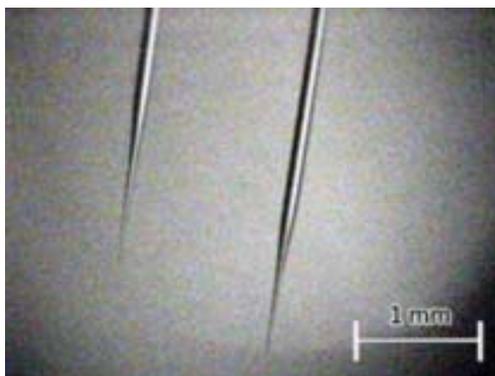


Figura 4: Pontas de fibras ópticas afiladas típicas.

A fibra óptica já afilada é posicionada de maneira adequada no interior da micropipeta. O processo de soldagem é feito com laser de CO₂ de potência ajustável, o qual emite luz em torno de 10,5 μm, que é um comprimento de onda fortemente absorvido pela sílica, permitindo a fusão entre os dois materiais. O ideal é que a parte da fibra em protusão seja de aproximadamente 2,2 mm para que frequências de ressonância sejam em torno de 50 kHz (Figura 5), o que é importante na operação da aproximação da sonda SNOM da superfície ou das NPs a serem investigadas, usando um sistema de feedback por força de cisalhamento [4].

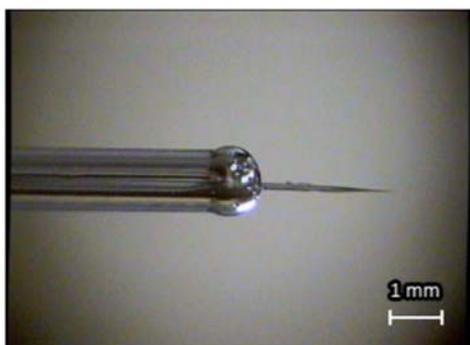


Figura 5. Fibra óptica soldada a laser a uma micropipeta de vidro borossilicato.

Após a realização destas etapas, é importante a verificação de eventuais falhas na soldagem da fibra óptica e se a estrutura da sonda está íntegra. Assim, acopla-se luz na fibra, através da ponta não afilada, e verifica-se a ocorrência de espalhamento na região da solda e na ponta. Na região da solda, se houver luz espalhada isto

significa que há perda de guiamento, implicando que o processo de soldagem danificou a fibra óptica. No que se refere à ponta, a difração de luz resultante deve apresentar um padrão azimutalmente simétrico e regular, como se vê na Figura 6.

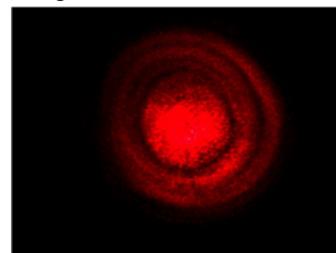


Figura 6. Padrão de difração visto na ponta afilada de uma fibra óptica.

Em seguida, a micropipeta é introduzida num tubo piezoelétrico segmentado e apropriadamente fixada com um parafuso. Uma tensão senoidal é aplicada a um dos segmentos do tubo piezoelétrico, fazendo a micropipeta (e consequentemente a ponta da sonda SNOM) vibrar transversalmente. O outro segmento é utilizado para, usando o efeito piezoelétrico inverso, obter um sinal proporcional à amplitude de vibração transversal da ponta da sonda SNOM, gerando o sinal de erro usado pelo sistema de feedback por força de cisalhamento. Na frequência de ressonância, a amplitude da vibração transversal é máxima, assim como a magnitude do sinal do segmento sensor do tubo piezoelétrico.

Esta estrutura é montada em um cubo piezoelétrico triaxial. Uma tensão é aplicada ao cubo, de forma que a ponta se aproxime de uma superfície. Enquanto isso, o sinal de erro gerado pelo segmento sensor do tubo piezoelétrico é monitorado. Quando a distância entre a superfície ou as NPs de interesse e a ponta da sonda SNOM for de ~10 nm, devido às forças de curto alcance que surgem, a frequência de ressonância de oscilação transversal da sonda muda, a amplitude de oscilação diminui (e da mesma forma a amplitude do sinal de erro), o que permite um sistema de retroalimentação estabilizar a tensão aplicada ao cubo piezoelétrico triaxial, mantendo constante a distância entre a ponta da sonda SNOM e a superfície.

Antes de chegar ao sistema de retroalimentação, o sinal de erro obtido é amplificado e filtrado com um baixo nível de ruído e depois demodulado com um amplificador *lock-in*. Durante a varredura a distância da superfície da ponta deve ser mantida constante, o que é feita com um controlador PI.

Resultados e discussão

O programa de controle da sonda de varredura em campo próximo óptico (SNOM) do Laboratório de Nano Óptica do Departamento de Física da UFPE está em processo de testes e calibração para realizar a microscopia de alta resolução nas amostras de nanopartículas. Em paralelo, o aperfeiçoamento do processo de fabrica-

ção e implantação das pontas da sonda no sistema é realizado no LNO.

Objetivamos para um futuro próximo, avançar nos experimentos com a sonda SNOM: aprender a identificar e a caracterizar a frequência de ressonância das sondas fabricadas.

Por fim, aplicar esta ferramenta óptica de alta-resolução nos experimentos na área de interesse biológico com nanocristais dielétricos dopados com elementos terra-rara.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC.

Referências

- [1] Ling-Dong, S; Ye-Fu, W; Chun-Hua, Y. Paradigms and Challenges for Bioapplication of Rare Earth Up-conversion Luminescent Nanoparticles: Small Size and Tunable Emission/Excitation Spectra. *Acc. Chem. Res.* **47** (4), 1001–1009 (2014).
- [2] Martins, T. S. e Isolani, P. C. “Terras Raras: Aplicações Industriais e biológicas”. *Quim. Nova* **28** (1), 111-117 (2005).
- [3] de Menezes, L. de S. “Conversão ascendente de energia em vidros fluoroindatos dopados com neodímio”. Dissertação de Mestrado. Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco (1996).
- [4] Götzinger S. “Controlled coupling of a single nanoparticle to a high-Q microsphere resonator”. Tese de Doutorado, Humboldt Universität zu Berlin (2003).
- [5] National Instruments Corporation, LabView, software versão 8.6 (2000).