Microscopía confocal para química *In situ*

Luciana P. Martínez

Director: Dr. Fernando Stefani

Grupo de nanoFísica Aplicada

Centro de Investigaciones en Bionanociencias

CIBION-CONICET

Centro de Investigaciones en BioNanoCiencias

Polo Científico y Tecnológico

Agencia
CONICET
C3
Ex Ministerio de Ciencia

CIBION + Institutos (IBIOBA, CSC, CIECTI)

IBioBA: Instituto de Investigaciones en Biomedicina de Buenos Aires. Partner de Max Planck.

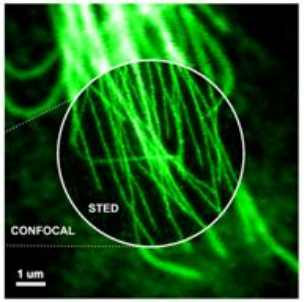
CIECTI: Centro Interdisciplinario de Estudios en Ciencia, Tecnología e Innovación.

CSC: Centro de Simulación Computacional para Aplicaciones Tecnológicas

Grupo de Nanofísica Aplicada

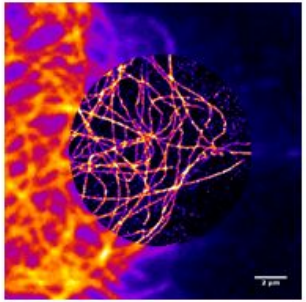
Microscopía de fluorescencia avanzada y nanoscopía

STED

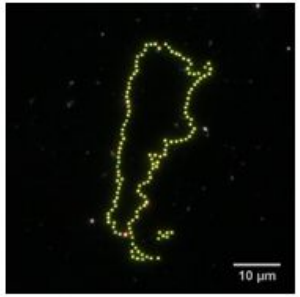


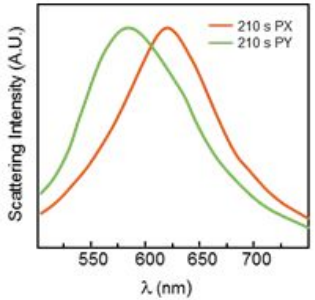
PAINT

STORM



Manipulación óptica de nanopartículas coloidales

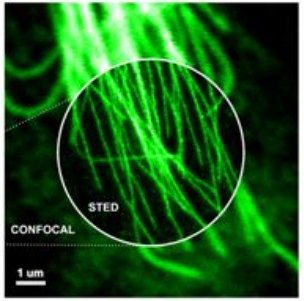




Grupo de Nanofísica Aplicada

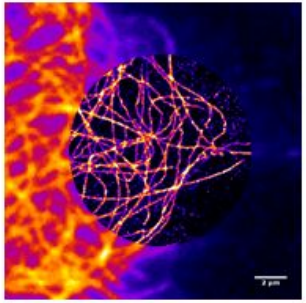
Microscopía de fluorescencia avanzada y nanoscopía

STED

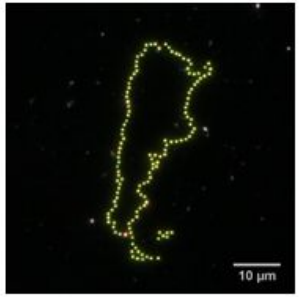


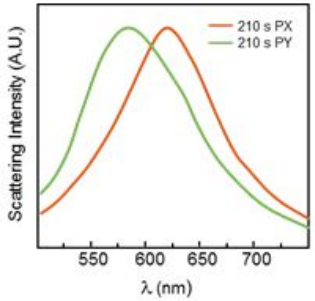
PAINT

STORM



Manipulación óptica de nanopartículas coloidales



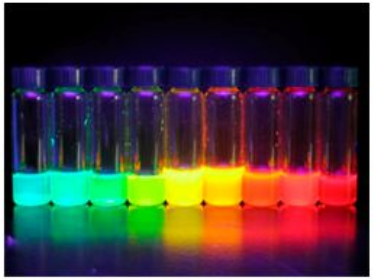


Nanopartículas Coloidales

Gran variedad de composiciones, formas, tamaños y estructuras

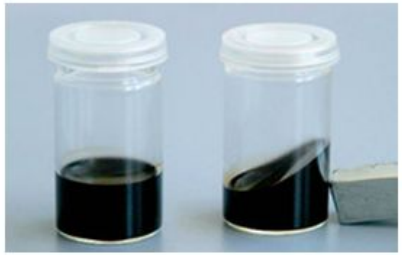
Metálicas

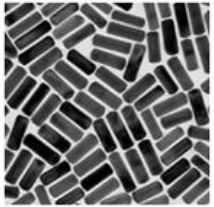
Semiconductoras

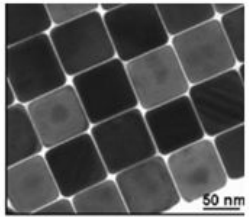


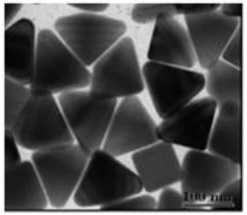
Orgánicas

Magnéticas



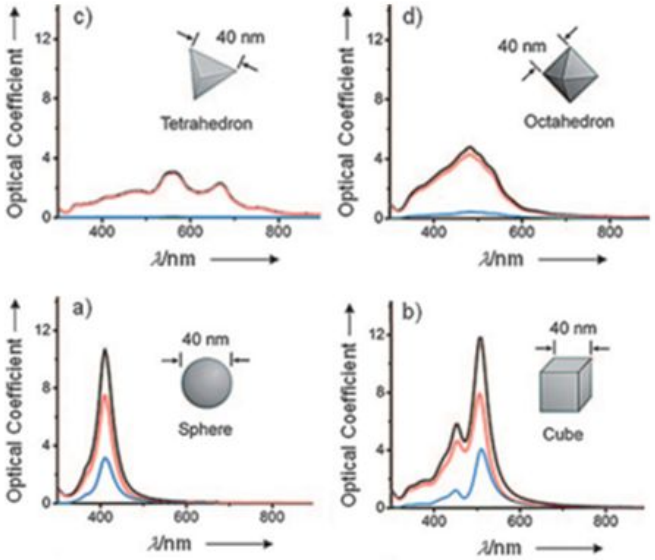




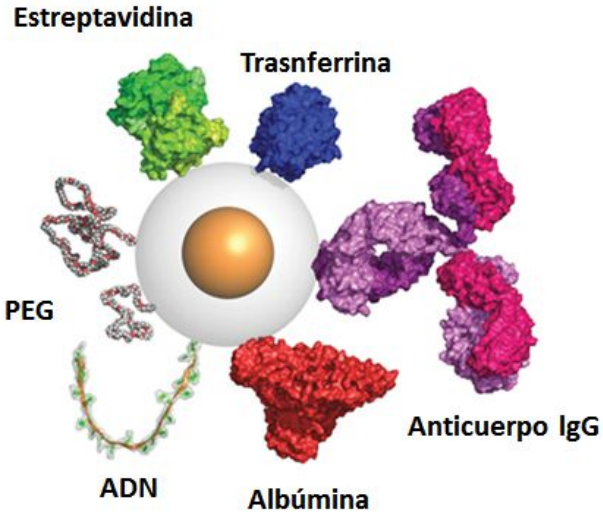


Nanopartículas Coloidales

- Diferentes propiedades físicas, químicas y biológicas
- Posibilidad de funcionalización y autoensamblaje



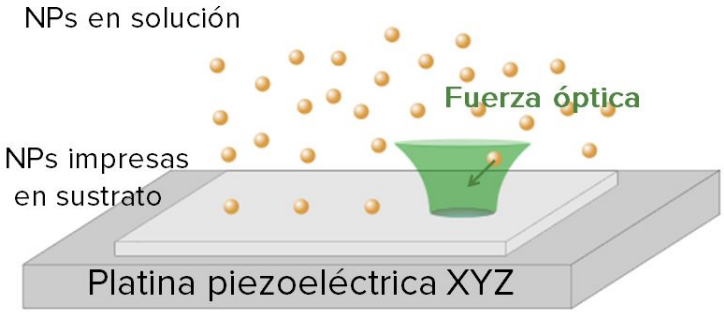
Xia et al, *AngewChemInt*, 48, 60–103 (2009)

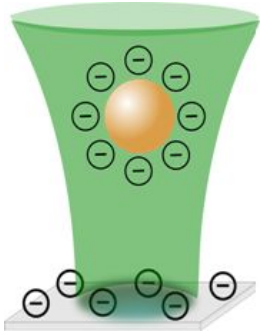


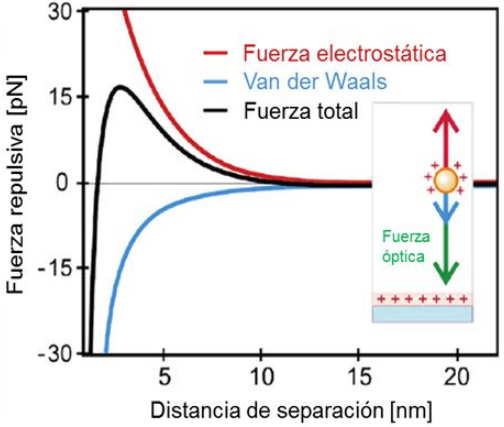
Sperling et al. *Phil. Trans. R. Soc. A* (2010) 368, 1333–1383

Impresión óptica de nanopartículas

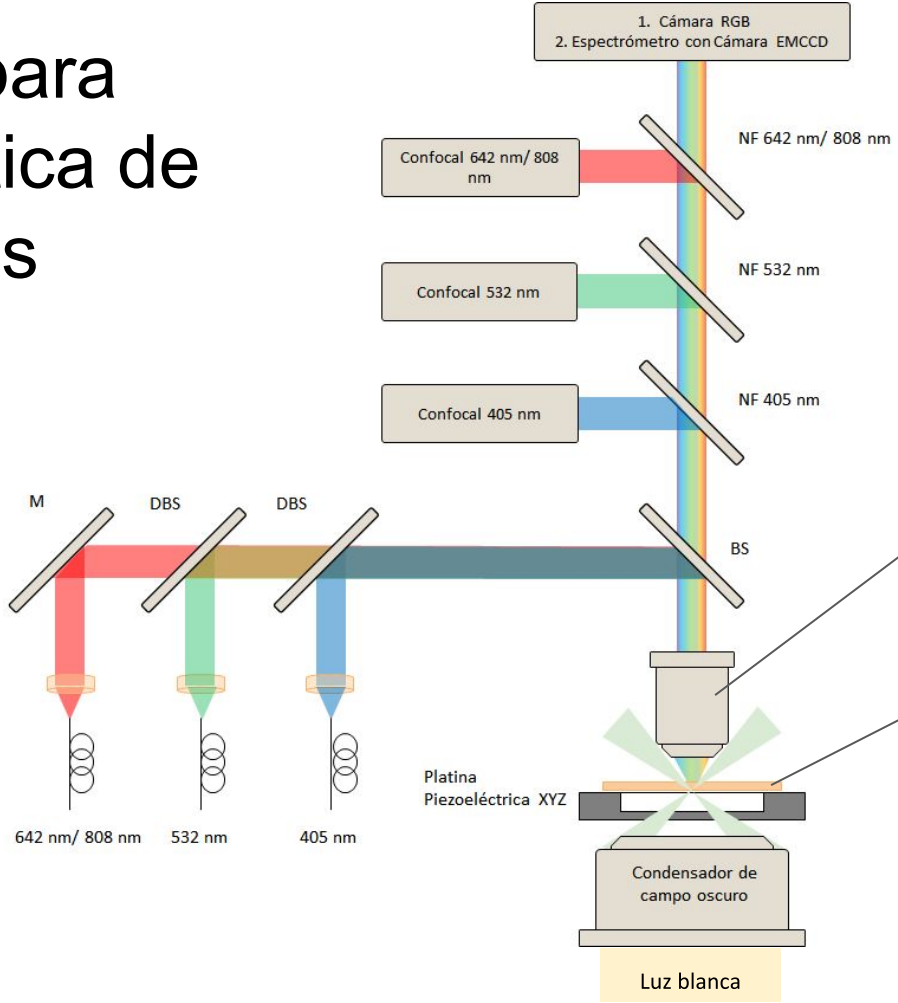
- NPs en solución de igual carga que el sustrato.
- Las fuerzas ópticas dirigen a las NPs hacia el foco en la dirección de propagación de la luz.
- Se adhieren al sustrato por interacciones de VdW.





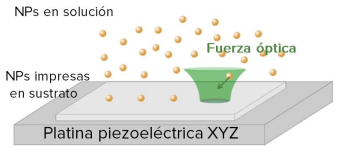


Microscopio para Impresión óptica de nanopartículas

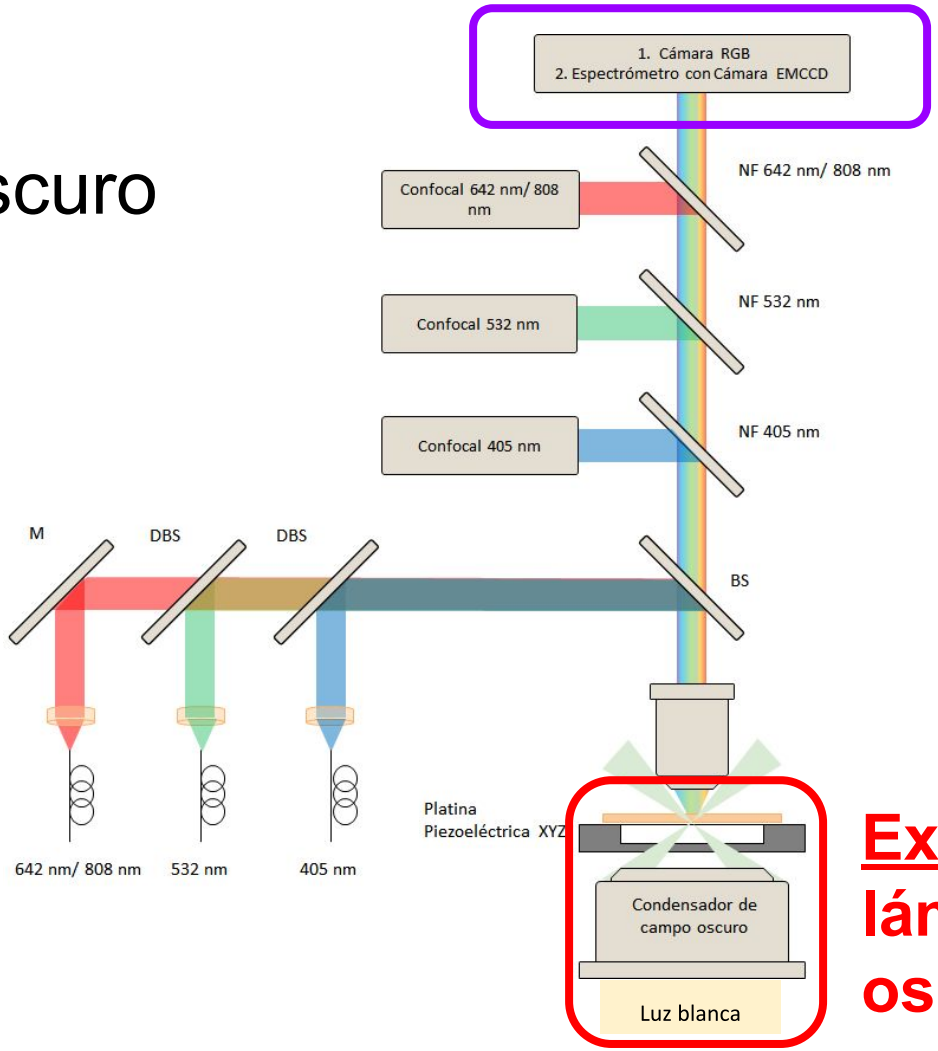


Objetivo de inmersión en agua

Muestra: Sustratos transparentes con solución de NPs



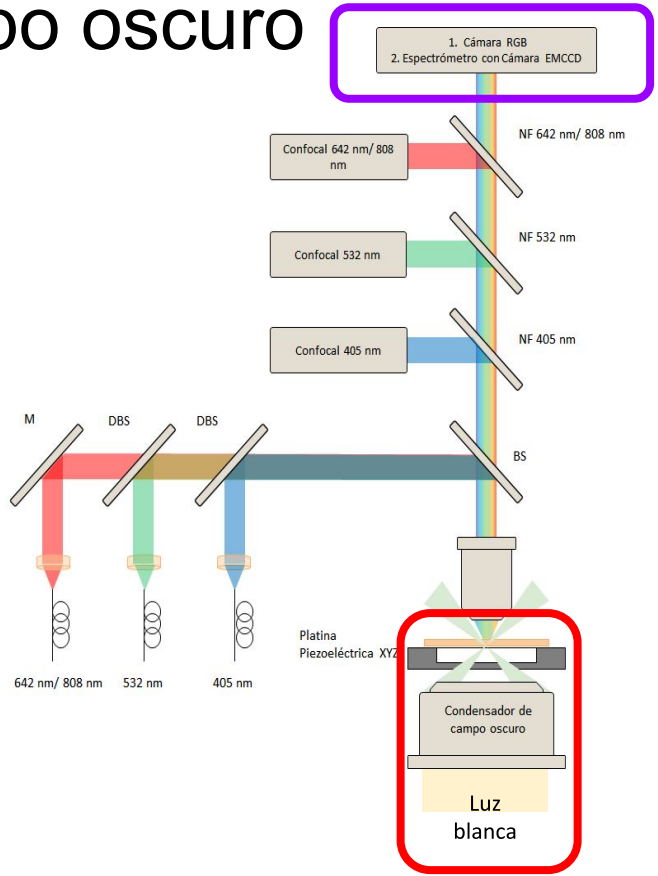
Microscopía de campo oscuro



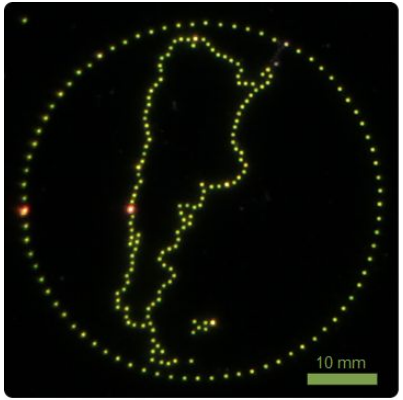
Detección: por cámara

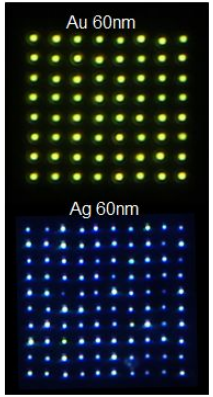
Excitación: lámpara, campo oscuro

Microscopio de campo oscuro

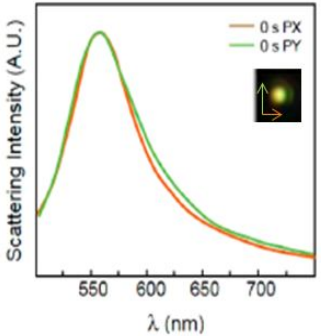


1. Scattering de nanopartículas



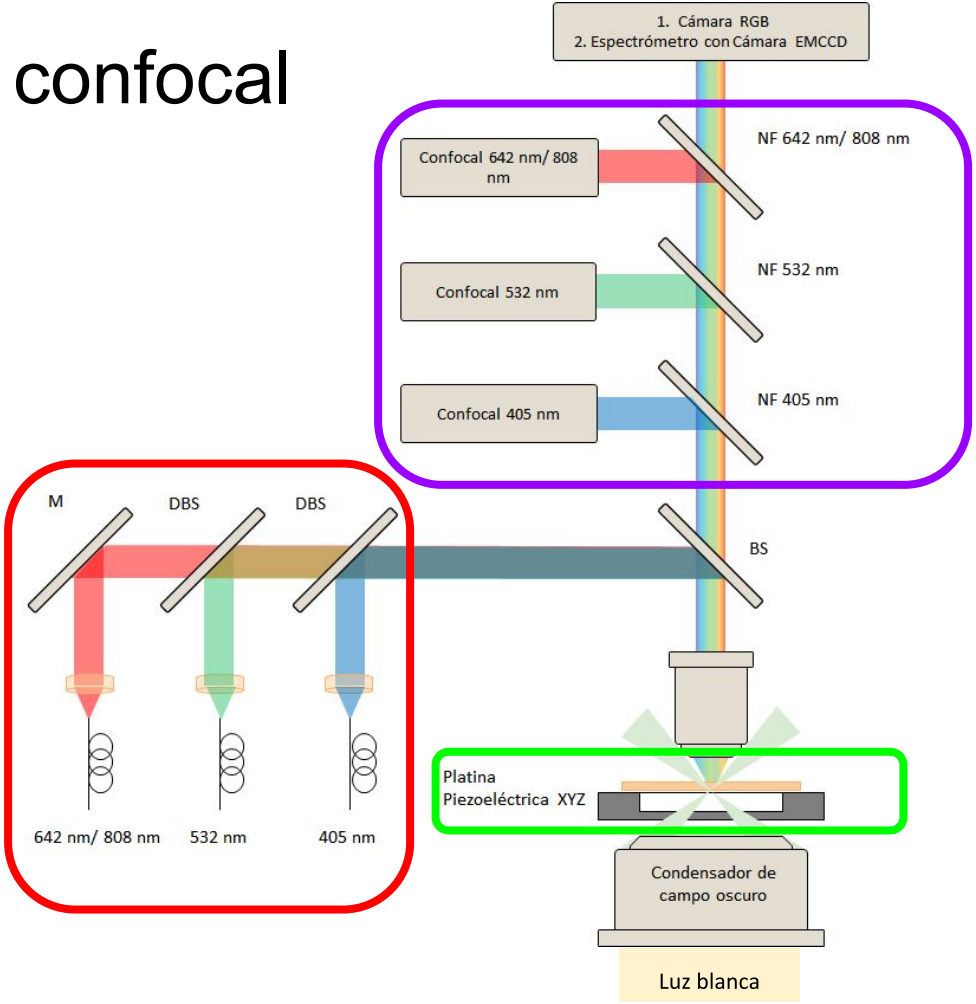


2. Espectros individuales del scattering de nanopartículas

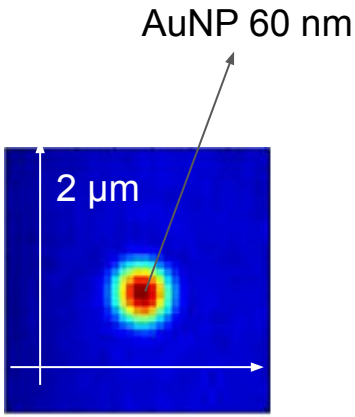


Microscopio confocal

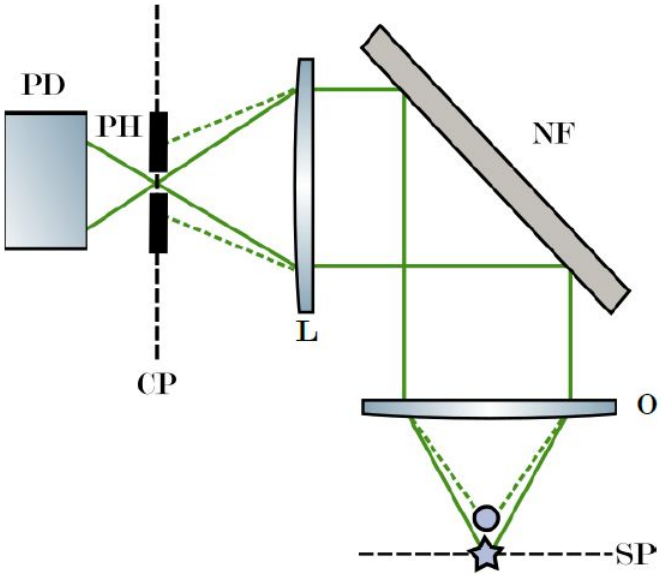
Excitación:
Láser



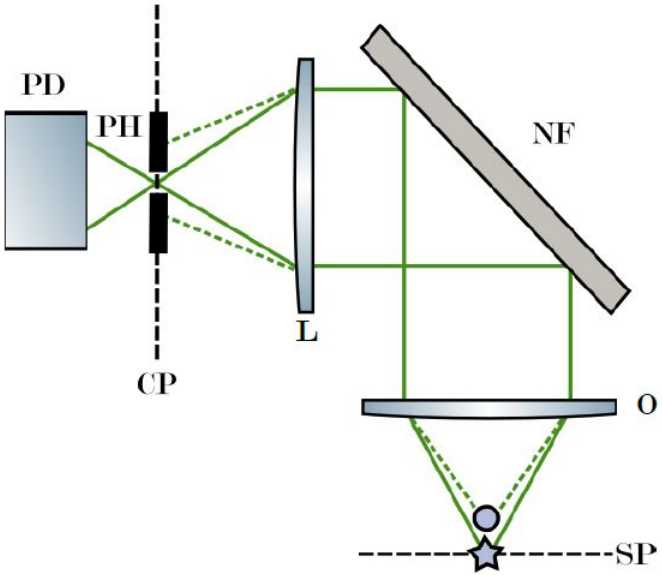
Detección confocal:
Fotodiodos

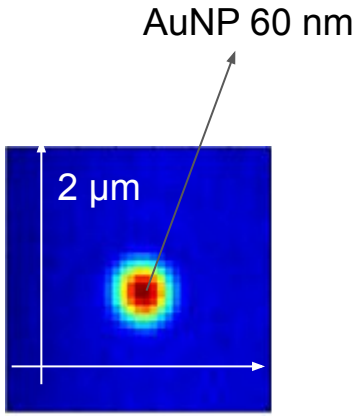


Microscopía confocal



Microscopía confocal





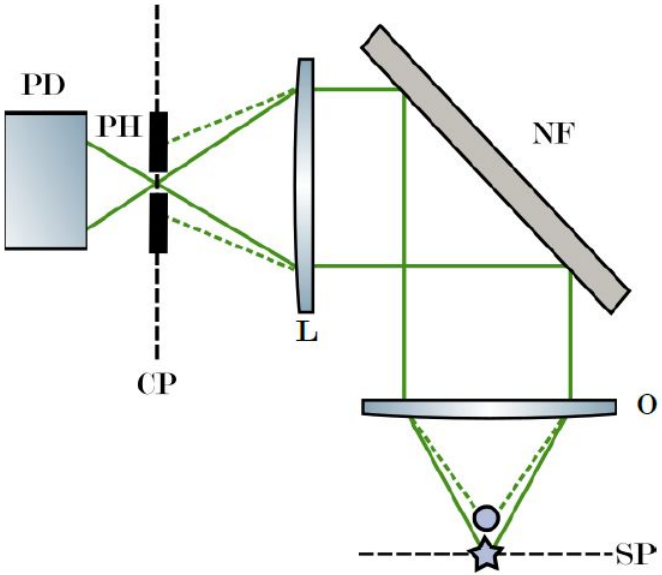
Construcción de imagen:

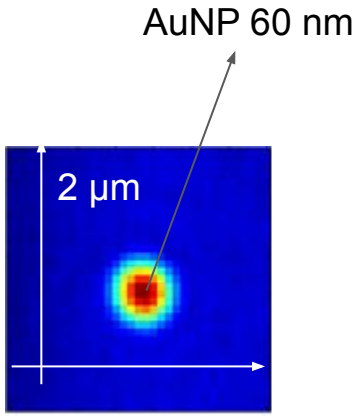
<u>Excitación:</u> láser

<u>Barrido:</u> Platina Piezo-eléctrica XYZ

<u>Detección:</u> Fotodiodo

Microscopía confocal





Construcción de imagen:

<u>Excitación:</u> láser

<u>Barrido:</u> Platina Piezo-eléctrica XYZ

<u>Detección:</u> Fotodiodo

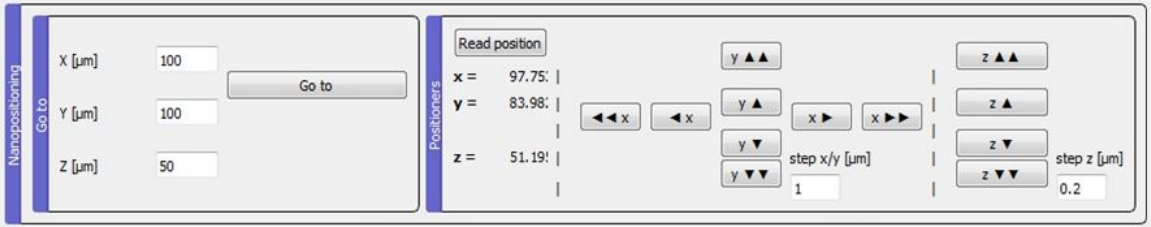
Sincronización de barrido y detección

Software en Python:
Módulos básicos para microscopía confocal

1. ON/OFF de láseres

2. Control de platina piezoeléctrica XYZ

Movimiento a escala nanométrica.

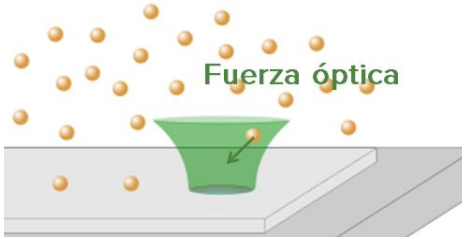


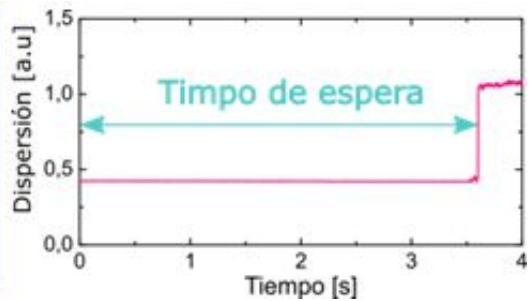
Detección confocal en el tiempo

3. Traza

Señal en el tiempo del láser reflejado en la muestra. Permite:

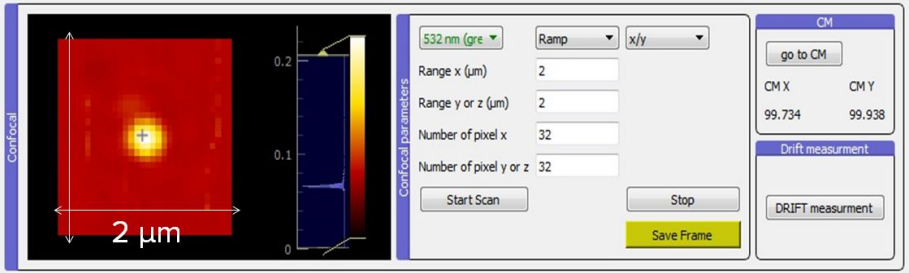
- ✓ Enfoque rápido de la muestra.
- ✓ Detección de eventos de impresión por el scattering de NPs.





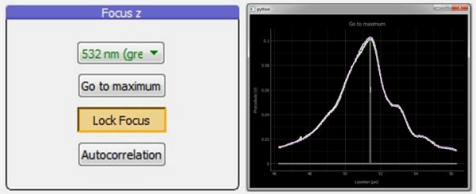
Determinación del centro de masa

4. Imágenes confocal



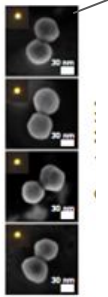
- ✓ Cálculo de centro de masa de NP para centralización de la muestra.
- ✓ Caracterización de PSF y *drift* en X,Y del microscopio.
- ✓ Próximamente: imágenes confocal-espectrales mediante control de EMCCD y espectrómetro.

5. Control del foco

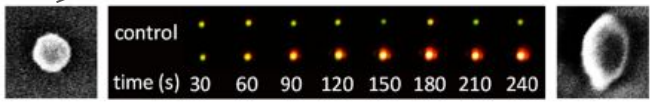


- ✓ Autofoco con perfil de señal en Z.

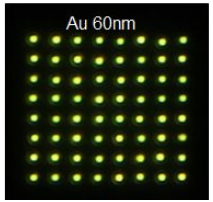
Conectar nanopartículas



Hacerlas crecer con luz y $HAuCl_4$

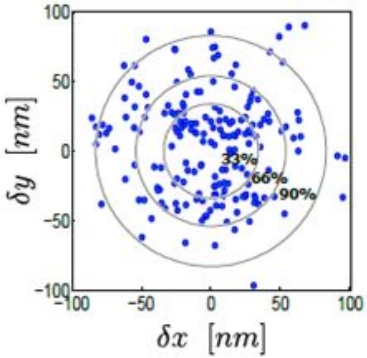


Programa: *PyPrinting*

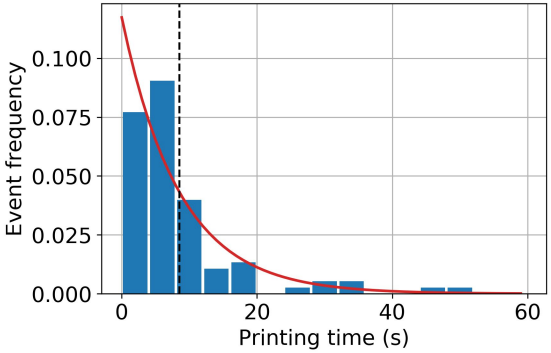


La automatización de los experimentos aporta ***ESTADÍSTICA.***

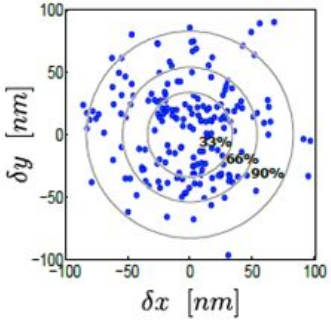
Precisión de la impresión óptica



Tiempos de espera de cada evento de impresión

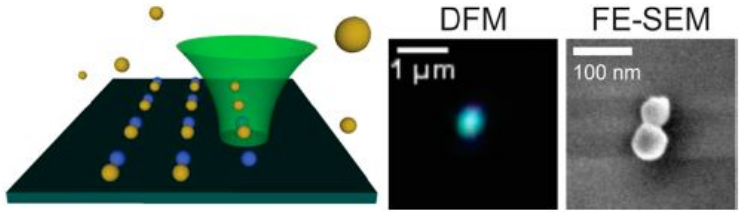


Proyectos



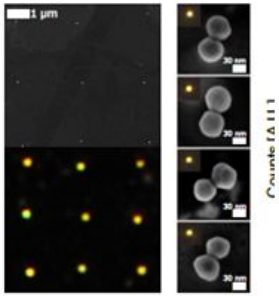
Caracterización de la técnica

Gargiulo et al, *ACS nano* ***2017***, 11 (10), 9678-9688



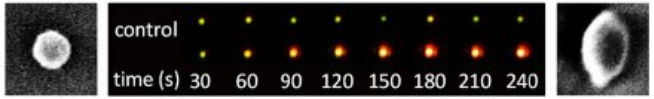
Fabricación de heterodímeros de oro y plata

Gargiulo et al, *Nano Lett* ***2016***, 16 (2), 1224-1229



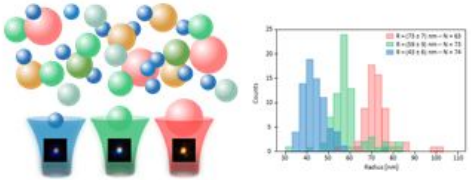
Fabricación de dímeros de oro

Gargiulo et al, *Nano Lett* ***2017***, 16 (2), 1224-1229



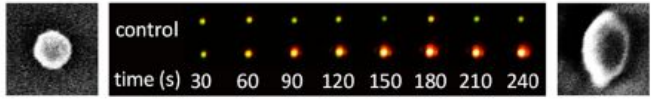
Química asistida por plasmónica

Violi et al, *Nano Lett* ***2016***, 11 (10), 9678-9688



Impresión selectiva de NPs de Si

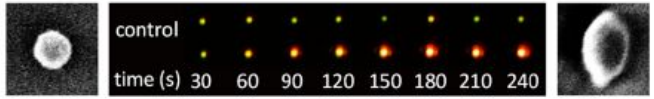
Zaza et al, *ACS Photonics 2019*, *6*, *4*, *815-822*



Química asistida por plasmónica

Violi et al, *Nano Lett* ***2016***, 11 (10), 9678-9688

Fenómenos foto-inducidos:



Química asistida por plasmónica

Violi et al, *Nano Lett* ***2016***, 11 (10), 9678-9688

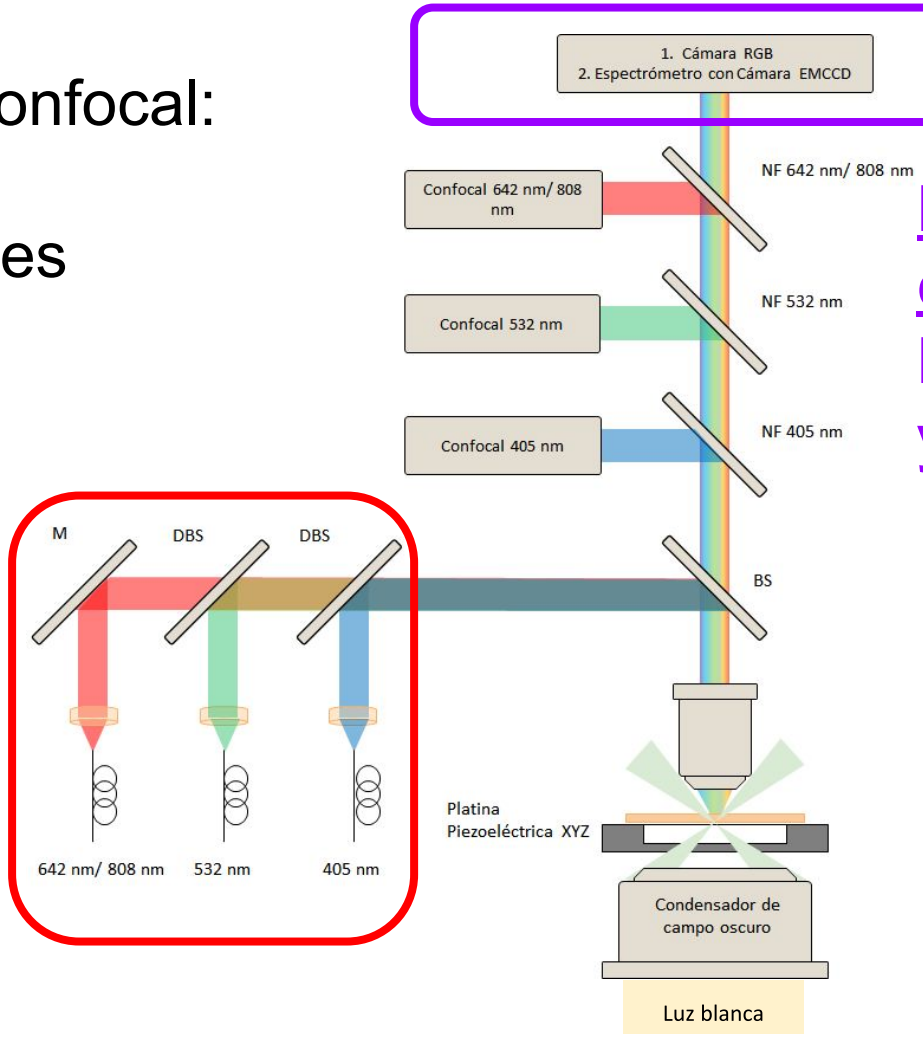
Fenómenos foto-inducidos:

¿Cómo monitoreamos una reacción química in Situ?
¿Qué rol juega la temperatura en la reacción?
¿Cómo medimos la temperatura en la nanoescala?

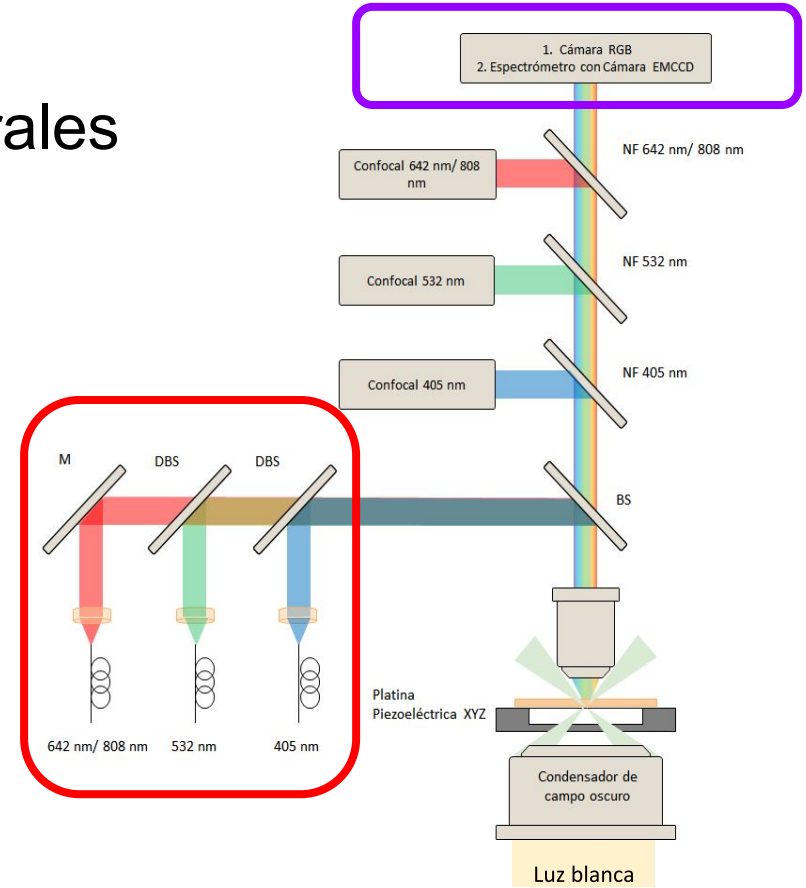
Microscopía confocal: Imágenes hiperespectrales

Excitación: Láser

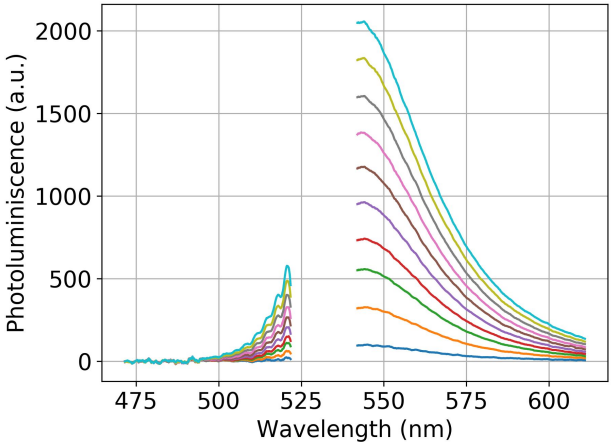
Detección confocal: Espectrómetro y CCD

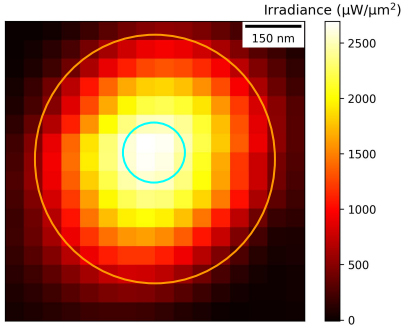


Microscopía confocal: Imágenes hiperespectrales



Espectros individuales de luminiscencia de nanopartículas





Conclusiones

PyPrinting

- ✓ **Desarrollado en Python**.
- ✓ 5 módulos independientes para microscopía confocal.
- ✓ Permite el **manejo de rutinas** que **automatiza** sistemáticamente experimentos con luz como: impresión de nanopartículas, estudios temperatura en la nanoescala, química asistida por plasmones (crecimiento de NPs), espectroscopia Raman sobre NPs.
- ✓ **Estadística** de experimentos de partícula única.
- ✓ Próximamente: imágenes confocal-espectrales para estudios luminiscencia y Raman.