

# Técnicas de análises de superfícies

Propriedades físicas: morfologia, rugosidade

Propriedades químicas: hidrofiliicidade, composição química, orientação molecular

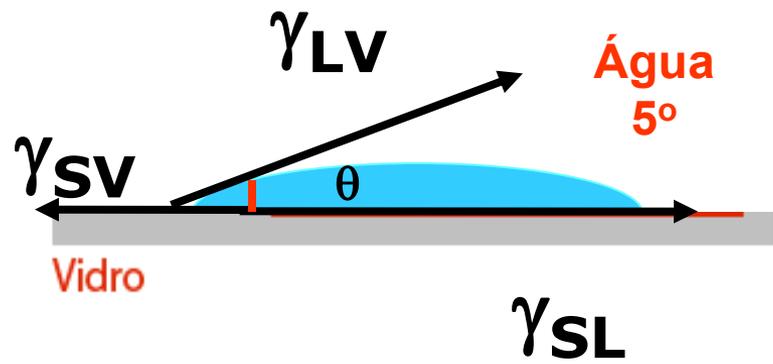
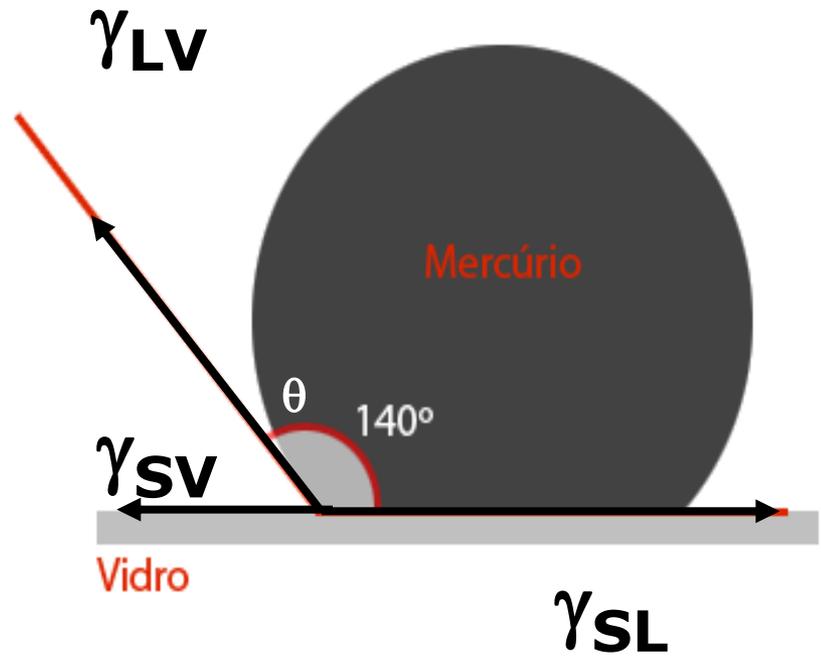
Qual a origem das propriedades de superfícies?

A somatória de forças interatômicas, intermoleculares da matéria em um dado meio

Propriedades da superfície não necessariamente são as mesmas do “bulk”

Ângulo de contato

Young No equilíbrio:  $\gamma_S = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta$



Método da gota séssil: Molhabilidade

Energia livre superficial  
do sólido em equilíbrio com o vapor do meio

Tensão superficial  
do líquido em equilíbrio  
com o seu vapor

Young

$$\gamma_S = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta$$

Ângulo de contato

Energia livre interfacial  
Sólido-líquido

Energia livre superficial ou tensão superficial

Definição: é o trabalho necessário para aumentar a superfície em uma unidade de área, por um processo isotérmico e reversível

Unidade: N/m ou J/m<sup>2</sup>

## Composição química

Superfícies compostas por moléculas polares (óxidos inorgânicos ou celulose) apresentam alta energia superficial → hidrofílicas

Superfícies feitas de compostos apolares (poliolefinas) apresentam baixa energia superficial → hidrofóbicas

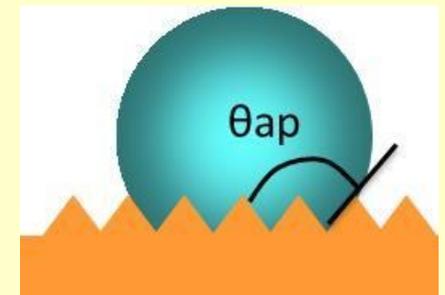
# Efeito da rugosidade na medida de ângulo de contato → estados metaestáveis (fora de equilíbrio)

## Regime de Wenzel: molhabilidade homogênea

$\cos\theta_{ap} = R \cdot \cos \theta$ ,  $R = \text{área real} / \text{área projetada}$

como  $R > 1$ ,

Superfícies hidrofóbicas ( $\theta > 90^\circ$ )  $\cos\theta_{ap} > \cos \theta$



Superfícies hidrofílicas  $\cos\theta_{ap} < \cos \theta$

**Efeito da rugosidade na medida de ângulo de contato  
→ estados metaestáveis (fora de equilíbrio)**

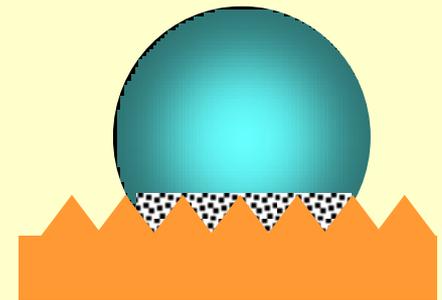
**Regime de Cassie-Baxter: molhabilidade parcial**

**presença de ar aprisionado nos "vales"**

$$\cos\theta_{ap} = f_1 \cdot \cos\theta_1 + f_2 \cdot \cos\theta_2$$

Alta histerese no ângulo de contato  $\Delta\theta$

$$\Delta\theta = \theta_{avanco} - \theta_{recesso}$$



**Superfície ideal: homogeneidade química e rugosidade baixíssima**



**Raridade (mica, float glass, lâminas de Si/SiO<sub>2</sub>)**

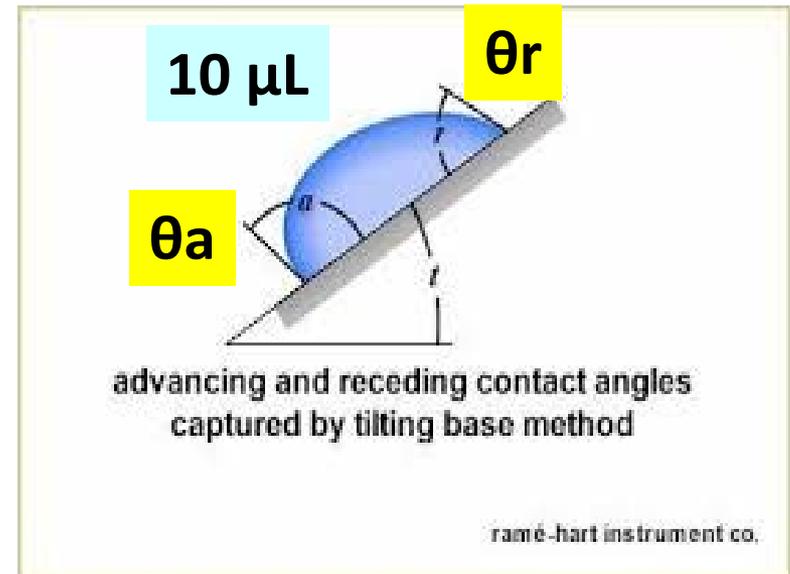
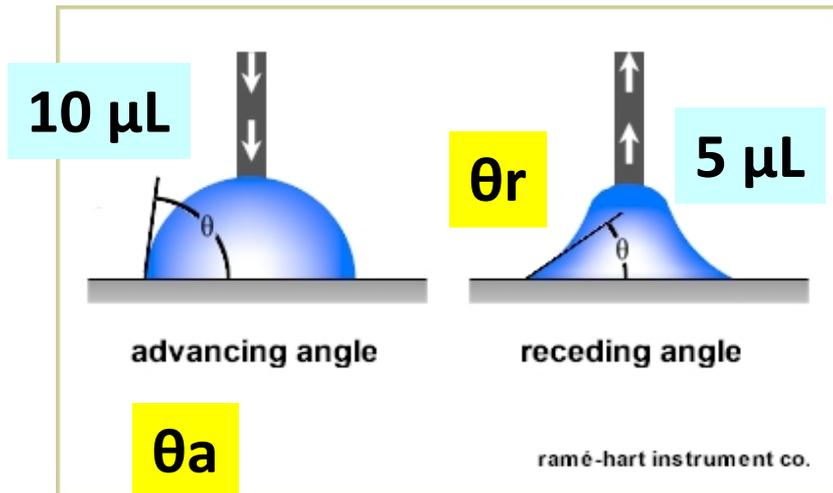
**Superfície real: heterogeneidade química e/ou rugosidade**

## Superfície real: heterogeneidade química e/ou rugosidade

Como estimar?

Histerese de ângulo de contato ( $\Delta\theta$ )

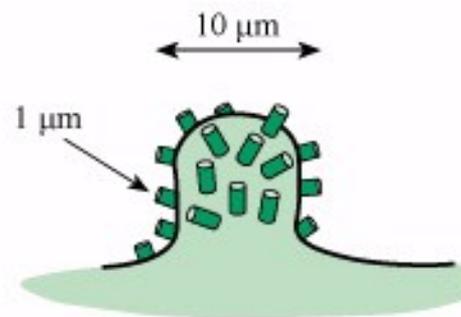
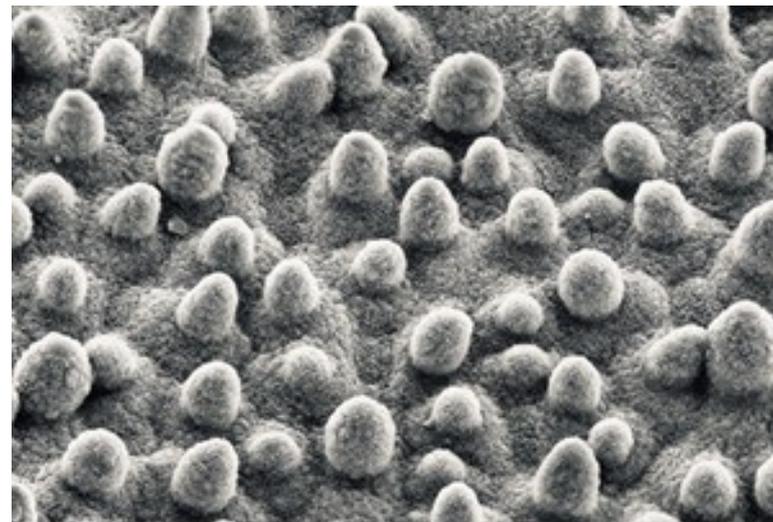
$\Delta\theta = \text{ângulo de avanço } (\theta_a) - \text{ângulo de recesso } (\theta_r)$



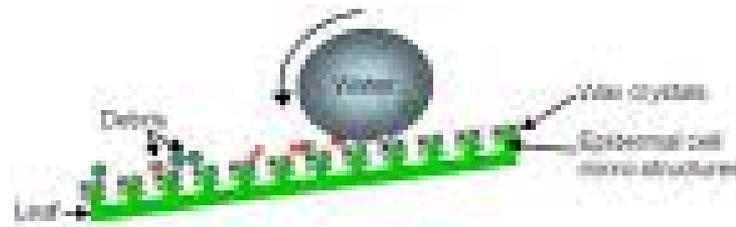
$\Delta\theta < 10^\circ$  próxima a idealidade

# Efeito “Lotus”

## Superfícies auto-limpantes ou superhidrofóbicas



## Hierarquia estrutural



# **Folha de couve**

**Canal**

**[www.youtube.com.br/denisepetri](http://www.youtube.com.br/denisepetri)**

**<http://www.youtube.com/watch?v=85N7VRtPcDA>**

# **Vidro X vidro hidrofobizado**

**Canal**

**[www.youtube.com.br/denisepetri](http://www.youtube.com.br/denisepetri)**

**<http://www.youtube.com/watch?v=XwTFNJkle90>**

**[http://www.youtube.com/watch?v=D\\_5UJ7jNVal](http://www.youtube.com/watch?v=D_5UJ7jNVal)**

**Nissan develops "self-cleaning" car**

<https://www.youtube.com/watch?v=TtntUSP-UeM>

**Ultra-Ever Dry**

<https://www.youtube.com/watch?v=BvTkefJHfC0>

# Development of formulations for crop protection

Surfactants are adjuvants commonly added to aqueous herbicides formulations to reduce the surface tension, facilitating their application.



Tatiana Cardoso D'Amato

## Ricardo Vagner Luiz

- **University of São Paulo (USP)**
- Bachelor Degree in Industrial Chemistry – 2008
- Bachelor Degree in Chemistry Education – 2008
- Master Degree in Chemistry - 2015
  
- Joined Dow in 2011 as Latin America TS&D and Product Stewardship for Amines & Chelants, Chlorinated Solvents and Acrylic Monomers.



# The interactions between surfactants and soybean or weed leaves epicuticular wax: maximal crop protection with minimal wax solubilization

## Cultivation

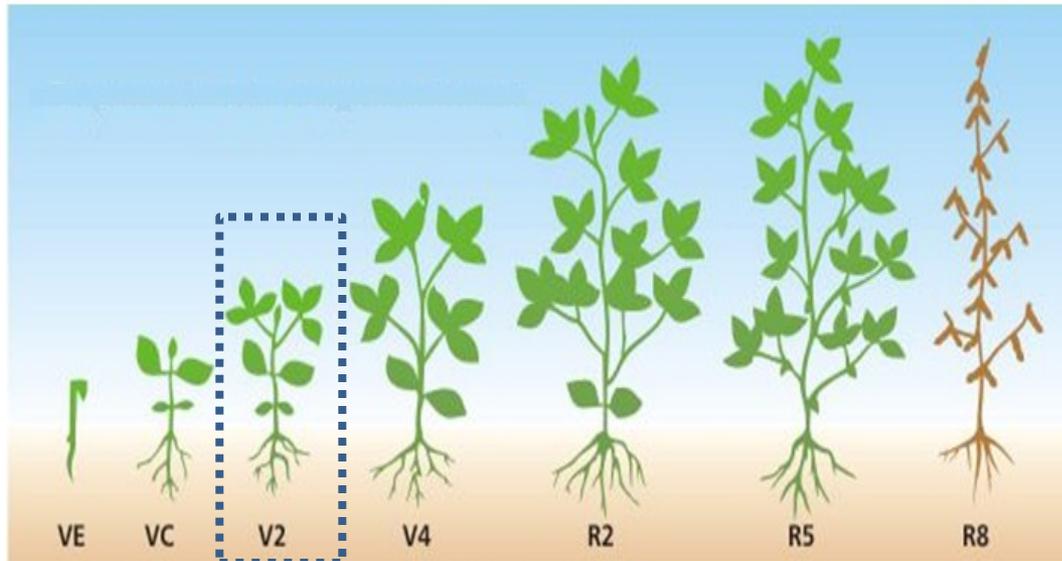
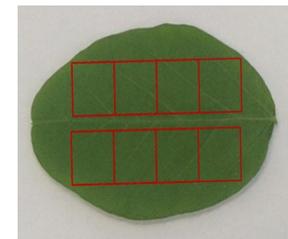


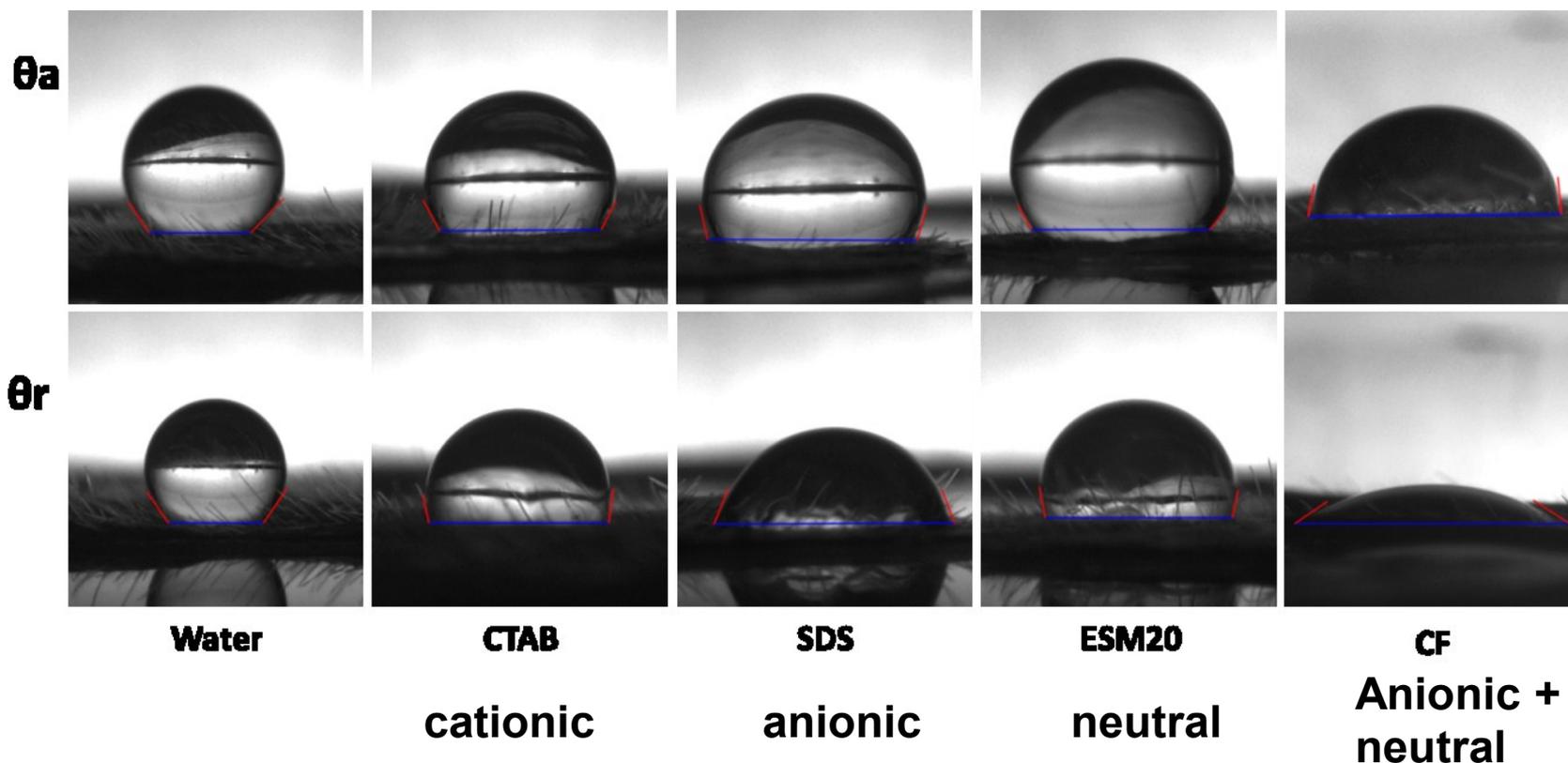
Figure 4: Life cycle of soybean



wettability: CF > SDS > CTAB > ESM20 > water  
CMC: SDS > CTAB > ESM20



Advancing

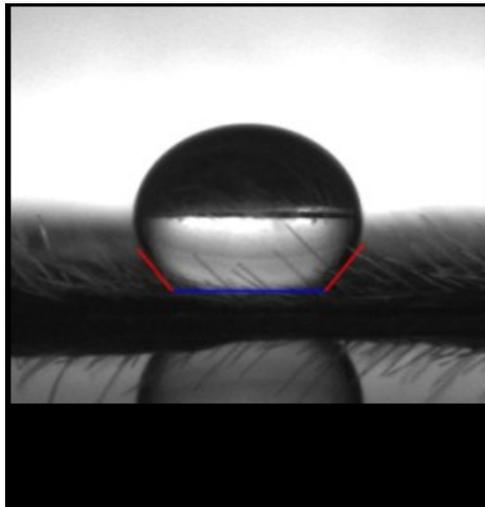
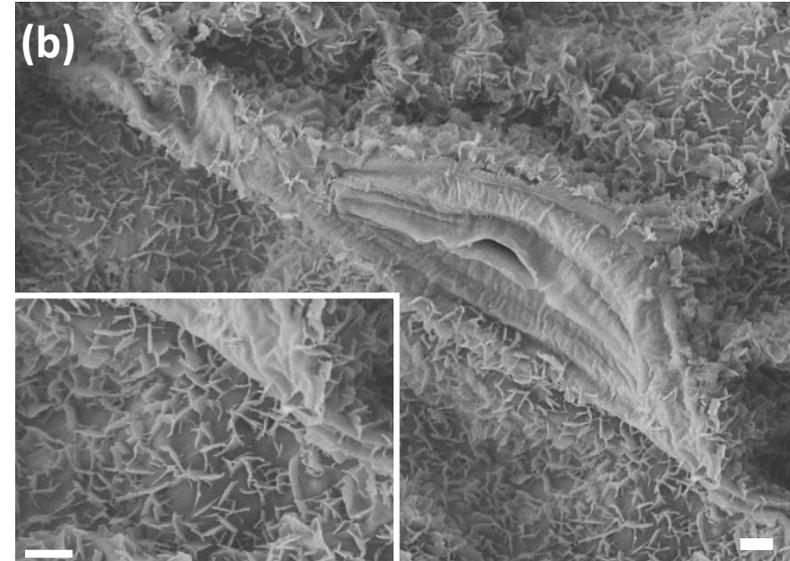
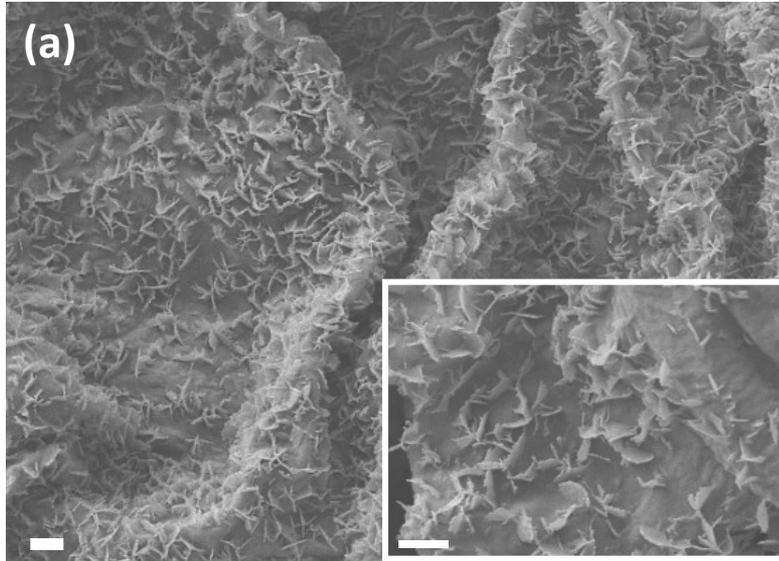


Receding

# Microscopia eletrônica de varredura

**adaxial**

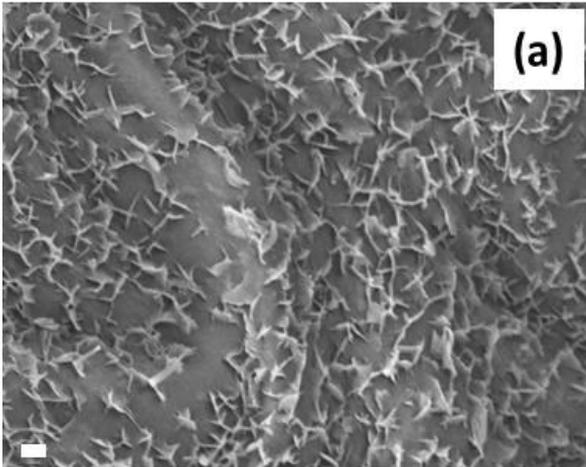
**abaxial**



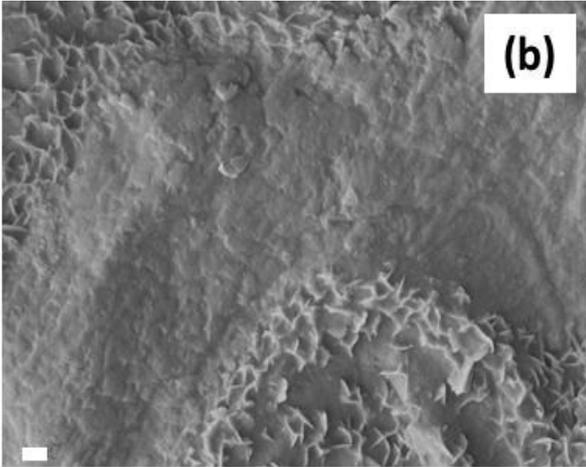
**Regime de Cassie-Baxter**

scale bar = 1  $\mu\text{m}$

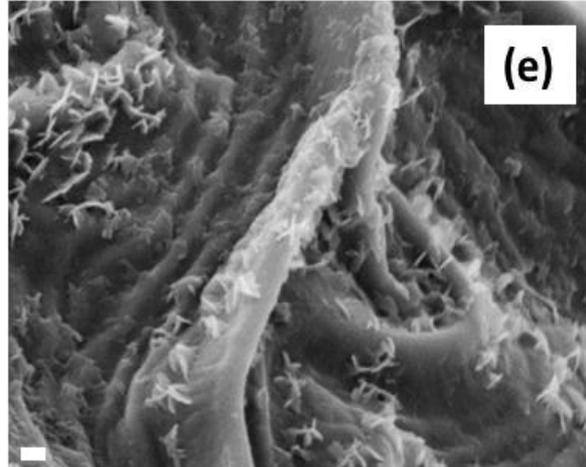
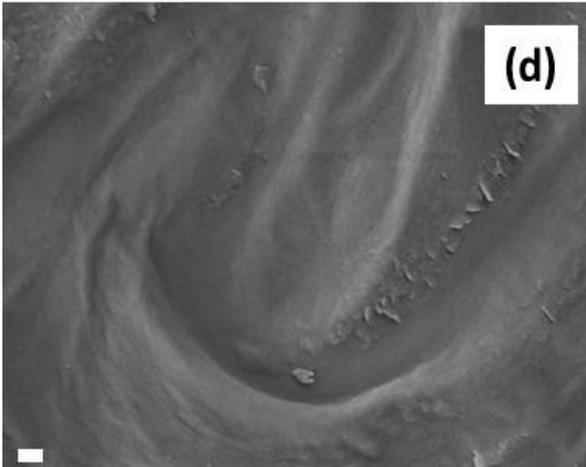
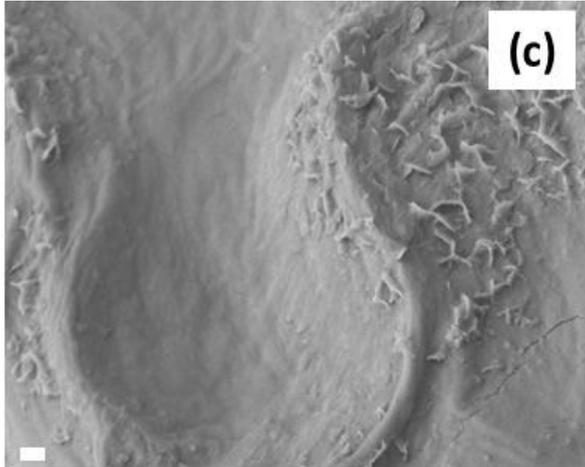
MilliQ water



CTAB (0.04 % v/v)



SDS (0.25 % v/v)



herbicide formulations used for crop protection should contain as little as possible surfactant to warrant efficiency against weed growth and integrity of wax structure on soy leaves

ESM20 (0.008 % v/v)

CF (0.2 % v/v)

Cite this: *Soft Matter*, 2011, **7**, 9804

www.rsc.org/softmatter

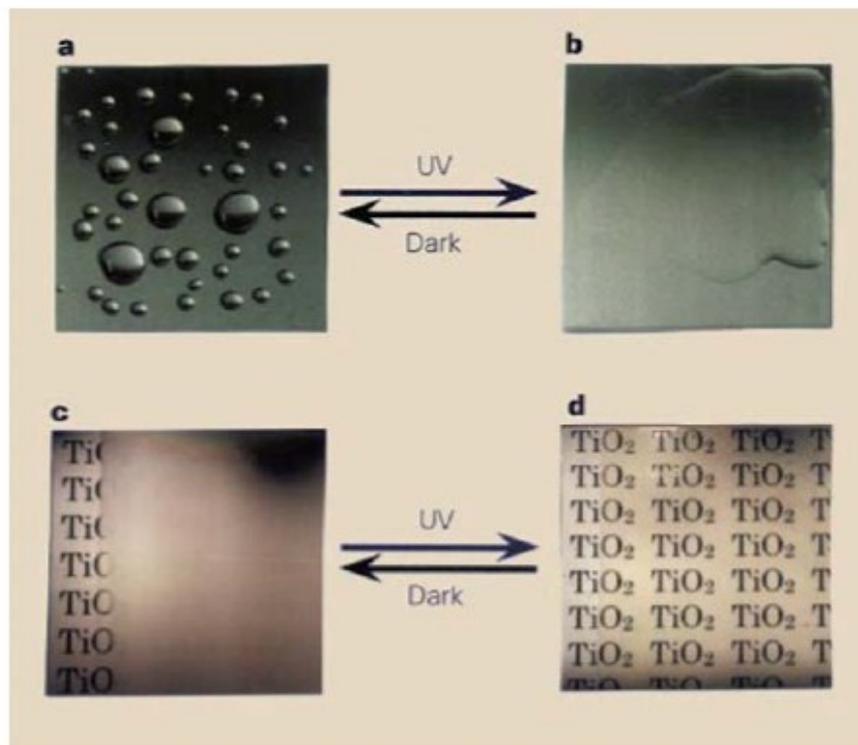
## REVIEW

### Hydrophilic and superhydrophilic surfaces and materials

Jaroslav Drelich,<sup>\*a</sup> Emil Chibowski,<sup>c</sup> Dennis Desheng Meng<sup>b</sup> and Konrad Terpilowski<sup>c</sup>

Received 8th May 2011, Accepted 22nd June 2011

DOI: 10.1039/c1sm05849e



**Fig. 1** Effect of UV radiation on hydrophilicity and transparency of a glass slide coated with a  $\text{TiO}_2$  thin film. Water remains in the shape of lenses with a contact angle of  $70\text{--}80^\circ$  on the  $\text{TiO}_2$ -coated glass when stored in dark (a and c), but spreads completely when exposed to UV radiation (b and d) (reprinted from ref. 18 with permission).

# Superfícies superhidrofílicas

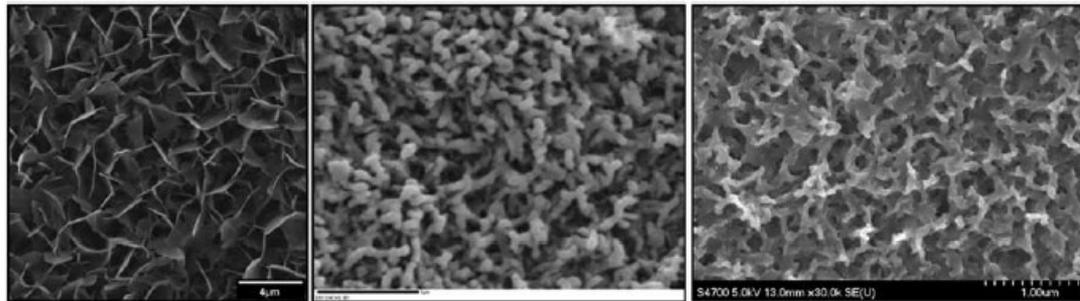


Fig. 6 Examples of calcium phosphate biocompatible (superhydrophilic) structures produced on a  $Ti_6Al_4V$  substrate (left),<sup>318</sup> a monolayer of thiol of mixed OH and  $CH_3$  end functionality (middle) and a monolayer of thiol with COOH end functionality (right).<sup>350</sup>

**Superhidrofílico:  $\theta < 5^\circ$**

**Hidrofílico:  $\theta < 50^\circ$  (?)**

**Hidrofóbico:  $90^\circ > \theta > 50^\circ$  (?)**

**Ultrahidrofóbico:  $\theta > 120^\circ$**

**Superhidrofóbico:  $\theta > 150^\circ, \Delta\theta < 10^\circ$**

A molhabilidade pode ser parcial ou total.

Coeficiente de espalhamento (S) = diferença entre a energia superficial (por unidade de área) do substrato no estado molhado e seco:

$$S = (W_{AB} - W_{AA})/\text{área}$$

$$S = \gamma_S - \gamma_{LV} - \gamma_{SL}$$

Quando  $S > 0$ , o líquido espalha completamente sobre a superfície para abaixar sua energia superficial e  $\theta$  tende a zero.  $W_{SL} > W_L$

Quando  $S < 0$ , o líquido espalha parcialmente sobre a superfície e  $\theta >$  zero.

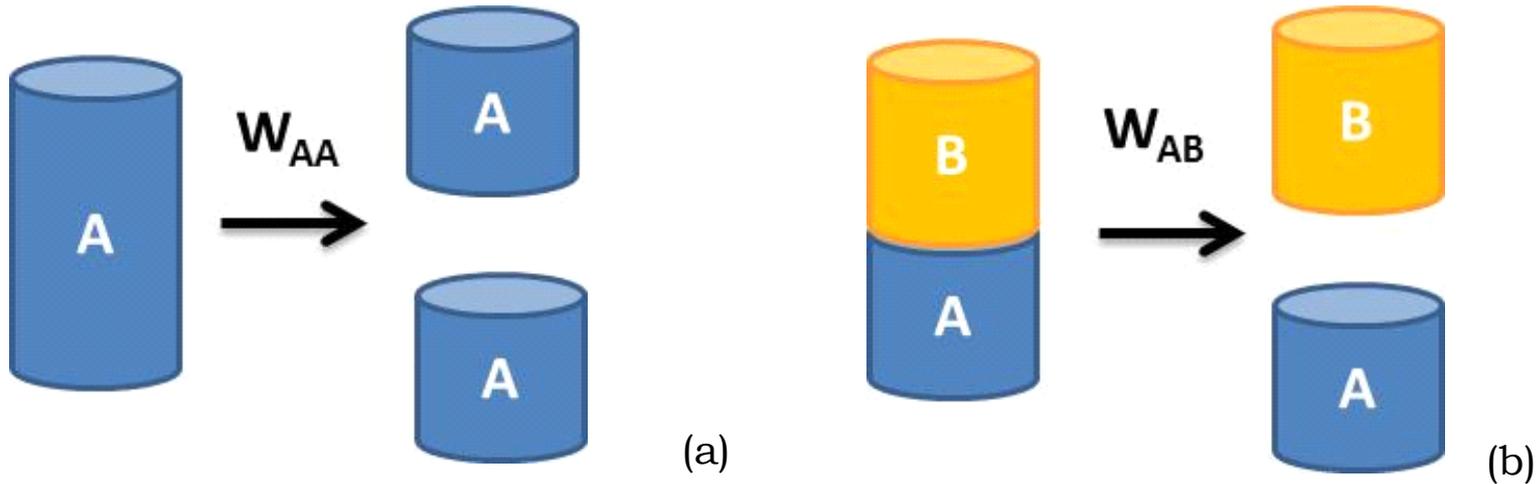
# Young -Dupré

**Trabalho de coesão**,  $W_{AA}$ , corresponde ao trabalho reversível necessário para separar uma dada área de coluna de líquido A ou de um sólido em duas partes:

$$W_{AA} / \text{área} = 2 \gamma_A$$

**Trabalho de adesão**  $W_{AB}$ , trabalho reversível necessário para separar uma dada área de dois líquidos ou dois sólidos diferentes.

$$W_{AB} / \text{área} = \gamma_A + \gamma_B - \gamma_{AB}$$



Young  $\gamma_S = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta$  (1)

Dupré  $W_{SL} = \gamma_S + \gamma_{LV} - \gamma_{SL}$  (2)

**Trabalho de adesão/área  
(N/m)**

Combinando (1) e (2)  $W_{SL} = \gamma_{LV} (\cos \theta + 1)$  (3)

Quando a superfície deve ser inerte  $W_{SL} \rightarrow \min$

Quando a superfície deve ser aderente  $W_{SL} \rightarrow \max$

# Determinação de energia superficial de sólidos

$$\gamma_S = \gamma_S^d + \gamma_S^p$$

**Modelo geométrico (mais utilizado):** Good-Girifalco-Fowkes

$$\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = 2 \left[ \left( \gamma_S^d \gamma_{LV}^d \right)^{1/2} + \left( \gamma_S^p \gamma_{LV}^p \right)^{1/2} \right]$$

**Modelo harmônico (particular para poliolefinas):** Wu

$$\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = 4 \left( \frac{\gamma_S^d \gamma_{LV}^d}{\gamma_S^d + \gamma_{LV}^d} + \frac{\gamma_S^p \gamma_{LV}^p}{\gamma_S^p + \gamma_{LV}^p} \right)$$

# Determinação de energia superficial de sólidos

Método indireto

Para uma superfície homogênea e lisa mede-se o ângulo de contato usando líquidos de polaridades diferentes.

Por exemplo:

$\text{H}_2\text{O}$  ( $\gamma_{\text{LV}}^{\text{d}} = 21.8 \text{ mN/m}$  e  $\gamma_{\text{LV}}^{\text{p}} = 50.2 \text{ mN/m}$ )

$\text{CH}_2\text{I}_2$  ( $\gamma_{\text{LV}}^{\text{d}} = 50,8 \text{ mN/m}$  e  $\gamma_{\text{LV}}^{\text{p}} = 0 \text{ mN/m}$ )

Depois substitui os valores nos modelos.

# Microscopias

# Microscopia óptica (MO)

Filmes ou soluções concentradas transparentes

Limite de resolução  $\sim 200$  nm (luz visível 400 nm a 700 nm)

MO de papel higiênico (fibras de celulose)

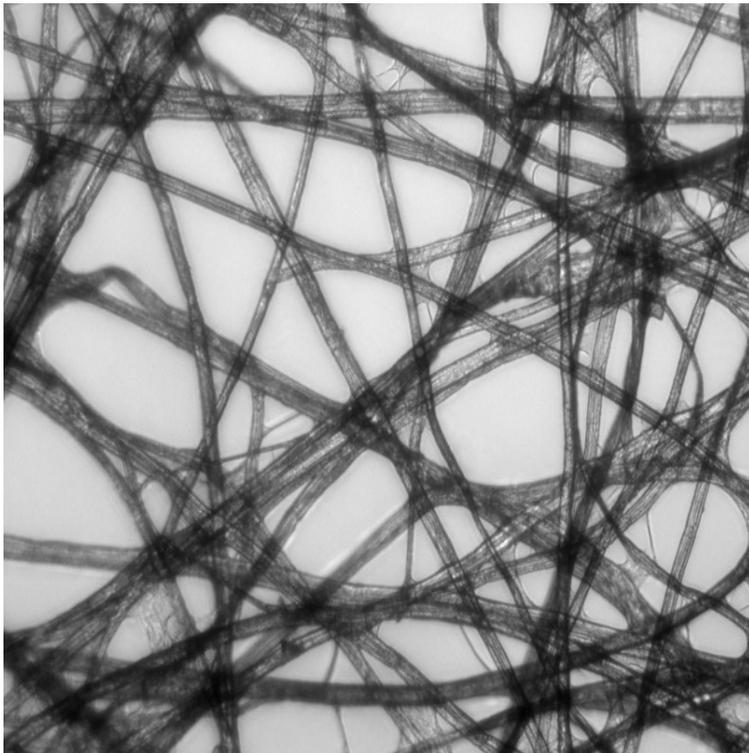


Imagem de campo claro:

a luz vem de baixo da amostra e a imagem é observada por cima



## MO de papel higiênico (fibras de celulose)

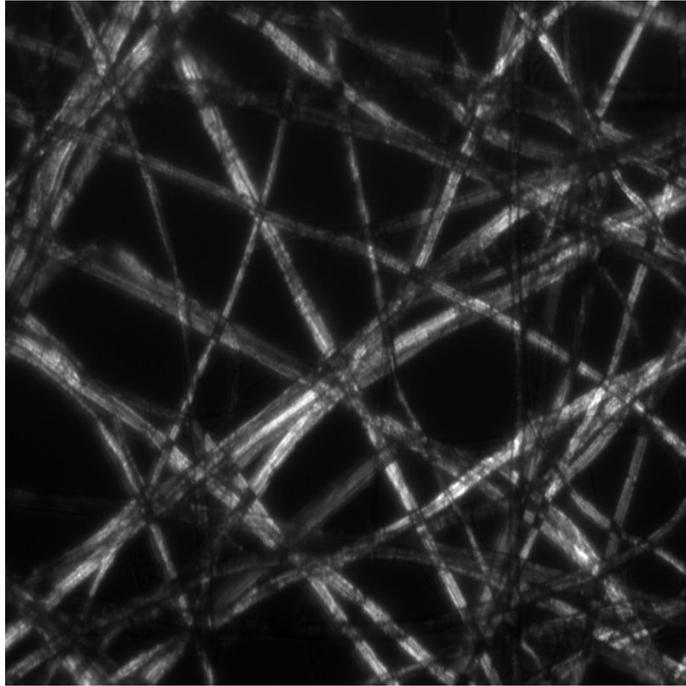
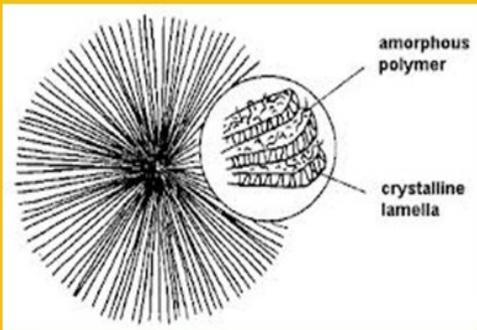


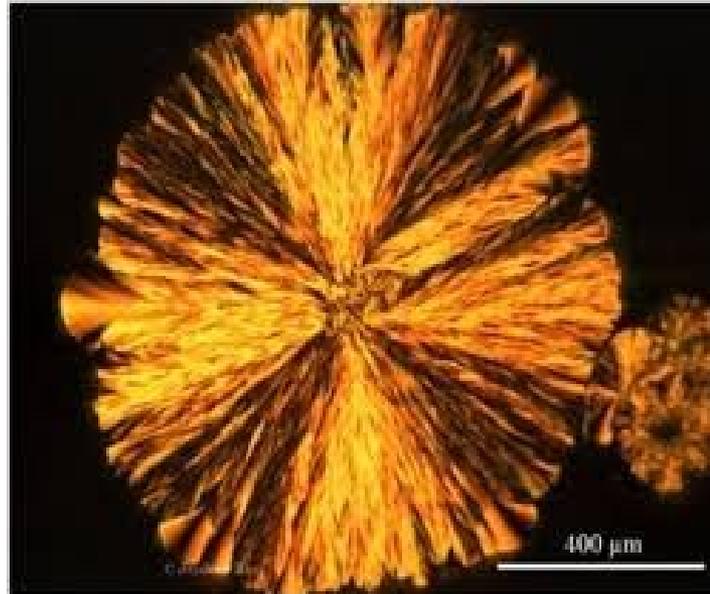
Imagem com luz polarizada:  
Contraste na imagem é originado da rotação da luz polarizada causada pela amostra.



## Esferulitos:



Dependendo do tamanho, podem ser observados por microscopia óptica com filtros polarizadores.



Cruz de Malta

MO de papel higiênico (fibras de celulose)

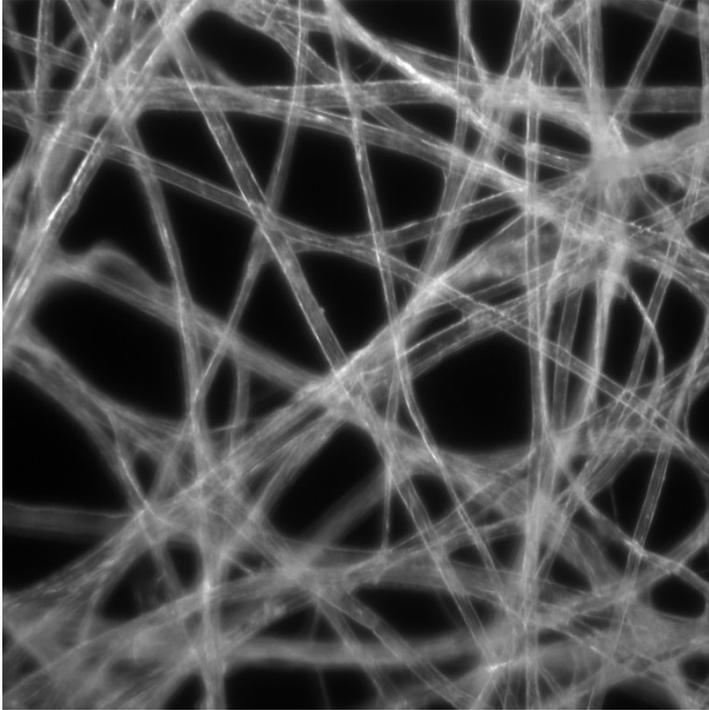


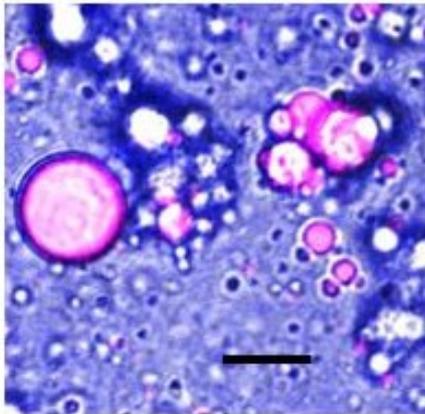
Imagem de campo escuro:  
A imagem é formada somente pela luz espalhada pela amostra.



Microscópio confocal com fluorescência (confocal laser scanning microscopy , CLSM).

Melhoria feita no MO:

Um pinhole foi montado no plano confocal das lentes para eliminar a luz fora de foco. Desta forma é possível obter imagens com diferentes profundidades de foco por vez; a reconstrução das diferentes imagens obtidas gera uma imagem 3D. Se os componentes da amostra puderem ser corados com diferentes corantes fluorescentes, é possível determinar a localização espacial de cada componente na amostra.



**10  $\mu\text{m}$**

Emulsão O/W estabilizada por nanocristais de celulose  
Celulose marcada com calcoflúor  
Gotas de óleo marcadas com vermelho do Nilo

## Microscopia eletrônica de varredura (MEV) Scanning electron microscopy (SEM)

O microscópio eletrônico (ME) tem resolução muito maior que a microscopia óptica (MO) porque a radiação incidente tem comprimento de onda ( $\lambda$ ) muito menor.

MO  $\rightarrow$   $\lambda$  faixa do visível

ME  $\rightarrow$  de Brooglie  $\lambda = \frac{hc}{E}$ , onde  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz no vácuo e  $E$  é a energia do fóton

$$h = 6,62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$$

$$c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$$

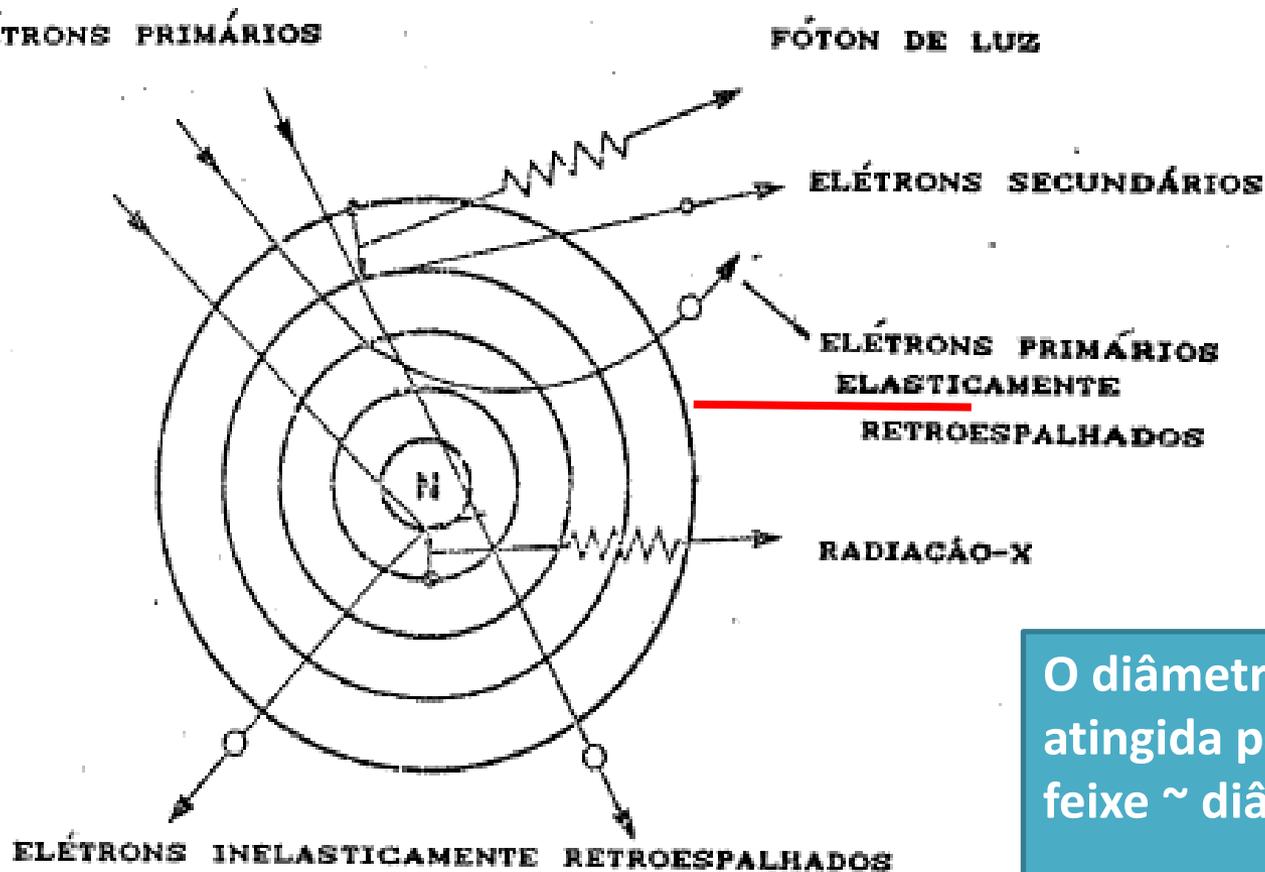
$$E = 1\text{eV} = 1,6 \times 10^{-19} \text{ J}$$

Um MEV comum pode operar com até 35 kV



$$\lambda = 0,36 \text{ \AA}$$

## Interação entre feixe de elétrons e amostra

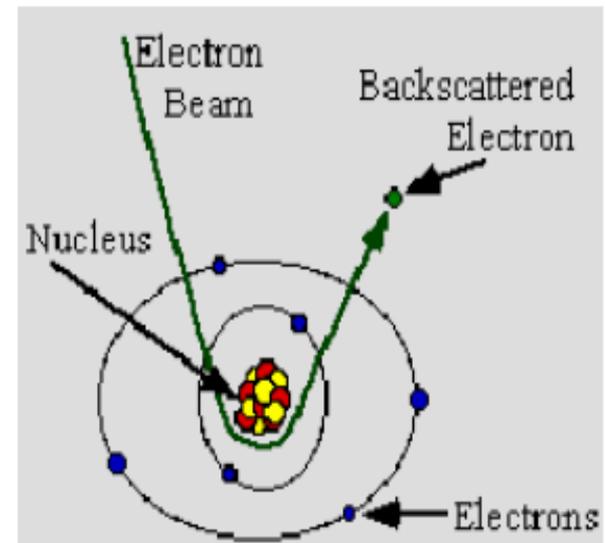
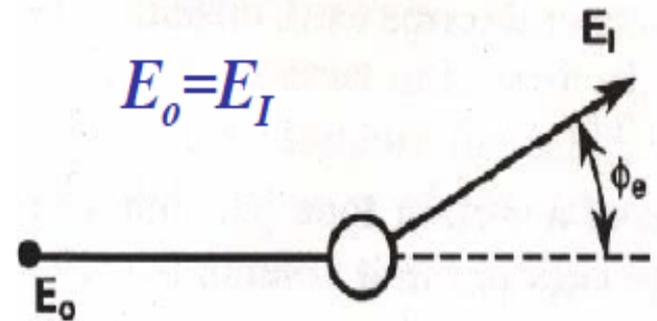


O diâmetro da área atingida pela área do feixe  $\sim$  diâmetro do feixe.

Se o diâmetro da área atingida pela área do feixe  $\neq$  diâmetro do feixe  $\rightarrow$  espalhamento

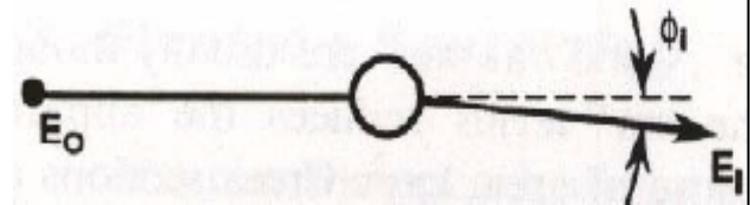
In **elastic scattering**, the electron trajectory changes, but its kinetic energy and velocity remain essentially constant (due to large differences between the mass of the electron and nucleus). This process is known as electron backscattering (although later we will confine the term "**backscattered electrons**" to those scatter out of the sample).

Backscattered electrons = elétrons retroespalhados

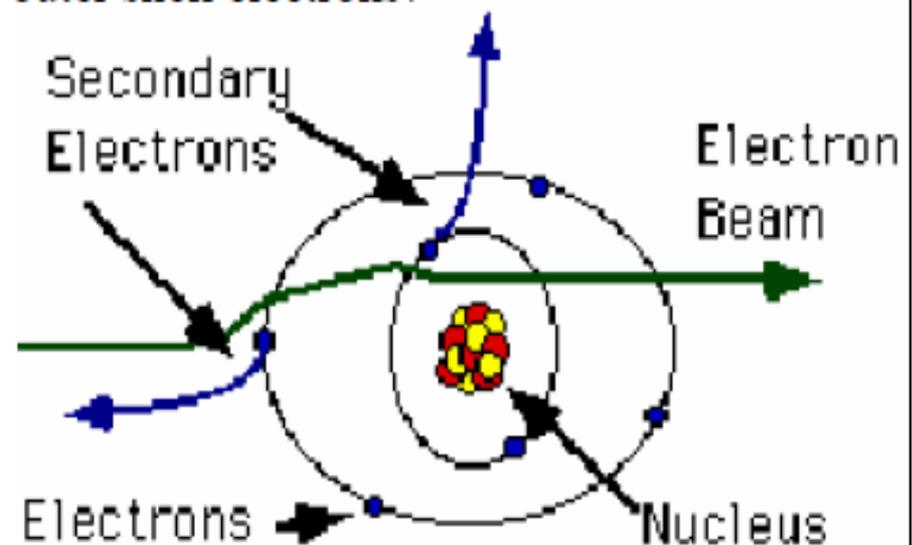


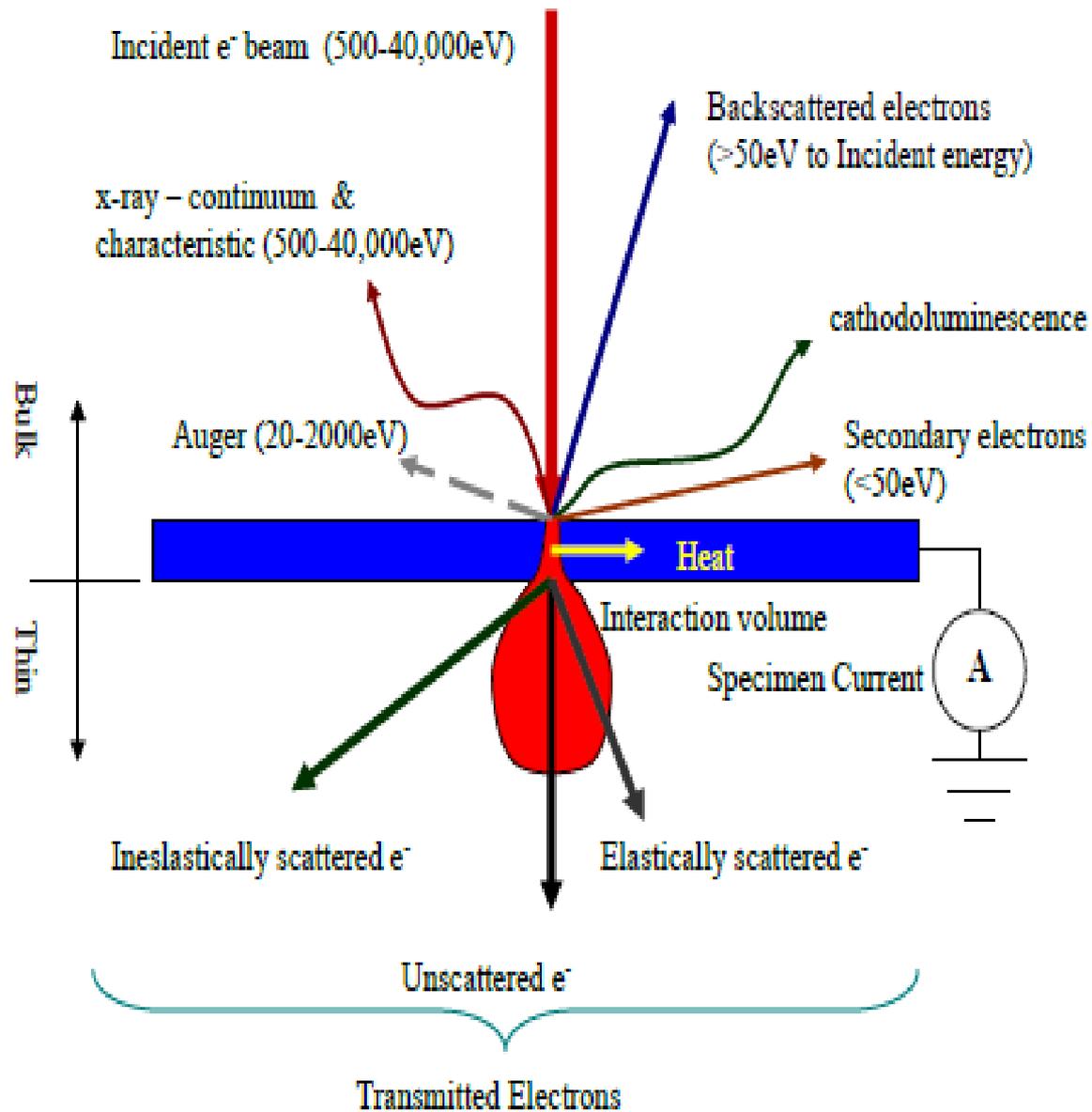
In **inelastic scattering**, the trajectory of the incident electron is only slightly perturbed, but energy is lost through interactions with the orbital electrons of the atoms in the specimen. Inelastic interactions produce diverse effect including:

- Secondary electrons
- phonon excitation (heating)
- cathodoluminescence (visible light fluorescence)
- continuum radiation (bremsstrahlung or “braking” radiation)
- characteristic x-ray radiation
- plasmon production (secondary electrons)
- Auger electron production (ejection of outer shell electrons)



$$E_0 > E_1$$





## Volume of Excitation

The size and shape of the interaction volume is limited by two factors:

- (1) energy loss through inelastic interactions
- (2) electron loss or backscattering through elastic interactions.

The resulting excitation volume is a hemispherical to jug-shaped region with the neck of jug at the specimen surface.

The depth of electron penetration of an electron beam and the volume of sample with which it interacts are a function of its angle of incidence, the magnitude of its current, the accelerating voltage, and the average atomic number (Z) of the sample.

Electron penetration generally ranges from 1-5  $\mu\text{m}$  with the beam incident perpendicular to the sample.

The *depth of electron penetration* ( $x$ ) is approximately (Potts, 1987, p.336):

The *width of the excited volume* ( $y$ ) can be approximated by (Potts, 1987, p. 37):

Better results are obtained using Monte Carlo approximations

$$x (\mu\text{m}) = \frac{0.1 E_0^{1.5}}{\rho}$$

where  $E_0$  = accelerating voltage (keV),  
and  $\rho$  = density ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

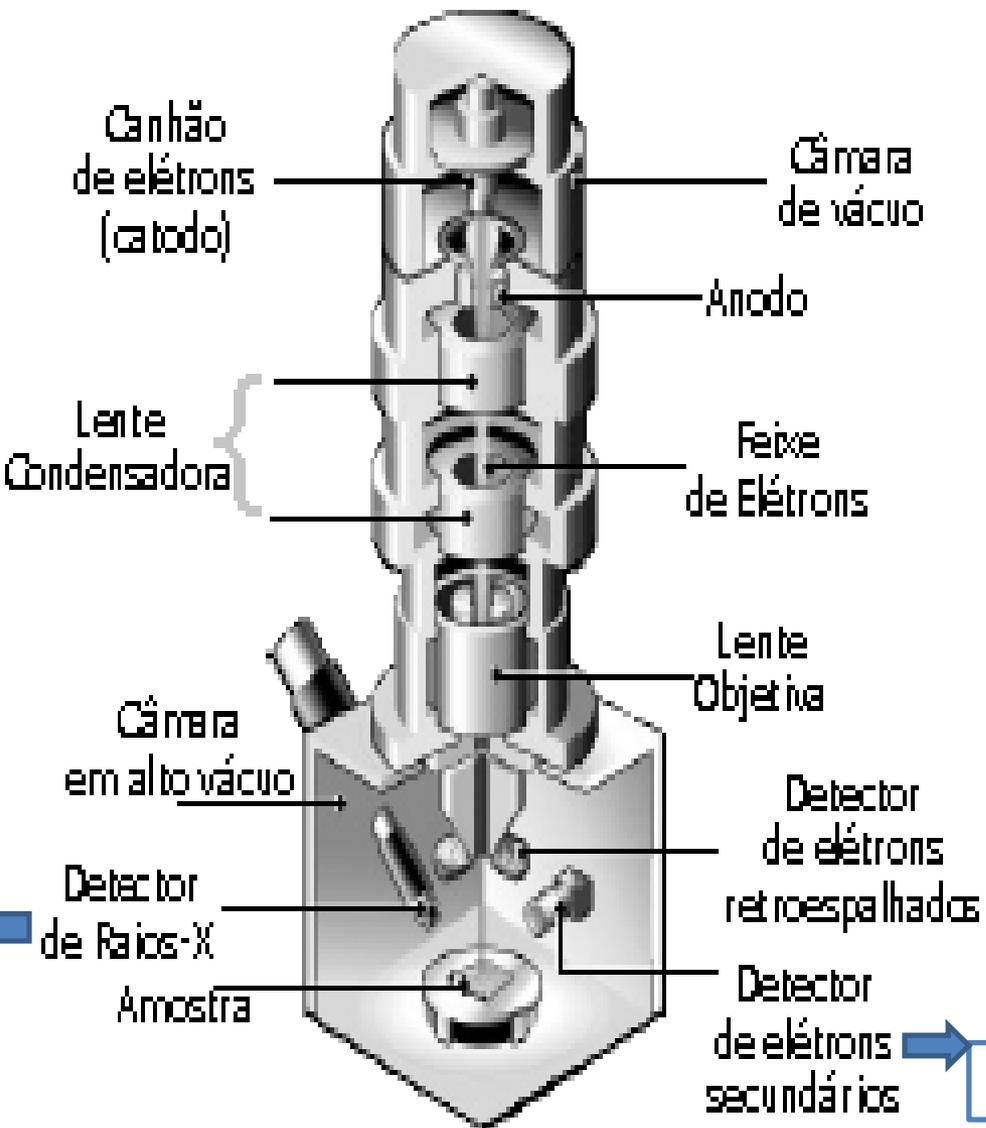
$$y (\mu\text{m}) = \frac{0.077 E_0^{1.5}}{\rho}$$

where  $E_0$  = accelerating voltage (keV),  
and  $\rho$  = density ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

**Fonte de radiação:**

Filamento de tungstênio ou  
(it has the highest melting  
point and lowest vapor  
pressure of all metals, low  
cost.)

Monocristal de hexaboreto  
de lantânio (LaB<sub>6</sub>) - Indicado  
para "field emission gun"  
(FEG)



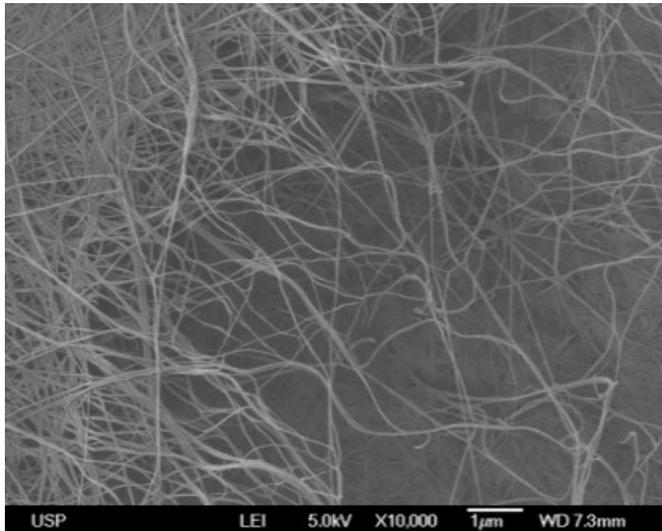
10<sup>-6</sup> mbar

**Espectroscopia por  
Dispersão de Energia  
de Raios X (EDS):  
Composição química**

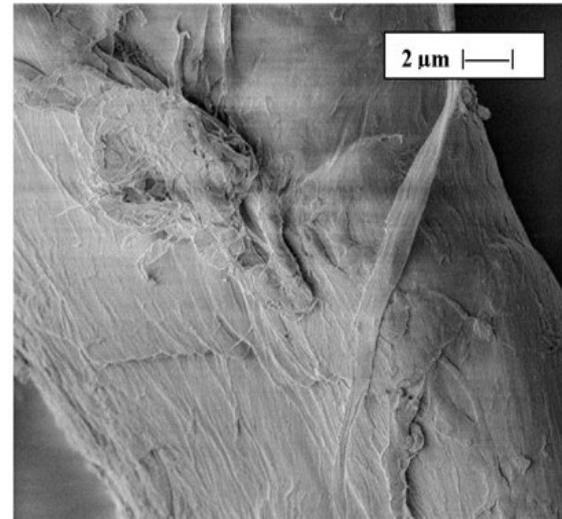
**Topografia**

## Preparo de amostras para MEV

- 1) Secar ou liofilizar as amostras para garantir que não vai contaminar o canhão de elétrons
- 2) Fraturar ou criofraturar a amostra, se quiser analisar a estrutura interna do material. Criofratura é a fratura do material imerso em  $N_2$  líquido
- 3) Recobrir com uma camada de material condutor, se o material for isolante (todos polissacarídeos são isolantes). Geralmente através da evaporação de Au ou Pt ou “Sputtering” (com Au ou Pt).



Celulose bacteriana

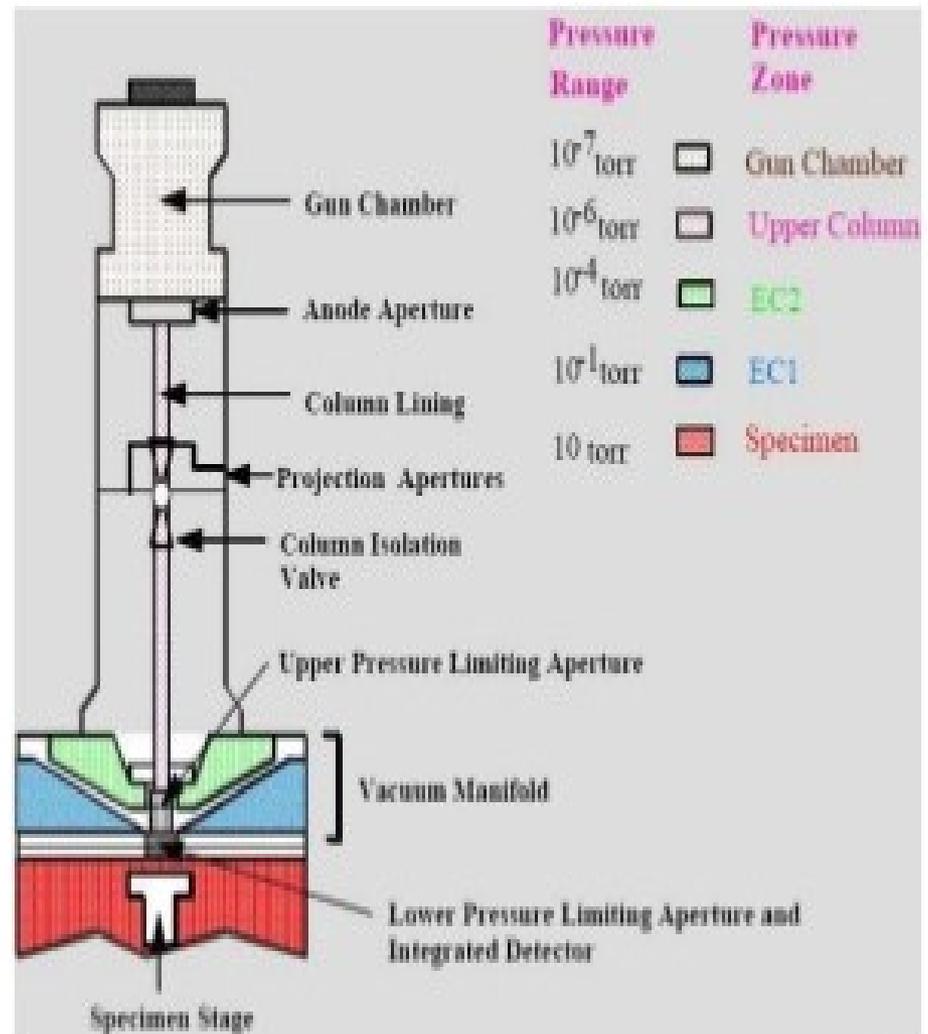


Celulose de algodão

# Gaseous SEM (Environmental SEM)

- Works in:
  - Air
  - Low Vacuum
  - High Pressure
  - Variable Pressure
- Gases Used Include:
  - N<sub>2</sub>
  - O<sub>2</sub>
  - Ar, He, H<sub>2</sub>O...

<http://www.phy.cam.ac.uk/research/research-groups-images/bss/images/esem.jpg>



## Microscopia eletrônica de transmissão (MET) transmission electron microscopy (TEM)

ME → de Brooglie  $\lambda = \frac{hc}{E}$ , onde  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz no vácuo e  $E$  é a energia do fóton

$$h = 6,62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$$

$$c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$$

$$E = 1\text{eV} = 1,6 \times 10^{-19} \text{ J}$$



Um MET operando com 100 kV

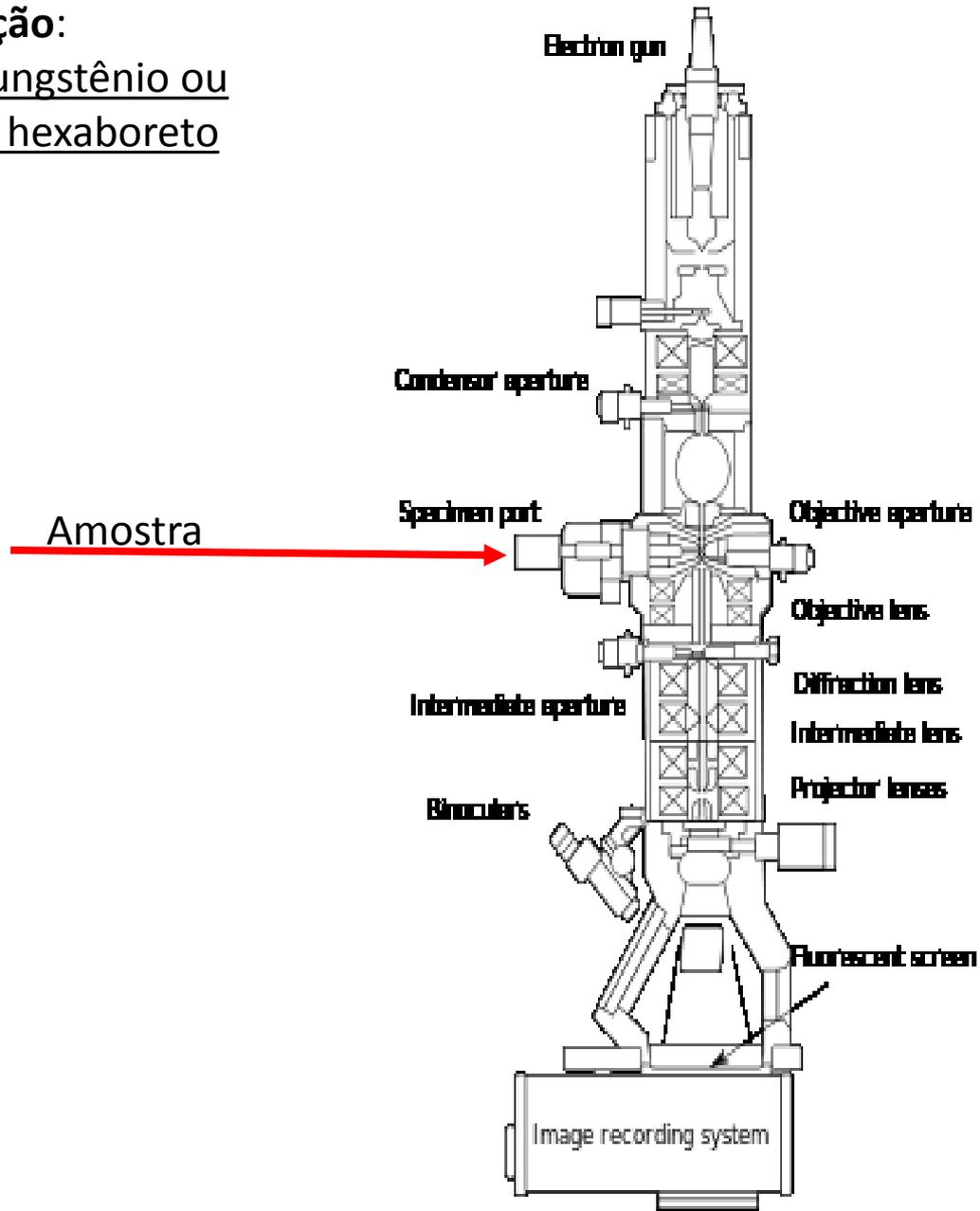
$$\lambda = 0,097 \text{ \AA}$$

O feixe atravessa fatias muito finas ( $\sim 100$  nm de espessura) da amostra.

A interação entre o feixe e a amostra permite conhecer a morfologia e composição elementar da amostra.

**Fonte de radiação:**

Filamento de tungstênio ou  
Monocristal de hexaboreto  
de lantânio



As diferenças de espessura, densidade e número atômico (Z) da amostra são responsáveis pelas regiões claras e escuras da imagem formada.

Quando o feixe atravessa a amostra alguns elétrons são espalhados elasticamente, outros inelasticamente e outros são transmitidos.

O diafragma da objetiva elimina os elétrons espalhados elasticamente, deixando passar somente os não espalhados e os inelásticos.

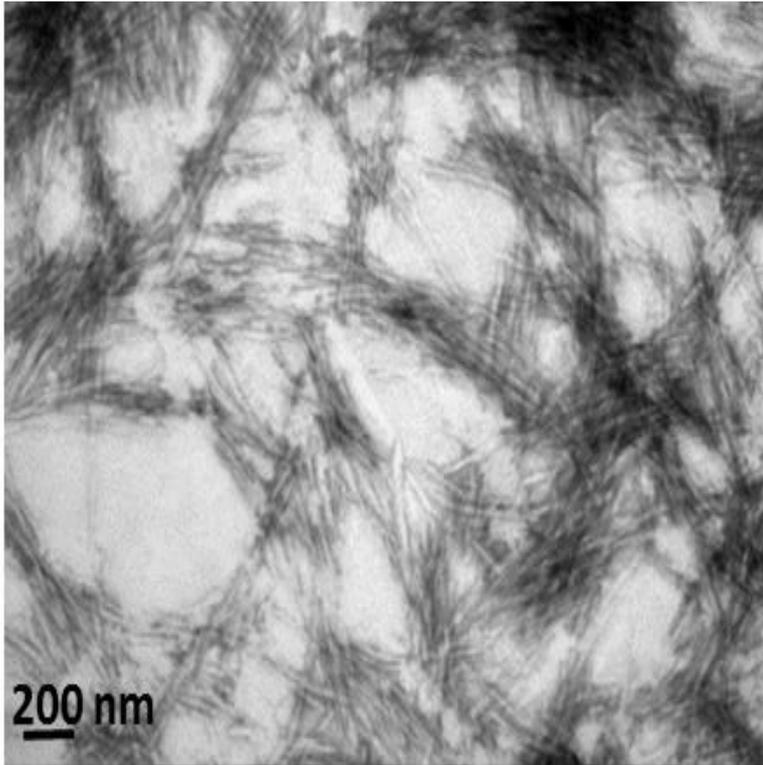
Amostras composta por átomos de Z alto, geram imagens com alto contraste devido ao forte espalhamento e pouca perda de energia. Amostras compostas por átomos de Z baixo, como polímeros, espalham muito pouco e, por isso, geram imagens com baixo contraste.

### Preparo de amostra:

(Crio)ultramicrotomo para cortar fatias muito finas  
Coramento com  $\text{OsO}_4$  ou  $\text{RuO}_4$ , no caso de polímeros



## Nanocristais de celulose (eucalipto) corados com $\text{RuO}_4$



Domingues, Pereira, Sierakowki, Rojas, Petri *Cellulose*, 2016

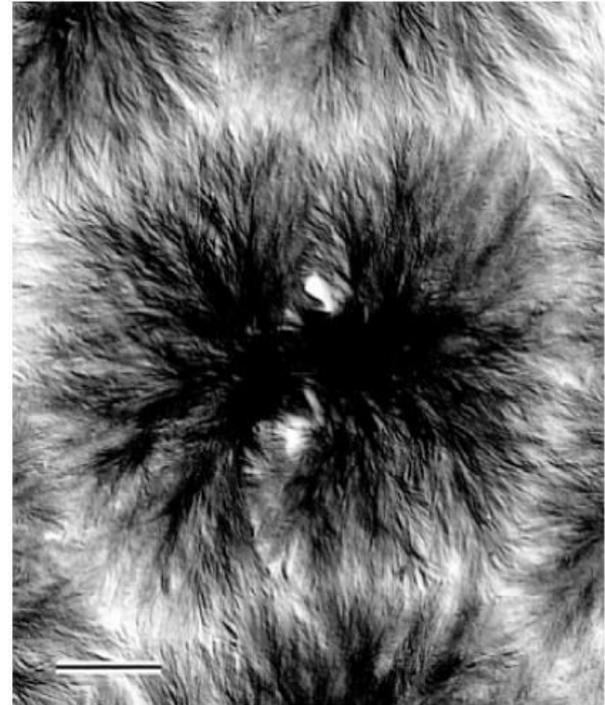
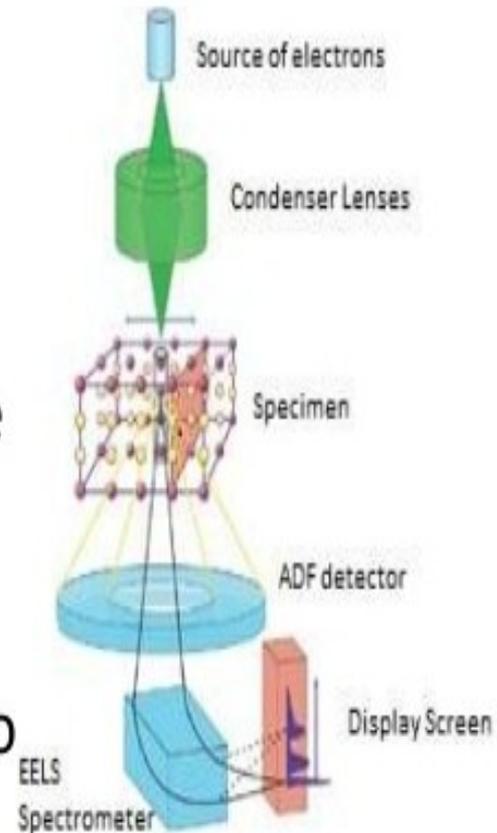


Figure 5.30. Electron micrography of a polyethylene spherulite at the beginning of growth. [Courtesy of B. Lotz, ICS-CNRS, Strasbourg (France).]

Quando há um espectrômetro que analisa a perda de energia de elétrons (EELS) integrado à coluna óptica, os elétrons inelásticos que atravessam a amostra podem ser classificados com respeito às energias características de cada elemento da amostra. **EELS = electron energy loss spectroscopy**

## Magnetic Spectrometer

- Discriminates the energy loss electrons on the basis of their absolute energy.
- The signal from the electron energy loss spectrometer can be used to generate an EELS spectrum
- The spectrometer can be used to produce a **compositional map**

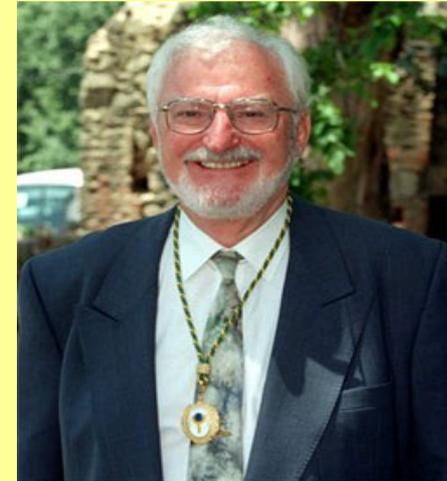
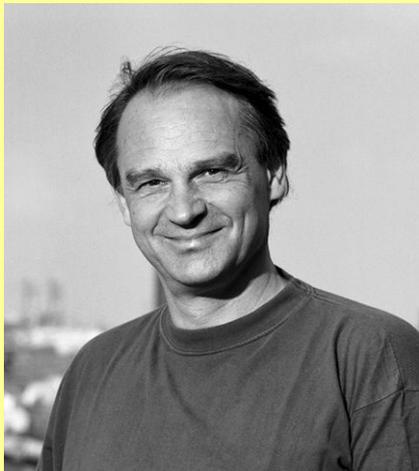


**Microscópio de varredura de tunelamento (STM), 1981:  
o equipamento permitiu medir a corrente de tunelamento  
entre uma ponta de tungstênio e uma superfície condutora**

## **1986 – Prêmio Nobel de Física**

Professor. **Ernst Ruska**, Fritz-Haber-Institut der  
Max-Planck-Gesellschaft, Berlin - **TEM**

Dr **Gerd Binnig** and Dr **Heinrich Rohrer**,  
IBM Research Laboratory, Zurich, Switzerland - **STM**



**STM → corrente de tunelamento**

**AFM → forças de interação entre ponta e amostra**

Microscopia eletrônica de varredura mostra vales e topos, mas não quantifica e ainda tem que recobrir com camada condutora

Microscopia confocal, depende muito da amostra e difícil de quantificar

**AFM surgiu como uma ferramenta para quantificar a topografia na amostra “*in natura*”**

**\*\*Materiais não condutores (polímeros, proteínas, partículas virais, bactérias, DNA)**



Tipo de interação	Potencial x Distância	Energia típica (kJ/mol)
Íon - íon	$\frac{(ze)_1 (ze)_2}{4\pi\epsilon_0 x}$	250
Íon-dipolo permanente	$\frac{(ze)_1 \mu_2 \cos \theta}{4\pi\epsilon_0 x^2}$	15
<b>Dipolo perman. - dipolo permanente (Keesom)</b>	$-\frac{2 (ze)_1 \mu_2 \cos \theta}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T x^6}$	2
<b>Dipolo perman. - dipolo induzido (Debye)</b>	$-\frac{(\alpha_{0,1} \mu_2^2 + \alpha_{0,2} \mu_1^2)}{(4\pi\epsilon_0)^2 x^6}$	2
<b>Dipolo induzido -dipolo induzido (London)</b>	$-\frac{3\hbar}{2} \frac{\nu_1 \nu_2}{(\nu_1 + \nu_2)} \frac{(\alpha_{0,1} \alpha_{0,2})}{(4\pi\epsilon_0)^2 x^6}$	1 a 2

Forças de van der Waals

**Ligações de H:**  
~20 kJ/mol

# FORÇAS DE VAN DER WAALS

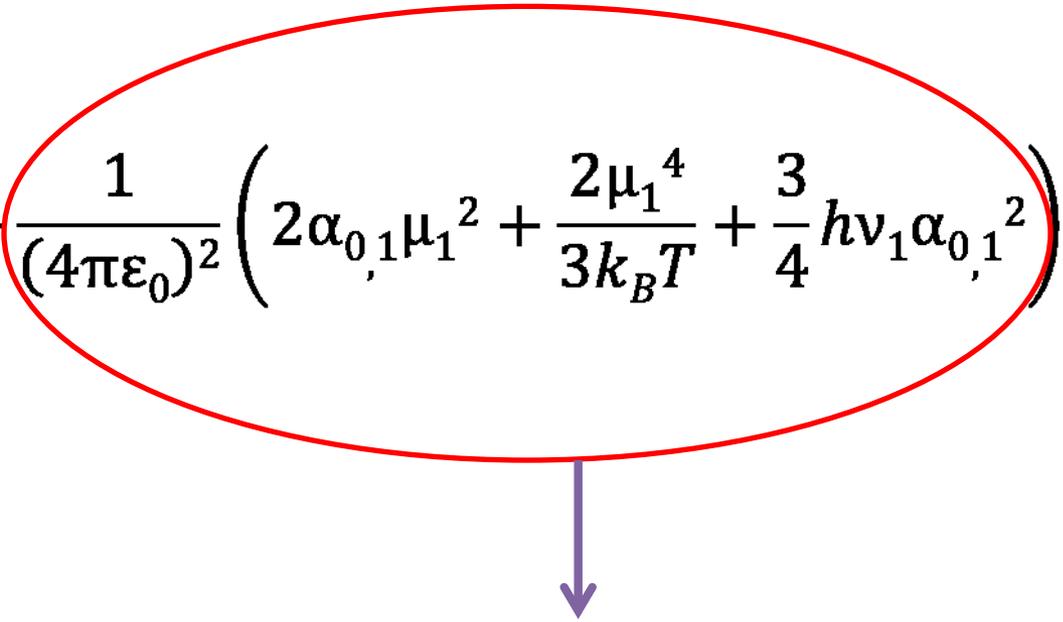
- SÃO INTERAÇÕES ENTRE DIPOLO-DIPOLO OU DIPOLO-DIPOLO INDUZIDO QUE GOVERNAM PROPRIEDADES MACROSCÓPICAS DA MATÉRIA (KEESOM + DEBYE + LONDON);
- SÃO SEMPRE INTERAÇÕES ATRATIVAS;
- SÃO DE LONGO ALCANCE (DE 0,2 NM A 10 NM);
- ESPECIALMENTE IMPORTANTES PARA MOLÉCULAS ORGÂNICAS.

## **Implicações macroscópicas:**

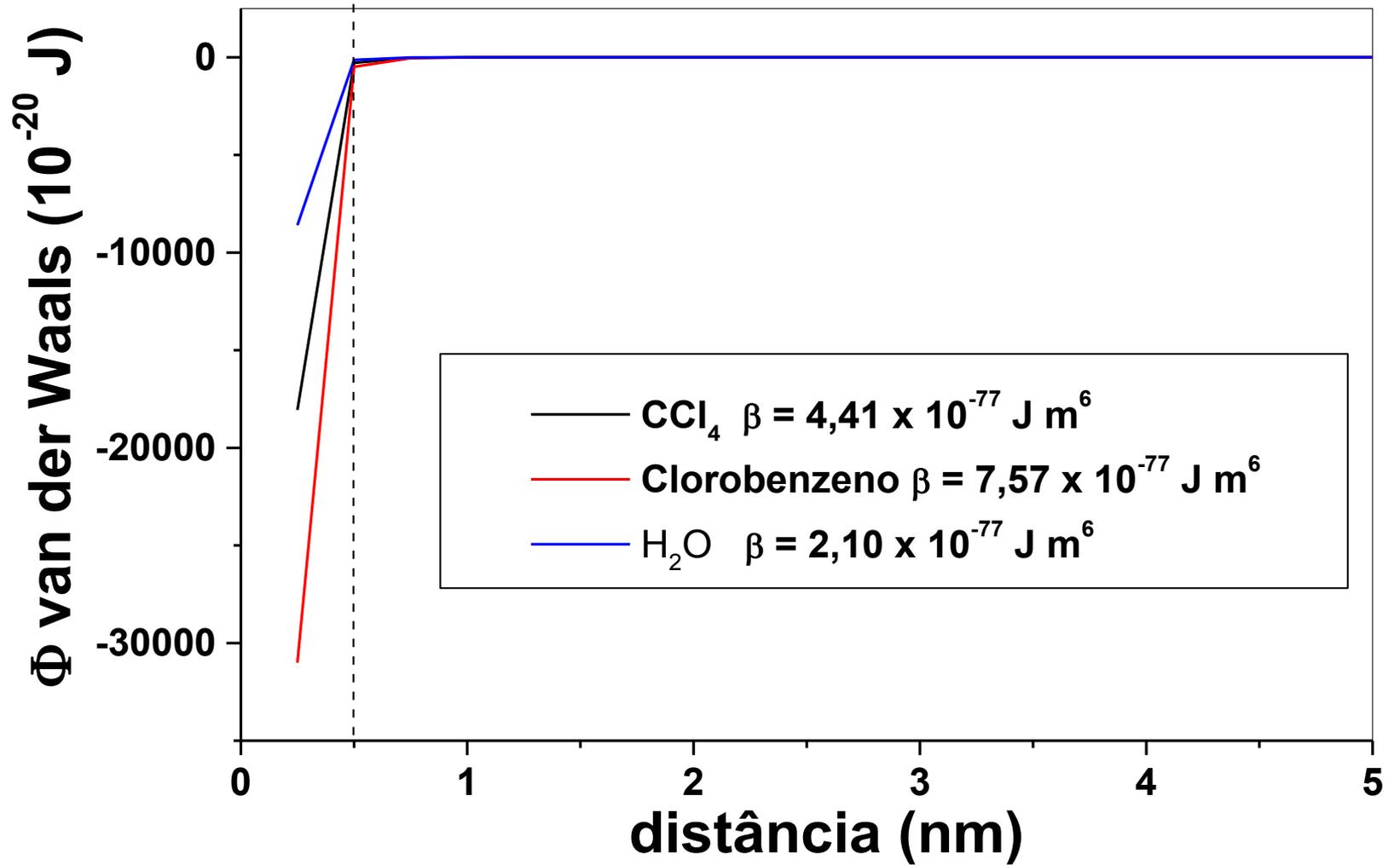
- Calor de vaporização de líquidos
- Viscosidade
- Coesão ou adesão
- Auto-associação
- Estabilidade coloidal

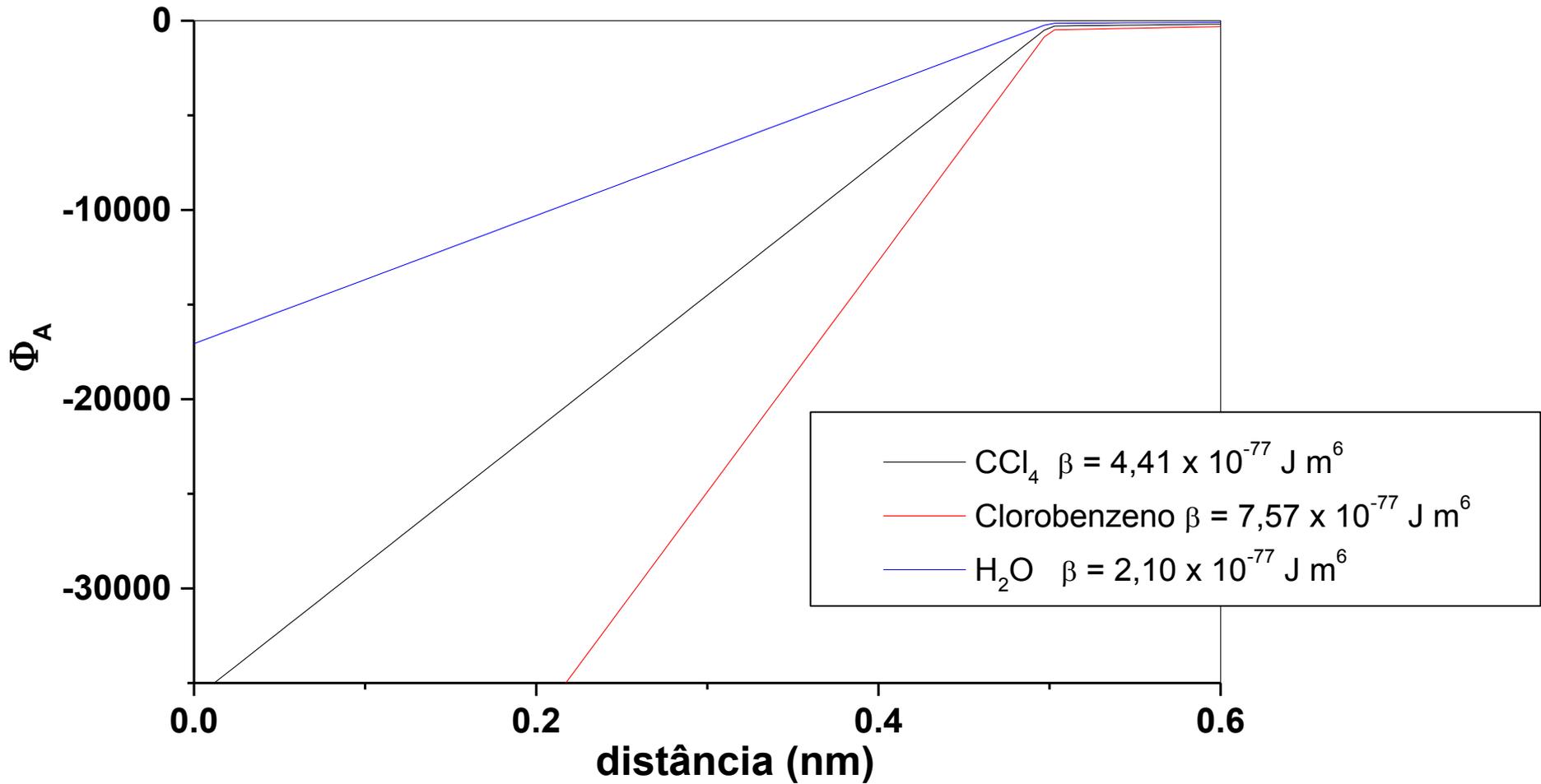
Para calcular como varia o potencial de atração de van der Waals ( $\Phi_A$ ) com a distância entre 2 moléculas iguais em função da distância ( $x$ ):

$$\Phi_A = -\frac{1}{(4\pi\epsilon_0)^2} \left( 2\alpha_{0,1}\mu_1^2 + \frac{2\mu_1^4}{3k_B T} + \frac{3}{4}h\nu_1\alpha_{0,1}^2 \right) x^{-6} = -\beta_{11}x^{-6}$$

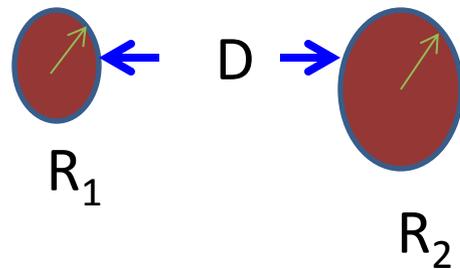


$\beta_{11}$





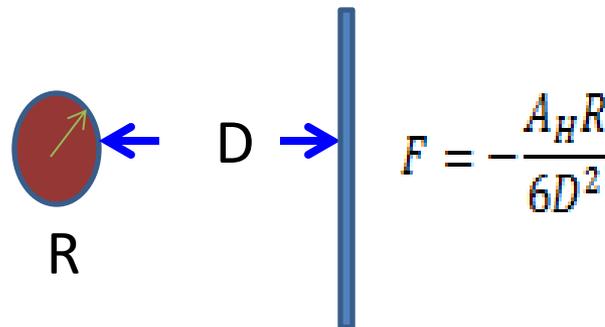
# Forças de van der Waals entre 2 sólidos macroscópicos



$$F = -\frac{A_H}{6D^2} \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2}$$

Constante de Hamaker

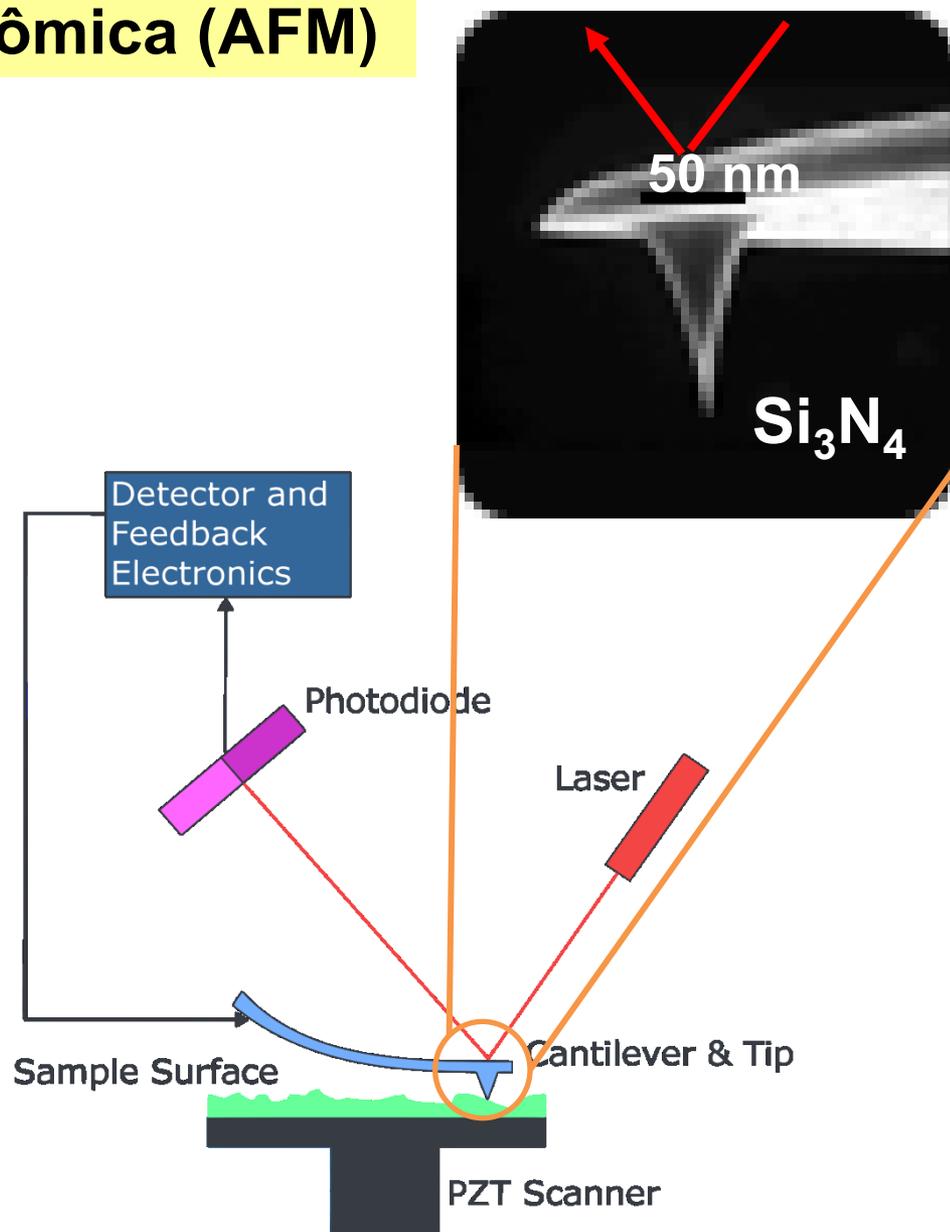
$$\sim 10^{-20} \text{ J}$$



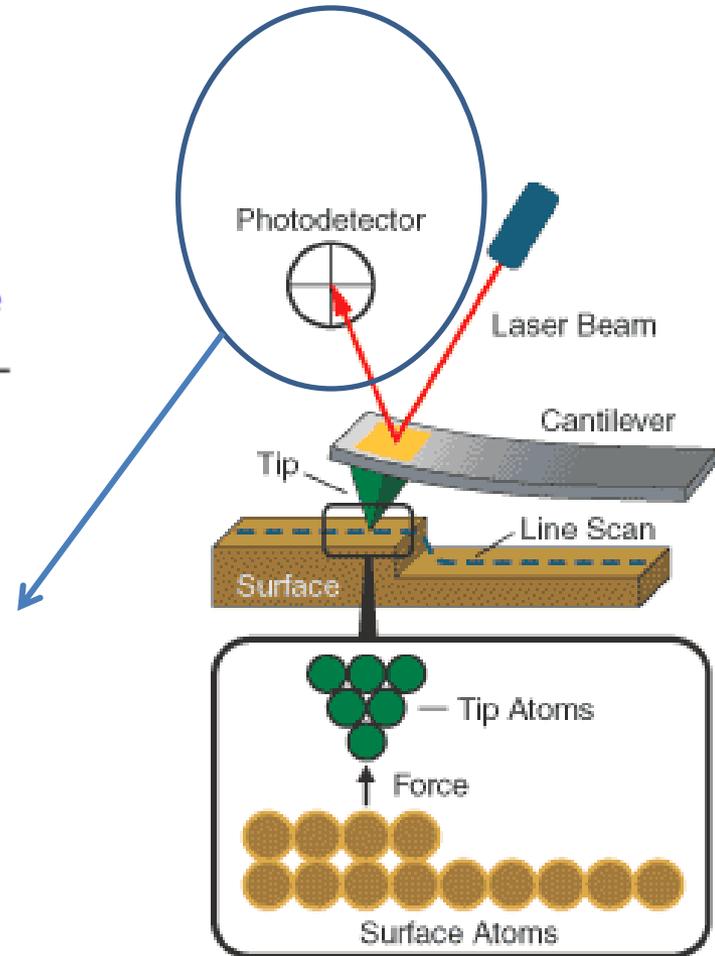
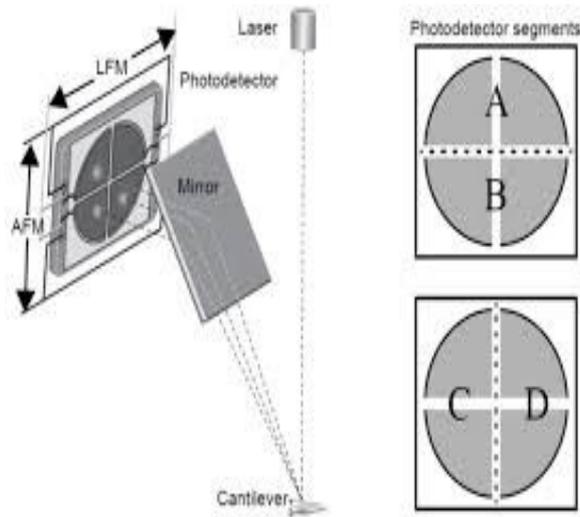
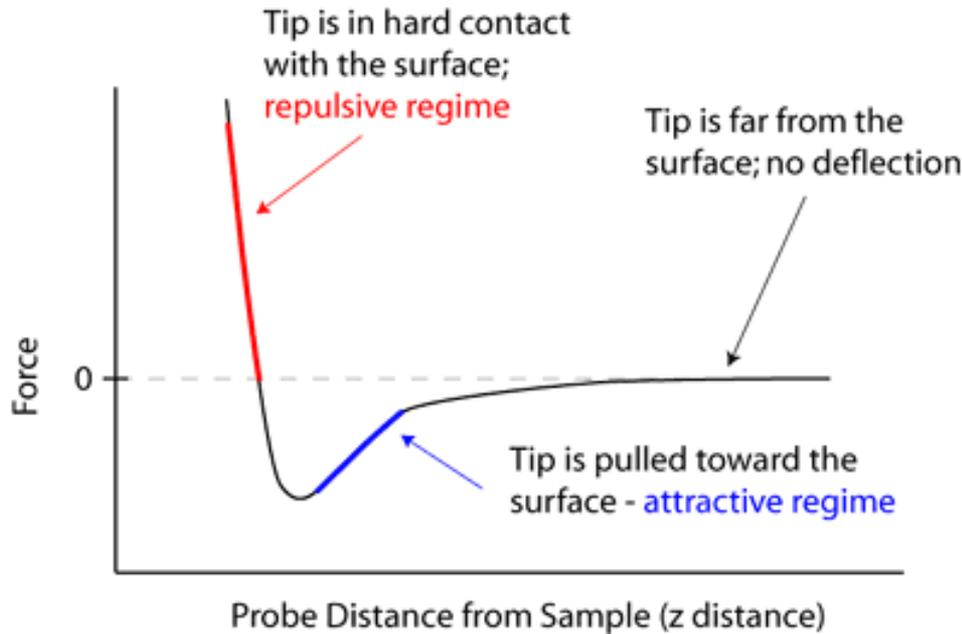
$$F = -\frac{A_H R}{6D^2}$$

$$A_H = \pi^2 \beta_{12} \rho_1 \rho_2$$

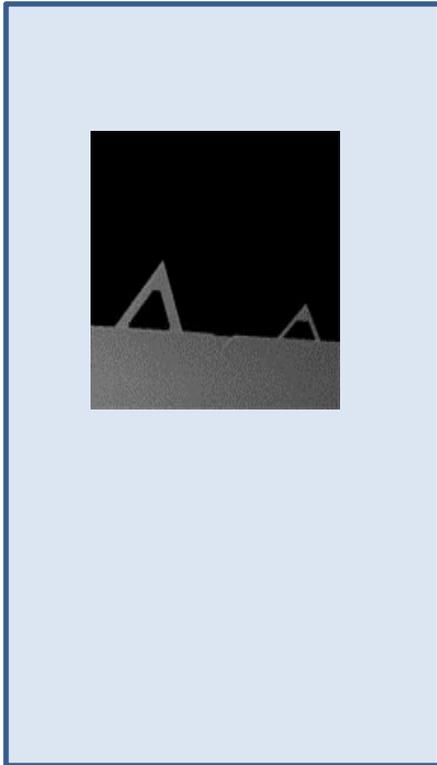
# Microscopia de força atômica (AFM)



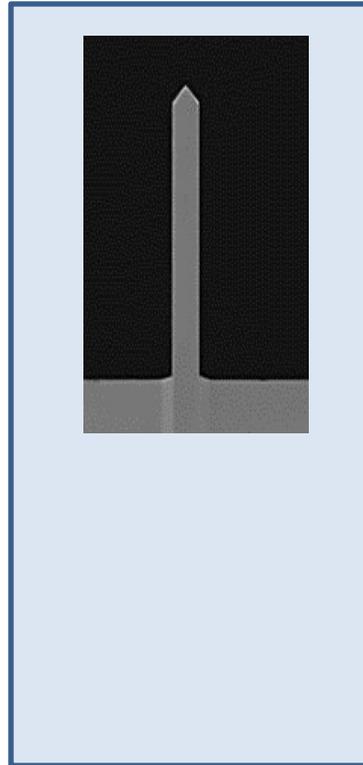
# Microscopia de força atômica (AFM)



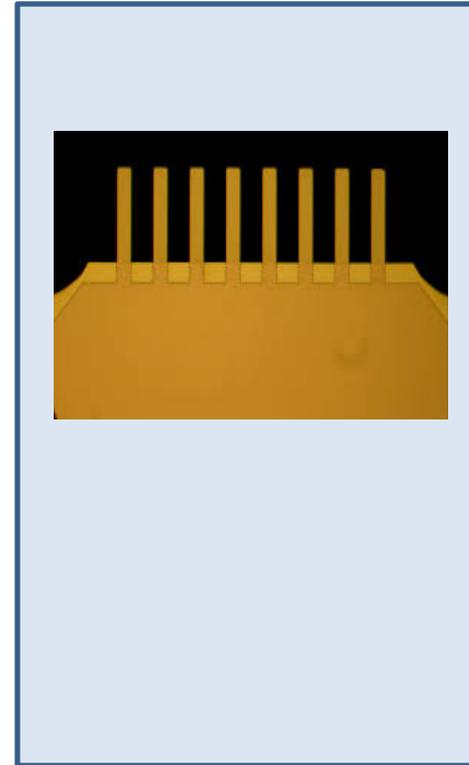
## Tipos de cantileveres comuns



AFM contato  
AFM não contato  
AFM colloidal probe



AFM contato  
intermitente



AFM colloidal probe  
Sensores  
nanomecânicos

AFM



Topografia

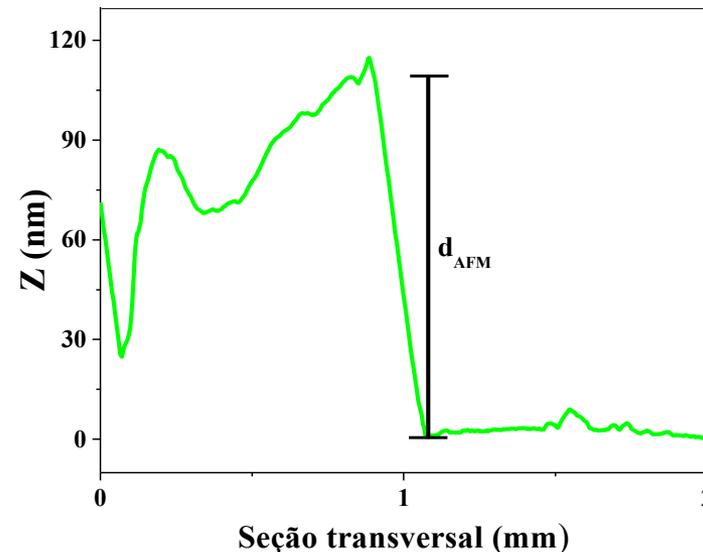
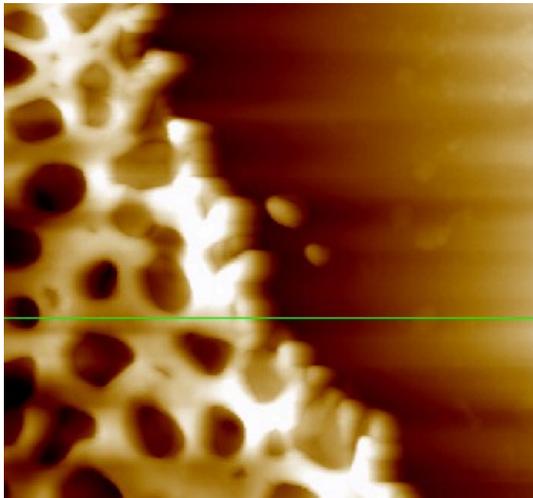
Rugosidade

Espessura

Rigidez

Forças de adesão

Condutividade elétrica ou magnética



**Figura 4.** Ilustração da determinação da espessura dos filmes por AFM através da medição da distância pico-vale em uma micrografia ( $2 \times 2$ )  $\mu\text{m}^2$  obtida de um filme de éster de celulose

*Tese de Doutorado de Leandro S. Blachechen, IQUSP, 2014*

# In situ observation of streptavidin-biotin binding on an immunoassay well surface using an atomic force microscope

S. Allen<sup>a,\*</sup>, J. Davies<sup>b</sup>, A.C. Dawkes<sup>b</sup>, M.C. Davies<sup>a</sup>, J.C. Edwards<sup>b</sup>, M.C. Parker<sup>a</sup>,  
 C.J. Roberts<sup>a</sup>, J. Sefton<sup>b</sup>, S.J.B. Tendler<sup>a</sup>, P.M. Williams<sup>a</sup>

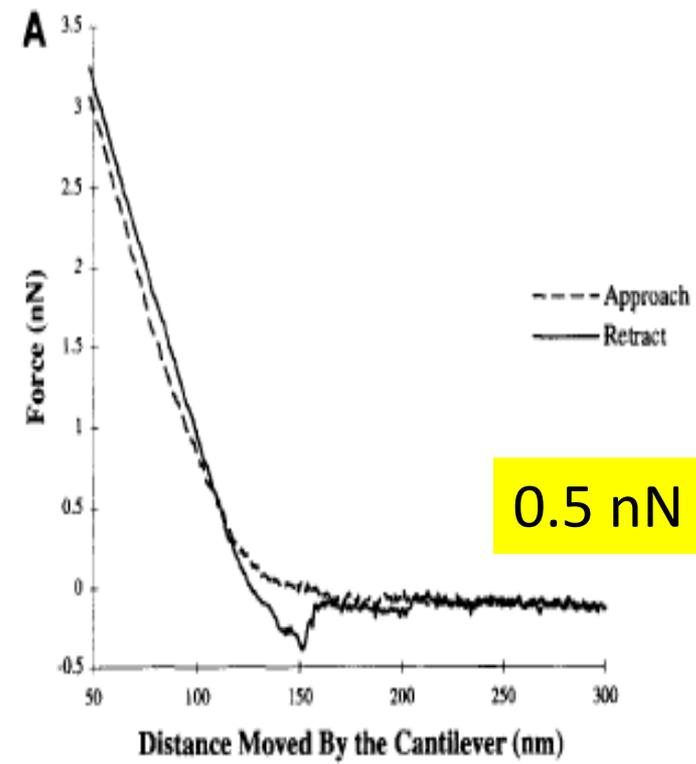
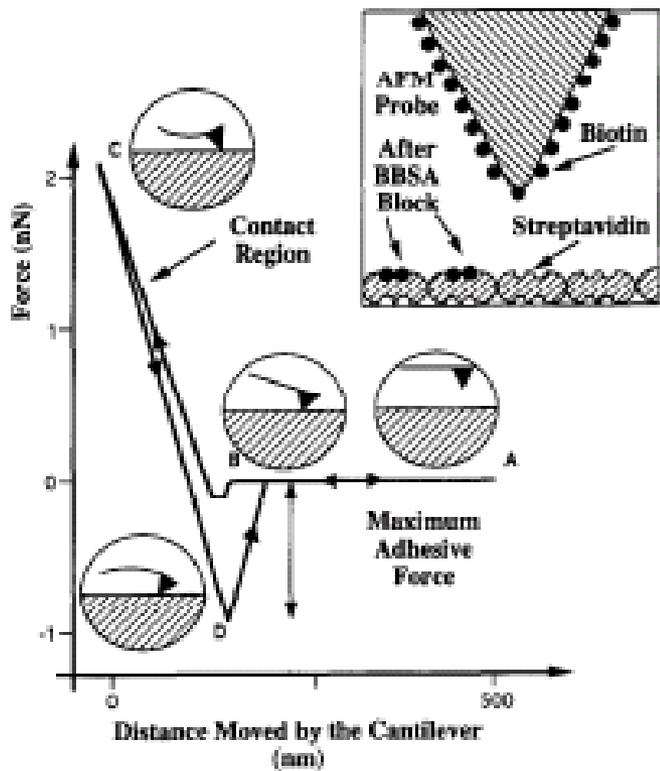


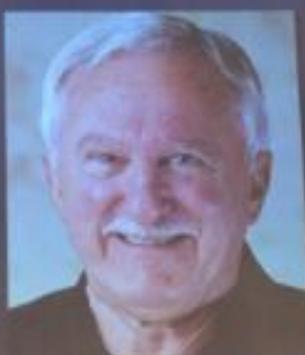
Fig. 1. (Main diagram) A schematic diagram of a typical force measurement cycle. The relative position of the AFM probe to the surface at C is at the start of contact, at B is at the end of contact, at A is at the start of retraction, and at D is at the end of retraction.

# Nobelpriset i kemi 2015



**Tomas Lindahl**

Francis Crick Institute and  
Clare Hall Laboratory,  
Hertfordshire, UK



**Paul Modrich**

Howard Hughes Medical  
Institute and Duke University  
School of Medicine, Durham,  
NC, USA



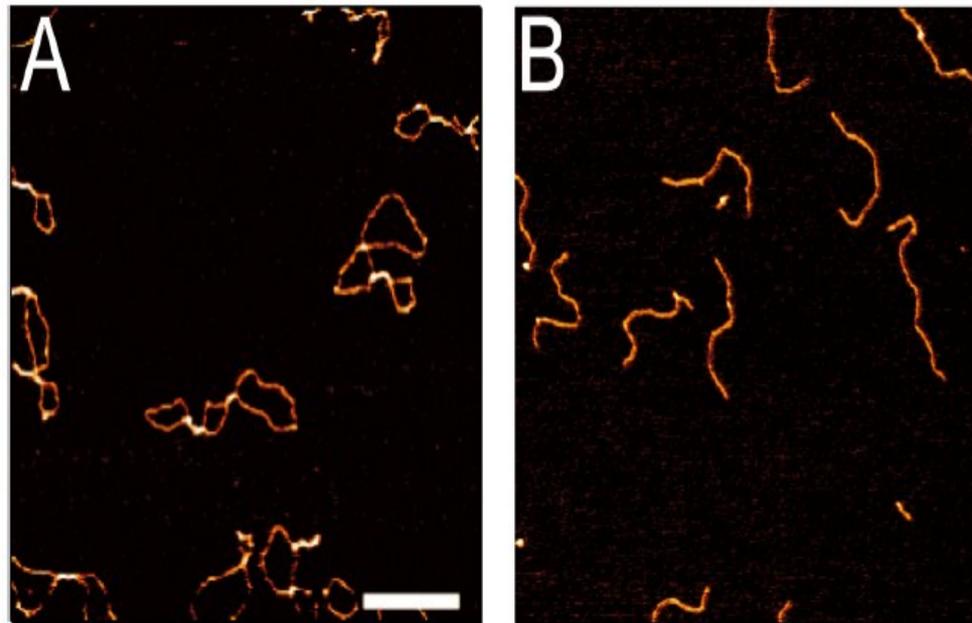
**Aziz Sancar**

University of North Carolina,  
Chapel Hill, NC, USA

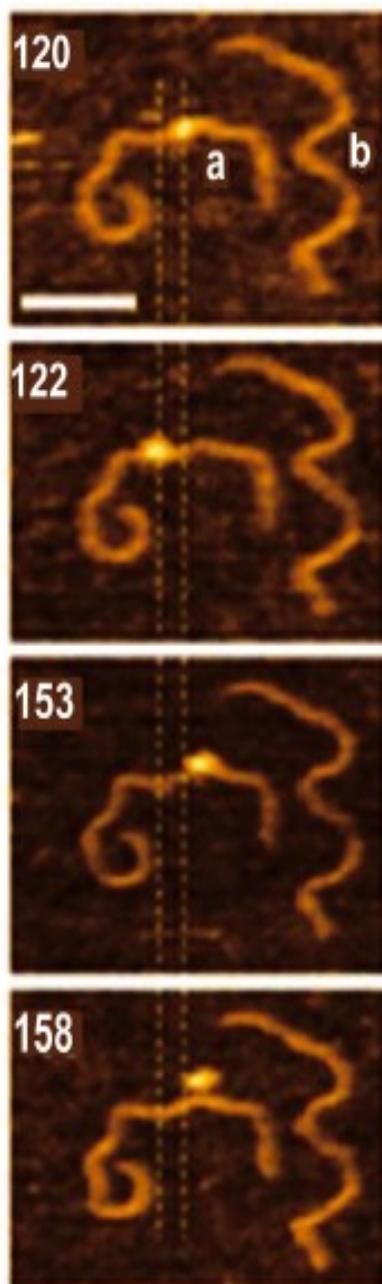
*"för mekanistiska studier av DNA-reparation"*  
*"for mechanistic studies of DNA repair"*

## DNA substrate preparation for atomic force microscopy studies of protein–DNA interactions

Claudia N. Buechner and Ingrid Tessmer\*

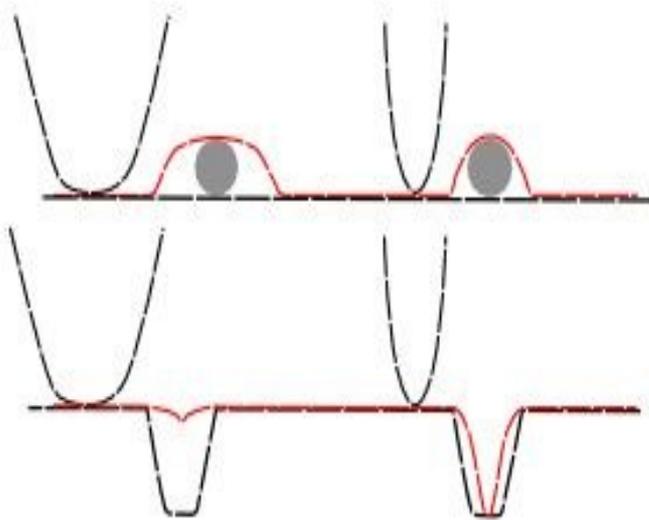


Plasmídeos de DNA circulares e lineares



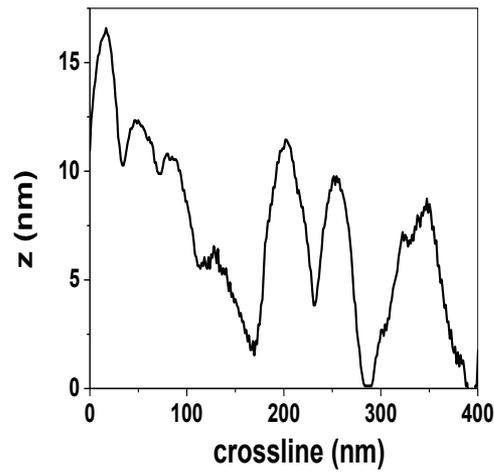
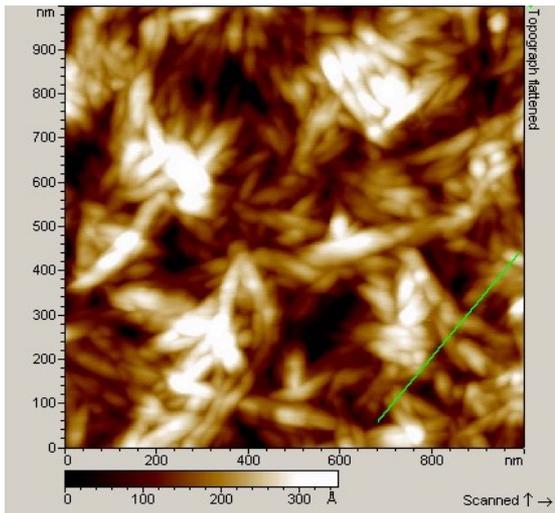
**Figure 4.** Atomic force microscopy time lapse series showing two DNA fragments, (a) and (b) and a single molecule of cytosine deaminase sliding on a ssDNA gap region within one of the dsDNA fragments (Shlyakhtenko *et al.*, 2012a). The location of the gap in the DNA is indicated by the dashed lines. The protein dissociates upon reaching the single stranded/double stranded DNA junction. The numbers in the images indicate the frame number of the time series, collected with a time resolution of 720 ms/frame.

## Efeitos de convolução da ponta na largura dos objetos

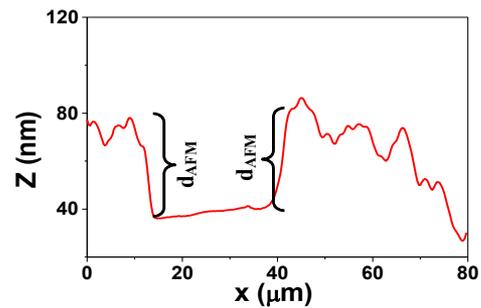
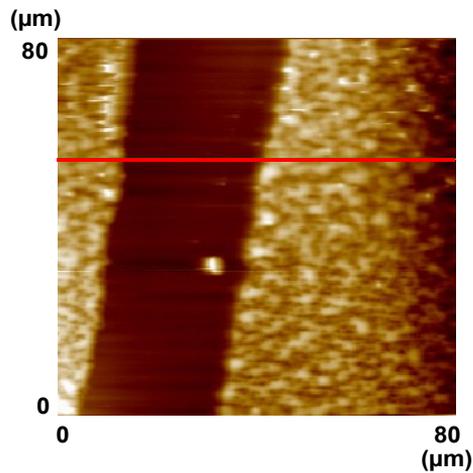


A altura ou profundidade  
são informações  
confiáveis, a largura não

Para corrigir precisa  
conhecer o raio da ponta



**Espessura dos nanocristais de celulose**



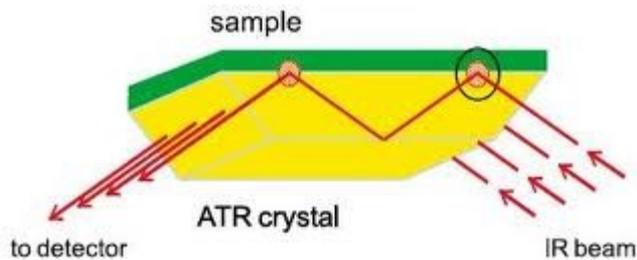
**Espessura de filme de acetato propionato de celulose (CAP)**

**Composição química**  
**Orientação molecular**

# Técnicas espectroscópicas

# Espectroscopia na região do infravermelho – métodos de refletância

## Refletância total atenuada (ATR)



$$\theta_c = \sin^{-1} \left( \frac{n_{smp}}{n_{IRE}} \right)$$

Cristal de Ge  $n_{IRE} = 4.0$  ( $1000 \text{ cm}^{-1}$ )

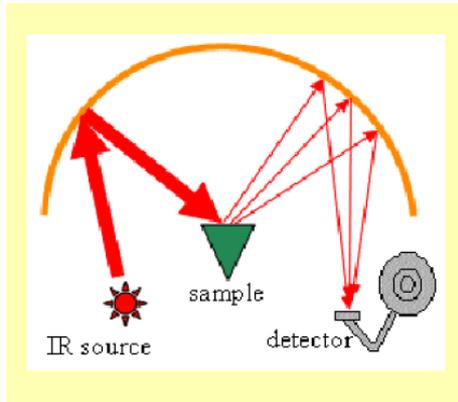
Depth of penetration (pathlength) of the infrared beam into the sample depends on  $\lambda$ ,  $n_{smp}$ ,  $n_{IRE}$ ,  $\theta$

$$d_p = \frac{\lambda}{2 \pi n_{IRE} \sqrt{\sin^2 \theta - (n_{smp} / n_{IRE})^2}} \quad d_p \text{ typically } < 10 \mu\text{m}$$

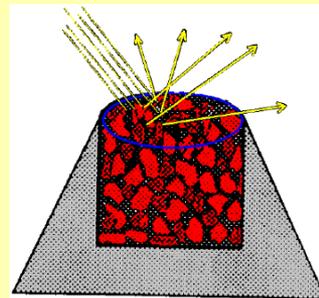
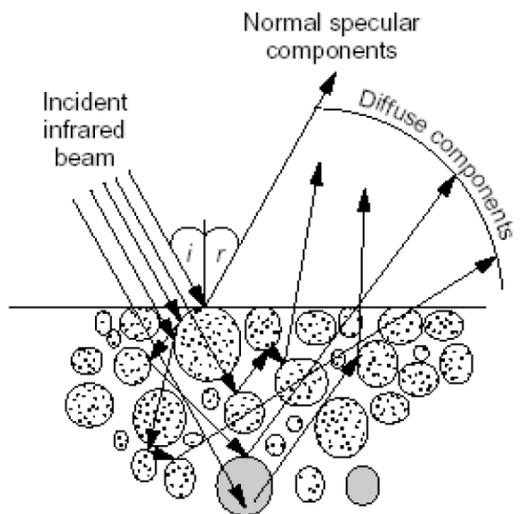
Informação de composição química com alguns  $\mu\text{m}$  de profundidade

## Espectroscopia na região do infravermelho – métodos de refletância

### Refletância difusa (DRIFT) para pós e superfícies rugosas



\***DRIFT** (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform):  
energia retroespalhada a altos ângulos  
Variáveis importantes: índice de refração da amostra,  
homogeneidade no tamanho das partículas, superfície das  
partículas (lisa ou rugosa)

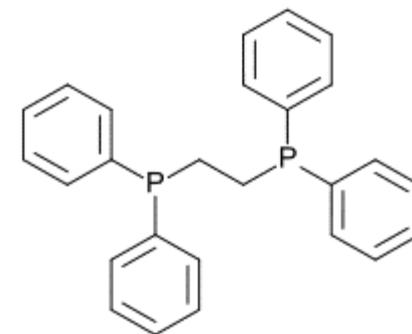
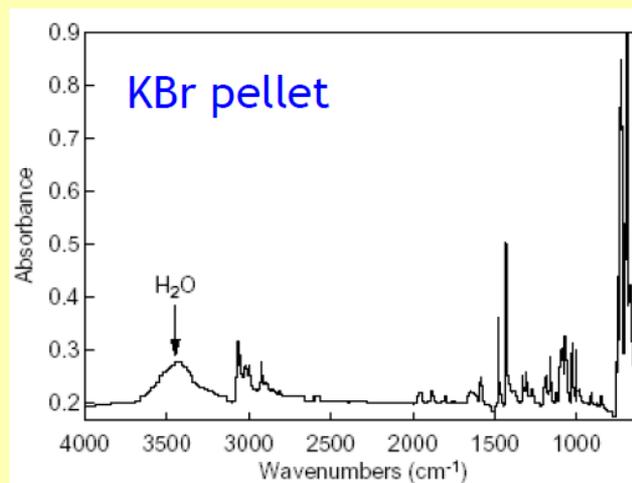
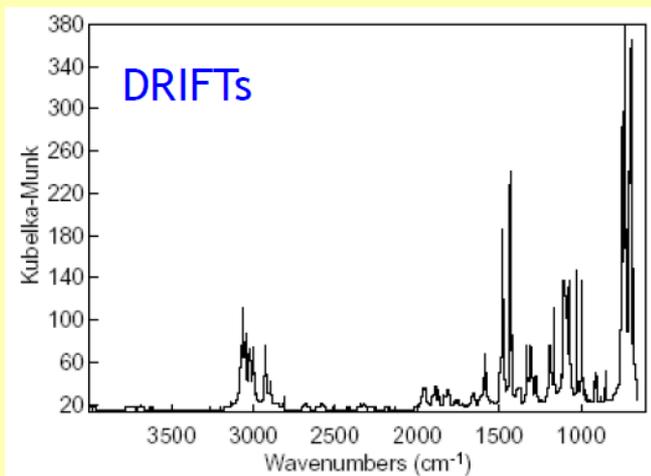


Informação de composição química  
com alguns  $\mu\text{m}$  de profundidade

# Espectroscopia na região do infravermelho – métodos de refletância

## Refletância difusa (DRIFT) para pós e superfícies rugosas

### IR Spectra of 1,2-Bis(diphenyl phosphino)ethane



T Armaroli et al. Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP, 59 (2004), 215.

# Espectroscopia Raman ou Espalhamento Raman

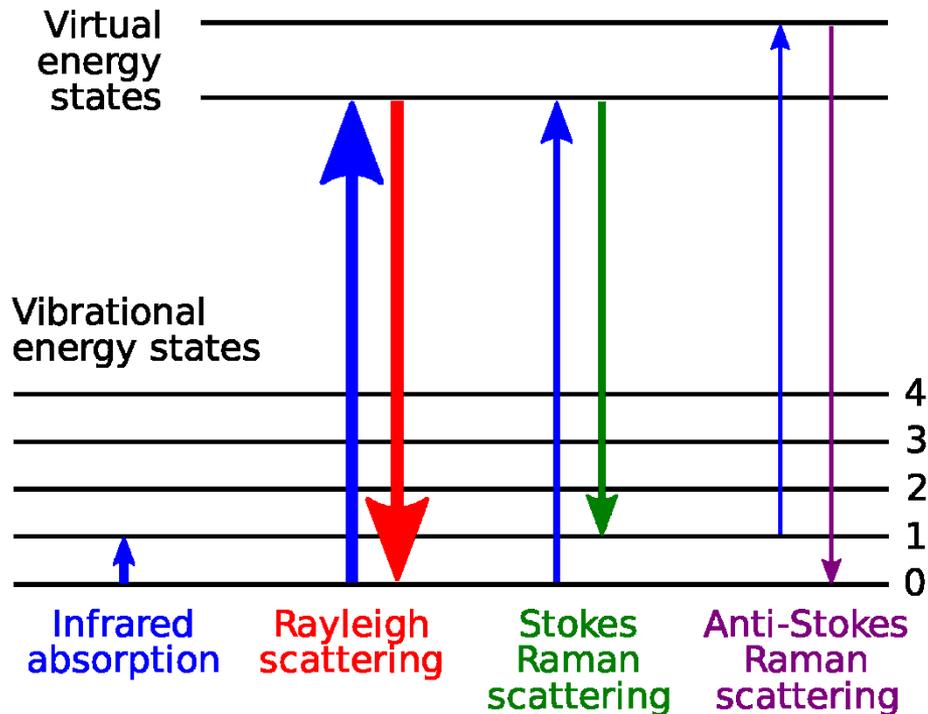
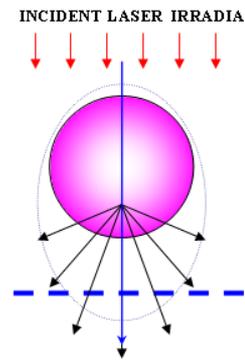
Quando uma radiação interage com a matéria, parte da radiação será espalhada.

Espalhamento elástico (Rayleigh):  $\nu_{\text{inc}} = \nu_{\text{espalhada}}$

Espalhamento inelástico (Raman):

Stokes  $\nu_{\text{inc}} > \nu_{\text{stokes}}$

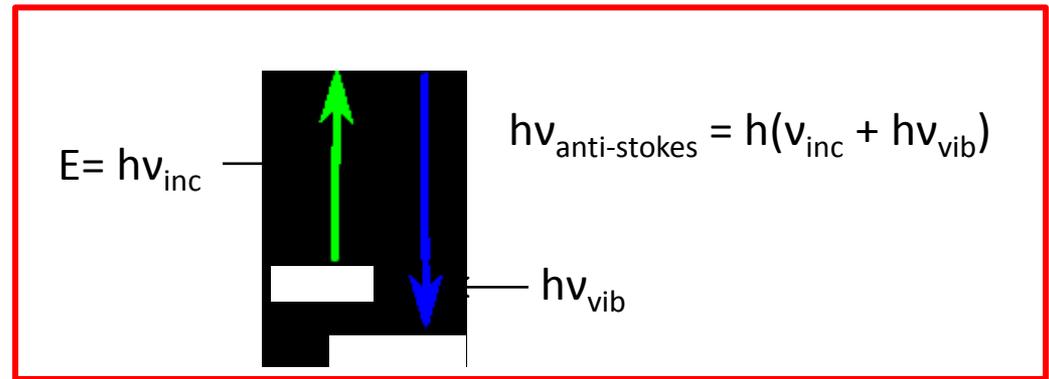
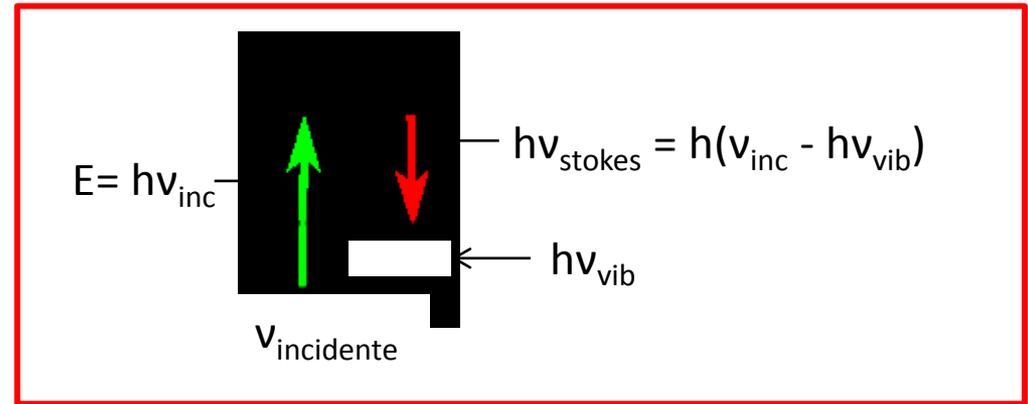
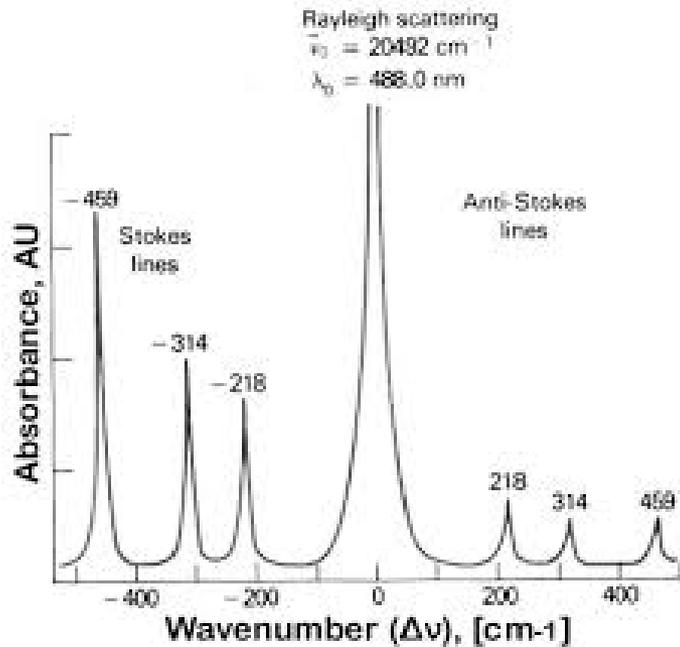
Anti-Stokes  $\nu_{\text{inc}} < \nu_{\text{anti-stokes}}$



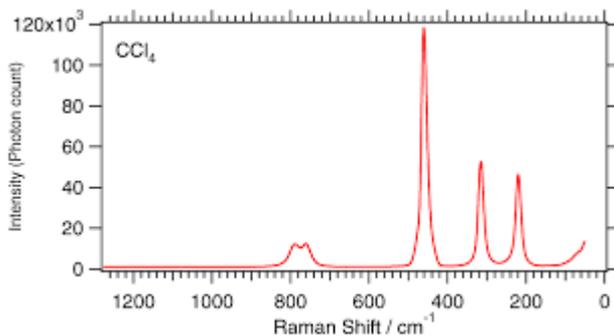
A radiação incidente causa excitação a um estado excitado virtual, subsequentemente ocorre a re-emissão de um fóton de energia igual (Rayleigh), de energia menor (Stokes) ou de energia maior (Anti-Stokes)

# Espectroscopia Raman ou Espalhamento Raman

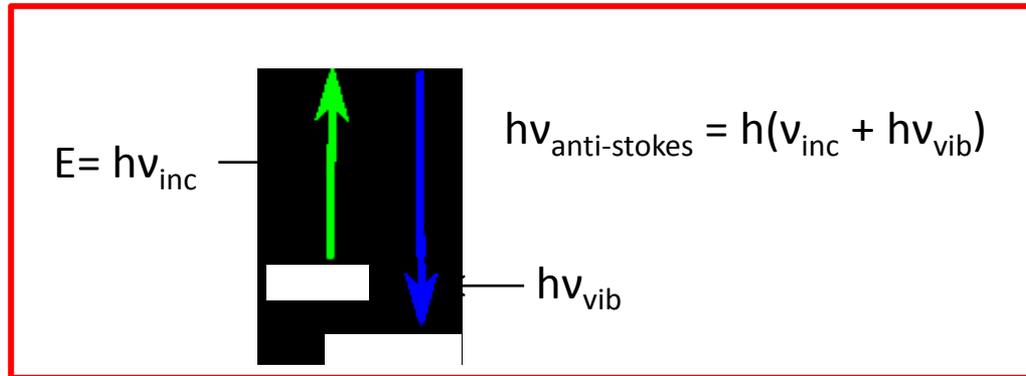
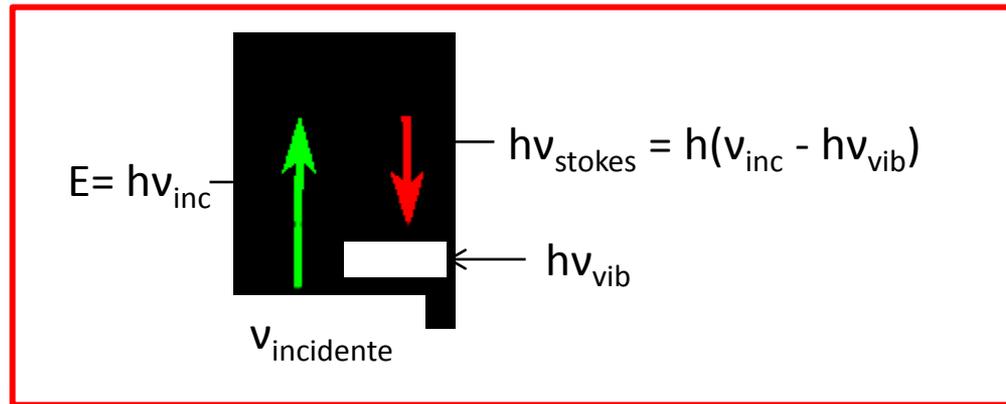
Excitação com laser de Ar -  $\text{CCl}_4$



Deslocamento Raman,  $\text{cm}^{-1}$



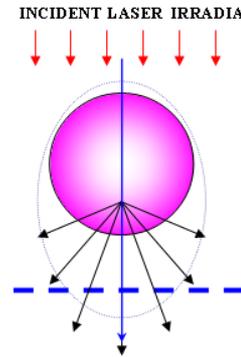
Anti-stokes são de intensidade menor,  
por isso muitas vezes são mostradas  
somente as stokes



$\Delta\nu$  corresponde à frequência de vibração dos átomos presentes na amostra.



Informação sobre a geometria molecular, sobre como as espécies químicas presentes interagem entre si e com o ambiente.



Condição para ocorrer espalhamento Raman:  
 As moléculas devem ser polarizáveis ( $\partial\alpha/\partial r \neq 0$ )

$$M = \alpha E$$

$\uparrow$   $\uparrow$   $\leftarrow$   
 Momento dipolar      Campo elétrico  
                                  Polarizabilidade da ligação

Momento dipolar

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_{eq}) \left( \frac{\partial\alpha}{\partial r} \right)$$

$$(r - r_{eq}) = r_{max} \cos(2\pi\nu_{vib}t)$$

$$M = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_{inc}t) + \alpha_0 (E_0/2) r_{max} \left( \frac{\partial\alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{inc} - \nu_{vib})t] +$$

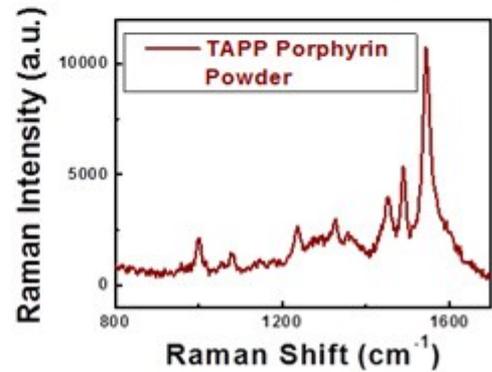
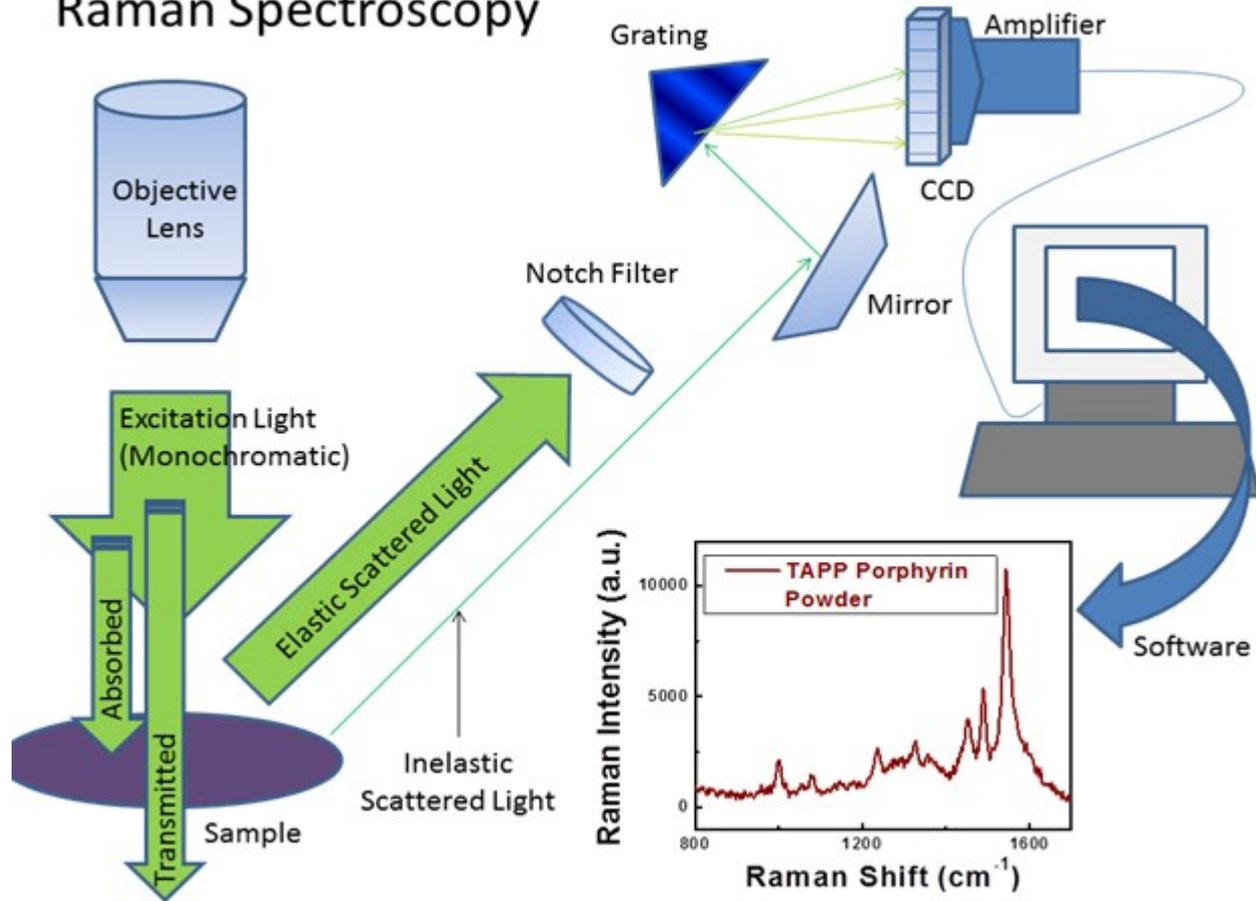
Rayleigh

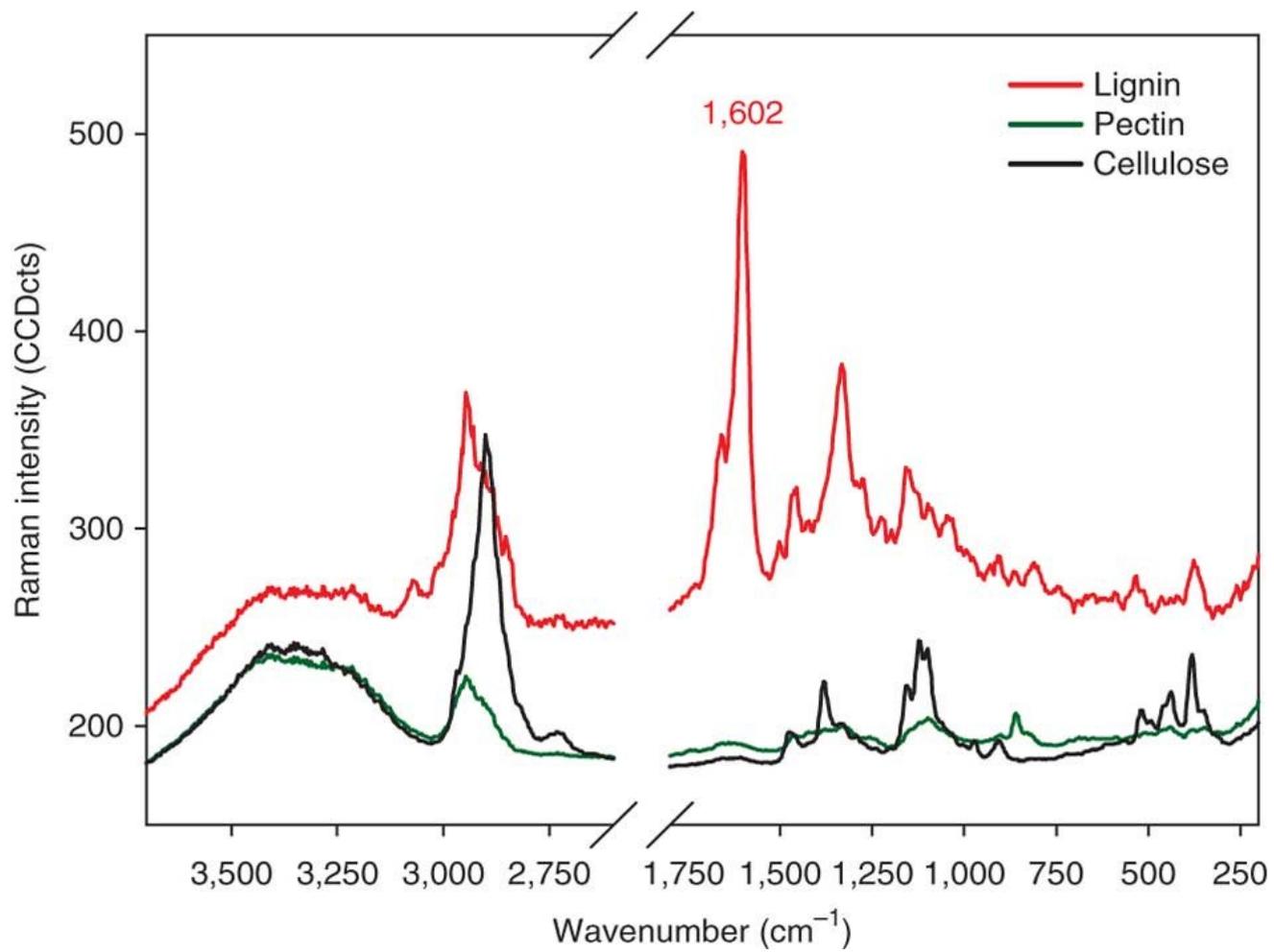
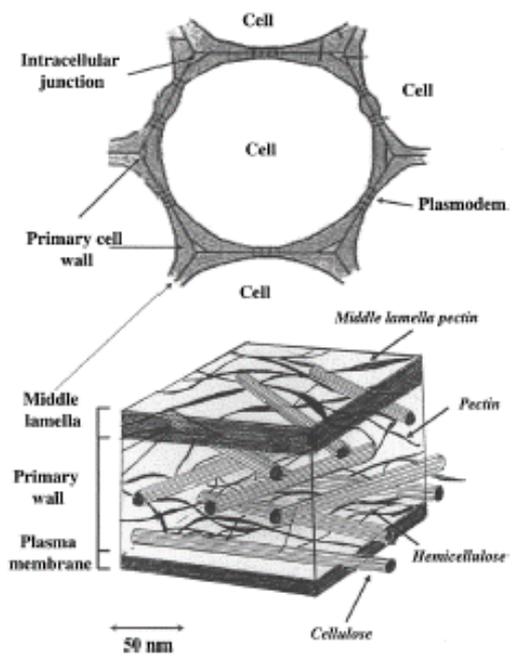
Stokes

$$+ \alpha_0 (E_0/2) r_{max} \left( \frac{\partial\alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_{inc} + \nu_{vib})t]$$

Anti-Stokes

# Raman Spectroscopy





**IR spectroscopy**, the exchange of energy between the molecules and the exciting field is dependent on the presence of an oscillating permanent dipole.

In **Raman spectroscopy**, in contrast, the exciting field induces a dipole moment in the molecule and the induced moment then becomes the basis for exchange of energy with the exciting field.

Examples:

O<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>, which are homonuclear and without permanent dipoles, have very intense Raman spectra although they are inactive in infrared absorption

H<sub>2</sub>O, with a high permanent dipole moment, is a very strong absorber in the infrared but a very weak Raman scatterer.

## Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS)

Técnica sensitiva de superfície que resulta na ampliação do espalhamento Raman por absorção de moléculas sobre superfície. O fator de amplificação pode ser da ordem de  $10^{14}$ - $10^{15}$ , o que permite que a técnica seja suficientemente sensível para detectar moléculas isoladas.

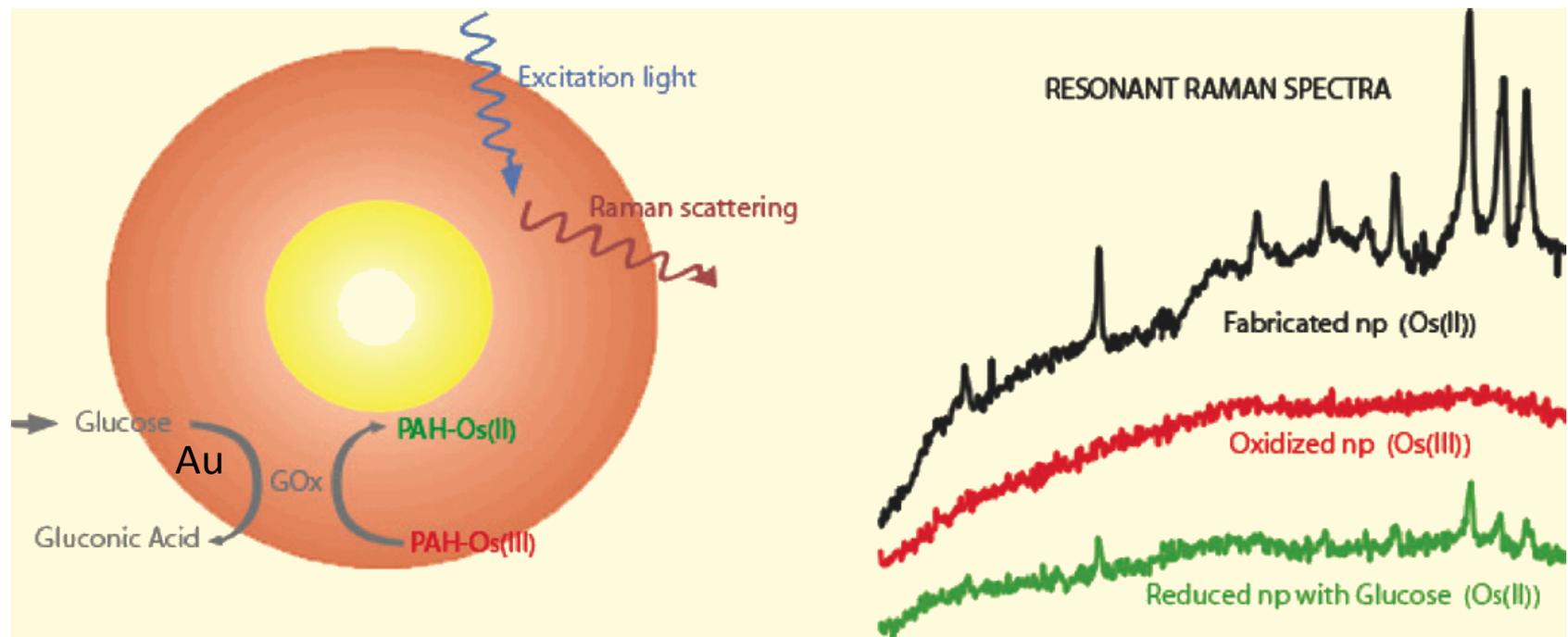
### *Modelo eletromagnético:*

Dipolo elétrico intrínseco da molécula adsorvida induz o surgimento de um dipolo na superfície metálica. A soma vetorial dos dois dipolos gera um dipolo maior quando estiverem orientados perpendicularmente à superfície.

### *Modelo químico:*

As interações entre as moléculas adsorvidas e a superfície metálica leva a mudanças de polarizabilidade, que leva à intensificação do sinal.

## Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS)



The enzymatic reduction of FAD by glucose and further reduction of the Raman silent Os(III) by  $\text{FADH}_2$  yields a characteristic enzyme-substrate calibration curve in the millimolar range.

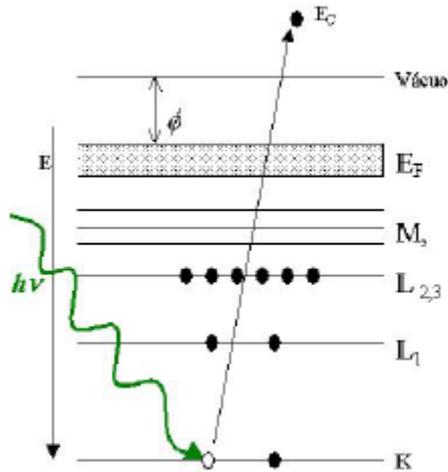


### **Wired-Enzyme Core-Shell Au Nanoparticle Biosensor**

P. Scodeller, V. Flexer, R. Szamocki, E. J. Calvo, N. Tognalli, H. Troiani, A. Fainstein  
*J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130 (38), pp 12690–12697

# Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS) ou por UV (UPS) ESCA (electron spectroscopy for chemical analysis)

Quando uma superfície é irradiada com raios X de energia  $h\nu$ , fotoelétrons são emitidos com energia cinética dada pela equação 3.2. Para que ocorra a fotoemissão a energia do elétron que será ejetado de um sólido deve ser maior que a barreira de potencial da superfície, que é dada pela função trabalho  $\phi$ .



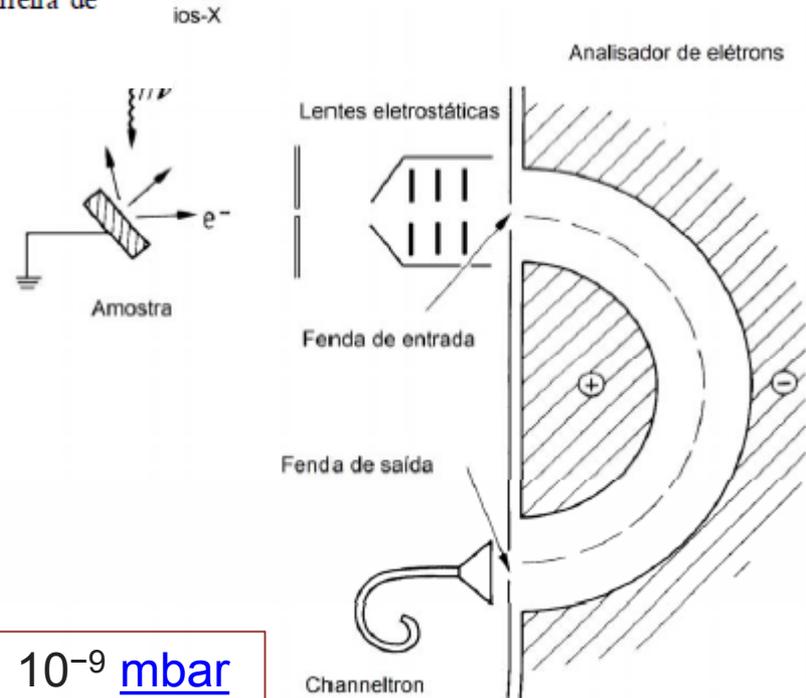
onde: 
$$E_k = h\nu - |E_B| - \phi$$

$E_k$  : energia cinética do fotoelétron;

$h\nu$ : energia do fóton;

$E_B$  : energia de ligação de um dado nível eletrônico;

$\phi$  = função trabalho do material.



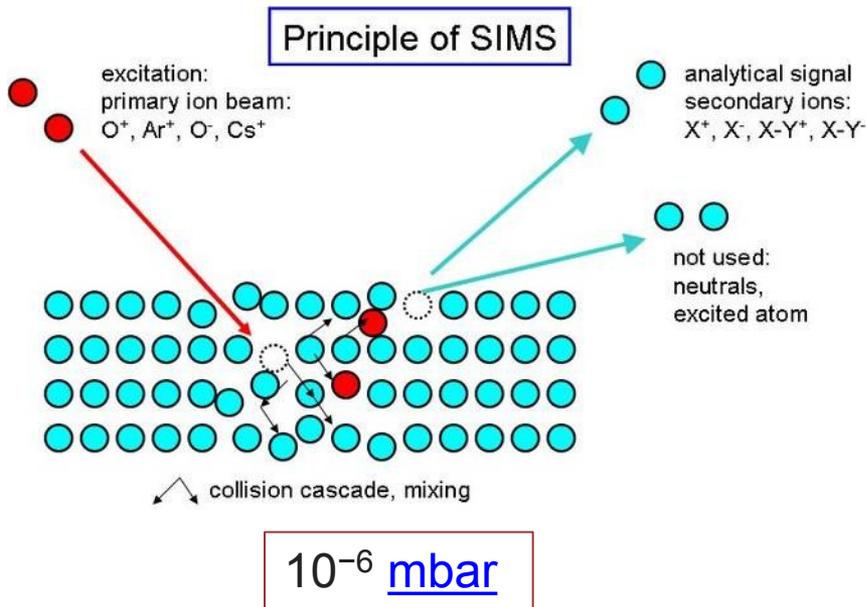
$10^{-9}$  [mbar](#)

Composição química quantitativa  
Níveis eletrônicos  
Estados de oxidação  
Profundidade < 6 nm



## Espectroscopia de massa de íons secundários (secondary ion mass spectroscopy, SIMS)

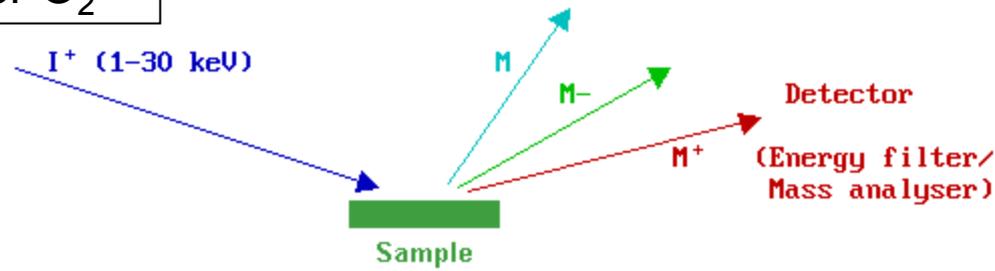
Princípio: a superfície é bombardeada com um feixe de íons (**1-30 keV**) . Da interação deste feixe de íons com a superfície são ejetados íons secundários, que são coletados e analisados. A relação massa/carga destes íons secundários é analisada com um espectrômetro de massa para determinar a composição elementar, isotópica ou molecular da superfície com profundidade típica de 1 a 2 nm. Ultra alto vácuo.



Informação qualitativa sobre composição química, embora análise quantitativa seja possível desde que se use padrões

# Espectroscopia de massa de íons secundários (secondary ion mass spectroscopy, SIMS)

$\text{Ar}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Ga}^+$  or  $\text{O}_2^+$



PTFE

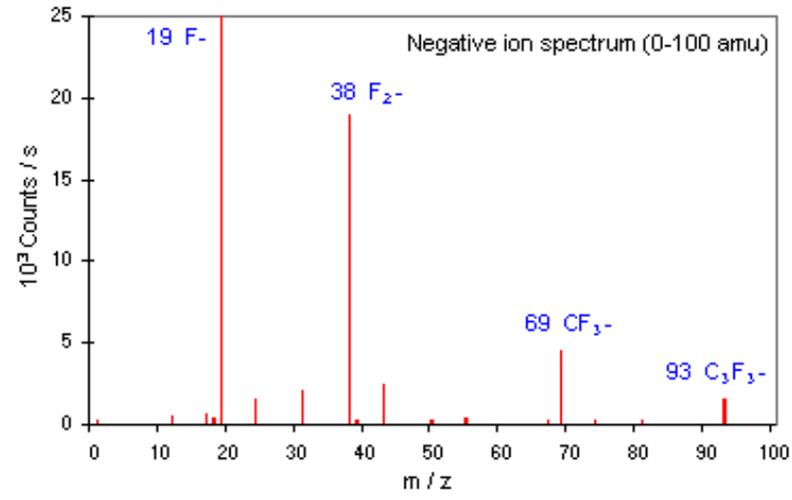
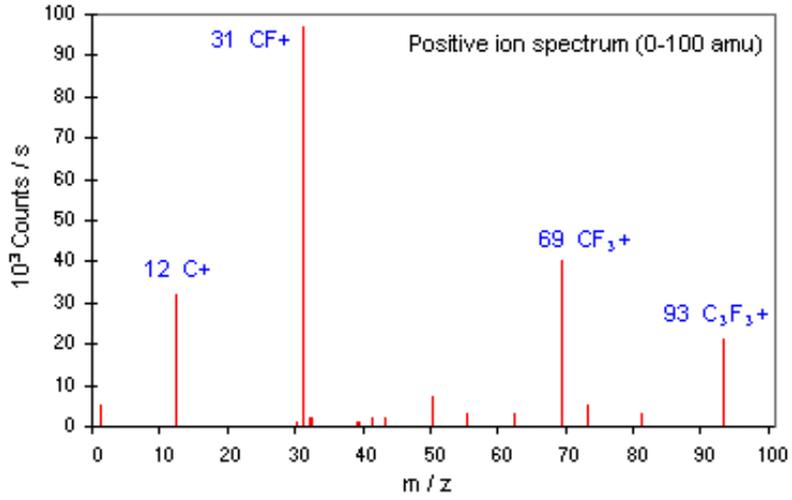


Table 1: Comparison of main features of two surface analytical techniques XPS and SIMS

Tabela 1: Primerjava glavnih značilnosti dveh površinsko občutljivih tehnik: XPS in SIMS

Feature	XPS	SIMS
Main information	Elemental composition and type of chemical bonds of surface atoms	Type of atoms, molecules and pendant groups at surface
Surface sensitivity *	From 3–6 nm for polymers	1–2 uppermost monolayers (1 nm)
Sensitivity for elements	All, except H and He	All
Need for ultra-high vacuum ambient	Yes	Yes
Spatial resolution *	1–100 $\mu\text{m}$	Less than 1 $\mu\text{m}$
In-depth information for thin films	Yes	Yes
Surface Imaging	Limited	Yes with high resolution and sensitivity
3D analysis *	No	Yes with high resolution and sensitivity
Quantification	Yes	Limited
Typical acquisition time for high resolution spectrum	1–3 min	5–15 min
Required expertise for data interpretation	High	High

Materiali in tehnologije / Materials and technology 45 (2011) 3, 191–197

## SURFACE CHARACTERIZATION OF POLYMERS BY XPS AND SIMS TECHNIQUES

ANALIZA POVRŠINE POLIMEROV Z METODAMA XPS IN SIMS

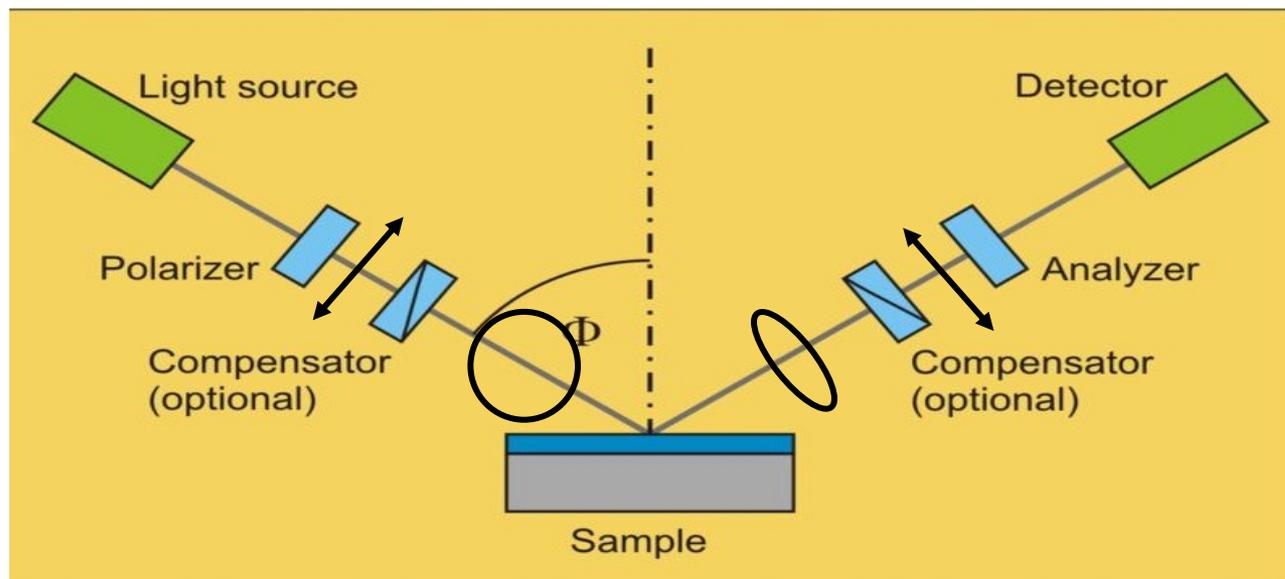
**Janez Kovač**

Center of Excellence for Polymer Materials and Technologies, Tehnološki park 24, 1000 Ljubljana, Slovenia.  
janez.kovac@ijs.si

Quantificação de material depositado sobre uma superfície

## Elipsometria

Mede-se a mudança de estado de polarização da luz após a reflexão a partir de uma superfície refletora.



$\Delta$  and  $\Psi$  are the experimental data

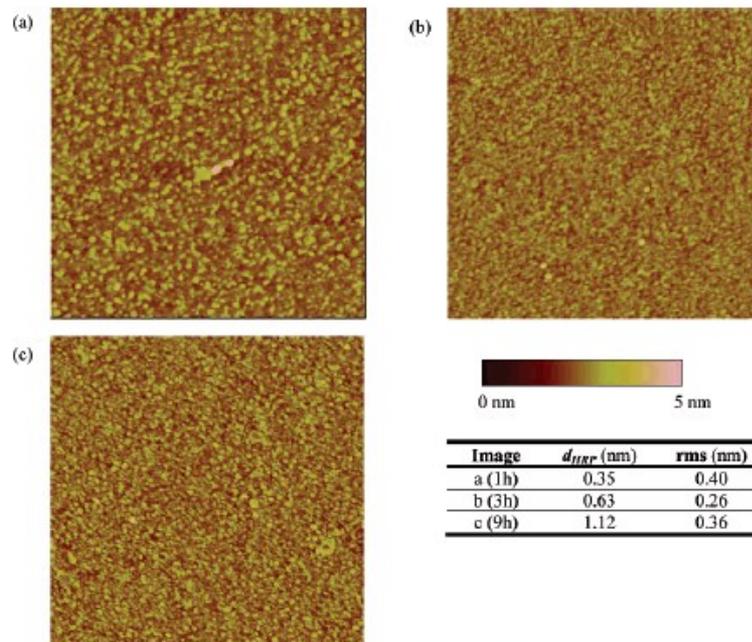
$$\tan \Psi e^{i\Delta} = R_p/R_s = f(N_j, d_j, \lambda, \phi)$$

$$N_j = n_j - ik_j$$

Espeçura e índice de refração de filme fino

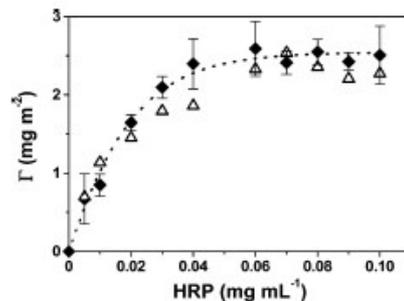
Quantidade de material adsorvido

# Immobilized Horseradish Peroxidase as a Reusable Catalyst for Emulsion Polymerization

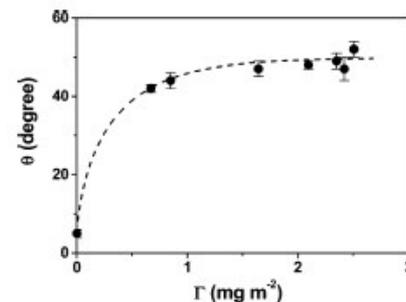
Nares *et al.*

**Figure 3.** AFM images of adsorbed HRP ( $c = 0.001 \text{ mg mL}^{-1}$ ) on Si wafers after (a) 1, (b) 3, and (c) 9 h of adsorption, with the corresponding HRP roughness (rms) and layer thickness ( $d_{HRP}$ ) values.  $d_{HRP}$  was determined by means of ellipsometry. Scan area size is  $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ .

$\Gamma = \rho d$   
  
 ellipsometria



**Figure 4.** Adsorption isotherm obtained for HRP on Si wafers after a period of 9 h of adsorption at  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$  ( $\blacklozenge$ ). Desorption isotherm obtained for HRP adsorbed on Si wafers after a period of 9 h of immersion in pure water at  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$  ( $\triangle$ ).

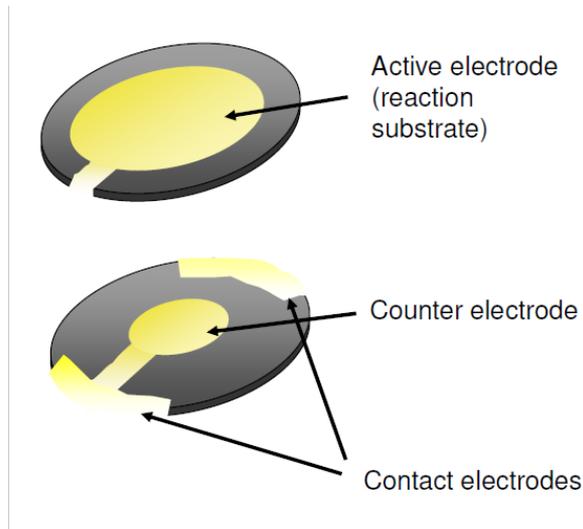


**Figure 5.** Contact angle as a function of the adsorbed amount of HRP on a Si wafer.

Quantidade de material adsorvido

## Microbalança de quartzo

Quando um material é adsorvido sobre um cristal de quartzo, a frequência de ressonância de oscilação varia proporcionalmente à massa do material adsorvido



Linear relationship between frequency and mass:

$$\Delta m = -C \frac{1}{n} \Delta f$$

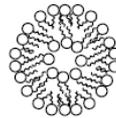
$C = 17,7 \text{ ng cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$   
 $n$  - overtone

Sauerbrey, G *Z. Phys.* **155** (1959) 206

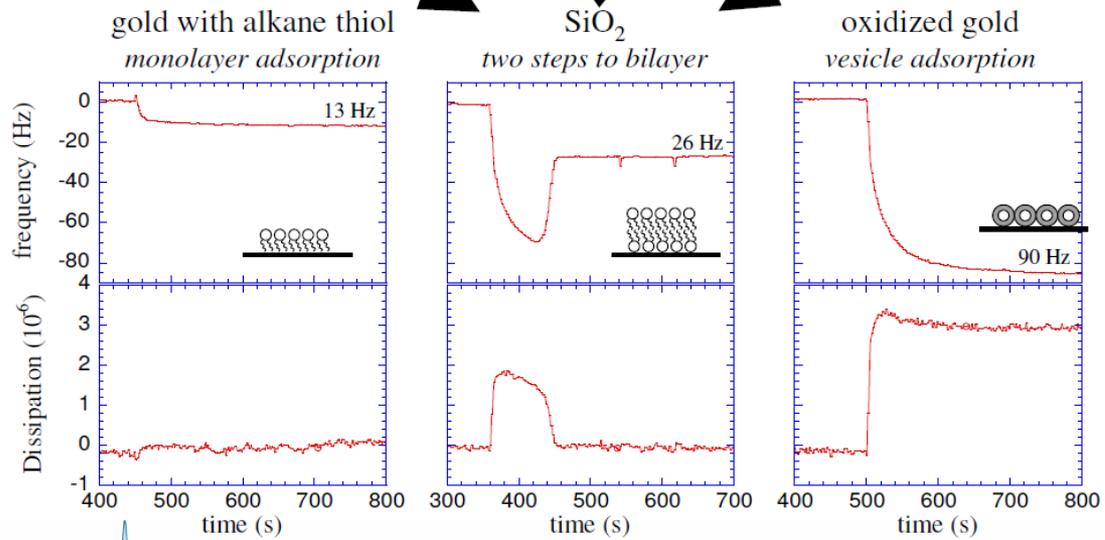
Quantidade de material adsorvido

# Microbalanço de quartzo

## Lipid vesicle adsorption



Ø 25 nm



qsense

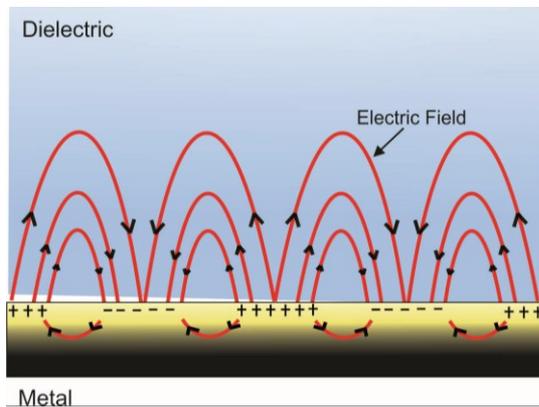
C.A. Keller and B. Kasemo, Biophysical J. 75 (1998) 1397.

## Surface plasmon resonance ou ressonância plasmônica de superfície (SPR)

A plasmon is created when light hits the surface of the conductor under certain specific conditions. A plasmon in a wave of the electronic fluid into a piece of metal such as the waves on the water surface of a pond are collective modes of the water molecules in the liquid.

Camacho, A. Focusing nanoplasmonics. *J. Nano Sc. Tech*, 3(2015)10-17

Plasmon: ocorrem na superfície de metais, são quantizados e consistem de oscilações coletivas dos elétrons livres na fase gasosa



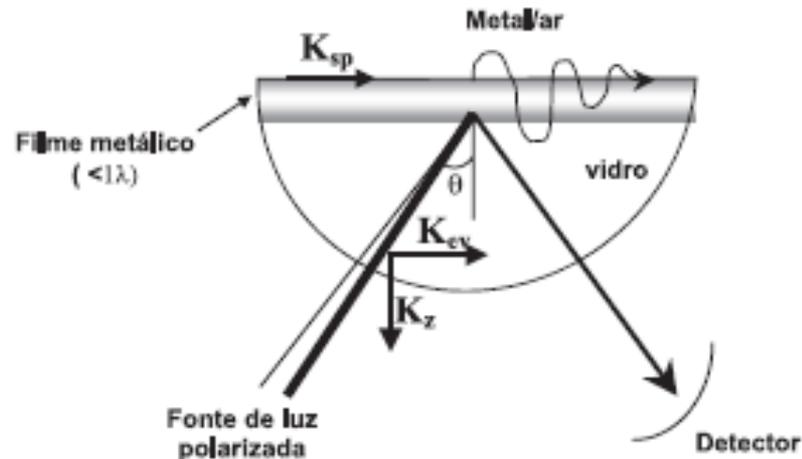
Surface plasmon polaritons are electromagnetic waves (metal-dielectric interface) and charge motion in the metal.

## Surface plasmon resonance ou ressonância plasmônica de superfície (SPR)

O efeito de ressonância de plasma de superfície é uma oscilação da densidade de carga longitudinal, ao longo da interface de dois meios com constantes dielétricas de sinais opostos, onde um é metal e outro, um dielétrico.

Luz polarizada incide sobre filme metálico em um ângulo que promove a total reflexão. Parte da luz, entretanto, penetra no meio menos denso (vidro), gerando uma onda evanescente.

Para um dado  $\theta$ , o vetor de onda do plasma ( $K_{sp}$ ) = vetor da onda evanescente ( $K_{ev}$ ), nessa situação ocorre o fenômeno de SPR e a intensidade de luz refletida é menor que a incidente.



$$K_{ev} = (W_0/c)\eta_g \text{sen}\theta \quad (1)$$

onde,  $W_0$  é a frequência da luz incidente,  $\eta_g$  o índice de refração do meio denso (vidro),  $\theta$  o ângulo de incidência da luz e  $c$  a velocidade da luz no vácuo. O vetor de onda do plasma de superfície ( $K_{sp}$ ) pode ser aproximado para:

$$K_{sp} = (W_0/c) [(\epsilon_m \eta_s^2) / (\epsilon_m + \eta_s^2)]^{1/2} \quad (2)$$

onde,  $\epsilon_m$  é a constante dielétrica do filme metálico e  $\eta_s$  o índice de refração do meio dielétrico.

