

LIBS en trampas ópticas: una nueva aproximación a la caracterización química de nanopartículas individuales

P. Purohit, F. J. Fortes, J. J. Laserna

Departamento de Química Analítica. Universidad de Málaga.

Los nanomateriales han dejado de ser una promesa para convertirse en una realidad al alcance del consumidor en productos cotidianos tales como cosméticos, ropa, protectores solares o alimentos [1]. Las morfologías y composiciones químicas de los nanoobjetos han crecido en diversidad y complejidad con el desarrollo de la nanoingeniería, adaptando sus propiedades a un amplio abanico de aplicaciones incluyendo dispositivos electrónicos de última generación [2] y soluciones biomédicas [3]. Con el fin de asegurar el correcto funcionamiento de las nanoestructuras, e incluso evaluar su potencial toxicidad, éstas han de ser caracterizadas mediante métodos analíticos apropiados. El principal rasgo común entre las diversas metodologías que han sido propuestas para llevar a cabo dichos análisis es la sensibilidad extrema, pudiéndose llegar al caso límite de estudiar las nanopartículas una a una. En el campo del análisis individual, podemos encontrar diversas técnicas cuyo fin es la caracterización de parámetros como la composición o el tamaño de las partículas, por ejemplo, espectroscopias de absorción y de dispersión [4], técnicas electroquímicas [5, 6] o espectrometría de masas [7], siendo todas ellas de vía húmeda y requiriendo pasos de preparación de la muestra previos al análisis. Las diversas estrategias de preparación de muestras nanoparticuladas [8] han de asegurar la conservación de las características del material y evitar su posible contaminación debida a los agentes químicos adicionales presentes en el medio, lo que conlleva un aumento de la dificultad del proceso. Este factor se suma al mayor reto del análisis individual: el aislamiento de la partícula y la determinación de los eventos en los que la señal registrada se debe a una partícula exclusivamente. Estos dos puntos suelen asociarse a tediosos algoritmos de procesamiento de datos y pueden limitar la cantidad de especies detectables en un solo evento debido a restricciones instrumentales, como en el caso de la espectrometría de masas de partículas individuales (SP-ICP-MS) [9].

La espectroscopia de plasmas inducidos por láser (LIBS) ha sido ampliamente utilizada para el análisis directo de material particulado [10-12]. La ausencia de preparación de muestra, la independencia del estado de agregación en la que ésta se encuentra, la posibilidad de realizar análisis in-situ y a distancia, añadidos a la detección multielemental simultánea en un amplio rango espectral, son algunas de las características inherentes a LIBS explotadas en este campo. Si bien LIBS no es capaz por sí misma de afrontar el análisis de partículas a nivel individual debido a sus habituales altos límites de detección (LOD), su buena compatibilidad con otros métodos permite la integración de LIBS en sistemas que emplean técnicas adicionales para reducir el LOD hasta mínimos extremos, como demostró en 2014 nuestro grupo al presentar la tecnología OC-OT-LIBS [13], una combinación de tres técnicas para la caracterización química de partículas

individuales: el catapultado óptico (OC), el atrapado óptico (OT) y la espectroscopia de plasmas inducidos por láser.

OC-OT-LIBS permite el registro de espectros de partículas aisladas en una trampa óptica, siendo accesible su composición cualitativa completa en un solo evento y sin necesidad de preparación de muestra mediante la intervención secuencial de las tres técnicas citadas. El procedimiento consiste en generar un aerosol sólido de partículas al incidir un pulso láser enfocado por un objetivo de microscopio en el soporte de la muestra. Este soporte consta de un portaobjetos de vidrio de 0.2 mm de espesor como base y una cubeta de plástico de 10 mm de paso de luz que cubre la muestra y previene su pérdida. De las partículas que conforman el aerosol, una queda retenida con la estabilidad suficiente en la trampa óptica establecida por un láser CW enfocado con el mismo objetivo de microscopio. Por último, una vez se ha relajado el flujo de partículas para evitar interceptar cualquier otra además de la atrapada, el pulso de un tercer láser, excita la partícula formando un plasma cuya emisión se registra.

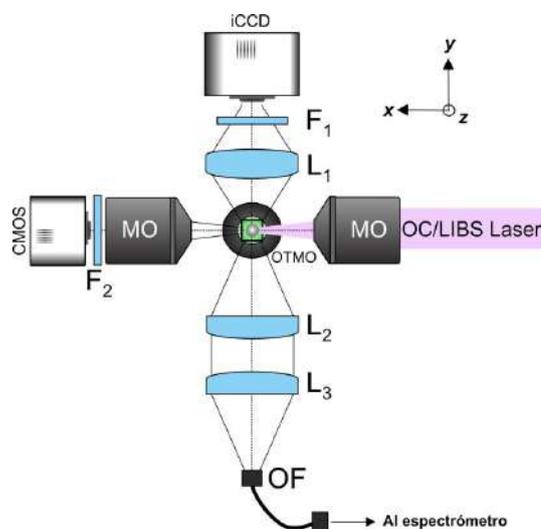


Figura 1. Sistema experimental. L_{1-3} denotan lentes de enfoque; MO, objetivos de microscopio. F_{1-2} son filtros de densidad neutra y OF, la fibra óptica usada para recoger la luz del plasma.

En la **Figura 1** se ilustra el sistema empleado en los experimentos más recientes de OC-OT-LIBS, en el que se redujo el número de láseres a 2 al prescindir del dedicado exclusivamente a OC. El instrumento, construido en el propio laboratorio, está compuesto por varias líneas que permiten obtener información diversa sobre la partícula atrapada. El catapultado y la excitación se realizan con el mismo láser, un Nd:YAG (1064 nm, 6 ns de ancho de pulso) localizado en el eje X del montaje. En este eje se localiza también una cámara

CMOS USB 2.0 que habilita la visualización de la partícula en el plano YZ. Para la trampa óptica, se emplea un láser CW Nd:YAG (532 nm, 300 mW) enfocado a lo largo del eje Z por un objetivo microscopio 20x de larga distancia de trabajo, que permite realizar el atrapado a una distancia de varios cm por encima del soporte y facilita la integración de múltiples líneas de información. En el eje Y se ubican las líneas de captura de luz: una de “imaging” compuesta por una cámara iCCD, una lente de enfoque biconvexa de focal 50 mm y un carrusel de filtros de densidad neutra de coeficientes de atenuación variables y la captación de señal LIBS, con un sistema de lentes planoconvexas de 100 mm de focal que enfocan la radiación del plasma en la apertura de una fibra óptica conectada a un espectrómetro integrado en el tiempo. En esta configuración la onda de choque generada por la el plasma en expansión provoca la eyección del material bajo análisis. La manipulación sin contacto físico de la posición de la partícula se lleva a cabo desplazando el objetivo de microscopio que enfoca el haz de atrapado a lo largo del eje Z gracias a la etapa micrométrica sobre la cual se fijó. La ventana de manipulación de las partículas atrapadas se estableció en 10 mm. La acción y la energía del láser se controlan con un generador de pulsos, conectado a un segundo que establece el retraso en la adquisición de señal por parte del espectrómetro.

Tabla 1. Componentes de cada línea con ajuste de posición micrométrico.

Línea	Componente(s) ajustable(s)	Eje		
		X	Y	Z
Catapultado/ Excitación	Objetivo de enfoque	✓	✓	✗
Imaging	Cámara iCCD	✓	✓	✗
Visualización	Cámara CMOS + objetivo de enfoque	✓	✓	✓
Atrapado	Objetivo de enfoque	✗	✗	✓
Colección	señal Lentes de enfoque	✓	✗	✗
LIBS	Fibra óptica	✓	✗	✓

El alineamiento de todos los componentes del equipo se realizó siguiendo un protocolo basado fundamentalmente en el uso de la cámara iCCD. En él se busca delimitar el punto del eje z donde la partícula ha de ubicarse para ser interceptada por el láser incidente; este punto fue tomado como origen del sistema de referencia o coordenada (0,0,0). Los elementos detallados en la **Tabla 1** fueron montados sobre etapas micrométricas lográndose así precisión máxima en el alineado.

Los primeros estudios sobre OC-OT-LIBS se centraron en aspectos básicos como la influencia de diversos parámetros en la señal LIBS registrada, evaluándose en primer lugar el papel de la energía empleando partículas de Ni de 2 μm . Durante estos estudios se observó una eficiencia del 100% en la detección de la partícula atrapada, cuyas líneas de emisión fueron registradas en cada uno de los eventos, ampliamente superior a las tasas de muestreo publicadas en trabajos convencionales de LIBS sobre aerosoles. En el intervalo de energías empleado (150-300 mJ/pulso) se observó una mejora en la intensidad de la señal de Ni monitorizada (362.04 nm) y en la relación señal-ruido (SNR) así como un descenso en la

desviación estándar relativa (RSD) a valores de energía más altos. La RSD disminuye desde aproximadamente el 50% (150 mJ) al 30% (300 mJ) y aumenta la SNR de 8 a 15. Estos datos son de relevancia dada la exigua masa de muestra disponible (0.037 ng) y a que se trabaja en régimen de pulso individual, caracterizado por la fluctuación de la señal como consecuencia de la falta de homogeneidad en la excitación entre eventos sucesivos y la dispersión de tamaños y, por consecuencia, de masa de la muestra.

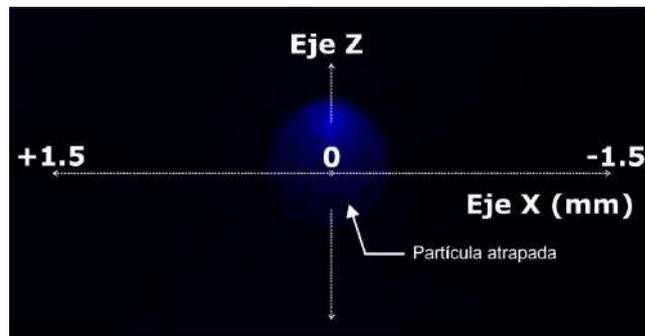


Figura 2. Sistema de referencia empleado para ajustar la posición del foco del láser de excitación. La escala de la imagen es ilustrativa.

La posibilidad de modificar finamente la posición del objetivo de enfoque del láser de excitación tal y como se muestra en la **Figura 2** permitió estudiar la contribución de la fluencia (F) sobre el espectro registrado al variar la densidad de energía sobre el punto (0,0,0). Se emplearon partículas de grafito de 2 y 0.4 μm de diámetro. Todas las energías reflejadas en el estudio anterior estaban asociadas a valores de fluencia superiores al umbral de formación de plasma en aire, por lo que éste puede convertirse en una importante interferencia. La optimización de este parámetro determinó el punto del eje X en el cual generar el plasma conducía a obtener la mayor señal de partícula posible, minimizando a la vez aquellas emitidas por el aire. La energía se mantuvo constante en este experimento (260 mJ/pulso). Se registraron 10 espectros en cada posición usando la emisión de CN a 388.3 nm como señal de control de la partícula y la de N(II) a 399.5 nm para el aire. Como se muestra en la **Figura 3**, la señal de la partícula solo pudo observarse al alejar el foco del láser de su superficie, lográndose las condiciones más favorables a una distancia de -1.5 mm de la partícula. La distribución de señal corroboró que el principal componente del núcleo del plasma a cualquier posición de foco era el aire, cuyas emisiones ocultaban las de la partícula a posiciones cercanas a 0 puesto que el núcleo quedaba más cerca del sistema de captación de luz. Los resultados fueron similares para ambos tamaños de partícula, con eficiencias de detección del 100%.

El retraso de la adquisición (d) fue último parámetro ajustado. Al aumentar el retraso desde $d = 0$ (1.28 μs , retraso interno del equipo) hasta $d = 4 \mu\text{s}$, tanto las emisiones de aire como el continuo del espectro quedaron enormemente reducidas, llegándose a eliminar la señal de N(II). La relación señal:ruido de las partículas de 2 μm pasó a 10 y 8 para las de 400 nm, con RSDs del 10% y el 19% respectivamente.

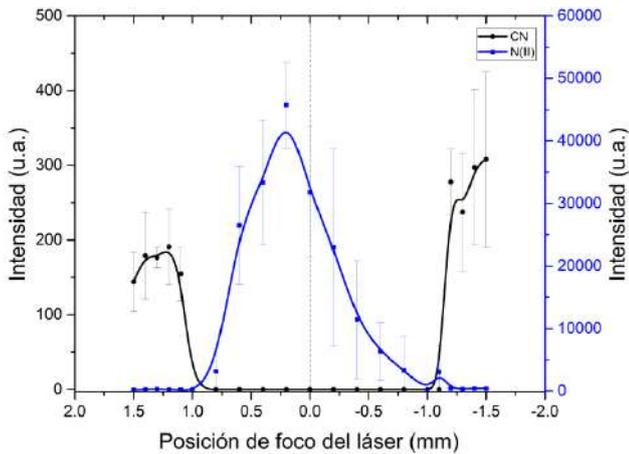


Figura 3. Distribución de la señal neta de CN (388.3 nm) y N (II) (399.5 nm) al desplazar el punto de enfoque del láser de excitación a lo largo del eje X para partículas de grafito de 2 μm . Los datos se muestran cada 0.1 mm desde ± 1.5 mm hasta ± 1.0 mm, a partir de donde se muestran en pasos de 0.2 mm. Cada punto es el promedio de diez eventos láser individuales sobre diez partículas atrapadas diferentes. La captación de luz se mantuvo fija sobre la posición 0.

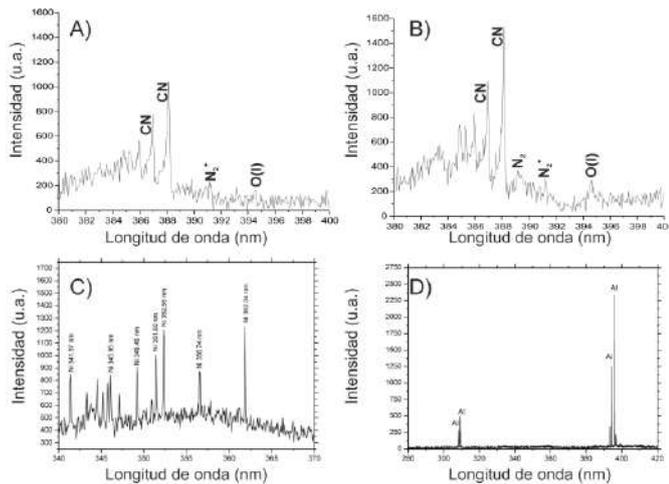


Figura 4. Espectros individuales de: A) Grafito de 400 nm B) Grafito de 2 μm C) Ni de 2 μm D) Al_2O_3 de 100 nm.

En la **Figura 4** se muestran algunos espectros obtenidos en los primeros trabajos sobre OC-OT-LIBS sobre partículas de Ni (2 μm), C (2 μm y 400 nm) y Al_2O_3 (100 nm), todas ellas con un 100% de eficiencia de detección, llegándose a analizar directamente masas de 75 fg (C 400 nm) y 2 fg (Al_2O_3 100 nm).

El hecho de poder registrar señal de la partícula aun enfocando el láser de excitación a una distancia relativamente amplia de ella nos llevó a pensar en un mecanismo de disociación de la partícula adicional a la interacción directa láser-partícula. En este mecanismo, la evaporación de la partícula se debería a un proceso de ionización secundaria causado por el plasma formado en aire, que engulliría a la partícula en su expansión. Este mecanismo de interacción plasma de aire-partícula podría dominar el proceso de evaporación hasta el punto de no existir interacción de la partícula con el pulso. Para corroborar el rol del plasma de

aire, se llevó a cabo un estudio de imagen resuelta en el tiempo. Los resultados se muestran en la **Figura 5**. Como puede observarse, con el tiempo, un plasma iniciado tanto anterior como posteriormente a la partícula llega a la posición de ésta, siendo pues plausible la hipótesis planteada. Un plasma formado tras la partícula tarda aproximadamente 700 ns más en llegar a la posición 0 que uno formado a -1.5 mm. Dado que el plasma pierde energía con el tiempo, la capacidad de excitar una partícula del plasma de aire formado en +1.5 mm es menor, lo que justifica la distribución de intensidades observada en la **Figura 3**.

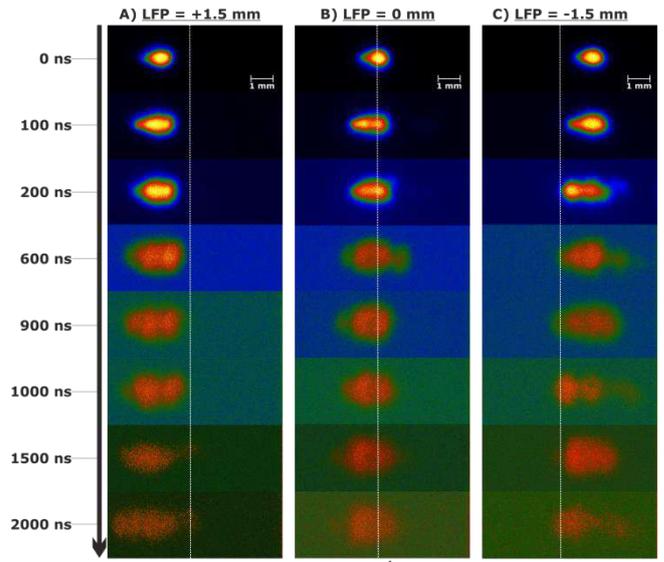


Fig. 5. Imágenes resueltas en el tiempo de plasmas de partículas individuales adquiridas a posiciones de foco: A) +1.5 mm; B) 0 mm; C) -1.5 mm. El láser de excitación se propaga horizontalmente desde la derecha. Manteniendo el tiempo de integración fijo en 5 ns, el retraso se fue variando en intervalos de 100 ns desde $d = 0$. En cada grupo de imágenes, la línea blanca discontinua marca el eje en el que se localiza la partícula. El contraste de las imágenes fue ajustado con objeto de resaltar el plasma frente al fondo.

Para evaluar la eficiencia de nuestro sistema, a lo largo de los experimentos con diversas muestras se llevaron a cabo cálculos de la producción absoluta de fotones por unidad de masa de la partícula bajo inspección, parámetro relacionado con la eficacia con la que se atomiza y excita la partícula y la de captación de la luz que ésta emite. A su vez, la producción de fotones en LIBS sobre material particulado es función no sólo de la masa ablacionada sino que depende del tamaño de ésta. Para su cálculo, la luz se sigue en sentido inverso: desde el detector hasta el plasma que la origina según el esquema que se muestra en la **Figura 6**. En primer lugar, se determina el número de fotones que originan la señal registrada. La ecuación (1) permite conocer los fotones que generan una única cuenta de señal a la longitud de onda monitorizada:

$$S = \frac{\omega_d}{Q_E \psi} \quad (1)$$

(1) relaciona la sensibilidad (S) con la profundidad del píxel (ω_d), el rendimiento cuántico (Q_E) y el convertidor AD de 16 bits del detector (ψ). El número resultante se multiplica por la

intensidad neta de la señal y, posteriormente, se suma secuencialmente la cantidad de fotones perdida en cada superficie que atraviesa la luz en su camino al detector. Esto es: la rendija de entrada al detector, la fibra óptica empleada para trasladar la luz al espectrómetro, las lentes de enfoque, las paredes de la cubeta de recubrimiento además de la luz que el plasma emite en el resto de direcciones además de la de captación. Comparando los resultados obtenidos sobre cada muestra y tamaño de partícula, se observó un aumento en la producción de fotones al disminuir el tamaño de las mismas. Esto indica una mayor eficiencia de excitación de las partículas más pequeñas, que puede atribuirse a la menor energía que precisan del plasma o el pulso láser que las excita para ser disociadas al contener un menor número de enlaces y a que quedan escindidas en fragmentos más pequeños, más fáciles de excitar tal y como se recoge en la **Figura 7**. Esta eficacia se puede considerar responsable de la gran sensibilidad de la técnica OC-OT-LIBS, con la que se han establecido LODs de 1.9 femtogramos para grafito y 200 attogramos para Al proveniente de Al_2O_3 .

En experimentos más recientes, llevados a cabo sobre partículas esféricas de Cu de tamaños comprendidos entre 25 y 70 nm, siendo éste atrapado ópticamente en aire por primera vez, se han logrado analizar masas de tan sólo 73 ag con un LOD de 31 ag, manteniéndose las observaciones descritas sobre la producción de fotones.

Conclusiones

La combinación desarrollada por el UMALASERLAB de LIBS con atrapado óptico, mediada por catapultado óptico, ha logrado llevar la sensibilidad de esta espectroscopia a límites extremos, haciendo posible la detección con un 100% de efectividad y la caracterización elemental completa de partículas de tan sólo 25 nm de diámetro y 73 ag de masa. Estos resultados abren el camino de la técnica OC-OT-LIBS a fundamentar estrategias para el análisis químico de estructuras nanométricas aisladas de composición compleja de manera más directa y sencilla que las más extendidas actualmente a lo largo de diferentes campos científicos. Algunos de los materiales susceptibles de ser estudiados por OC-OT-LIBS son nanopartículas core-shell, partículas de Janus, nanomáquinas o, incluso, células individuales. En todos estos casos sería posible la detección tanto de componentes mayoritarios como de elementos traza o contaminantes que puedan quedar adheridos u ocluidos en el nanodispositivo.

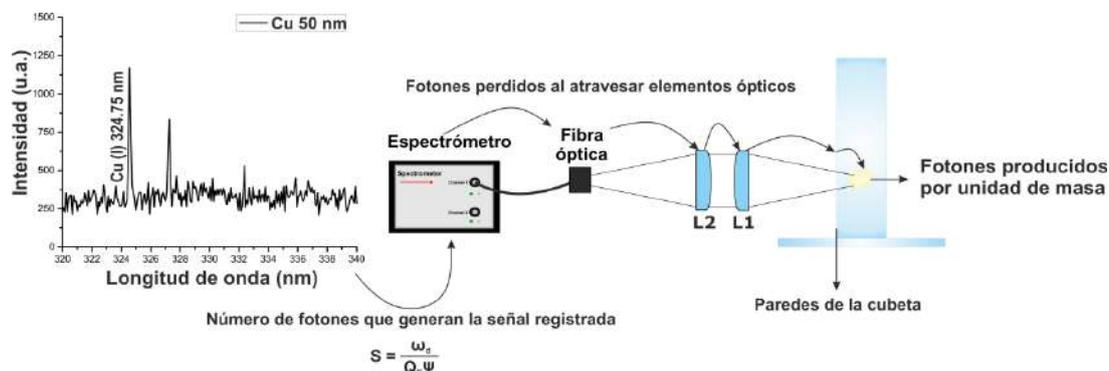


Figura 6. Ilustración del proceso de cálculo de la producción de fotones.

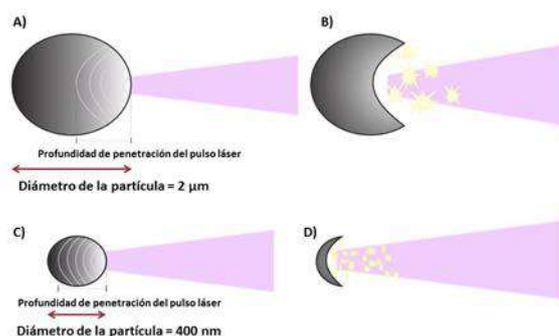


Figura 7. Interacción y disociación de una partícula de 2 μm (A y B) y 400 nm (C y D) incididas por el mismo pulso láser.

Bibliografía

- 1) M. E. Vance, T. Kuiken, E. P. Vejerano, S. P. McGinnis, M. F. Hochella, D. Rejeski, M. S. Hull, *Beilstein J. Nanotechnol.* 2015, *6*, 1769–1780.
- 2) A. Kamyshny, S. Magdassi, *Small* 2014, *10*, 3515–3535.
- 3) G. De Crozals, R. Bonnet, C. Farre, C. Chaix, *Nano Today* 2016, *11*, 435–463.
- 4) A. Crut, P. Maioli, N. Del Fatti, F. Vallée, *Chem. Soc. Rev.* 2014, *43*, 3921–3956.
- 5) L. R. Holt, B. J. Plowman, N. P. Young, K. Tschulik, R. G. Compton, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2016, *55*, 397–400.
- 6) S. Nizamov, O. Kasian, V. M. Mirsky, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2016, *55*, 7247–7251.
- 7) M. D. Montaña, J. W. Olesik, A. G. Barber, K. Challis, J. F. Ranville, *Anal. Bioanal. Chem.* 2016, *408*, 5053–5074.
- 8) I. De la Calle, M. Menta, F. Séby, *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 2016, *125*, 66–96.
- 9) M. D. Montaña, H. R. Badiei, S. Bazargan, J. F. Ranville, *Environ. Sci. Nano* 2014, *1*, 338.
- 10) D. W. Hahn, *Appl. Phys. Lett.* 1998, *72*, 2960.
- 11) G. Gallou, J. B. Sirven, C. Dutouquet, O. Le Bihan, E. Frejafon, *Aerosol Sci. Technol.* 2011, *45*, 918–926.
- 12) L. A. Álvarez-Trujillo, A. Ferrero, J. Javier Laserna, J. J. Laserna, L. A. A., *J. Anal. At. Spectrom.* 2008, *23*, 885–888.
- 13) F. J. Fortes, A. Fernández-Bravo, J. Javier Laserna, *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 2014, *100*, 78–85.