

Caracteres microscópicos para identificar la droga cruda

La epidermis tanto del haz como del envés es simple y uniestratificada. En corte transversal se observa la siguiente secuencia: las células de la epidermis del haz son de forma redonda y las del envés son de igual forma ovalada, aplanadas dorsiventralmente y más pequeñas (Figura B2 y B5). La epidermis del haz posee una cutícula gruesa y estriada (Figura B1). En vista superficial, las células del haz son rectangulares, con paredes ligeramente sinuadas (Figura E). Las células de la epidermis del envés son rectangulares con paredes altamente onduladas (Figura D). La hoja es anfiestomática con un mayor índice de estomas en el envés que en el haz. El índice promedio del envés es de 23.3 con un rango desde 20.15 hasta 27.18 y una moda de 23.43. El del haz es de 13.71 con un rango desde 10.15 hasta 17.35 con una moda de 13.12. Los estomas son en su mayoría anisocíticos (Figura J) y en menor frecuencia de tipo diacítico (Figura L) y paracítico (Figura K). En el haz, los tricomas son en su mayoría tectores, aunque pueden ser también glandulares (Figura C1 y C2). En el envés, la mayoría de tricomas son glandulares, aunque también se presentan tectores. Los tricomas tectores son de dos tipos: el primer tipo es unicelular simple con base en roseta (Figura F) y el segundo tipo es pluricelular (dos células por lo general) con base simple (cuatro células epidérmicas normales) (Figura G). Algunos tricomas pueden contener cristales (cistolitos) en su interior (Figura M). Los tricomas glandulares son de base muy corta, capitados y globosos, unicelulares o formados por dos células (Figura I2).

La constitución del mesófilo es homogénea. Posee dos capas de parénquima en empalizada seguida por el parénquima esponjoso. El parénquima en empalizada suele tener células alargadas verticalmente, de forma rectangular

y en general de 4 a 5 veces más largas que anchas (Figura B3). No se observan espacios intercelulares lo que se traduce en una sección compacta y homogénea por debajo de la epidermis del haz. El parénquima esponjoso suele presentar células redondas, grandes y con menor cantidad de cloroplastos (Figura B4). En la región de la vena central la epidermis es uniestratificada con tricomas tanto tectores como glandulares. Bajo la epidermis se encuentra una capa gruesa de parénquima con células redondeadas, grandes, rodeando al haz vascular de tipo colateral.

En el corte transversal de pecíolo se puede observar una epidermis uniestratificada con tricomas tectores y glandulares (Figura N1, O1 y O3). Por debajo de la epidermis se puede observar una sección de colénquima lagunar de 2-4 capas (Figura N2 y O2) y por debajo de éste se observa una capa gruesa de parénquima con las mismas características que las de la vena central (Figura N3 y O4). Los haces vasculares del pecíolo son colaterales (Figura O5 y O6) observándose uno principal y puede haber uno o dos secundarios, en la región del ala del pecíolo.

Propuesta de Cartilla Micrográfica de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke.

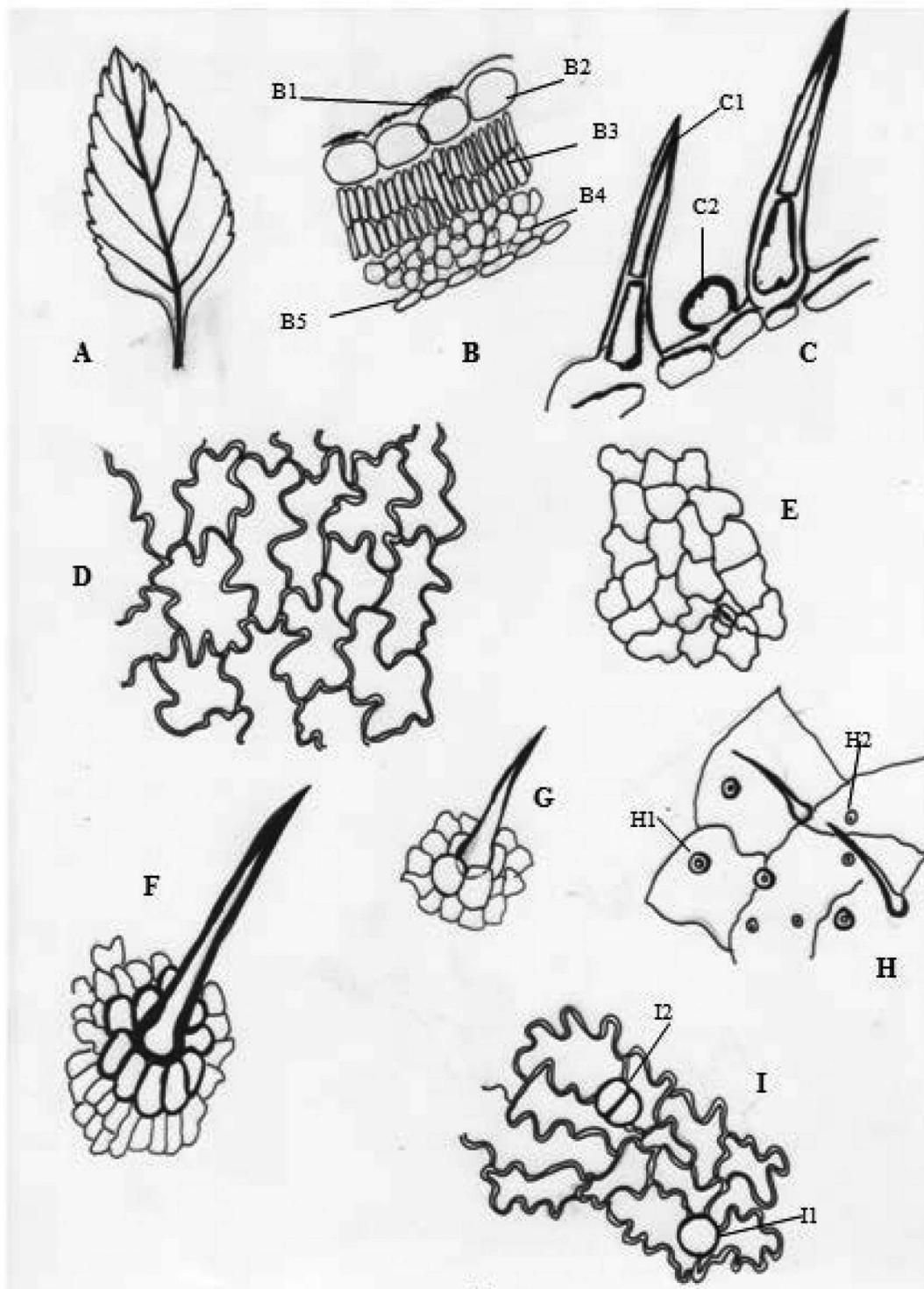


Fig. A. Lámina de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke. **Fig. B.** Corte transversal de hoja B1. Cutícula estriada B2. Epidermis del haz B3. Parénquima en empalizada B4. Parénquima esponjoso B5. Epidermis del envés **Fig. C.** tricomas C1. Tricoma tector C2. Tricoma glandular **Fig. D.** Epidermis del envés **Fig. E.** Epidermis del haz **Fig. F.** Tricoma con base de roseta **Fig. G.** Tricoma con base simple **H.** Diafanizado de hoja H1. Tricoma grande H2. Tricoma pequeño **Fig. I.** Epidermis del envés I1 Tricoma pluricelular I2 Tricoma unicelular

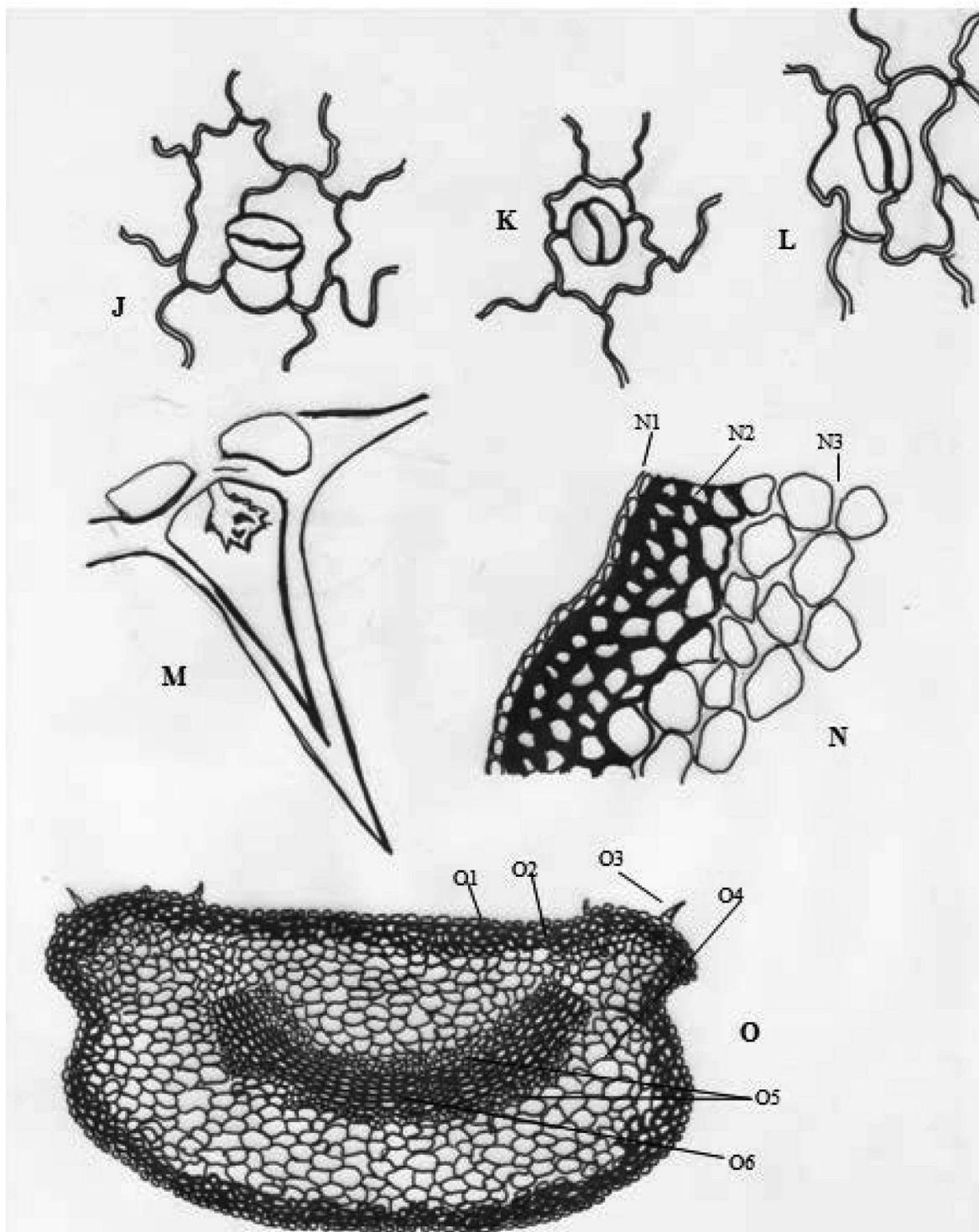


Fig. J. Estoma anisocítico **Fig. K.** Estoma diacítico **Fig. L.** Estoma paracítico **Fig. M.** Cistolito en tricoma tector **Fig. N.** Corte transversal de peciolo N1. Epidermis N2. Colénquima lagunar N3. Parénquima de almacenamiento **Fig. O.** Corte transversal de peciolo O1. Epidermis O2. Tricoma en peridermis O3. Colénquima lagunar O4. Parénquima de almacenamiento O5. Floema O6. Xilema

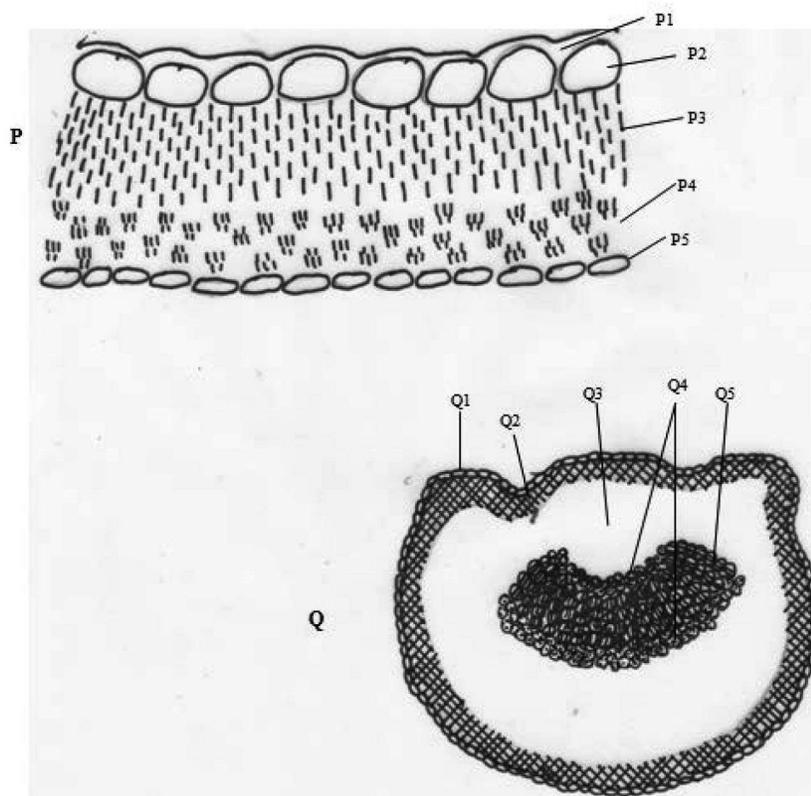
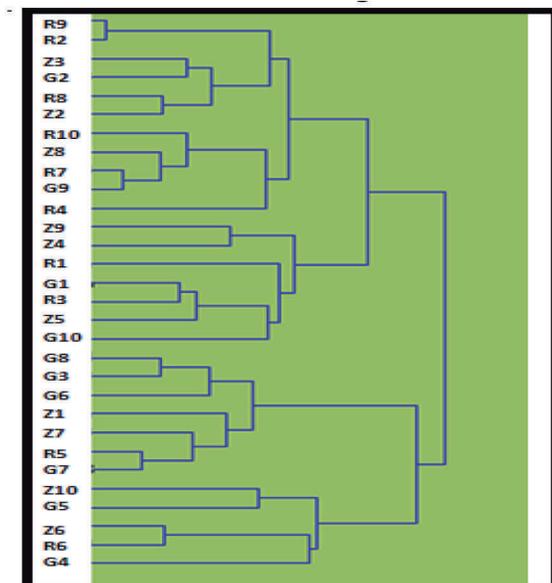


Fig. P. Corte transversal de hoja de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke (esquema según Metcalfe y Chalk) P1. Cutícula P2. Epidermis del haz P3. Parénquima en empalizada P4. Parénquima esponjoso P5. Epidermis del envés
Fig. Q. Corte transversal de peciolo de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke Q1. Epidermis Q2. Parénquima de almacenamiento Q3. Floema Q.4 Xilema

Análisis Estadístico

Se encontraron cuatro variables diagnósticas para la especie, siendo éstas: Índice de estomas del haz y del envés, número de capas de colénquima del peciolo y número de haces vasculares del peciolo. La distancia euclidiana tomada en cuenta para analizar dichos datos determinó que las variables no fueron discriminativas para hacer separación a nivel de subpoblaciones de *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke tomando en cuenta la altitud en la que se encuentra. (Gráfica 1)

Gráfica 1. Dendrograma



Discusión de Resultados

Los datos obtenidos en el estudio comparativo de caracteres anatómicos de la droga cruda de *Phylla dulcis* (Trevir.) Moldenke. muestran una alta similitud entre individuos. Las variables tomadas así como el número de individuos estudiados no lograron marcar diferencias a nivel poblacional. Con esto, la altura no es una variable que influya en la anatomía tanto macro como microscópica de dicha planta. Las variaciones observadas tanto a nivel de número de capas de colénquima del pecíolo así como número de haces vasculares del pecíolo fueron mínimas, es decir, se presentaron de 2 a 4 capas de colénquima y siempre se presentó un haz vascular principal que puede ir o no acompañado de uno o dos haces secundarios. Estas variaciones no permiten realizar una separación interpoblacional, más bien, estas variaciones son a nivel de individuo. Un factor que podría determinar el número de capas de pecíolo es el tamaño de la hoja. Si una hoja es muy grande, es necesario que el pecíolo desarrolle más capas de colénquima ya que es un tejido que le da rigidez a la planta, así que dicha planta, si es grande, necesita tejidos que le ayuden a mantenerse erguida. Del mismo modo, si la hoja es grande, es necesario que hayan haces vasculares alternos que ayuden al intercambio de agua y nutrientes entre la hoja y el resto de tejidos vegetales. Esto podría explicar dichas variaciones. Cabe mencionar que el tamaño o edad de la hoja colectada no fue una variable tomada en este estudio lo que pudo causar dichas variaciones.

En un estudio publicado por Cáceres, A (2006) sobre monografías de la región, se presenta una propuesta de descripción anatómica de *Phylla dulcis* realizada en México, por el Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS). Al realizar una comparación con los datos obtenidos, se puede llegar a concluir lo siguiente:

La forma básica así como los caracteres macroscópicos son muy parecidos entre ambas descripciones. En cuanto a la descripción microscópica, el estudio publicado por Cáceres reporta cutícula rugosa en ambas caras de la lámina. En el presente estudio se reporta que la cutícula es de tipo estriada y solo se presenta de este modo en la cara adaxial. Además el estudio reporta estomas de tipo anisocítico, anomocítico, paracítico, diacítico y tetracítico. En el presente estudio se observaron en la gran mayoría estomas anisocíticos y algunos diacíticos y paracíticos, eliminando de dichas poblaciones los de tipo anomocítico y tetracítico. El mismo estudio publicado por Cáceres menciona que la lámina de la hoja puede presentar dos tipos de estructuras secretoras: el primero tipo son tricomas glandulares, uni o pluricelulares, que si coinciden con la presente descripción, y el segundo tipo describe unas glándulas formadas por un complejo de células secretoras e idioblastos en la epidermis y subepidermis. Con el presente estudio no se pudo afirmar la presencia de dichas estructuras, más bien, se consideran como tricomas en crecimiento ya que los idioblastos que ellos describen son células buliformes encargadas de enrollar las hojas en gramíneas. Esto no coincide con el tipo de planta trabajada ya que se trata de una Verbenaceae. Por otro lado, cabe mencionar que en ambos estudios se menciona la presencia de cristales, siendo éstos en el trabajo publicado por Cáceres de oxalato de calcio y oxalato de magnesio, mientras que en el presente estudio no se pudo determinar la naturaleza de dichos cristales ya que no se realizaron pruebas de tipo histoquímico. Además cabe mencionar que se observaron cistolitos dentro de algunos tricomas tectores. Con esto se puede concluir que este tipo de características son continuas entre individuos de esta especie y por lo tanto, son caracteres diagnósticos de la droga cruda.

En cuanto a las características macroscópicas organolépticas se pudo observar que los individuos no presentaron diferencias observadas a nivel macroscópico. Todos contaron con el mismo color, olor, sabor, forma, textura y tipo de nervadura. Esto permite aseverar que, para fines farmacognósticos, a nivel macroscópico, las poblaciones estudiadas son iguales. Con esto, la descripción de la droga cruda en este estudio puede servir como estándar de calidad de la especie.

Si se comparan las características observadas con la descripción botánica de la especie, según la Flora de Nicaragua, se puede decir que las hojas colectadas en las poblaciones del CEDA (Centro Experimental Docente de Agronomía, FAUSAC, USAC), Guatemala; El Chico, Usumatlán, Zacapa y Platanares, Güasacapán, Santa Rosa fueron más pequeñas que las reportadas por la literatura, ya que en el presente estudio las hojas midieron 1-5 cm de largo y 0.5-3 de ancho y la literatura reporta hojas ovadas (lanceoladas), 3-7 cm de largo y 1.5-4 cm de ancho. En cuanto al tipo de ápice (agudo), margen (crenado) y presencia de tricomas, dichas descripciones si coinciden con la literatura. Para la realización de la cartilla micrográfica se tomaron en cuenta todos los parámetros evaluados en dicho estudio.

Agradecimientos

Se agradece por su colaboración a:

Laboratorio de Biensayos del Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC

Unidad de Análisis Instrumental (UAI); Facultad de CCQQ y Farmacia, USAC

M.Sc Carolina Rosales de Zea por sus valiosas correcciones y observaciones a dicho documento.

Rreferencias

- Souto-Bachiller, FA, *et al.* (1997). Terpenoid Composition of *Lippia dulcis*. *Phytochemistry*. Vol. 44 no.6: 1077-1086.
- Cáceres, A. (1999). Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Eds. L. Girón y A. Cáceres. Guatemala, GT, Editorial Universitaria. 402 p.
- Cáceres, A Ed. (2006). Propuesta de Monografías Farmacopeicas de 10 Plantas Medicinales Centroamericanas. OEA-AID (Organización de Estados Americanos OEA; Agencia Interamericana de Cooperación para el Desarrollo AICD). Guatemala, GT. 88 p.
- Compadre, C *et al.* (1985). Hernandulcin: An Intensely Sweet Compound Discovered by Review of Ancient Literature. *Science*. 227: 417-419.
- Gattuso, M; Gattuso SJ. (1999). Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas en Polvo. AR. UNR Editora. s.p.
- Granados, N. (2007). Establecimiento de los patrones de identidad farmacognóstica de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass a partir de las características anatómicas de seis poblaciones silvestres. Tesis Lic. Guatemala, GT, USAC. Escuela de Biología. 85 p.
- Solís, PN *et al.* (2005). Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterápicos. OEA/AICD/AE 089/03: Proyecto Desarrollo y Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitofármacos. 132p.
- Williams, LO. (1981). The Useful Plants of Central America. *Ceiba*. 24: 3-342.

Modelando la dinámica de un cantiléver de Microscopia de Fuerza Atómica AFM

Matamoros, J.¹, Vega-Baudrit, J.^{1,2}

¹Laboratorio Nacional de Nanotecnología LANOTEC, Centro Nacional de Alta Tecnología, San José, Costa Rica. ²Laboratorio de Polímeros POLIUNA, Escuela de Química, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, Costa Rica.
josuematomorosq@gmail.com

Resumen

Parte de la investigación científica actual involucra el empleo de diversas herramientas computacionales, tanto teóricas como de experimentación. La simulación computacional puede brindar acercamientos valiosos a la resolución de problemas científicos. La microscopía de fuerza atómica (AFM) constituye una de las técnicas de microscopía de sonda local; busca escanear las fuerzas interatómicas que pueden establecerse entre una muestra y una sonda. El movimiento oscilatorio del cantiléver se puede modelar matemáticamente utilizando los primeros armónicos de la ecuación de un oscilador armónico forzado con amortiguamiento. El hecho de que sea posible modelar matemáticamente permite que ambos comportamientos puedan ser programados y computados para la predicción del comportamiento físico a nivel teórico.

Palabras clave: Simulación, dinámica, cantiléver, AFM.

Abstract

Currently some research involves computing, as well as experiment. On the other hand, computer simulation can provide valuable approaches to scientific problems. The atomic force microscopy (AFM) is one of the scanning probe microscopy techniques, which locally scans interatomic forces between a sample and a probe. The oscillatory motion of the cantilever can be simulated mathematically using a forced damped harmonic oscillator model. The fact that it is possible to mathematically approach the behaviour of the cantilever-sample system, allows them to be programmed and computed to predict the physical behavior at a theoretical level.

Keywords: Simulation, dynamics, cantilever, AFM.

Introducción

En AFM se hace oscilar la sonda con una frecuencia y amplitud determinadas; luego, por medio de un sistema electrónico de sensores y retroalimentación, se mide la manera en que la interacción con la muestra afecta el movimiento oscilatorio. La frecuencia de resonancia, el desfase y la amplitud de la oscilación enlazan la dinámica de la vibración de la sonda con las interacciones entre muestra y sonda. Todos estos parámetros han sido utilizados como variable de retroalimentación. Uno de los modos dinámicos más conocidos es el AFM de amplitud modulada (AM-AFM). El AM-AFM o modo de contacto excita el cantiléver a su frecuencia de resonancia libre y la amplitud de la oscilación se utiliza como la variable de retroalimentación para medir la topografía de la superficie de la muestra. La componente de la interacción entre sonda y muestra se puede modelar mediante las ecuaciones de mecánica de contacto.

Desde la invención del AFM (Binnig, 1998), se ha acumulado mucho trabajo respecto a la metodología y teorización, buscando obtener más provecho de esta herramienta. En la publicación “High-Q Dynamic Force Microscopy” presentan una técnica de microscopía de fuerza dinámica con la intención de generar imágenes en líquidos. La técnica consistía, a grandes rasgos, en aumentar el valor del factor de calidad del cantiléver en tres órdenes de magnitud. El artículo reporta simulaciones computacionales que muestran que la fuerza de interacción entre la punta del cantiléver y la muestra disminuye en dos órdenes de magnitud debido a la modificación hecha al factor de calidad del cantiléver. “Dynamic AFM using the FM technique with constant excitation amplitude”, corresponde a la primera vez en que se propone controlar el comportamiento del cantiléver modulando la frecuencia y

manteniendo la amplitud de la oscilación constante. Los autores apoyan su propuesta mediante simulación computacional. El artículo muestra la relación entre distancia de la frecuencia y amplitud, e infiere que las dos variables medidas se comportan debido a aportes tanto conservativos como disipativos.

Tal vez una de las publicaciones que ha obtenido estatus clásico corresponde a “Dynamic atomic force microscopy methods” (García y Perez, 2002). Este artículo de revisión resume la extensa teoría que involucra la dinámica vibracional de un cantiléver con excitación senoidal y en interacción con una superficie. Esta interacción dota a esta dinámica de un carácter no lineal que los autores exploran de manera exhaustiva basados en el trabajo de sus colegas. El artículo se divide básicamente en dos grandes partes corresponden a modulación de amplitud y modulación de frecuencia. Los autores enfatizan en la independencia física de los fenómenos que se obtienen al utilizar las técnicas de modulación lo que ha generado dos comunidades científicas distintas. El artículo detalla aspectos físicos como la mecánica de contacto y los modelos de diferente complejidad que se utilizan para aproximar la interacción entre la punta del cantiléver y la muestra. Es esta interacción la que determina el comportamiento intrínsecamente no lineal de la microscopía de fuerza atómica, generando el fenómeno que el artículo menciona como bifurcación; el cantiléver tiene dos maneras distintas de comportarse según la separación entre punta y superficie y depende de las distintas fuerzas de interacción que estén presentes. Por otro lado, el artículo hace hincapié en un fenómeno que permite la identificación de la presencia de materiales en debido a cambios en frecuencia usando la técnica de modulación de amplitud.

Esta revisión aumentó el interés por la investigación teórica de la dinámica del cantiléver y ha dado origen a la búsqueda de soluciones y a la mejoría de la construcción e implementación de instrumentos de microscopía y espectroscopía.

Modelo básico

Para simular el movimiento de la punta del cantiléver con amplitud modulada se utiliza una ecuación diferencial de segundo orden no lineal. Corresponde al modelo matemático de un oscilador armónico forzado con amortiguamiento.

$$m \frac{\delta^2 z}{\delta t^2} + kz + \frac{m\omega_0}{Q} \frac{\delta z}{\delta t} = F_{ts} + F_0 \cos(\omega t) \quad (1)$$

En la ecuación, m es la masa del cantiléver simplificado en una masa puntual, z es la posición de la punta del cantiléver respecto a la posición de equilibrio, k es la constante de fuerza del cantiléver en oscilación libre, ω_0 es la frecuencia de resonancia angular, Q es el factor de calidad, F_{ts} son las fuerzas de interacción entre la superficie y la punta del cantiléver, F_0 es la amplitud y ω la frecuencia angular de la onda de excitación. Esta onda de excitación caracteriza al oscilador como forzado y corresponde al impulso externo que hace vibrar al cantiléver.

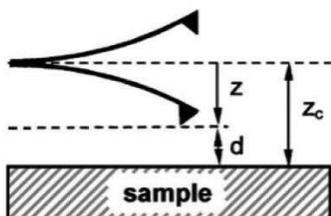


Figura 1: Esquema de las distancias relevantes del sistema cantiléver-superficie en García y Perez (2002)

La ecuación se debe aproximar mediante un método de integración numérica, por ejemplo Runge Kutta. Además se debe actualizar el valor de F_{ts} en cada paso de integración de acuerdo con algún modelo de fuerzas de interacción. Una opción es utilizar dos ecuaciones distintas para calcular el valor de F_{ts} dependiendo de la distancia de la punta del cantiléver respecto a la muestra. Si esta distancia es menor a_0 que las fuerzas de interacción F_{ts} obtendrían su valor siguiendo la ecuación:

$$F_{ts}(z_c, z) = \frac{4E_{efectivo}\sqrt{R}}{3 - 3\nu_s^2} (a_0 - z - z_c)^{\frac{3}{2}} - \frac{HR}{6d^2} \quad (2)$$

En la ecuación (2), $E_{efectivo}$ es el módulo de elasticidad efectivo, R es el radio de la punta del cantiléver, a_0 es la mínima distancia entre el centro de los átomos de la punta del AFM y los átomos de la muestra, z_c es la distancia de la punta del cantiléver a la muestra cuando el cantiléver está en posición de equilibrio, y ν_s es la constante de Poisson de la muestra, d corresponde a la posición instantánea de la punta del cantiléver respecto a la muestra, H es la constante de Hamaker.

El $E_{efectivo}$ se calcula con la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{E_{efectivo}} = \frac{1 - \nu_t^2}{E_t} + \frac{1 - \nu_s^2}{E_s} \quad (3)$$

Donde ν_t es la constante de Poisson de la punta del cantiléver, E_t y E_s son los módulos de elasticidad de la punta del cantiléver y de la muestra.

En el caso de que la distancia sea mayor a a_0 se utiliza las fuerzas de interacción entre

punta y muestra se calculan con siguiente ecuación:

$$F_{ts}(z_c, z) = -\frac{HR}{6d^2} \quad (4)$$

Para este caso se asumen valores típicos de una muestra polimérica. Se elige el módulo de elasticidad $E_s = 1 \text{ GPa}$ y una constante de Poisson $\nu_s = 0.4$. El módulo de elasticidad de la punta del cantiléver se le da un valor $E_t = 130 \text{ GPa}$ y una constante de Poisson $\nu_t = 0.1$. La constante de fuerza de cantiléver se puede fijar en un valor típico $k = 2 \frac{\text{N}}{\text{m}}$, la frecuencia natural $f_0 = 70 \text{ kHz}$, en y el factor de calidad $Q = 150$. De igual manera se eligen valores realistas para la amplitud y frecuencia de excitación, y las dimensiones de la punta del cantiléver.

La idea es generar graficas que comparen la amplitud de oscilación con la variación de la separación entre la superficie de la muestra y la punta. Para esto se selecciona una amplitud para el cantiléver cercana a $A = 50 \text{ nm}$. Se elige una posición para el cantiléver de unos respecto a la superficie de la muestra. Se integra la ecuación del movimiento oscilatorio armónico y se mide la amplitud de la oscilación. Se reduce gradualmente la posición del cantiléver respecto a la muestra y se mide la amplitud de oscilación. Finalmente se construye la gráfica de la oscilación contra la distancia de la punta en equilibrio respecto a la muestra.

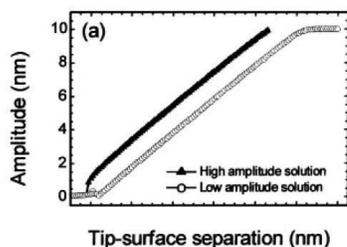


Figura 2 :Comportamiento de la amplitud de la oscilación comparada con la separación de la superficie y la punta en García y Perez (2002)

2. Análisis computacional

El artículo “Analytical solutions of the first three frequency shifts of AFM (...)” (Shueer-Muh Lin, 2006) propone un método para determinar el cambio de frecuencia tomando en cuenta las fuerzas de interacción y utiliza el modelo Lennard-Jones. El autor realiza simulaciones y muestra como la amplitud y la distancia punta-muestra disminuyen al aumentar el cambio en frecuencia. Evidencia también como los cambios en frecuencia contribuyen más a las oscilaciones en primer orden que en órdenes superiores. Con un cantiléver de mayor frecuencia de oscilación natural o bien con constante de resorte menor, el cambio de frecuencia en oscilaciones de primer orden aumenta. También emite conclusiones acerca de la alta rigidez necesaria para repeler perturbaciones externas. En otra publicación proponen obtener el cambio de frecuencia de una sonda en forma de V cercana a una superficie inclinada (Shueei-Muh Lin, Lee, y Chen, 2006). Propone un modelo analítico y lo compara con otros dos: gradiente de fuerza y perturbación. Los autores obtuvieron mayores cambios en frecuencia cuando la amplitud de oscilación como y distancia punta-muestra disminuyen. También descubrieron aspectos que aumentan la magnitud del cambio en frecuencia como el uso de un cantiléver cónico y no en forma de V, el incremento del grosor en la base del cantiléver y el radio de la punta. Por otro lado, el aumento del ángulo de inclinación disminuye el valor del cambio en frecuencia. En otro trabajo analítico, los autores buscan la relación entre cambio de frecuencia en diferentes órdenes de magnitud y un ángulo de oscilación (Shueei-Muh Lin, Liauh, Wang, y Ho, 2007). El artículo muestra que tanto la dirección como magnitud de las inclinaciones afectan los cambios en frecuencia. Nuevamente, la amplitud y la distancia punta-muestra influyen más significativamente en la oscilación

fundamental que en órdenes superiores de oscilación. En otra publicación (Shueei-Muh Lin y Lin, 2009) los autores miden los errores que se pueden dar por disipación de energía. Acotan que aumentar el cambio en frecuencia podría ayudar a disminuir los errores relacionados con la compensación de la tensión en corriente directa. En “Frequency shifts and analysis of AFM accompanying with coupled flexural–torsional motions” (Shueei-Muh Lin y Wang, 2009) establecen un modelo analítico del sistema del cantiléver y muestran cómo los primeros dos órdenes de oscilación se relacionan con el movimiento de flexión y el tercer orden incluye componentes de torsión. Los autores observan cómo afecta la distancia de la base a la punta del cantiléver y cómo influencia valor de la constante Hamaker en los cambios en frecuencia cuando las oscilaciones son de amplitudes pequeñas.

En Solares (2007) el autor propone un tipo de modulación en frecuencia y en amplitud que busca eliminar el fenómeno de biestabilidad y reducir las fuerzas de interacción entre sonda y muestra. Describe el modelo teórico aplicándolo de manera virtual en una molécula de bacteriorodopsina. John Melcher y colegas estudian cómo flujos de energía espontáneos en muestras líquidas originan contrastes de fase Melcher *et al.* (2009). “Theory of amplitude modulation atomic force microscopy with and without Q-Control” Hölscher y Schwarz (2007) revisan los fundamentos de microscopía de amplitud modulada. Muestra la teoría analítica de AM-AFM y compara mediante simulaciones numéricas las ecuaciones de los modelos. Expone una manera de suprimir el comportamiento biestable en AM-AFM: Mueve el cantiléver en su frecuencia de resonancia, incrementa el factor de calidad y restringe las fuerza punta-muestra a la región atractiva y de no contacto. Además

demuestra que la deformación elástica de la muestra se puede evitar.

El artículo “Cantilever dynamics in atomic force microscopy” (Raman; Melcher y Tung, 2008) se revisa la dinámica de AM-AFM y las posibilidades que se obtienen de su simulación computacional. Los autores aseveran que existen muchas posibilidades de avanzar en la comprensión e implementación de la dinámica de cantiléver y el desarrollo de nueva instrumentación.

El artículo “Effects of higher oscillation modes on TM-AFM measurements” (Pishkenari y Meghdari, 2011) utiliza tanto dinámica molecular como el método de elementos finitos para modelar la interacción de la punta de un microcantiléver con una muestra. Los autores observan las deformaciones elásticas ocasionadas por el cantiléver en la muestra y aseguran que modelar la punta del cantiléver como una masa puntual evita observar aspectos relevantes de la dinámica.

“Dynamic analysis of tapping-mode AFM considering capillary force interactions” (Korayem; Kavousi y Ebrahimi, 2011) explora simulaciones numéricas de un sistema cantiléver-superficie. Además incluye interacción con capas de fluidos capilares. Los autores exponen diagramas de amplitud y fase contra separación muestra-punta, obteniendo luego el valor mínimo de separación. El artículo acota que cuando la punta se acerca a la distancia en que se activa la fuerza capilar, la oscilación puede volverse caótica. En ambientes poco húmedos la oscilación en la rama de baja amplitud crece, y por otro lado la humedad no parece afectar la oscilación en la rama de amplitud alta.

“Sensitivity and resonant frequency of an AFM with sidewall and top-surface probes (...)”

(Kahrobaiyan; Ahmadian; Haghighi y Haghighi, 2010) examina las sensibilidades a frecuencia de resonancia en flexión y en torsión de un cantiléver. Los autores deducen que los modos de orden inferior son más sensitivos a valores de baja rigidez de contacto, y la situación es inversa para valores altos. Además el artículo compara los valores de sensibilidad a diferentes órdenes tomando en cuenta modificaciones en las dimensiones del cantiléver. En Gómez y Garcia (2010) se detalla un método para identificar disipación de energía a nanoescala. Se calcula la curva de disipación para la energía de adhesión a la muestra, interacciones de alto alcance y procesos visco-elásticos. Las curvas son una combinación de los diferentes procesos combinados.

En Wang y Yau (2011) los redactores emplean la transformación diferencial para considerar el fenómeno caótico y de bifurcación en un cantiléver. El artículo compara los resultados de desplazamiento y velocidad a diferentes valores de amplitud con las obtenidas por Runge-Kutta, además distingue que el comportamiento dinámico depende de la amplitud de oscilación pasando por distintos tipos de movimiento: subarmónico, caótico y multiperiodico. En Pai, Wang, y Lin (2010) se examina la dinámica del cantiléver también mediante transformación diferencial. Los autores presentan diagramas de bifurcación, retratos de fase, espectros de potencia, mapas de Poicaré, y el ploteo de los máximos exponentes de Lyapunov. Corroboran también la dependencia de la dinámica con los valores de amplitud pasando por diferentes tipos de movimiento: caótico, multiperiodico, oscilación fundamental y de órdenes superiores.

En Kahrobaiyan; Ahmadian; Haghighi y Haghighi (2010) se descompone la dinámica de un cantiléver en forma de V tanto en amplitud como en frecuencia modulada. En Schwartz *et*

al. (2011) los autores estudian las reacciones dieléctricas a nanoescala en capas de polímero utilizando microscopía de fuerza electrostática. En Eslami y Jalili (2012) se modela un sistema AFM mediante parámetros distribuidos y se confronta la inercia rotacional y su característica esfuerzo deformación con el modelo Euler-Bernoulli.

En los responsables plantean un controlador de deslizamiento robusto para incrustar nanopartículas en sustratos. Se describen las limitaciones de la modulación de amplitud. Los autores enseñan una forma de obtener las fuerzas Van der Waals utilizando curvas de distancia-fase. Se especifican los procesos dinámicos de dos escenarios experimentales: aspereza singular y múltiple. En los redactores explican un proceso de mecanizado empleando un cantiléver de AFM. La fuerza entre punta-muestra compone un rasgo que determina el resultado de una mecanización y la amplitud se destina a parámetro de control de la profundidad del mecanizado.

Conclusiones

El modelado de las condiciones físicas que gobiernan la dinámica del cantiléver en fuerza atómica puede ser un medio útil de ganar una mejor percepción de su funcionamiento. La comprensión de estos aspectos teóricos podría llevar a una mejoría general de la técnica de AFM. En casos específicos, el mayor conocimiento del sistema conjunto de muestra y cantiléver puede provocar una mejor utilización de las herramientas de visualización y así mejores estudios por medio de AFM. En el Laboratorio Nacional de Nanotecnología es usual la obtención de imágenes de microscopía de sonda. La comparación con modelos teóricos puede resultar en una invaluable fuente para la mejoría de los estudios y mediciones de microscopía.

Referencias

- Barcons, V., Verdaguer, A., Font, J., Chiesa, M., & Santos, S. (2012). Nanoscale Capillary Interactions in Dynamic Atomic Force Microscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(14), 7757-7766. doi: 10.1021/jp2107395
- Binning, G. (1988). Atomic force microscope and method for imaging surfaces with atomic resolution.
- Eslami, S., & Jalili, N. (2012). A comprehensive modeling and vibration analysis of AFM microcantilevers subjected to nonlinear tip-sample interaction forces. *Ultramicroscopy*, 117, 31-45. doi: 10.1016/j.ultramic.2012.03.016
- Eves, B. J., & Green, R. G. (2012). Limitations on accurate shape determination using amplitude modulation atomic force microscopy. *Ultramicroscopy*, 115, 14-20. doi: 10.1016/j.ultramic.2012.01.016
- García, R., & Perez, R. (2002). Dynamic atomic force microscopy methods. *Surface Science Reports*, 47.
- Gómez, C. J., & Garcia, R. (2010). Determination and simulation of nanoscale energy dissipation processes in amplitude modulation AFM. *Ultramicroscopy*, 110(6), 626-633. doi: 10.1016/j.ultramic.2010.02.023
- Gotsmann, B., & Fuchs, H. (2002). Dynamic AFM using the FM technique with constant excitation amplitude. *Applied Surface Science*, 188(3-4), 355-362. doi: 10.1016/S0169-4332(01)00950-3
- Hölscher, H., & Schwarz, U. D. (2007). Theory of amplitude modulation atomic force microscopy with and without Q-Control. *International Journal of Non-Linear Mechanics*, 42(4), 608-625. doi: 10.1016/j.ijnonlinmec.2007.01.018
- Kahrobaiyan, M. H., Ahmadian, M. T., Haghghi, P., & Haghghi, a. (2010). Sensitivity and resonant frequency of an AFM with sidewall and top-surface probes for both flexural and torsional modes. *International Journal of Mechanical Sciences*, 52(10), 1357-1365. doi: 10.1016/j.ijmecsci.2010.06.013
- Kahrobaiyan, M. H., Rahaeifard, M., & Ahmadian, M. T. (2011). Nonlinear dynamic analysis of a V-shaped microcantilever of an atomic force microscope. *Applied Mathematical Modelling*, 35(12), 5903-5919. doi: 10.1016/j.apm.2011.05.039
- Korayem, M. H., Kavousi, a., & Ebrahimi, N. (2011). Dynamic analysis of tapping-mode AFM considering capillary force interactions. *Scientia Iranica*, 18(1), 121-129. doi: 10.1016/j.scient.2011.03.014
- Korayem, M. H., Noroozi, M., & Daeinabi, K. (2012). Control of an atomic force microscopy probe during nano-manipulation via the sliding mode method. *Scientia Iranica*, 19(5), 1346-1353. doi: 10.1016/j.scient.2012.06.026
- Lin, S.-M. (2006). Analytical solutions of the first three frequency shifts of AFM.
- Lin, S.-M., Lee, S.-Y., & Chen, B.-S. (2006). Closed-form solutions for the frequency shift of V-shaped probes scanning an inclined surface. *Applied Surface Science*, 252(18), 6249-6259. doi: 10.1016/j.apsusc.2005.08.027

- Lin, S.-M., Liauh, C.-T., Wang, W.-R., & Ho, S.-H. (2007). Analytical solutions of the frequency shifts of several modes in AFM scanning an inclined surface, subjected to the Lennard-Jones force. *International Journal of Solids and Structures*, *44*(3-4), 799-810. doi: 10.1016/j.ijsolstr.2006.05.024
- Lin, S.-M., & Lin, C.-C. (2009). Phase shifts and energy dissipations of several modes of AFM: Minimizing topography and dissipation measurement errors. *Precision Engineering*, *33*(4), 371-377. doi: 10.1016/j.precisioneng.2008.10.005
- Lin, S.-M., & Wang, W.-R. (2009). Frequency shifts and analysis of AFM accompanying with coupled flexural-torsional motions. *International Journal of Solids and Structures*, *46*(24), 4231-4241. doi: 10.1016/j.ijsolstr.2009.08.016
- Liu, W., Yan, Y., Hu, Z., Zhao, X., Yan, J., & Dong, S. (2012). Study on the nano machining process with a vibrating AFM tip on the polymer surface. *Applied Surface Science*, *258*(7), 2620-2626. doi: 10.1016/j.apsusc.2011.10.107
- Melcher, J., Carrasco, C., Xu, X., Carrascosa, J. L., Gómez-Herrero, J., José de Pablo, P., & Raman, A. (2009). Origins of phase contrast in the atomic force microscope in liquids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(33), 13655-13660. doi: 10.1073/pnas.0902240106
- Pai, N.-S., Wang, C.-C., & Lin, D. T. W. (2010). Bifurcation analysis of a microcantilever in AFM system. *Journal of the Franklin Institute*, *347*(7), 1353-1367. doi: 10.1016/j.jfranklin.2010.06.008
- Pishkenari, H. N., & Meghdari, A. (2011). Effects of higher oscillation modes on TM-AFM measurements. *Ultramicroscopy*, *111*(2), 107-116. doi: 10.1016/j.ultramic.2010.10.015
- Raman, A., Melcher, J., & Tung, R. (2008). Cantilever dynamics in atomic force microscopy Dynamic atomic force microscopy, in essence, consists of a vibrating. *3*(1), 20-27.
- Raul D. Rodriguez, E. L., Jaques Jupille. (2012). Probing the probe AFM tip-prooling via nanotemplates to determine.pdf.
- Schwartz, G. a., Riedel, C., Arinero, R., Tordjeman, P., Alegría, a., & Colmenero, J. (2011). Broadband nanodielectric spectroscopy by means of amplitude modulation electrostatic force microscopy (AM-EFM). *Ultramicroscopy*, *111*(8), 1366-1369. doi: 10.1016/j.ultramic.2011.05.001
- Solares, S. D. (2007). Single biomolecule imaging with frequency and force modulation in tapping-mode atomic force microscopy. *The journal of physical chemistry. B*, *111*(9), 2125-2129. doi: 10.1021/jp070067+
- Tamayo, J., Humphris, a. D., Owen, R. J., & Miles, M. J. (2001). High-Q dynamic force microscopy in liquid and its application to living cells. *Biophysical journal*, *81*(1), 526-537. doi: 10.1016/s0006-3495(01)75719-0
- Wang, C.-C., & Yau, H.-T. (2011). Application of the differential transformation method to bifurcation and chaotic analysis of an AFM probe tip. *Computers & Mathematics with Applications*, *61*(8), 1957-1962. doi: 10.1016/j.camwa.2010.08.019