



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

FERNANDA RODRIGUES TORRES DA COSTA

Microscopia Eletrônica de Varredura: potencialidades e aplicações

São Luís - MA

2016

FERNANDA RODRIGUES TORRES DA COSTA

Microscopia Eletrônica de Varredura: potencialidades e aplicações

Monografia apresentada ao Curso de Química Industrial da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Adailton Pereira Maciel

São Luís - MA

2016

FERNANDA RODRIGUES TORRES DA COSTA

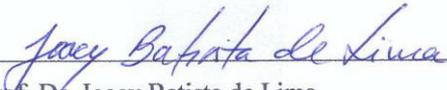
**Microscopia Eletrônica de Varredura: potencialidades e
aplicações**

Aprovada em: 16/08/2016

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel (Orientador)
Departamento de Química – UFMA



Prof. Dr. Joacy Batista de Lima

Departamento de Química – UFMA



Prof.ª Dr.ª Gilza Maria Piedade Prazeres

Departamento de Química – UFMA

São Luís - MA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

COSTA, FERNANDA RODRIGUES TORRES DA.
Microscopia Eletrônica de Varredura:
potencialidades e aplicações / FERNANDA RODRIGUES TORRES
DA COSTA. - 2016.
50 f.

Orientador(a): ADEILTON PEREIRA MACIEL.
Monografia (Graduação) - Curso de Química Industrial,
Universidade Federal do Maranhão, SÃO LUÍS - MA, 2016.

1. Espectroscopia de energia dispersiva de raios X.
2. Materiais. 3. Microscopia eletrônica de varredura. I.
PEREIRA MACIEL, ADEILTON. II. Título.

*Dedico este trabalho
Aos meus pais, irmã e namorado.*

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, por ter me levantado e dado ânimo frente às circunstâncias encontrada ao longo da trajetória. Por seu amor que se renova cada dia na minha vida, pelo seu cuidado e proteção. A Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pela oportunidade de estudos e por minha formação acadêmica. Aos professores Dr. Adeilton, meu orientador e a Dr^a Cáritas, por terem sido verdadeiros educadores. Por se mostrarem sempre dispostos a ajudar, pela paciência, puxões de orelha sempre que necessário, compreensão, por compartilhar conhecimentos fundamentais para minha formação profissional, minha gratidão e carinho a vocês. Aos professores da Universidade Federal do Maranhão que ministraram aulas durante o curso, por terem cumprido fielmente a sua missão quanto educadores, em especial aos professores, Nestor, Arão, Ulisses, Nilson, Vitor, Isaíde, Joselene, Odair, Joacy. Aos meus pais, Antônio Carlos e Rosemeire, por me colocarem no mundo, me criar, educar e ensinar valores essenciais para a vida, e determinar meu caráter. A minha irmã Carolina, pelo amor, carinho, companheirismo, por estar comigo uma vida inteira, e por não me permitir fraquejar nos momentos difíceis, você veio para alegrar meus dias, minha caçula, meu eterno amor. E ao meu irmão Jhonatan, que Deus me deu, um amigo irmão que me acompanhou toda graduação, onde estudamos, festejamos, vivemos momentos muito felizes e tristes também. A Brandão Júnior, que tem sido meu fiel companheiro, que com seu amor e compreensão tem me ajudado a superar os desafios que se colocam na minha frente, meu amor incondicional a você. A todos meus familiares por contribuírem de forma direta ou indireta na minha formação. As minhas best's, Jéssica (Lôra) e Welma (Bia) pelo amor, carinho, dedicação, por trilhar comigo por esse caminho chamado vida. A vocês duas meu muito obrigada pela cumplicidade e amizade. E as minhas parceiras Alícyia (marida) e Christian Rilza por me incentivarem a crescer, pela amizade, sinceridade, amor, carinho, atenção. Obrigada por enlouquecerem junto comigo quando necessário. A minha família do laboratório (NCCA), que além de um local de trabalho e de crescimento profissional se tornou um local onde brotou amizades verdadeiras: Prof. Hilton, Prof. Fernando, Prof^a Kátia, Prof. Sávio, Prof. Márcio, Prof^a Gilza, Rosane, Neto, Mitchell, Rógenes, Luciano, Sandrinho, Ana Flávia, Jefferson, Wendel, Angela, Jorge, Danielle, Ana, Neurene, Raissa, Polyana, Serginho, Thonny, Wandinho, Igor, Raquel, Raelma, Drielle, Sergiane, Thaynara, Marcelo Vinicius, Jonny, Aline, Antonio, Deusilene, Thamara, Ziel, Sinara. Enfim, a todos que caminharam junto comigo para mais uma conquista em minha vida.

*“ Não há saber maior ou saber menor.
Há saberes diferentes”*

Paulo Freire

RESUMO

O microscópio óptico ilumina o objeto com luz visível ou luz ultravioleta. O limite máximo de resolução é estabelecido pelo efeito da difração devido ao comprimento de onda da radiação incidente, possuindo uma limitação de aumento máximo de 200 vezes, pois acima desse valor, detalhes menores são imperceptíveis. Assim, com intuito de aperfeiçoar a técnica para visualização de materiais em uma melhor resolução, o microscópio eletrônico de varredura, foi instituído. No presente trabalho, teve como objetivo a realização de uma prospecção da produção científica dos artigos publicados ao longo dos anos; exposição de métodos de preparação das amostras para a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), onde estas, por exemplo, possuem uma alta resolução, quando caracterizadas como semicondutores e condutores. Já a espectroscopia de energia dispersiva de raios X é uma técnica acoplada ao MEV que visa a análise elementar e a caracterização química de uma amostra. Para tanto, a prospecção foi realizada tendo como a base científica a Web of Science, os materiais foram analisados em um Microscópio Eletrônico de Varredura, equipado com um espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDS). Sendo assim, o presente trabalho é disponibilizado como material técnico-didático em microscopia eletrônica de varredura, visando aprimorar ainda mais as técnicas de preparação das amostras, oferecendo um conhecimento de levantamento científico sobre técnica e ainda melhoria na qualidade dos trabalhos que dispõe desta para as caracterizações das respectivas amostras.

Palavras – chave: Microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de energia dispersiva de raios X, materiais.

ABSTRACT

The optical microscope illuminates the object with visible light or ultraviolet light. The maximum resolution is established by the effect of diffraction due to the wavelength of incident radiation, having a maximum limitation increase of 200 times, because above this value, smaller details are imperceptible. Thus, in order to improve this technique to display materials in a better resolution, the scanning electron microscope was set up. In this paper, we aimed to carry out a survey of scientific production published over the years; Exposure the methods of sample preparation to the technique of scanning electron microscopy (SEM), which, for example, there is a high resolution, when characterized as semiconductors and conductors. The energy dispersive X ray spectroscopy is a technique that aims coupled to the SEM elemental analysis and chemical characterization of a sample. Therefore, the survey was carried out taking as scientific base the Web of Science; the materials were analyzed in a Scanning Electron Microscope equipped with energy dispersive X ray spectroscopy (EDS). Thus, this paper is available as technical and educational materials in scanning electron microscopy, aiming at further improving the techniques of sample preparation by providing a scientific material of technical knowledge and further improve the quality of papers with this subject for characterizations of the respective samples.

Keywords: scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray spectroscopy, materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema comparativo entre um microscópico óptico e um microscópico eletrônico de varredura	14
Figura 2 – Representação esquemática dos componentes do MEV	22
Figura 3 – Trabalhos publicados nos anos 1945 a 1970 com análises do MEV.	27
Figura 4 – Trabalhos publicados nos anos 1970 a 1990 com análises de MEV.	28
Figura 5 – Trabalhos publicados nos anos 1990 a 2015 com análises de MEV.	29
Figura 6 – Áreas de pesquisas com trabalhos publicados relacionados ao MEV.	29
Figura 7 – Países com destaques na produção de trabalhos relacionados ao MEV.	30
Figura 8 – Procedimento de fixação da fita dupla-face de carbono no stub.....	39
Figura 9 – Procedimento de eliminação de partículas soltas.....	40
Figura 10 – Procedimento para acoplar o stub no Sample Holder e inserir o mesmo no equipamento.	40
Figura 11 – Formação da imagem em microscopia óptica e eletrônica.	41
Figura 12 – Comandos de ajuste de zoom, brilho, contraste e foco das imagens.	41
Figura 13 – Micrografias obtidas pelo MEV do Epicarpo (a e b) e Amido do mesocarpo de babaçu (c).....	45
Figura 14 – Micrografia obtida pelo MEV da Escama de peixe da pescada amarela. ..	47
Figura 15 – Micrografia Obtida pelo MEV de materiais cerâmicos.	47

LISTA DE SIGLAS

EDS – Espectroscopia de energia dispersivas de raios X

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
3. METODOLOGIA.....	17
4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA Erro! Indicador não definido.	
4.1 Breve histórico.....	18
4.2 Proposta de Manual Técnico MEV ... Erro! Indicador não definido.	9
4.2.1 Princípios da técnica: microscopia eletrônica de varredura...19	
4.2.2 Componentes do MEV.....21	
4.2.3 Resolução das Imagens.....23	
4.2.4 Espectroscopia de energia dispersiva de raios X.....24	
4.3 Prospecção da produção científica da técnica do MEV	19
4.3.1 Artigos publicados nas áreas de pesquisas de maiores concentrações.	
4.4 Proposta de roteiro de preparação de amostras de materiais semicondutores, condutores e poliméricos, e também diretrizes para a análise por espectroscopia de energias dispersivas de raios X.....	31
4.4.1 <i>Preparação de amostras.....</i>	31
4.4.2 <i>Preparo de amostras condutoras e semicondutoras</i>	32
4.4.3 <i>Preparo de amostras poliméricas</i>	24
4.4.4 <i>Montagem de amostras</i>	25
4.5 Observação em Microscopia Eletrônica	44
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

A palavra microscópio foi usada pela primeira vez em 1624 por um membro da primeira “Academia dei Lincei” um grupo de cientistas do qual Galileu fazia parte. Origina-se do Grego mikros (pequeno) e skopein (examinar). Portanto desde sua origem, associa-se microscópio, a objetos que nosso olho não pode ver. Robert Hooke, que embora não tenha sido o inventor do microscópio, foi o primeiro a sistematicamente observar objetos com um olhar científico e não por simples curiosidade como outros contemporâneos seus do sec. XVII.

No início do século XVII, os microscópios compostos eram já comuns na Europa. No entanto, produziam uma imagem de péssima qualidade devido a aberrações cromáticas produzidas pelas lentes. Assim, muitos investigadores preferiam usar microscópios simples, construídos com apenas uma lente cuidadosamente polida.

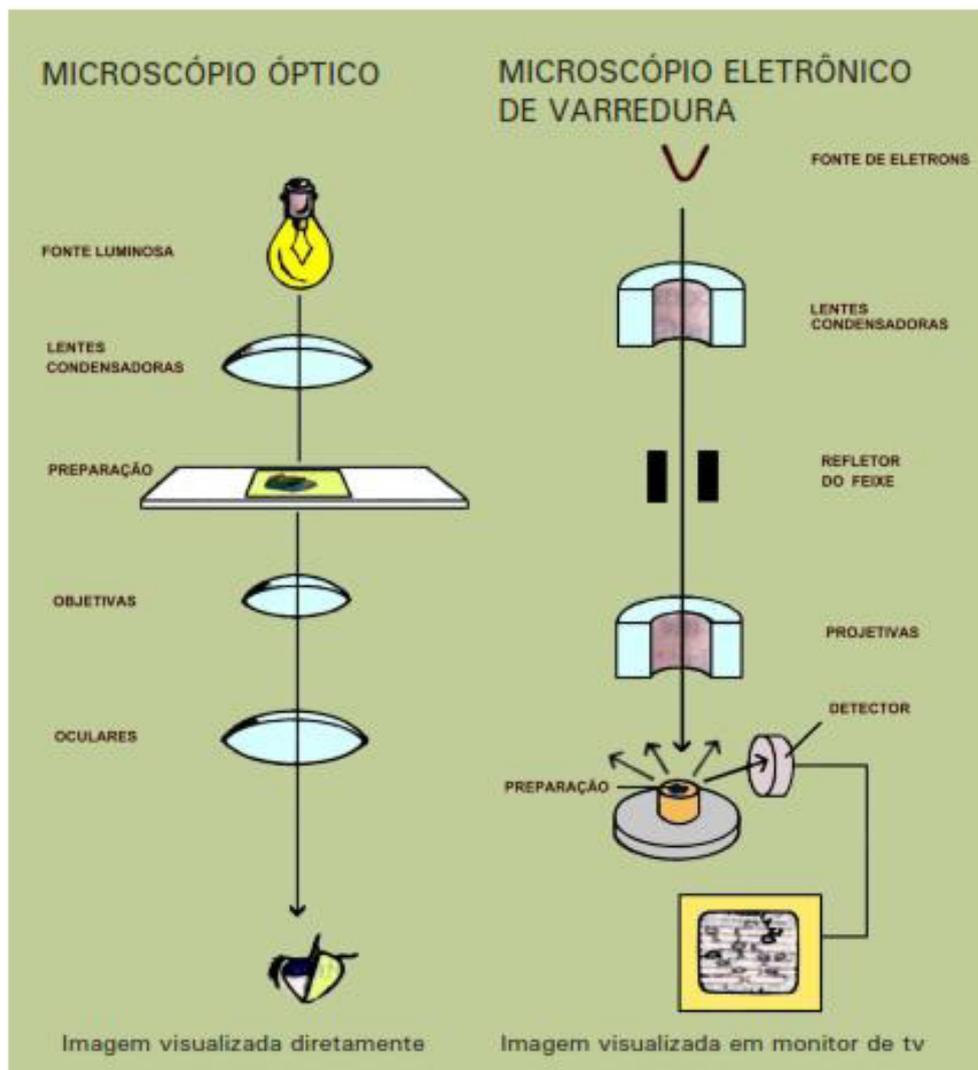
Antony van Leeuwenhoek o desenvolvimento de seus microscópios era individualmente feito para cada amostra. Eram observados com uma ampliação de cerca de 300 vezes. O microscópio de Hooke, apesar de composto (com uma lente ocular e uma objetiva) tinha apenas um poder ampliador de 30 vezes.

Após estas primeiras descobertas, os estudos microscópicos progrediram muito pouco, e nos duzentos anos seguintes, nenhuma descoberta importante foi feita. Finalmente, a partir de 1830, começaram a produzir-se lentes acromáticas, que não dão origem a aberrações. Este progresso culminou com a invenção, pelo físico alemão Ernest Abbé, do microscópio acromático com condensador, praticamente idêntico aos utilizados atualmente.

O microscópio óptico ilumina o objeto com luz visível ou luz ultravioleta. O limite máximo de resolução dele é estabelecido pelo efeito da difração devido ao comprimento de onda da radiação incidente, possuindo uma limitação de aumento máximo de 200 vezes, pois acima desse valor, detalhes menores são imperceptíveis. Assim, com intuito de aperfeiçoar a técnica para visualização de materiais em uma melhor resolução, o microscópio eletrônico de varredura, foi instituído.

Os microscópios eletrônicos e ópticos têm a mesma função básica: observar os aspectos morfológicos dos minerais e materiais, com grande aumento e boa resolução espacial. Contudo, a diferença básica aparece nos seus sistemas de iluminação, enquanto o MEV utiliza um feixe de elétrons, o microscópio óptico usa luz proveniente de uma lâmpada (*Figura 1*).

Figura 1 - Esquema comparativo entre um microscópio óptico e um microscópio eletrônico de varredura



Fonte: Adaptado de RAVEN et al, 1996.

Para entender melhor a diversidade de materiais existentes no cenário científico torna-se necessário conhecer a microestrutura de algumas amostras, a fim de correlacionar forma, defeitos e propriedades que os mesmos apresentam. Assim, a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) se apresenta como uma técnica essencial para o desenvolvimento técnico-científico, uma vez que é capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície de amostras.

O Microscópio Eletrônico de Varredura é uma ferramenta com bastante utilidade sendo usada, cada vez mais no cenário científico, para a análise microestrutural de diversos materiais. É especialmente utilizado para realizar análises morfológicas de superfícies de particulados, polímeros, proteínas, sementes, compostos inorgânicos e

orgânicos, possibilitando análises de superfície fraturada - análise de falhas, avaliando também o tamanho de partículas, estrutura e forma.

Com intuito de se obter imagens com uma boa resolução, muitos materiais precisam ser submetidos a um preparo específico dependendo de suas propriedades, tais como: condutividade elétrica, dureza, porosidade.

A Espectroscopia de raios X por dispersão em energia é uma técnica analítica acoplada ao microscópio eletrônico de varredura, que permite uma análise elementar, caracterização química dos elementos presentes na amostra, microanálise qualitativa e semi-quantitativa de elementos químicos, e também uma porcentagem de fase em microestruturas.

Nesse contexto, o presente trabalho, foi desenvolvido com o objetivo de disponibilizar conhecimentos sobre a técnica de microscopia eletrônica de varredura, para análise de diversos materiais, analisando o funcionamento do equipamento e o preparo das amostras. Além disso, foi realizada uma prospecção da produção científica, que utiliza a técnica de microscopia eletrônica de varredura.

2. OBJETIVOS

Geral

Preparar um material técnico-didático sobre microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Específicos

- ✓ Confeccionar um manual técnico sobre a técnica de microscopia eletrônica de varredura.
- ✓ Fazer uma prospecção da produção científica da técnica microscopia eletrônica de varredura.
- ✓ Propor um roteiro de preparação de materiais semicondutores, condutores e poliméricos para ser analisado no MEV, e também diretrizes para análises na técnica espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS).

3. METODOLOGIA

3.1 Confeção de um manual técnico-didático sobre a técnica de microscopia eletrônica de varredura

Foi realizado uma revisão bibliográfica sobre a técnica de microscopia eletrônica de varredura, desde seu histórico, princípios da técnica, componentes, resolução de imagens, explanando sobre o funcionamento do equipamento, visando aprimorar o conhecimento da mesma.

3.2 Prospecção da produção científica da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura

Foi realizada tendo como a base científica Web of Science (www.webofknowledge.ez14.periodicos.capes.gov.br). Todos os dados para os gráficos foram analisados de acordo com a base, a escolha consistiu por ela ser mais fácil para obtenção de dados e os analisar resultados. Fez-se a variação, usando primeiramente os anos de publicação, que se comparou historicamente os dados obtidos, em seguida, as áreas de pesquisas que mais utilizam a técnica, e por fim os países e territórios que mais se destacam na utilização do microscópio eletrônico de varredura.

3.3 Obtenção de imagens utilizando o microscópio eletrônico de varredura

Foram analisados materiais de diversos tipos, dentre eles amostras cerâmicas, biológicas e semicondutoras. As imagens foram obtidas em um Microscópio Eletrônico de Varredura operando entre 5 keV e 15 keV, modelo Phenon Pro X ® da Phenon Word, equipado com um espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDS) para análise elementar.

As amostras foram preparadas em uma porta amostra de alumínio, recoberto com uma fita de carbono dupla face, PELCO Tabs™ da Tedpella e levadas para a análise num sample holder da Phenon®.

As análises foram realizadas no Núcleo de Combustíveis, Catálise e Ambiental (NCCA).

4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

4.1 Breve histórico

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um dos instrumentos mais utilizados para observação e análise das características microestruturais de materiais sólidos. O primeiro trabalho reconhecido descrevendo o conceito de um MEV é o de Knoll (KNOLL,1935). Mais adiante, Von Ardenne em 1938 construiu um microscópio eletrônico de varredura e transmissão adaptando bobinas de varredura a um microscópio eletrônico de transmissão (VON ARDENNE, 1938).

O primeiro MEV usado para observar amostras espessas foi descrito por Zworykin e colaboradores em 1942 (ZWORYKIN et al., 1942). Os autores descreveram que a emissão de elétrons secundários poderia ser responsável pelo contraste topográfico da imagem gerada. O coletor foi polarizado positivamente em relação à amostra com 50 Volts e os elétrons secundários coletados produziram uma queda de voltagem no resistor. Esta queda de voltagem foi enviada a uma tela de televisão para produzir a imagem; entretanto, a resolução atingida foi de apenas 1 μ m. Esta resolução foi considerada insatisfatória pela equipe, visto que buscavam atingir uma resolução maior de 0,5 μ m atingida pelos microscópios ópticos. Ao reduzir o diâmetro do feixe eletrônico spot, bem como aperfeiçoar a razão sinal/ruído, foi construído um novo instrumento. Uma análise detalhada da relação entre aberrações das lentes, brilho do canhão e tamanho do diâmetro do feixe resultou em um método para determinar o tamanho mínimo do diâmetro do feixe em função de sua corrente (ZWORYKIN et al., 1942).

A contribuição posterior do grupo foi usar um tubo multiplicador dos elétrons, como um pré-amplificador para a corrente de emissão secundária (elétrons secundários) vinda da amostra, mesmo assim as imagens ainda apresentavam ruído. O sistema óptico-eletrônico do instrumento consistia de três lentes eletrostáticas com bobinas de varredura posicionadas entre a segunda e terceira lentes apresentando uma resolução

aproximada de 50 nm (500Å). A etapa seguinte foi o aperfeiçoamento do detector de elétrons secundários pelo mesmo autor (ZWORYKIN et al., 1942).

Porém, a etapa foi seguida por Everhart e Thornley (EVERHART; THORNLEY, 1960) que empregaram um cintilador para converter os elétrons em luz, os quais eram, então, transmitidos a um fotomultiplicador. Desde o primeiro instrumento comercial de 1965 (Cambridge instrumentos científicos – modelo Stereoscan), muitos avanços foram obtidos. Atualmente, os modernos microscópios eletrônicos de varredura são equipados com estrutura digital que permite o armazenamento temporário da imagem para observação ou até mesmo a transferência por rede para outras partes do planeta. Além disto, alguns modelos podem operar com baixo vácuo (linhas de ecologia) e outros fazem parte da linha para produção em série, e são utilizados na inspeção e controle de qualidade de fármacos, semicondutores e peças de precisão.

Nos anos iniciais da técnica foi mostrado o comportamento de dualismo onda-partícula, onde o comprimento de onda de um elétron é dado em função da sua energia. (DE BROGLIE, 1925). Sendo assim, a energia podia ser comunicada a uma nova partícula carregada por meio de um campo elétrico acelerador. Logo precisava-se de uma voltagem suficientemente grande, por exemplo 50 kV, elétrons de comprimento de onda curto, assim, com uma boa fonte de iluminação o resultado era um poder de resolução era alto. Além disso, os elétrons podem ser focalizados por campos eletrostáticos ou eletromagnéticos, podendo assim formar imagens.

4.2 Proposta de Manual Técnico MEV

4.2.1 Princípios da técnica: Microscopia Eletrônica de Varredura

O princípio da técnica consiste na utilização de um feixe de elétrons, gerado a partir de um filamento ou cristal, que tem como finalidade explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica, cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente (BOZOLLA, 1999).

O feixe de elétrons que inicialmente é bastante “grosseiro”, precisa ser demagnificado a partir de um sistema de lentes condensadoras, a fim de tornar o seu diâmetro o menor possível, garantindo uma resolução de boa qualidade para a imagem produzida.

Por meio de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular, ou seja, não é possível realizar a leitura de todo o material ao mesmo tempo, mas é possível mudar a direção que o feixe incide sob a superfície e investigar qualquer área de interesse (BOYDE, 1978).

A interação do feixe de elétrons (elétrons primários) com a amostra resulta na liberação de elétrons (secundários, retroespalhados, Auger, dentre outros), raios X característicos e fótons que podem ser coletados por detectores adequados, gerando um sinal através do qual será formada a imagem.

Para a microscopia eletrônica de varredura, há interesse na detecção dos elétrons secundários, que permitem maior resolução da imagem e a observação de variações de relevo da superfície analisada (responsável pela noção de tridimensionalidade), e os elétrons retroespalhados, que possibilitam a característica de composição da amostra, identificada pelo contraste na imagem.

Quando os elétrons primários incidem na amostra, parte dos elétrons difunde-se e constitui um volume de interação cuja forma depende principalmente da tensão de aceleração e do número atômico da amostra.

Para que haja um sinal, os elétrons resultantes da interação do feixe incidente com a amostra devem atingir o detector. A profundidade máxima de detecção depende da energia com que essas partículas atingem o detector. Desta forma, elétrons retroespalhados possuem maior energia do que os elétrons secundários, operando, portanto, em uma faixa de energia maior (COHEN, 1977).

Os elétrons secundários no MEV resultam do feixe eletrônico com o material da amostra. São elétrons de baixa energia que formarão imagens de alta resolução. Nos microscópicos comerciais, somente os elétrons secundários produzidos próximos à superfície podem ser detectados. O contraste da amostra é dado pelo relevo da amostra, que é o principal modo de formação de imagem no MEV (GOLDSTEIN, 1992).

Os elétrons retroespalhados possuem energia variando entre 50 eV até o valor da energia do elétron primário. Esses elétrons possuem energia próxima à dos elétrons primários, que são aqueles que sofreram espalhamento elástico, que provém de camadas mais superficiais da amostra. A imagem gerada por esses elétrons fornece diferentes informações em relação ao contraste e também uma imagem topográfica (contraste em função do relevo) e obtém-se uma imagem de composição (contraste em função do número atômico dos elementos presentes nas amostras (EVERHART, 1960).

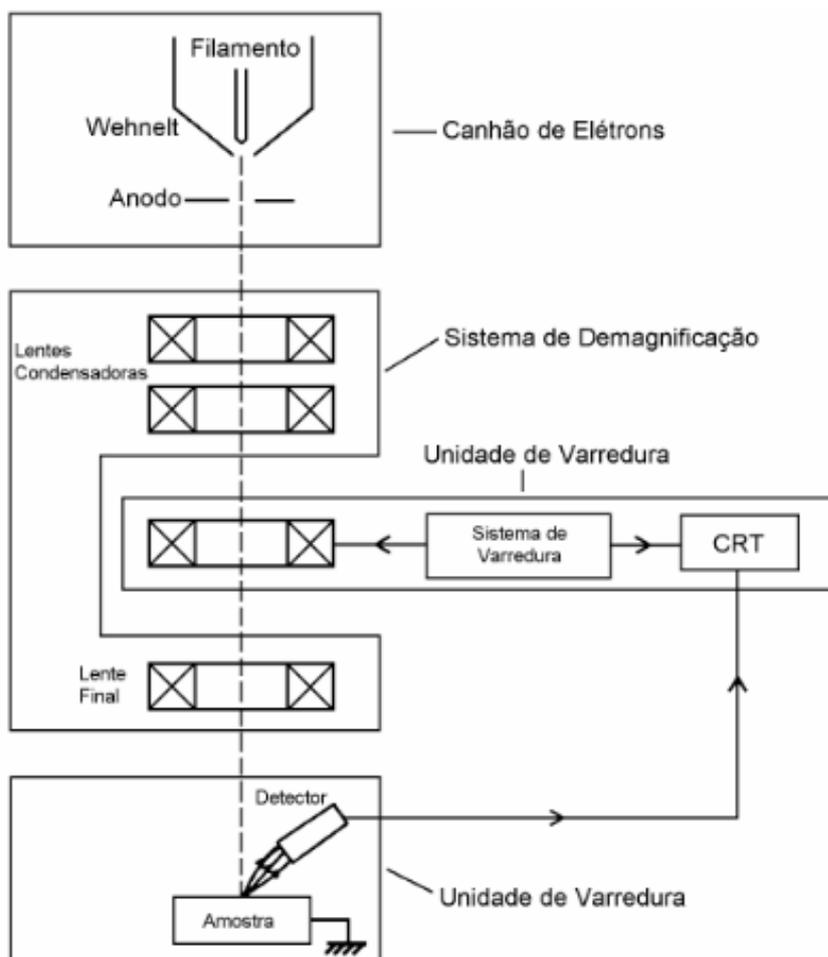
Existem outros tipos de interação que podem ser obtidos pela incidência do feixe primário na amostra. Os elétrons transmitidos que sofrem espalhamento elástico, que são responsáveis pela formação da imagem dos microscópios eletrônicos de Transmissão. Também, os elétrons absorvidos perdem toda sua energia, assim geram uma corrente elétrica e entre a amostra e o porta-amostra. E por fim, elétrons Auger, cuja energia é característica do elemento que a emite e do tipo de ligação química (CARTER, 1996).

Com o intuito de fazer com que o feixe de elétrons primários tenha efeito na amostra de modo a gerar uma imagem, faz-se necessário que o material analisado seja um bom condutor de corrente elétrica. Assim, materiais que possuem pouca condutividade precisam ser preparados de forma específica de modo que sua estrutura micromorfológica não seja modificada, mas de maneira que uma imagem seja formada, com a aplicação de uma película de ouro, por exemplo.

4.2.2 Componentes do MEV

O microscópio eletrônico de varredura é composto por uma coluna óptico-eletrônica (canhão de elétrons) a uma câmara com porta-amostra, sistema eletrônico, detectores e sistema de vácuo (*Figura 2*).

Figura 2 – Representação esquemática dos componentes do MEV



Fonte: MALISKA, UFSC.

Os detectores captam uma quantidade de energia suficiente que são emitidos pelo canhão de elétrons, usado para a produção do feixe de elétrons. Esse feixe eletrônico é então demagnificado por várias lentes eletromagnéticas, cuja finalidade é produzir um feixe de elétrons focado com um pequeno diâmetro numa determinada região da amostra (KNOLL, 1935).

Na coluna óptica-eletrônica fica localizada o canhão de elétrons que promove a produção de um pequeno feixe de elétrons de alta intensidade, que são os elétrons primários. As bobinas de exploração eletromagnética de dupla deflexão incitam os elétrons no sentido horizontal e vertical sobre uma dada região da amostra, iluminando áreas de aproximadamente 10 nm de diâmetro. Toda a coluna deve estar sob vácuo durante a emissão do feixe de elétrons primários (NAGATANI, 1987).

Existem vários tipos de canhão de elétrons que são utilizados nos microscópicos assim a quantidade de corrente que as mesmas podem produzir, o tamanho da fonte, a

estabilidade do feixe produzido o tempo de vida da fonte podem variar. O modelo mais encontrado é formado por três componentes: o filamento de tungstênio, que serve como cátodo, o cilindro de Wehnelt e o ânodo. O microscópio eletrônico Phenon Word modelo Pro-X, instalado no NCCA/UFMA possui um tipo de canhão de elétrons diferente, o material responsável pela geração de elétrons são cristais de hexaborreto de cério (CeB_6).

O filamento de tungstênio é aquecido e o seu funcionamento é baseado no efeito termoiônico para emissão dos elétrons. Essa emissão do filamento ocorre quando é fornecido calor suficiente, assim os elétrons podem ultrapassar a barreira de energia para escapar do material. Com intuito de reduzir o efeito da evaporação do filamento, que é comum a elevadas temperaturas, usa-se um filamento de material que precise de baixa energia para emitir os elétrons. O filamento de tungstênio é possível obter uma boa emissão de elétrons, ou seja, produzir um feixe eletrônico com alta densidade de corrente, em temperatura bem abaixo da temperatura de fusão do tungstênio (VON ARDENNE, 1938).

O cilindro de Wehnelt ou grade catódica opera quando o filamento é mantido num potencial altamente negativo, pela fonte de alta voltagem, e os elétrons são emitidos pelo filamento. Ele atua no sentido de focar os elétrons emitidos pelo filamento para dentro do canhão e controlar a quantidade de elétrons emitidos pelo filamento (COHEN, 1977).

A câmara de amostras consiste no compartimento onde são inseridas as amostras. A pressão dentro da câmara é de, aproximadamente, 10^{-6} Torr ou menor e na pré-câmara, alguns modelos apresentam, 10^{-3} Torr. A câmara apresenta na parte externa botões de ajustes manuais que permitem variar o deslocamento da amostra seguindo em três direções (x, y, z), e a rotação das amostras, podendo acessar via *software* também.

Os detectores coletam o sinal emitido pelos diferentes tipos de interações entre o feixe primário e amostra (elétrons secundários ou retroespalhados, raios X, elétrons de Auger) que ficam conectados a uma tela de visualização e um sistema de gravação de imagens. O detector pode ser um cintilador polarizado positivamente, que acelera os elétrons sobre a área reativa, assim transmitindo um sinal por meio de um guia de luz e um fotomultiplicador aos amplificadores de sinal e aos processadores e por fim chegando para os tubos de raios catódicos (CARTER, 1996).

As lentes eletrostáticas ou magnéticas, diafragma são responsáveis pela correção das aberrações das aberturas ou cromáticas, sendo a redução do feixe e a focalização do

objeto, estes são elementos ópticos. E o sistema de varredura consistem nas bobinas defletoras que comandam o ponto de impacto dos elétrons sobre a amostra.

Nos detectores dos elétrons secundários, os elétrons são atraídos para o interior do detector devido à voltagem positiva da grade localizada na frente do detector. Dentro do detector os elétrons são acelerados até um nível de energia para um guia de luz de quartzo coberto com material cintilador. Essa aceleração resulta na emissão de fótons que percorrem o guia de luz até o fotomultiplicador que produzirá uma corrente de elétrons. O pulso gera um ponto na tela de tubos de raios catódicos.

Já no detector de elétrons retroespalhados, os elétrons podem separar as informações de composição e topografia. Nos microscópicos comerciais do MEV, existem dois tipos de detecção de elétrons retroespalhados, a do estado sólido (semicondutor) e o Robison que usa um cintilador. O mais moderno é o com detecção no estado sólido, que compõem de um par de semicondutores dispostos simetricamente com eixo óptico, cuja simetria e disposição dependem do fabricante (BOYDE, 1978).

O sistema de vácuo é composto por um conjunto de bombas operando com uma bomba mecânica para o vácuo primário (em torno de 10^{-3} Torr) e outra para o vácuo secundário (em torno de 10^{-6} Torr).

(Figura e referencias)

4.2.3 Resolução das Imagens

Os critérios que influenciam numa boa resposta da imagem do MEV são: a) tensão de aceleração dos elétrons; b) corrente da sonda: quanto maior a corrente, maior é o diâmetro do feixe; c) a distância de trabalho – que é a distância entre amostra e lente objetiva. Quanto menor a distância de trabalho, melhor será a resolução. Por outro lado, quanto maior a distância de trabalho, melhor será a profundidade de campo obtida.

A resolução que se pode obter com o MEV depende do tamanho da zona de onde vem o sinal utilizado para formar a imagem, ela também vai ser determinada pelo diâmetro sobre o qual vai sair o sinal que será utilizado para formar a imagem, e não será possível observar detalhes de tamanho inferior a este diâmetro (CARTER, 1996).

Os elétrons secundários são as interações que permitem obter a melhor resolução. Já para os elétrons retroespalhados a resolução será maior à medida que tensão for mais fraca, mas é preciso destacar o fato de que se produzem menos elétrons retroespalhados à medida que a tensão diminui.

A profundidade de penetração dos elétrons retroespalhados, sofre influência do diâmetro da região de interação do feixe incidente com a amostra, que depende de três fatores: a tensão de aceleração, número atômico da amostra e o ângulo de incidência do feixe com a superfície. Assim, a profundidade da penetração dos elétrons é maior a medida que a tensão de aceleração é mais forte, o número atômico é o inverso, pois quanto maior número atômico menor o poder de penetração dos elétrons. Logo, a melhor resolução é obtida com elétrons secundários em matérias de peso atômico elevado (HEARLE, 1972).

4.2.4 Espectroscopia de energia dispersiva de raios X

Um dos instrumentos mais utilizados para análise química de materiais inorgânicos e orgânicos é a microanálise. A ação dos feixes eletrônicos permite identificar a emissão de raios X pela amostra, dessa forma, identifica-se a composição da amostra com até 1 μm de diâmetro em regiões escassas, com até 1%, de determinados elementos que constituem a amostra.

Essa detecção dos raios emitidos da amostra pode ser executada pela medida de suas energias (EDS), ou ainda, pelo seu comprimento de onda (WDS). A detecção a partir da EDS é a mais recorrida por possuir maior rapidez na quantificação dos elementos. Estatisticamente, as análises de amostras contendo apenas 10% dos elementos que a compõem levaria cerca de 10s, proporcionalmente, uma contendo 1% demandaria 100s (EVERHART, 1960).

Característica primordial dessa técnica é o fato de obter-se o mapa constitucional da região analisada podendo correlacionar a morfologia, obtida por MEV, e composição.

Os raios X são gerados de duas possíveis formas, através da interação inelástica do feixe de elétron com a amostra: por excitação de raios X Bremsstrahlung ou raios X contínuos e pela ionização de camadas internas, dando origem a emissão dos raios X característicos.

As cargas elétricas geram sinais que quando processadas identificam a energia dos raios X e assim os elementos que constituem a amostra. Essas cargas são produzidas através da conversão de energia dos raios X identificadas pelo detector de estado sólido. Estes detectores coletam ainda tanto cargas negativas quanto positivas.

A análise de amostras desconhecidas via EDS é feito partindo-se da identificação dos elementos que a compõe, caracterizada como análise qualitativa. Para determinações no âmbito quantitativo o procedimento é equivalente, porém, feito em seguida, pois sem a devida identificação dos reais elementos presentes a análise final torna-se duvidosa.

Os elementos em maior quantidade na amostra são fácil e precisamente identificados, entretanto, os em menor quantidade podem gerar certos erros de interpretação por parte do analista ou até mesmo interferências sofridas pela técnica, afetando o resultado final. Pelo presente imprevisto, tornou-se conveniente considerar que a mais de 10% em peso caracteriza uma grande quantidade presente na região estudada; entre 1 e 10% diz-se que está em pequena quantidade e menor que 1% apenas traços do elemento.

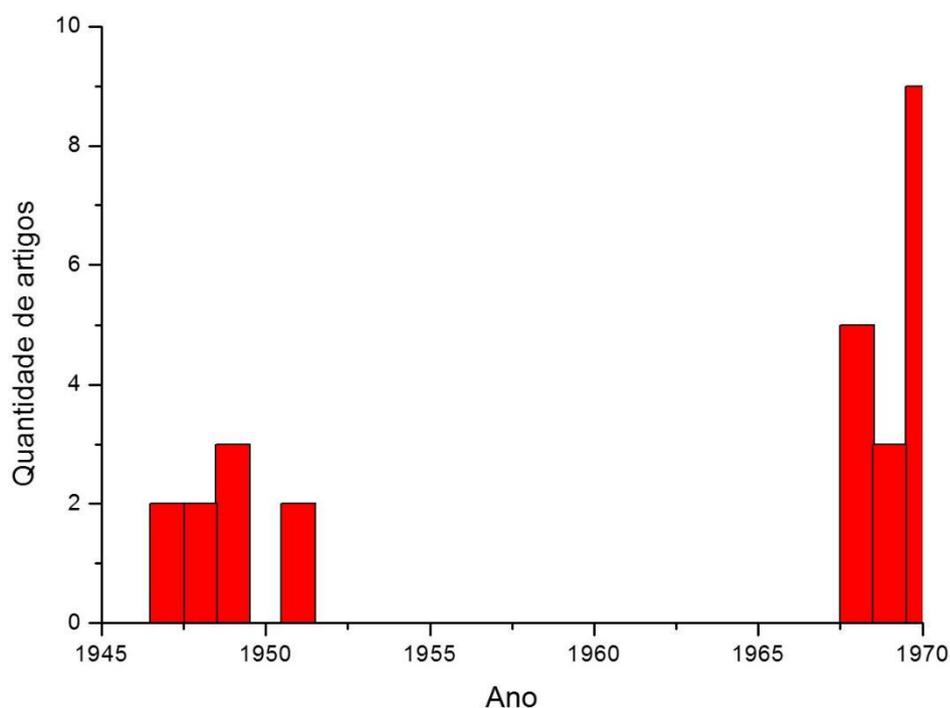
Os picos característicos e contínuo (background) compõem o espectro de EDS. O “background” fornece a voltagem de aceleração do microscópio, que não fornece nenhum dado sobre os elementos presentes na amostra.

Os programas de computador fornecem uma tabela periódica contendo as energias dos diversos elementos da natureza, através dessas energias e por meio também de comparação pode-se identificar os elementos dos vários picos fornecidos. Assim, o analista decide qual elemento melhor se adequa àquela raia observada atentando ainda para as demais raias daquele elemento também estão presentes.

4.3 Prospecção da produção científica da técnica de microscopia eletrônica de varredura

O primeiro microscópio construído, em 1932. Por volta de meados dos anos 50, foi relatado os primeiros trabalhos utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Como pode ser visto na Figura 3, as primeiras publicações ocorreram em 1942, tendo uma pausa em 1960, retornando em 1970. Isso se deu ao fato que historicamente o primeiro instrumento de MEV a ser comercializado foi em 1965, permitindo assim obter avanços científicos. É interessante salientar, que os trabalhos publicados nesse intervalo de tempo estão na escala de dezenas.

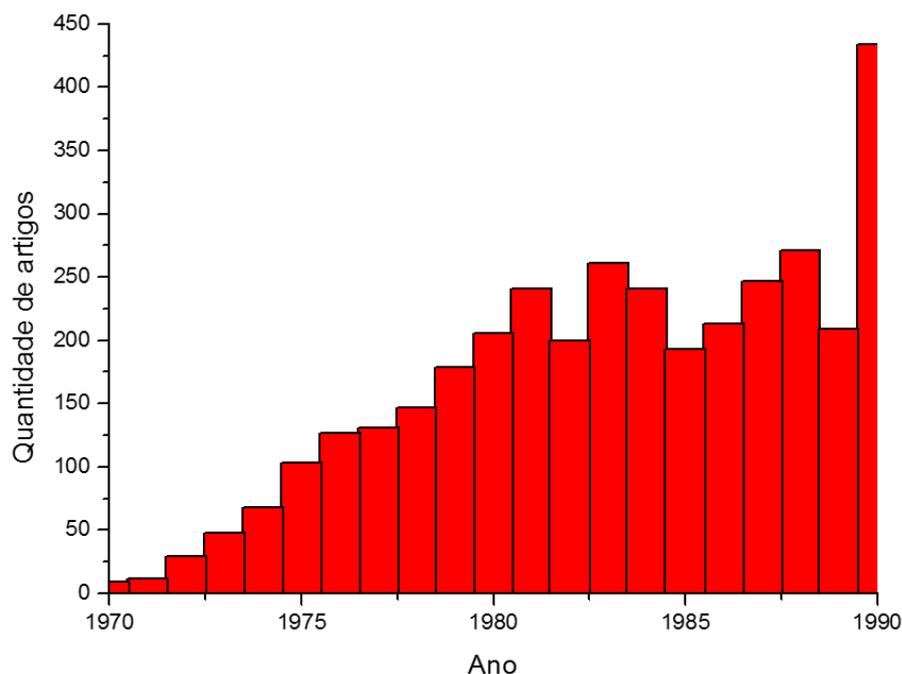
Figura 3 – Trabalhos publicados nos anos 1945 a 1970 com análises do MEV.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

Com o aperfeiçoamento da técnica e a modernidade tecnológica a produção científica cresceu em escala de centenas. Nas análises de microscopia eletrônica de varredura, pois é ferramenta que auxilia na busca por respostas confiáveis para a caracterização microestrutural.

Ilustrado na *Figura 4*, podemos observar os trabalhos publicados relacionados com a técnica de microscopia eletrônica de varredura, no período de 1970 a 1990. Durante esses 20 anos, a ascensão da técnica, possibilitou em diversas áreas do conhecimento, conhecer-se a microestrutura de diversos materiais a fim de correlacionar as formas, defeitos e propriedades que os mesmos apresentam.

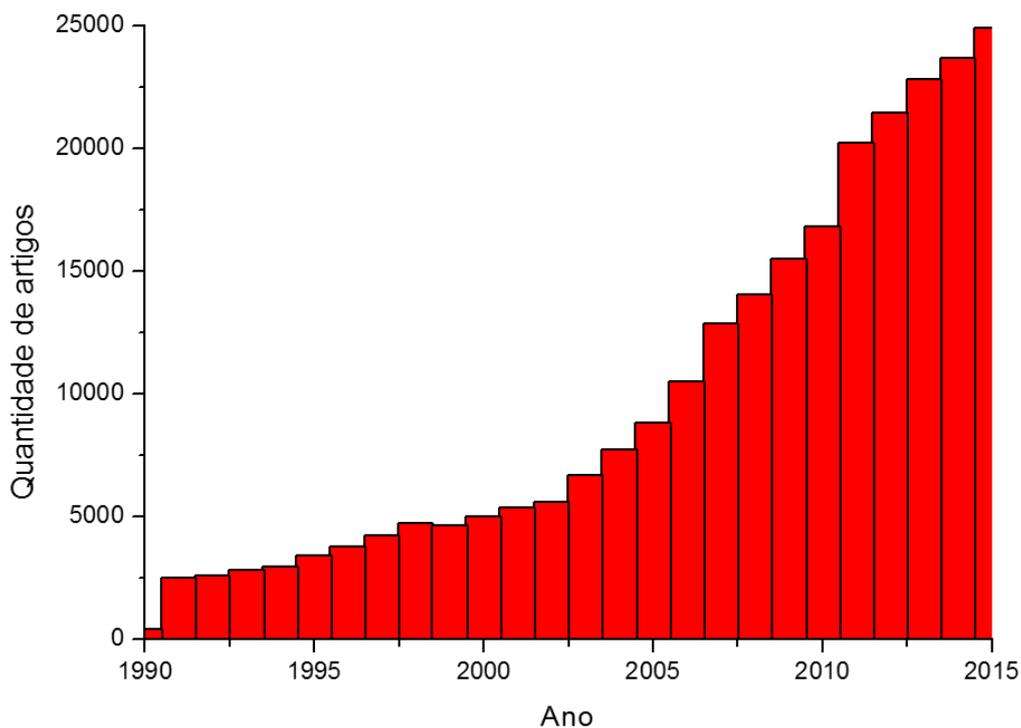
Figura 4 – Trabalhos publicados nos anos 1970 a 1990 com análises de MEV.

Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A *Figura 5* ilustra a evolução de trabalhos publicados com análises do MEV no período de 1990 a 2015. O gráfico mostra um crescimento exponencial, quando comparado com os anteriores (*Figura 1 e 2*). Dos anos 90 aos dias atuais, a escala de produção aumentou para milhares/ano. Esse aumento se deve a utilização da técnica nas mais diversas áreas do conhecimento, ramificações, e estudos científicos, tais como: Medicina, Química, Física, Odontologia.

O crescimento da utilização da técnica, se deu ao fato também, da mesma possuir confiabilidade nos seus resultados, dependendo do material, possibilitar uma investigação microestrutural e mais criteriosa, de forma que cada vez mais fenômenos podem ser explicados nas escalas micrométrica e nanométrica.

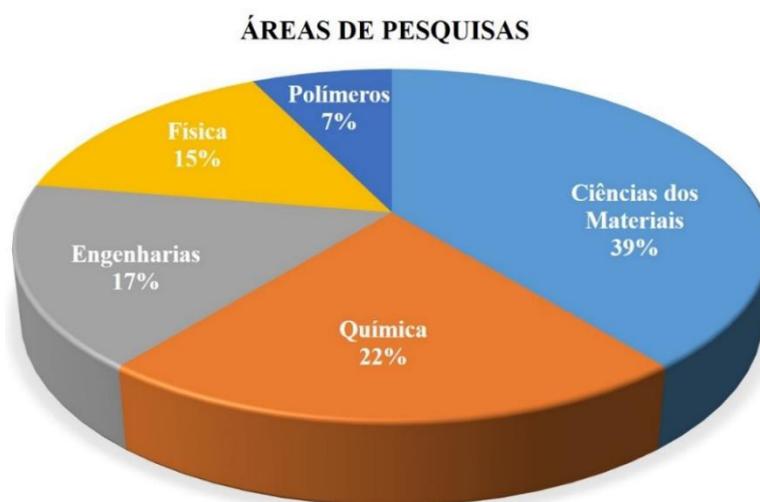
Figura 5 – Trabalhos publicados nos anos 1990 a 2015 com análises de MEV.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

As áreas de pesquisas que mais publicaram trabalhos utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura, foram Ciências dos Materiais, Química, Engenharias, Física e Polímeros (*Figura 6*), no período dos anos de 1945 até 2015.

Figura 6 – Áreas de pesquisas com trabalhos publicados relacionados ao MEV.

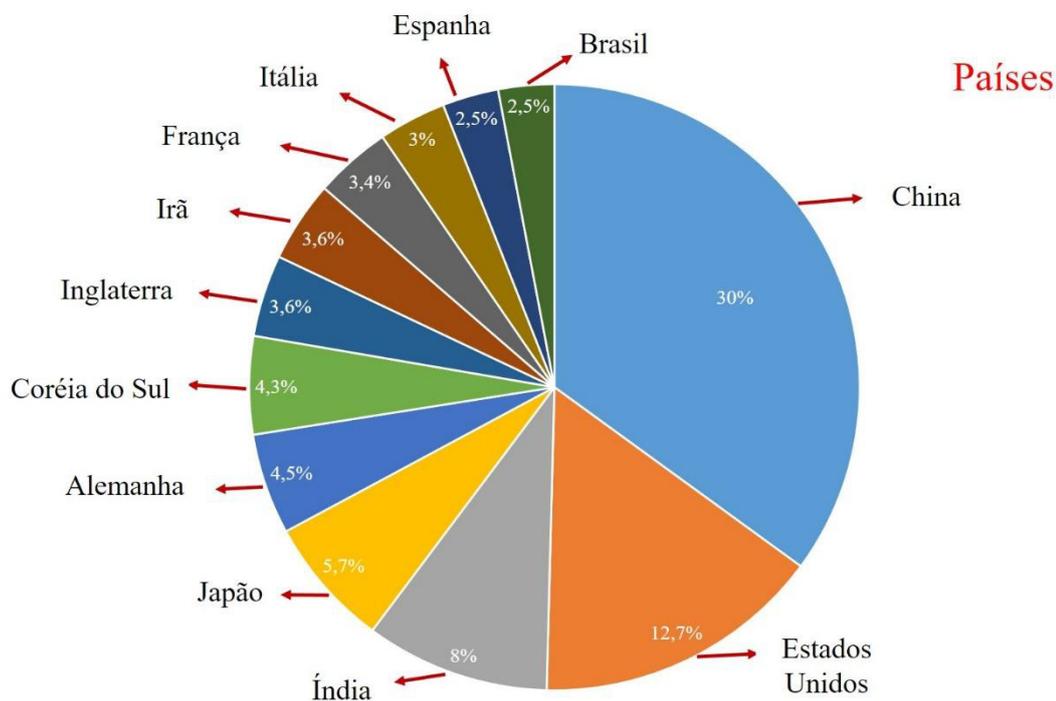


Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

A utilização da técnica de microscopia eletrônica de varredura é desenvolvida em diversos países. Os que mais se destacam podem ser vistos na *Figura 7*.

A China é que mais se destaca devido ao seu potencial econômico, e desenvolvimento de pesquisas, detendo 30%. O Brasil aparece em décimo segundo lugar, com 2,5% da produção mundial, o que nos mostra, que o nosso país precisa melhorar no cunho científico, pois, o Irã um país que passa por situações conflituosas, de guerra, está na frente do Brasil.

Figura 7 – Países com destaques na produção de trabalhos relacionados ao MEV.



Fonte: Elaborada pela autora, 2016.

4.3.1 Artigos publicados nas áreas de pesquisas de maiores concentrações

Em cada área selecionou-se alguns artigos que foram publicados nas áreas de pesquisas científicas que foram destacadas na *Figura 7*, que teve como relevância, possuir maior o número de citação em suas respectivas áreas. Todos os artigos apresentados possuem citações até os dias atuais.

A área de Ciências dos Materiais, é a que mais se destaca, com 39%, devido se trabalhar com uma infinidade de materiais nanométricos, condutores e semicondutores.

JIANG, P et al utilizaram-se da técnica de microscopia eletrônica de varredura para averiguar a morfologia dos coloides sob os substratos que apresentaram secções transversais (JIANG, 1999). E também da técnica acoplada ao MEV, a espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) para definir a homogeneidade e a espessura da amostra. Com os dados obtidos, por meio dessas técnicas, foi possível estudar o controle sobre o número de camadas coloidais no espectro óptico. Números de citações 1545.

Na área da Química com 22%, pode-se destacar o artigo, que foi estudado por SONDI e SALOPEK, a atividade microbiana de nano partículas de prata. Essas nano partículas mostraram-se bactericidas eficazes (SONDI, 2004). A ação tem ligação direta com o tamanho das partículas, que foram verificadas por meio da técnica do MEV. Números de citações 1869.

Já o autor YOSHIMOTO, H et al; dispuseram-se da técnica de microscopia eletrônica de varredura, para analisar a superfície das interações das múltiplas camadas de células sob as células-polímero (PCL) (YOSHIMOTO, 2003). Essas interações são favoráveis às aplicações em engenharia do tecido ósseo. Números de citações 1116.

Os trabalhos publicados na área de Engenharias que possuem 17%, destaca-se o artigo do autor PARK, N. G. et al; cujo trabalho foi desenvolver células solares à base de rutilo que foram comparadas as do tipo anatase, que são variações de fases de estruturas cristalinas do óxido de titânio. As propriedades fotoeletroquímicas das células solares são influenciadas pela morfologia que o rutilo agrega às células. Assim, as microscopias revelaram a morfologia em hastes dessas partículas distribuídas de forma homogênea, com dimensão média de 20 x 80 nm. (PARK, 2000). Números de citações 1098.

O autor TSUCHIYA et al, publicou um artigo na área de engenharia elétrica, que mostra o efeito do tamanho da amostra para resistência à tração e confiabilidade de materiais de películas finas (TSUCHIYA, 1997). Que por meio da análise de superfície de fraturas pelo MEV, constatou-se que a origem das fraturas se originavam no limite das espécies. Números de citações 220.

A área da Física com porcentagem de 15%, podemos elucidar o artigo de RINZLER et al, que estudou o processo de purificação de nanotubos de carbono de parede simples, em grande escala. (RINZLER, 1988). O material oriundo do processo foi analisado por diversas técnicas, inclusive as estudadas no presente trabalho, mostrando-se altamente puro. Números de citações 1074.

O autor HOPPE et al investigou a conexão entre morfologia em nanoescalas e propriedades de dispositivos associados a células solares. A caracterização morfológica foi feita pela técnica de microscopia eletrônica de varredura. A morfologia teve influência direta nas propriedades físicas, principalmente fotoluminescentes, de clusters PCBM (1- (3-methoxycarbonyl) propyl-1-phenyl [6,6]C-61). (HOPPE, 2004). Números de citações 949.

E por fim a última aérea em destaque é a dos Polímeros, com 7%, onde ZONG et al trabalhou na caracterização de sínteses de polibioabsorvível amorfo (ácido D, L-láctico) (PDLA) e pilo semicristalino (ácido L-láctico) (membranas de PLLA) nano fibras não-tecidos para aplicações biomédicas, dentre as técnicas utilizadas para caracterização, o MEV e EDS. As micrografias indicaram que a espessura da fibra e a morfologia em escala nanométricas dependia de parâmetros de processamento, como intensidade do campo elétrico aplicado ou adição de sal iônico, dentre outros. Números de citações 943. (ZONG, 2002).

4.4 Proposta de roteiro de preparação de amostras de materiais semicondutores, condutores e poliméricos, e também diretrizes para a análise por espectroscopia de energias dispersivas de raios X

4.4.1 Preparação das Amostras

Para a observação no MEV, muitos materiais precisam ser submetidos a um preparo específico dependendo de suas propriedades, com a finalidade de facilitar sua fixação no suporte e melhorar a resolução da imagem. Devido a esses procedimentos adicionais, deve-se compreender que dependendo da forma que o material é manuseado, será possível a obtenção de resultados confiáveis e passíveis à reprodução (STEFFENS, 1978).

Recomendações

- A preparação da amostra deve ser executada em ambiente apropriadamente limpo;

- Será necessário utilizar água corrente durante os procedimentos de corte, lixamento e polimento para que partículas retiradas da superfície por abrasão não contaminem a mesma e interfiram na análise;
 - O banho de ultrassom deve ser utilizado para limpar a amostra,
 - Ar quente ou jato de nitrogênio deve ser utilizado para a secagem do material e/ou eliminação de partículas soltas;
 - Em todas as etapas de preparo das amostras devem ser usadas luvas para não contaminar a amostra ou quem realiza o procedimento no caso de ser preciso o uso de reagente químicos;
 - Quando a toxicidade da amostra, das soluções ou dos reagentes, caso sejam utilizados, for elevada, os procedimentos de preparo da amostra devem ser realizados dentro de uma capela com sistema de exaustão;
 - Em caso de análises posteriores, a amostra deverá ser protegida dentro de embalagens apropriadas, em atmosfera controlada ou em vácuo.

4.4.2 Preparo de amostras condutoras e semicondutoras

As etapas para a preparação de amostras condutoras ou semicondutoras para microscopia eletrônica de varredura são: (BOLL, 1990)

- ✓ *Seleção:* A maioria dos microscópios eletrônicos possui suporte metálico com dimensões entre 100 a 200 mm de diâmetro. Caso a amostra possua grande dimensão, torna-se necessário o corte, ou em caso de a mesma ser muito pequena, para que se possa realizar as etapas posteriores de lixamento e polimento, deve-se realizar o embutimento do material.
- ✓ *Corte:* A escolha de método para corte da amostra deve ser realizada de modo a evitar fraturas nas mesmas. Cabe ressaltar que o corte gera calor suficiente para, em alguns casos, danificar ou modificar a superfície da amostra, sendo imprescindível o uso de líquidos refrigerantes (preferivelmente água). Após o corte, a amostra deve ser lavada para eliminação dos resíduos. A limpeza deve ser realizada com um solvente adequado e ativada por ultrassom.

- ✓ *Embutimento:* Em caso de amostras com dimensões significativamente reduzidas, deve-se fixá-las em materiais que possam facilitar as etapas de lixamento, polimento e ataque químico de sua superfície. Esse procedimento consiste em inserir o material que será posteriormente analisado em resinas de cura rápida à frio. A resina deve ser removida antes de a amostra ser levada ao microscópio devido não ser resistente a baixas pressões ou ao feixe de elétrons, o que pode gerar contaminação da coluna. Caso não seja de interesse a utilização das resinas, existem suportes apropriados de pequenas dimensões que possibilitam o encaixe das amostras, facilitando as etapas seguintes de preparo e que podem ser inseridos na câmara de amostras do equipamento. Esses suportes devem ser, entretanto, resistentes ao ataque de reagentes químicos, fáceis de serem removidos e prender a amostra de forma eficiente.

- ✓ *Lixamento:* As lixas são produtos fabricados com a deposição de grãos cerâmicos abrasivos, previamente classificados e de tamanho específicos. O tipo de lixa escolhida nesta etapa deve ser compatível com o material a ser analisado. O lixamento com lixas d'água deve ser realizado sob fluxo constante de água, com o intuito de remover prováveis detritos abrasivos, evitando a incorporação de partículas indesejáveis na matriz da amostra. O lixamento deve ser direcionado formando um laço semelhante ao número oito, garantindo eficiência na planificação da superfície e a eliminação dos riscos gerados no corte.

- ✓ *Polimento:* permite que quaisquer marcas deixadas pela lixa sejam eliminadas. O polimento pode ser mecânico ou eletrolítico. O mecânico consiste em retirar uma fina camada da superfície do material através da interação da superfície do mesmo com placas planas ou discos recobertos com pano que contenha abrasivos, geralmente suspensão de alumina ou uma formulação à base de sílica, hipoclorito de sódio e água. Já o eletrolítico, é realizado em uma cuba fechada que possui um orifício onde é fixada a face da amostra a ser polida, que deve ficar em contato com o eletrólito (geralmente ácidos fortes misturados). Uma corrente adequada faz com que uma camada muito fina da amostra seja retirada pelo eletrólito, resultando

numa superfície espelhada.

- ✓ *Ataque químico da superfície:* procedimento que tem como função delinear os contornos entre fases e grãos, aumentar o contraste e possibilitar a visualização e a localização dos mesmos durante a análise. O ataque químico provoca diferenças de altura entre os constituintes superficiais devido à diferença da composição química e/ou aos defeitos estruturais. Esta etapa é, portanto, um processo de corrosão controlado pelas heterogeneidades da superfície. Para cada tipo de condutor ou semicondutor, há um solvente apropriado para a realização do ataque químico.

A amostra que não necessitar passar por nenhuma das etapas citadas acima, deve passar por um rigoroso processo de limpeza e secagem antes de ser colocada dentro da câmara do MEV. A limpeza pode ser feita por imersão em um banho (com água, álcool, acetona ou detergente) sob ultrassom e a secagem deve ser realizada com jatos de nitrogênio seco ou em estufas desidratantes.

Amostras particuladas, mesmo muito finas, podem também passar por processo de limpeza e secagem. Para evitar que partículas contaminem a coluna do MEV, recomenda-se mesmo após fixação no stub e à metalização, quando necessária, submetê-las a jatos de gás (nitrogênio) para assegurar que não haja partículas soltas que possam contaminar a coluna do equipamento.

4.4.3 Preparo de amostras poliméricas

Assim como no caso de materiais condutores e semicondutores, dependendo do tipo de polímero que se deseja analisar, deve-se utilizar um método específico de preparo, objetivando melhor qualidade da formação da imagem. Os métodos mais utilizados para amostras poliméricas são os descritos abaixo: (SHAHIN, 1999).

- ✓ *Preparação de superfícies polidas:* é um procedimento indicado para polímeros moldados ou extrusados e para compósitos em geral, haja vista que não é indicado em outros casos devido à quantidade de artefatos gerados. Este método é bastante similar ao que foi descrito para os materiais condutores e semicondutores, porém alguns cuidados devem ser melhor observados. A

amostra deve primeiramente passar por uma etapa de embutimento para facilitar seu manuseio em etapas posteriores, caso seja muito pequena, sendo em geral utilizadas resinas de epóxi, a qual é bastante aceita para este tipo de material, ou passar pelo procedimento de corte, com a finalidade de adequar suas dimensões no equipamento, no caso de ter grandes dimensões. Posteriormente, a amostra deve ser devidamente lixada e polida. Após esses cuidados, deve-se garantir a limpeza da peça em ultrassom com um solvente apropriado, bem como a sua secagem em estufa ou com jato de gás nitrogênio (PUIG, 1993).

- ✓ *Preparação de superfícies por ultramicrotomia:* Em casos de amostras muito pequenas, que sejam difíceis de realizar o lixamento e o polimento mesmo realizando o embutimento, devem ser cortadas utilizando-se a técnica de ultramicrotomia, a qual é utilizada para a obtenção de seções ultrafinas de materiais poliméricos, através de corte mecânico de precisão. Esse método é mais utilizado para o corte de materiais poliméricos e compósitos devido à baixa temperatura exigida, a qual preserva a estrutura micromorfológica da amostra. Além disso, através desse procedimento torna-se dispensável o lixamento e o polimento, uma vez que se obtém uma superfície bastante plana da superfície que se deseja observar (SANO, 1986).

- ✓ *Tingimento:* Esta técnica aumenta o contraste necessário para a aquisição das imagens no modo de elétrons secundários, resultando em estruturas com significativa densidade eletrônica ou diferença de relevo. Para cada tipo de polímero, existe um solvente mais adequado para a realização do tingimento e cuidados a fim de evitar o mínimo de distorção na amostra.

- ✓ *Ataque químico:* aumenta potencialmente as informações necessárias para a microscopia eletrônica. Existem duas categorias de ataque químico: a dissolução, na qual ocorre a remoção de moléculas do material utilizando-se um solvente, e o ataque ácido, através do qual há uma melhor visualização de fases cristalinas em materiais semicristalinos e blendas, haja vista que os ácidos atacam a fase amorfa. A dissolução não recomendada devido a mesma gerar muitos artefatos provenientes do inchaço do material provocado pelo

solvente usado para extração. Os solventes utilizados devem ser apropriados para cada tipo de polímero. Desta forma, para realizar esse procedimento, é necessário que seja realizada uma consulta prévia acerca do material (RUSNOCK, 1965).

4.4.4 Montagem das amostras

Após o preparo dos materiais que serão submetidos à análise, deve-se realizar a montagem dos mesmos em um suporte específico para que sejam levados à câmara de amostras do MEV. Para que esse procedimento seja feito com segurança e de forma eficiente de modo a garantir bons resultados, torna-se necessário o conhecimento de todos os acessórios disponíveis e de como os mesmos devem ser utilizados.

Neste trabalho possui a demonstração da montagem, preparação de amostras, acessórios do equipamento para o microscópio eletrônico de varredura Phenon world, modelo Pro-X, equipamento que se encontra disponível no Laboratório Núcleo de Combustíveis, Catálise e Ambiental na Universidade Federal do Maranhão.

4.4.4.1 Acessórios utilizados no MEV

Fita dupla-face de carbono

Material utilizado para fixar a amostra no *stub*. Para que seja usada no preparo de uma substância para a análise no MEV, a fita deve estabelecer um caminho elétrico entre a amostra e o suporte metálico.



Pinças utilizadas para manusear os stubs

Há pinças específicas que possuem o formato arredondado na sua extremidade para que as mesmas possam ser acopladas na lateral dos *stubs*.



Stubs

Utilizado para colocar as amostras que são analisadas no MEV. As amostras não podem ser colocadas diretamente



nos sample holders. Logo, utilizando fita dupla-face de carbono, as amostras podem ser fixadas em stubs (materiais de alumínio, que podem ser periodicamente lavados) e os mesmos são posteriormente acoplados nos *Sample Holder*.

Standard Sample Holder

Suporte de amostras que permite alta resolução. É enviado como padrão com todos os MEV da Phenom World. Possui otimização para melhores resultados de imagem e pode acomodar amostras do tipo 3D montado no *pin stub* padrão.



Charge Reduction Sample Holder

É projetado para reduzir cargas na amostra. Este suporte elimina a necessidade de cuidados adicionais para materiais não condutores. Imagens de amostras como papéis, polímeros, materiais orgânicos, cerâmicos, vidro e revestimentos são produzidas pelo de forma mais rápida e sem maiores complicações com a utilização deste suporte.



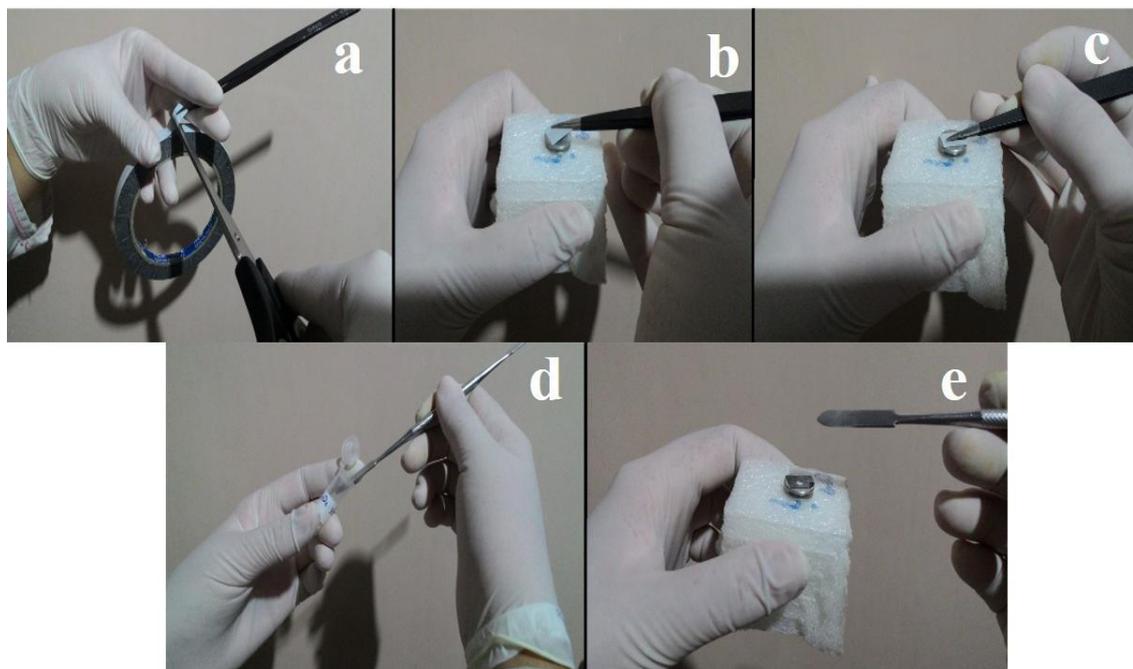
4.4.4.2 Procedimento para analisar a amostra no equipamento

Deve-se assegurar após o preparo da amostra que a mesma esteja devidamente seca, uma vez que amostras úmidas podem liberar gases devido ao vácuo, causando problemas na produção de imagens, assim como contaminação da coluna do MEV e, conseqüentemente, a redução do tempo de vida útil do equipamento. Esse tipo de material pode ser submetido à análise apenas se houver disponível um *Sample Holder* específico com controle de temperatura.

Assim como a umidade, outras características da amostra devem ser devidamente avaliadas. Logo, precisa-se definir como proceder em caso de a amostra eliminar vapores/umidade, ser higroscópica, corrosiva, tóxica, explosiva e qualquer outro fator que possa gerar algum risco ao operador ou ao equipamento, como por exemplo, determinar previamente um tempo máximo para a análise da substância, bem como a tensão máxima a que a amostra poderá ser submetida.

A amostra após o seu preparo e devida avaliação deve ser fixada em um suporte metálico (*stub*) utilizando-se uma fita dupla-face de carbono, como demonstrado na *Figura 8b*. Cabe ressaltar que não se pode tocar o *stub* diretamente com as mãos, uma vez que a oleosidade de quem prepara a amostra não deve contaminar os materiais. Logo, deve-se utilizar os acessórios disponíveis: pinças próprias para os stubs, luvas etc.

Figura 8 – Procedimento de fixação da fita dupla-face de carbono no stub.

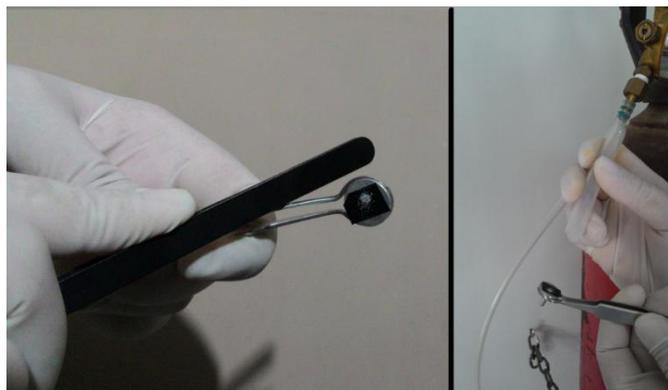


Fonte: (MELO, C.H.S; NCCA)

Em seguida, A amostra deve ser colocada sobre a fita de carbono dupla-face, como demonstrado na *Figura 8c*.

Para garantir a adesão do material na fita (*Figura 9*) deve-se com outro objeto agitar o suporte com a amostra e, posteriormente, submetê-lo a um jato de gás nitrogênio. Esse procedimento evita que haja partículas soltas que possam contaminar a coluna do equipamento.

Figura 9 – Procedimento de eliminação de partículas soltas.



Fonte: (MELO, C.H.S; NCCA)

A amostra precisa necessariamente ser uma boa condutora para que haja a formação de uma imagem. Assim, caso o material não seja um bom condutor, aplica-se na superfície do mesmo uma película de ouro, para que seja proporcionada a condução de corrente pelo mesmo e, portanto, possibilitando a observação microestrutural de sua superfície através do MEV.

Apenas após essas etapas, o *stub* deve ser acoplado ao *Sample Holder* apropriado para a amostra que se deseja analisar, o qual deve ser inserido na câmara de amostras do microscópio (*Figura 10*).

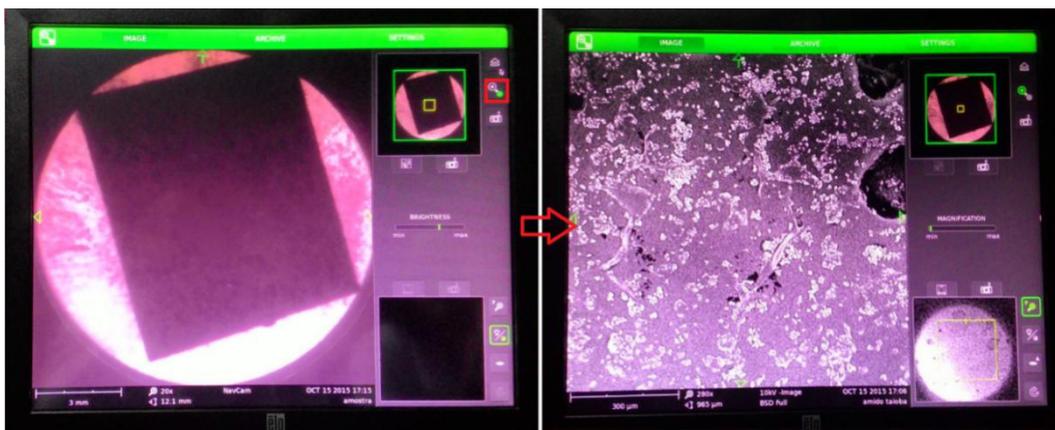
Figura 10 – Procedimento para acoplar o stub no Sample Holder e inserir o mesmo no equipamento.



Fonte: (MELO, C.H.S; NCCA)

Quando o suporte é colocado na câmara de amostras do equipamento, o mesmo gera a imagem da amostra através do microscópio óptico e, em seguida, é possível através de comandos específicos, fazer com que seja formada uma imagem de microscopia eletrônica.

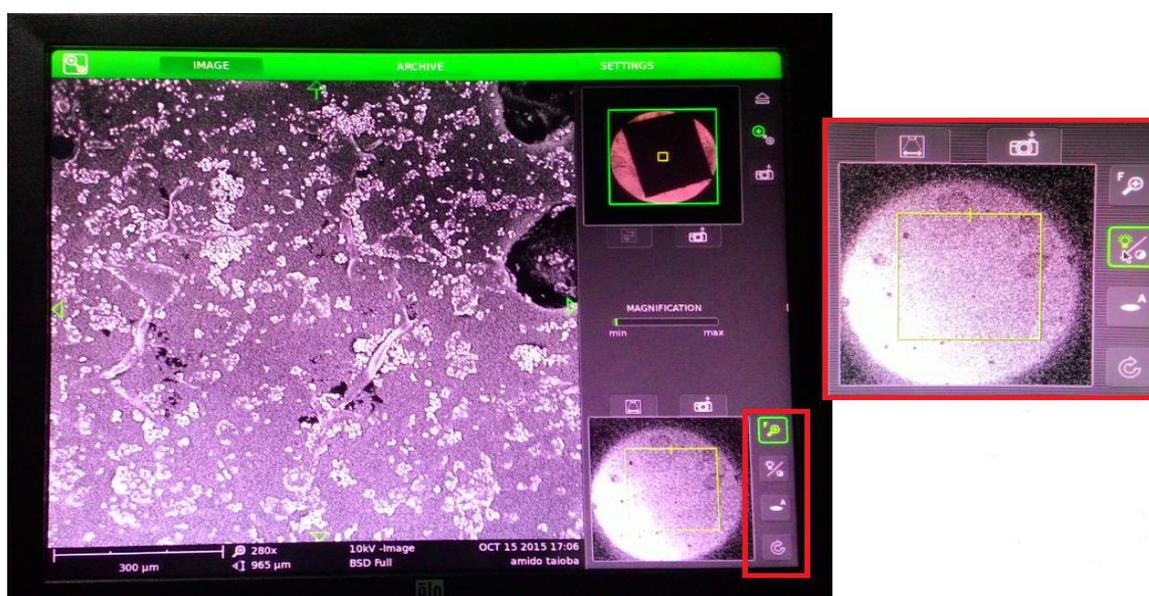
Figura 11 – Formação da imagem em microscopia óptica e eletrônica.



Fonte: (MELO, C.H.S; NCCA)

A imagem pode ser ajustada em contraste, brilho e foco, quando necessário, a partir dos comandos disponíveis presentes no Software do equipamento (Figura 11). Da mesma forma, pode ser controlada a tensão do feixe que incide sob a amostra e a velocidade que uma imagem for capturada. Todas as ferramentas disponíveis no software possibilitam, quando bem conhecidas, a qualidade da análise (Figura 112).

Figura 12 – Comandos de ajuste de zoom, brilho, contraste e foco das imagens.



Fonte: (MELO, C.H.S; NCCA, 2015)

A área escolhida para a análise deve fornecer todas as informações necessárias para quem desenvolve a pesquisa. Logo, é conveniente que sejam conhecidas as potencialidades da técnica e como a mesma se adequa na obtenção de resultados consistentes em um estudo.

4.4.5 Para análise qualitativa por energia dispersiva de EDS

Os cuidados que devem ser percebidos no decorrer da determinação dos elementos presentes na amostra são: (HOLINK, 1979)

- ✓ Os picos significativos estatisticamente são os que devem ser ponderados na análise qualitativa. Regulamentou-se, ao longo dos anos, que as alturas desses picos precisam sobrepor-se aos do *background*. Evitando flutuação na contagem, para a devida obtenção da altura dos picos, mais contagens cumulativas são necessárias para que o espectro exponha corretamente a análise.
- ✓ A contagem que melhor se adequa ao espectro é alcançada utilizando-se da alta contagem por segundo (CPS). Contudo, o EDS torna-se duvidoso, revelando artefatos como os *sum peaks*, conforme a contagem é aumentada.
- ✓ A energia das raias dos elementos de baixo Z (número atômico) até elevados Z estão posicionadas entre 0,1 e 14 keV. Considera-se ainda que a *over* voltagem deve ficar em torno de 10, um feixe com 20 keV teria uma boa energia para analisar amostras com elementos de médio a elevado Z. Assim sendo, a voltagem seria adequada para a aver voltagem e para evitar a absorção, que aumenta à proporção que aumenta a energia e a penetração do feixe. No entanto, essa voltagem do feixe iria mascarar a presença das raias dos elementos leves, ou seja, elementos que produzem raias abaixo de 2 keV. Neste caso do nitrogênio cuja raia é de 0,3 keV, a *over voltage* é muito maior que 10, ocasionando uma maior penetração do feixe de elétrons primários e conseqüentemente elevada absorção, com 50-99% dos raios-X de baixa energia absorvidos na amostra. Neste caso, para evitar a possível perda de elementos leves o espectro deve ser repetido com energia entre 5-10 keV.
- ✓ Uma regra básica que deve sempre ser mantida no procedimento de identificação dos elementos é que ao identificar uma raia do elemento, todas as demais raias da família devem ser identificadas, particularmente as de menor energia. Isto impede que as raias de baixa energia sejam confundidas com raias de outros elementos com menor concentração.

- ✓ Artefatos como picos de escape e “*sum peaks*” devem ser sempre observados a medida que se vai identificando os elementos, principalmente quando se tem a presença de picos com elevada contagem.

Recomendações:

- ✓ Ao iniciar a identificação de um espectro, inicie sempre com os picos situados na parte final do espectro, pois é nessa região que se encontram as raias de maior energia e de melhor resolução.
- ✓ Determine os picos mais intensos, se corresponderem às raias Ka do elemento, então imediatamente procure a raia Kb que deve ser 10% da altura do pico Ka.

A possibilidade de determinar a composição química a nível micrométrico é a grande vantagem da análise por energia dispersiva. Dependendo das características do feixe de elétrons e da composição química da amostra, o volume de interação possui dimensões lineares da ordem de 1 μm . Isto significa que é possível analisar um volume da ordem de 10^{-12} cm^3 . Assumindo que a densidade típica do material é da ordem de 7 g/cm^3 , é possível determinar a composição química de $7 \times 10^{-12} \text{ g}$ do material. Logo, o uso desta técnica permite determinar heterogeneidades a nível microscópico na composição química do material, possibilitando o entendimento do comportamento a nível macroscópico (DEDAVID, 2007).

Outra característica importante da microanálise química é que a incidência do feixe de elétrons sobre a amostra não causa a destruição da mesma, de tal maneira que a mesma amostra pode se reexaminada usando a microscopia ótica ou outras técnicas. Isto é muito importante, por exemplo, quando os dados da microanálise precisam ser complementados por outras técnicas, como é o caso de medidas de microdureza.

Requisitos para a análise química

Alguns pré-requisitos precisam ser satisfeitos para que a análise possa ser obtida com precisão (DEDAVID, 2007).

- ✓ A espécie deve ser homogênea em todo o volume de interação incluindo a região alargada do volume devido a fluorescência dos raios X, e também todo o trajeto que os raios X atravessa a amostra em direção ao espectrômetro. Apesar

da resolução espacial da técnica ser de aproximadamente 1 μm ou menos, especialmente se a fluorescência for insignificante, esta condição é difícil de ser obtida quando o feixe se posicionar numa interface entre duas fases quimicamente diferentes, como no caso de a amostra ser composta de um fino filme sobre um substrato ou de conter pequenos precipitados.

- ✓ A amostra deve ser plana, com uma superfície altamente polida, posicionada num ângulo conhecido em relação ao feixe de elétrons e ao espectrômetro. Os métodos de análise quantitativa assumem que a diferença entre a intensidade dos picos nos espectros da amostra desconhecida e do padrão é devida unicamente a diferença na composição. Influências como irregularidades na superfície da amostra, tamanho, forma, e inclinação da superfície, podem também influenciar a interação dos elétrons e a propagação dos raios X.
- ✓ A superfície da amostra não deve sofrer polimento ou ataque químico, pois estes processos químicos podem retirar constituintes preferenciais da região bem externa da superfície e que não serão caracterizadas na microanálise.

4.5 Observação em Microscopia Eletrônica

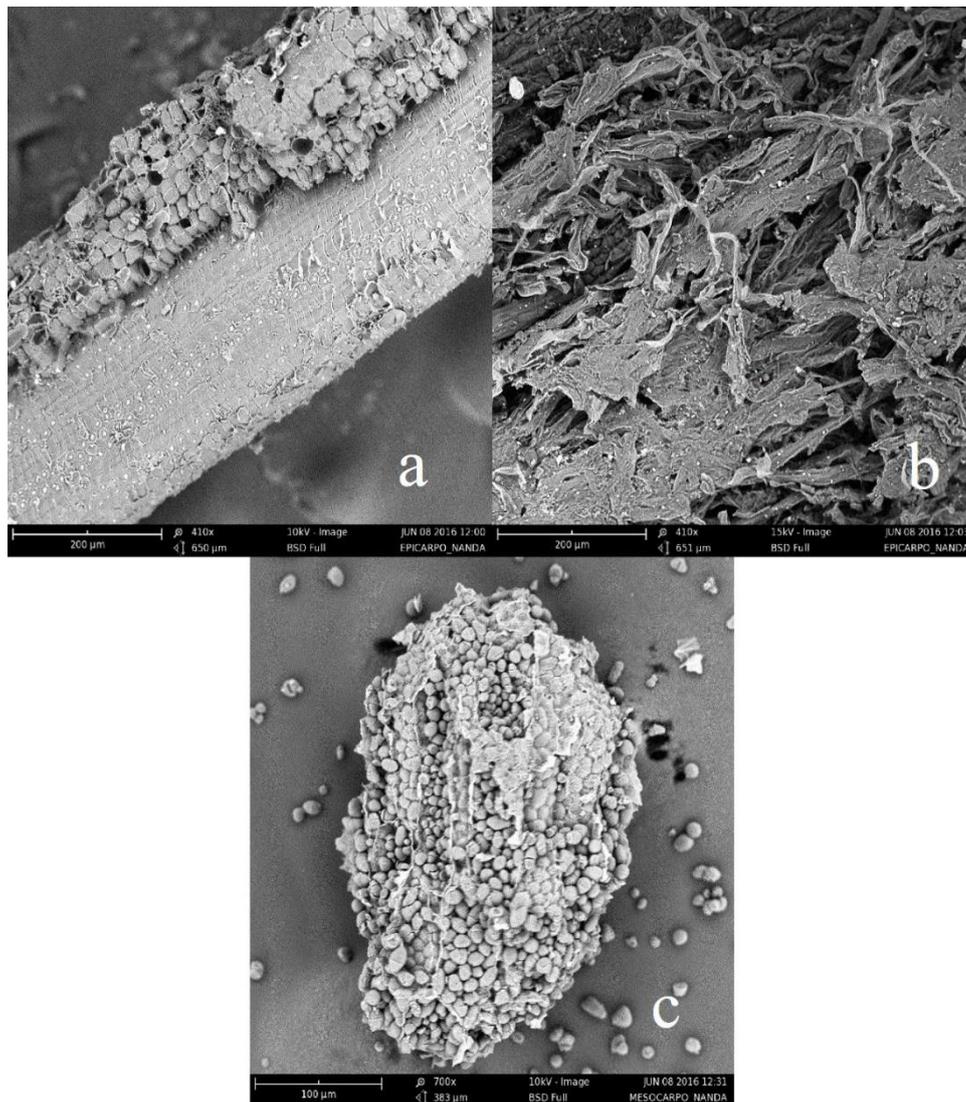
4.5.1 Obtenção de imagens de amostras obtidas por MEV

Para ilustrar a utilização do MEV na observação de superfícies das amostras, foram realizadas imagens de diversos materiais para mostrar a aplicação da técnica.

Foi utilizado o microscópio eletrônico marca Phenon world, modelo Pro-X, que possui ampliação no microscópio óptico 2 – 135 x, faixa de magnificação 8 – 130000 x, resolução < 17 nm, zoom digital de máx. 12 x, navegação óptica colorida, tensão de aceleração padrão: 5kV, 10kV e 15kV e o material responsável pela geração de elétrons são cristais de hexaboreto de Cério (CeB_6).

Na *Figura 13*, observa-se micrografias obtidas do epicarpo do babaçu e o amido do mesocarpo de babaçu. Na micrografia 11a, o epicarpo do babaçu apresenta uma fibra com um aglomerado de partículas agrupadas na camada da fibra, com tensão 10 kV. E na micrografia 11b, o mesmo epicarpo do babaçu com tensão de 15 kV, observamos a presença de fibras. E na micrografia 11c, temos o mesocarpo do babaçu com tensão de 10 kV, onde podemos observar um aglomerado de partículas com a forma esferas, e também a presença de uma fina película sobre as esferas.

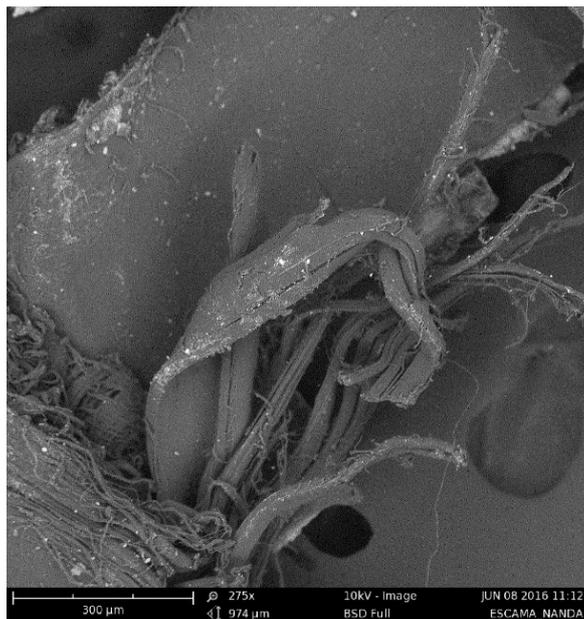
Figura 13 – Micrografias obtidas pelo MEV do Epicarpo (a e b) e Amido do mesocarpo de babaçu (c).



Fonte: Elaborada pela autora

A micrografia na *Figura 14*, tem-se a imagem da escama do peixe pescada amarela, cujo nome científico *Cynoscion acoupa*, apresenta umas fibras que compõe um todo. Para melhor visualização da escama de peixe, foi necessário cortá-la, e então fez análise na rachadura, onde podemos ver as fibras, as escamas são a proteção do peixe, logo, assim essas fibras apresentam uma rigidez, o que dificultou o corte.

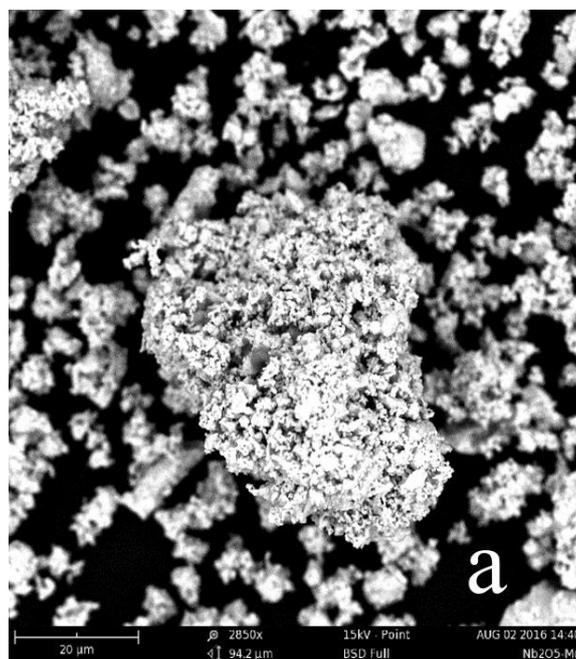
Figura 14 – Micrografia obtida pelo MEV da Escama de peixe da pescada amarela.



Fonte: Elaborada pela autora

Na *Figura 15*, as micrografias são de materiais cerâmicos. O material cerâmico representado é de niobia com magnésio, um catalisador utilizado na reação de transesterificação do óleo de babaçu, que consiste na formação de biodiesel por catálise heterogênea. Podemos observar um aglomerado de partículas em uma base.

Figura 15 – Micrografia Obtida pelo MEV de materiais cerâmicos.



Fonte: Elaborada pela autora

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prospecção da produção científica sobre microscopia eletrônica de varredura, foi realizada em forma de figuras, expondo a utilização da técnica de microscopia eletrônica, em relação a quantidade de publicações de artigos na base científica *Web of Science*, que teve como parâmetros os anos de publicações, onde vimos que com o passar dos anos a técnica evoluiu da escala de dezenas para centenas; as áreas de pesquisas que estão envolvidas com a técnica, dando destaque para área de ciência dos materiais, que analisa amostras na escala nanométricas; e os países que mais utilizam a técnica, sobressaindo a China que detém do maior número de publicações, e o observamos ainda que o Brasil está entre os quinze primeiros. Essa prospecção nos mostrou o aperfeiçoamento e como anda a utilização da técnica mundialmente.

Foi confeccionado um manual técnico sobre microscopia eletrônica, analisando desde seu histórico, componentes do MEV, resolução de imagens e também sobre espectroscopia de energia dispersiva de raios X, de forma didática para facilitar o entendimento do leitor a respeito da técnica.

Propôs-se um roteiro de preparação de amostras para análises no MEV e EDS, acentuando que para obter imagens com boa resolução as amostras devem ser preparadas de forma correta, e dependendo do tipo da amostra passar por processos físicos ou químicos, para obter uma imagem de alta resolução, morfolologicamente correta.

Dessa forma o presente trabalho é disponibilizado como material técnico-didático em microscopia eletrônica de varredura, visando aprimorar ainda mais as técnicas de preparação das amostras, oferecendo um levantamento científico sobre técnica e ainda melhoria na qualidade dos trabalhos que dispõe desta para as caracterizações das respectivas amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOZOLLA JJ, RUSSEL LD. *Electron Microscopy: principles and techniques for biologists*. 2^a ed. Sudbury: MA Jones and Bartlett, 1999.

BOYDE A. *Pros and cons of critical point drying and freeze drying for SEM*. Scan Electr Microsc,; v.2, p.303 – 314, 1978.

BOLL D.J; JENSEN R.M, CORDNER L.; BASCOM W.D. Compression behaviour of single carbon filaments embedded in an epoxy polymer. *J. Composite Materials*, v.24, n.02, p.208, 1990.

CARTER B; WILLIAMS C; DAVID B. *Transmission Electron Microscopy – Specimen Preparation*. New York: Plenum Press, 1996.

COHEN A. A critical look at critical point drying – theory, practice and artifacts. Illinois: SEM/IIT Research Institute, p. 525-536, 1977.

DEDAVID, Berenice Anina; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. *Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.

DE BROGLIE, L.V.P.R. *Recherches Sur la Théorie des Quanta*. Annales de Physique, v.3, p.22, 1925.

EVERHART, T.E; THORNLEY, R.F.M.. *Wide band detector for micro-microampere low-energy electron currents*. *J. Sci. Instrum.* v. 37, p. 246-248, 1960.

GOLDSTEINM J I; NEWBURY D E; ECHIL P; JOY DC; ROMIG JT AD; LYMAN CE; FIORI C; LIFSHIN E. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. New York; Plenum Press, 1992.

HEARLE J. W.S.; SPERROW T.; CROSS P.M. *The use of scanning electron microscopy*, p. 232, 1972.

HOPE, H.; et al. *Nanoscale Morphology of Conjugated Polymer/Fullerene-Based Bulk-Heterojunction Solar Cells*. *Advanced Functional Materials*, v. 14, n. 10, p. 1005-1011, 18 out. 2004.

HOLINK A.S.; KAMBOUR R.P.; FINK D.G.; HOBBS .Y. *Microstructural science*, v.7, 1979.

JIANG, P.; et al. *Single-crystal colloidal multilayers of controlled thickness*. *Chemistry of Materials*, v. 11, n. 8, p. 2132-2140, jul. 1999.

KNOLL, M. *Aufladepotential und Sekundaremission elektronenbestrahlter Körper*. *Z. Tech. Phys.*; v.16, p. 553 – 572, 1938.

YOSHIMOTO, H. *A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering*. *Biomaterials*, v. 24, n. 12, p. 2077-2082, 5 fev. 2003.

MALISKA, Ana Maria. *Microscopia Eletrônica de Varredura*. Santa Catarina.

NAGATANI, T.; SAITO S; SATO, M; YAMADA, M. *Development of an ultra-high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system*. *Scanning Microscopy*. V. 11, p. 901-909, 1987

PARK, N. G.; et al. *Comparison of Dye-Sensitized Rutile – and Anatase – Based TiO₂ Solar Cells*. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 114, n. 38, p. 8989-8994, 1 set. 2000.

PUIG C.C; HILL M.J; ODELL J.A. *Absence of isothermal thickening for a blend of linear and branched polyethylene*. *Polymer*, v.34, n.16, p. 3402, 1993.

RAVEN, P.H. *Biology of plants*. New York: Worth Publisher, p. 728, 1996.

RINZLER, A. G.; et al. *Large-scale purification of single-wall carbon nanotubes: process, product, and characterization*. Applied Physics A, v. 67, n. 1, p. 29-37, jul. 1988.

RUSNOCK J. A.; HANSEN D. J. Application of transmission electron microscopy to polymer thin sections in observations on nylon 66 bulk and filament forms, J. Polym. Sci, a.3, p.647, 1965.

SHAHIN M.M, OLLEY R.H, BLISSETT M.J, *Refinement of etching techniques to reveal lamellar profiles in polyethylene banded spherulites*, J. Polym. Science: Part B: Polym. Phys., v.37, p.2279, 1999.

STEFFENS W.L.; *Method for removal of epoxy-resins from tissue in preparation for scanning electron-microscopy*, J. Microscopy, v.113 n.1, p 95, 1978.

SANO H.; USAMI T.; NAKAGAWA H. *lamellar morphologies of melt-crystallized polyethylene, isotactic polypropylene and ethylene-propylene copolymers by the ruo₄ staining technique*, Polymer, v.27, n.10, p.1497, 1986.

SONDI, I.; Salopek-Sondi, B. *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E-coli as a model for Gram-negative bacteria*. Journal of Colloid and Interface Science, v. 275, n. 1, p. 177-182, 18 mar. 2004.

TSUCHIYA, T.; et al. *Specimen size effect on tensile strength of surface micromachined polycrystalline silicon thin films*. Proc. IEEE 10th Annu. Int. Workshop Micro Electro Mech. Syst., pp. 529-534, 1997.

VON ARDENNE M. Das Elektronen-Rastermikroskop. Theoretische Grundlagen. Z. Tech. Phys. v. 109, 553-572, 1938.

ZWORYKIN, V.K.; HILLER, J.; SNYDER, R.L. ASTM Bulletin.n. 15, p.117, 1942.

ZONG, X.; et al. *Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes*. Polymer, v. 43, n. 16, p. 4403-4412, jul. 2002.