

## **Capítulo 7. Técnicas de Caracterização de Materiais**

**Autor: Herman Sander Mansur**

### **7.1. Introdução**

É crescente o interesse pela área de análise e caracterização de materiais devido à necessidade de seleção adequada do material baseado no desempenho do sistema em estudo. Dependendo das solicitações a que este material ou sistema será submetido, a caracterização poderá abranger a avaliação de propriedades mecânicas, elétricas, bioatividade, imunogenicidade, eletrônicas, magnéticas, ópticas, químicas, térmicas e até mesmos a combinação de 2 ou mais destas propriedades. Esta caracterização de propriedades visa principalmente estimar o desempenho no período de “vida útil” do material, minimizando a possibilidade de degradação e falhas indesejáveis durante a utilização do produto.

Existem várias definições para caracterização na literatura, dependendo basicamente do enfoque adotado pelo autor. Sob a óptica da Engenharia e Ciências de Materiais podemos conceituar *“A caracterização descreve os aspectos de composição e estrutura (incluindo defeitos) dos materiais, dentro de um contexto de relevância para um processo, produto ou propriedade em particular”* (Materials Advisory Board of National Research Council – USA).

Assumindo-se que os sistemas são compostos de materiais, onde encontramos muitas vezes recobrimentos e filmes, o processo de caracterização pode-se tornar extenso e complexo. Por clareza e abordagem didática, divide-se o material sob análise em 4

entidades, superfície, recobrimento (ou filme), interface e volume (“bulk”). A Fig.7.1 ilustra o sistema detalhado com as 4 entidades a serem caracterizadas.

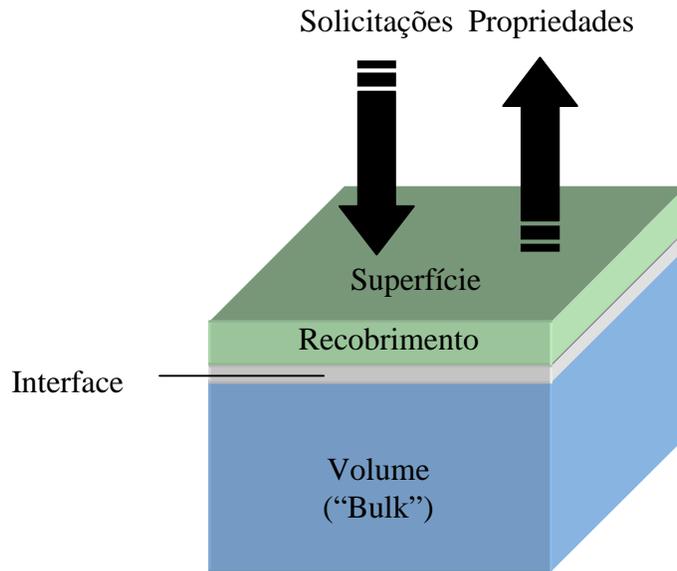


Figura.7.1. Ilustração das entidades que compõem um material

No procedimento de caracterização de materiais, podemos definir os seguintes aspectos importantes, a serem avaliados, não necessariamente na seqüência apresentada:

- Composição química
- Tamanho, forma e distribuição
- Fases e estruturas (cristalino, amorfo, etc)
- Microestrutura
- Superfícies, interfaces e recobrimentos

### 7.1.2. Superfícies e Interfaces

Existem diversos conceitos de superfície e interface apresentados na literatura, mas a maioria deles converge para o proposto por J. B. Hudson, 1992: *“Uma superfície ou interface existe em um sistema em qualquer caso que houver uma mudança abrupta nas propriedades do sistema com a distância”*

Podemos entender então que, uma vez que estamos avaliando uma propriedade do sistema, quando houver uma descontinuidade na medida desta propriedade, estaremos em uma interface ou também denominada fronteira deste sistema. Como exemplos de propriedades de um sistema podemos citar:

- . Densidade
- . Estrutura Cristalina
- . Orientação Cristalina
- . Composição Química
- . Ferromagnética
- . Porosidade

Cabe ressaltar que, neste conceito, existem diferentes níveis ou graus de descontinuidades. Um caso de mudança abrupta extrema, seria a presença de um sólido cristalino em contato com seu próprio vapor à baixa temperatura, conforme ilustrado na Fig.7.2. Neste caso, a superfície de um material enquadra-se em um caso particular de fronteira, onde existe uma interface sólido-gás. A Fig.7.3, ilustra algumas superfícies possíveis com diferentes graus de organização.

No desenvolvimento de biomateriais nós devemos estar atentos às diversas solicitações dos sistemas vivos. Esses biomateriais estarão em contato direto, seja através de funções estruturais de sustentação, seja através de respostas complexas bioquímicas e físico-químicas, tais como resposta imunológica, trombogenicidade, adsorção de macromoléculas, resposta inflamatória, histocompatibilidade, osteocondução, osteocondução, dentre outras.

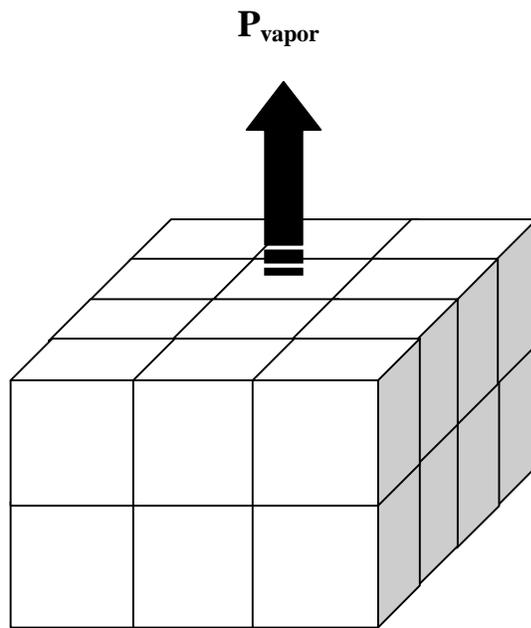


Figura.7.2. Representação esquemática da interface sólido-gás.

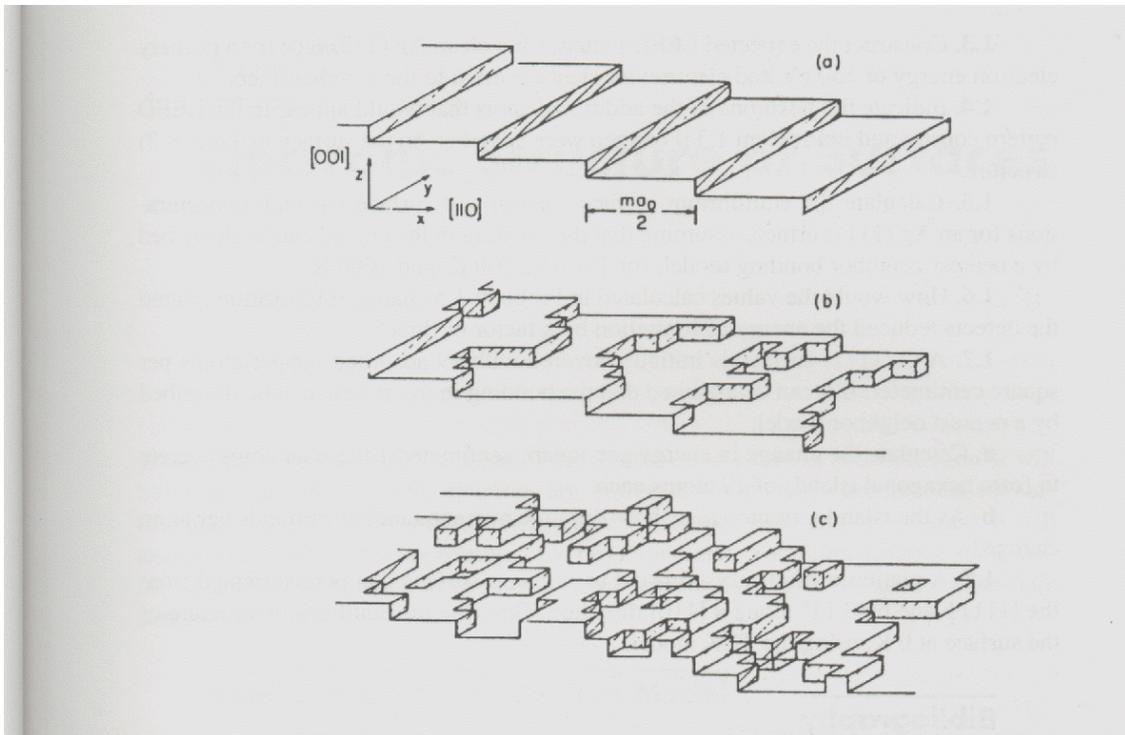


Figura.7.3. Diagrama representativo de superfícies com diferentes graus de organização

Em ambiente biológico, um grande número de reações bioquímicas ocorrem, muitas vezes simultaneamente, com a presença de catalisadores, inibidores, o que requer um processo de caracterização da superfície do biomaterial de extrema relevância no entendimento do seu comportamento nos organismos vivos. Portanto, a caracterização adequada das interações do sistema biomaterial-tecido, requer as avaliações das quatro entidades distintas: superfície, recobrimento, interface e volume (“bulk”), conforme apresentadas na Fig.7.1. Estas quatro entidades compõem o sistema de biomaterial-tecido, com condições termodinâmicas de energia particular de cada uma, associadas à disposição tridimensional dos átomos e moléculas e ao número de ligações químicas. Como consequência imediata, os comportamentos de reatividade, tais como a bioatividade e a biocompatibilidade, serão diferentes para a superfície, recobrimentos e

para o volume do sólido. Em síntese, as técnicas de caracterização deverão ser selecionadas de modo a alcançar a avaliação completa do sistema biomaterial-organismo vivo. Não está dentro do objetivo deste capítulo uma abordagem profunda dos aspectos termodinâmicos e cinéticos das interfaces. Existem boas referências na literatura no campo da engenharia e ciências de materiais.

O tema de caracterização de um material ou sistema pode ser descrito pela perturbação causada por um feixe incidente de radiação, partículas (elétrons, nêutrons etc) ou íons, e a avaliação da resposta do objeto ao estímulo. Deve-se incluir também as interações físicas e mecânicas utilizadas na avaliação de topografias e perfilometria. A Fig.7.4 mostra um diagrama representativo da caracterização de um material composto pelas quatro entidades básicas, isto é, superfície, recobrimento, interface e volume.

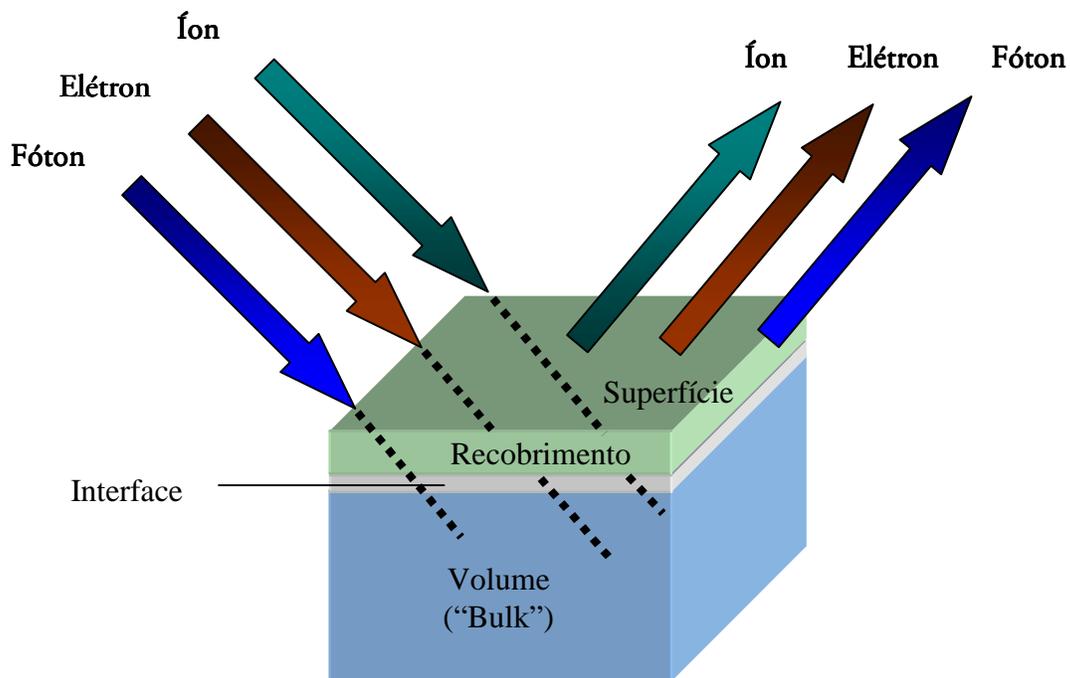


Figura.7.4. Diagrama representativo da caracterização de um material

Este capítulo divide, por razões didáticas, as técnicas de caracterização de materiais em 3 grandes grupos: Microscopia, Espectroscopia e análises complementares. Cabe ressaltar que esta classificação é meramente didática e não define uma forma específica, mas tão somente busca facilitar a retenção dos conceitos, fundamentos e aplicações das diversas técnicas de análise de materiais. Atualmente, diversas técnicas utilizadas nas pesquisas acadêmicas e nas indústrias são o resultado da combinação de 2 ou mais das técnicas que iremos abordar ao longo deste capítulo.

## **7.2. Microscopia**

A necessidade histórica do homem de observação da natureza e dos materiais, possibilitou o aparecimento de equipamentos para auxiliar a visão humana ao longo de mais de 10 séculos. Os campos de observação dos objetos com ampliações de algumas dezenas até milhões de vezes foi possível com o desenvolvimento de equipamentos extremamente sofisticados, que utilizam feixes de radiação eletromagnética ou feixes de elétrons na construção das imagens. Um aspecto fundamental na obtenção das imagens reside na capacidade de resolver dimensões bastante reduzidas, em elevadas ampliações. A Tabela-7.1 mostra as resoluções típicas obtidas com ampliações dos objetos por diversas técnicas de microscopia.

Tabela-7.1 Resoluções típicas obtidas por diversas técnicas de microscopia e olho humano.

Microscopia					
Microscópios	Resolução aproximada <sup>(a)</sup>	Ampliação	Fonte	Requisito amostra	Cristalografia
Olho Humano	100 $\mu$ m	---	Luz	Material (Volume)	Não
Microscópio de Luz (“Light Microscope”)	100nm	5~1500x	Luz	Material (Superfície) polida	Não
Microscópio eletrônico de varredura -MEV (“Scanning electron microscope - SEM”).	10nm	100~200,000x	Feixe eletrônico	Material (Volume)	Sim/Não dependendo modelo
Microscópio eletrônico de transmissão – MET (“Transmission electron microscope TEM”).	0.5nm	1,000~300,000x	Feixe eletrônico	Filmes finos (espessura ~100 nm)	Sim
Microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução – MET (“High Resolution Transmission electron microscope HREM”).	0.1nm	3,000~1,000,000x	Feixe eletrônico	Filmes finos (espessura ~100 nm)	Sim
$mm = 0.001 m$ $\mu m = 0.000001 m$ $nm = 0.000000001 m$ <sup>(a)</sup> $mm = 10^{-3} m$ ; $\mu m = 10^{-6} m$ ; $nm = 10^{-9} m$ ; $\text{Å} = 10^{-10} m$					

Basicamente, as técnicas de microscopia têm como objetivo a construção de imagens ampliadas dos objetos e sistemas observados. Tanto os microscópios quanto os olhos humanos podem observar objetos até um certo limite de detalhes. A partir deste limite, denominado resolução, teremos “ampliação vazia”. Portanto, nenhum equipamento de microscopia poderá cobrir todas as escalas de observação, na faixa de macroestrutura até nanoestrutura.

### 7.2.1. Microscopia Óptica

A Microscopia óptica, também denominada “microscopia de luz”, consiste em uma técnica de observação de objetos e sistemas com ampliações de algumas dezenas até milhares de vezes das dimensões físicas, tipicamente 10X a 1500X. Os equipamentos de análise de microscopia óptica, foram desenvolvidos há mais de 5 séculos, com evolução histórica conforme ilustrada na Fig.7.5. O microscópio óptico mais simples consiste de duas lentes, uma objetiva e outra ocular, montadas em uma estrutura, com um suporte para anteparo do material a ser observado, denominada porta-amostra. A distância entre as lentes e a amostras, pode ser alterada através de um sistema de engrenagem, permitindo o ajuste do foco pelo observador. O equipamento conta ainda com um sistema de iluminação, filtros, colimadores, e outras partes, no sentido de otimizar a qualidade da imagem obtida.

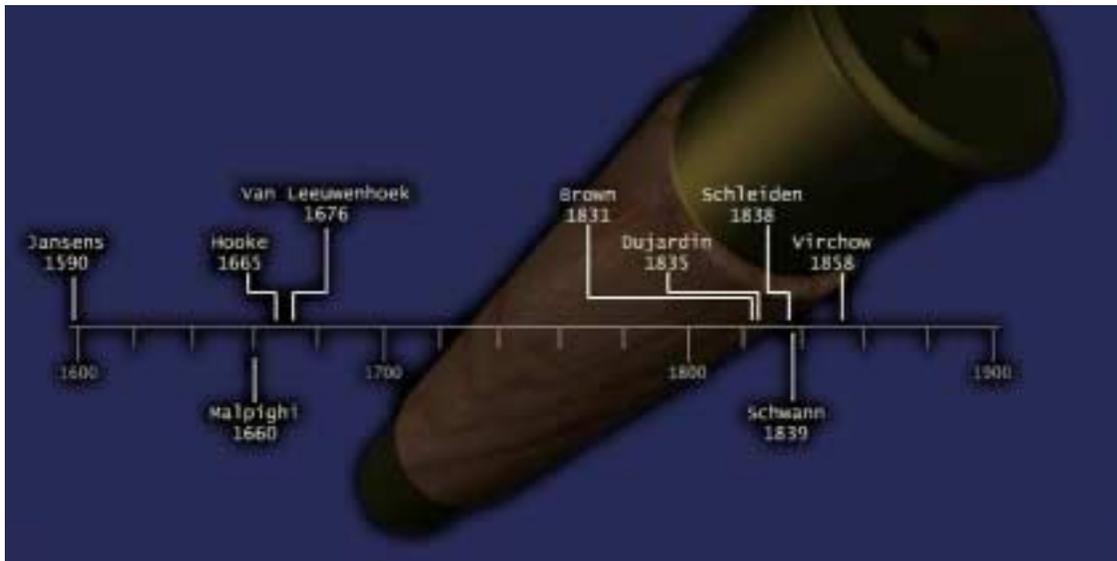


Figura.7.5. Histórico evolutivo da microscopia óptica.

A Fig.7.6 ilustra um equipamento de microscopia óptica típico. Deve-se ressaltar que existem diversas variações de modelos, com imagem por luz refletida (materiais opacos), luz transmitida (materiais translúcidos), imagem por fluorescência, dentre outras.

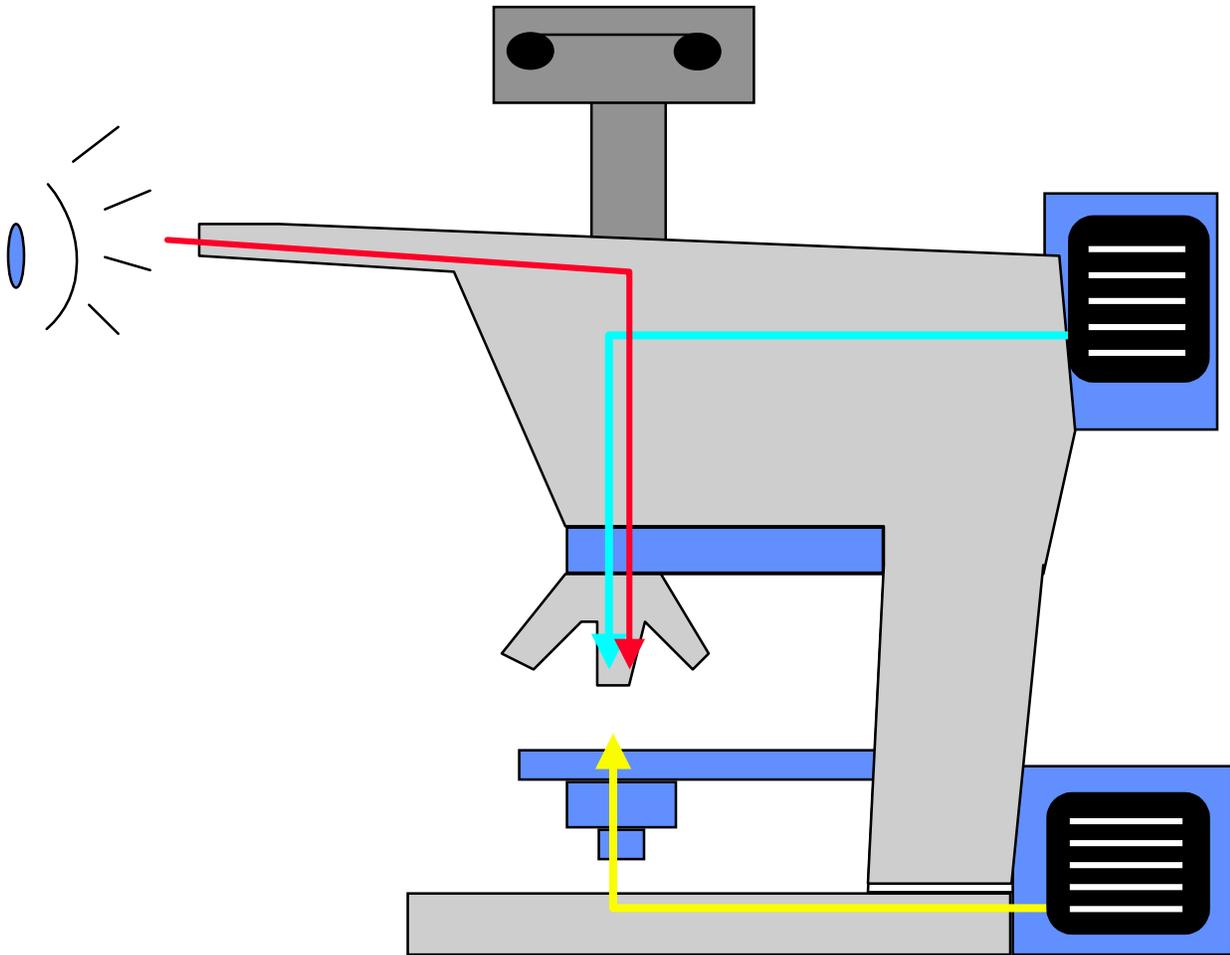


Figura.7.6. Ilustração de um equipamento de microscopia óptica.

A ampliação final de um microscópio óptico será o resultado do produto obtido pela ampliação da lente ocular pela objetiva. As ampliações das lentes objetivas situam-se na faixa de 4X a 100X. As lentes oculares geralmente oferecem aumentos de 8X a 12X, sendo 10X as mais comuns. Portanto, ampliações típicas de microscopia óptica situam-se na faixa de ~40X a ~1000X.

Os princípios físicos fundamentais da óptica de radiações eletromagnéticas regem os processos de construção das imagens. A microscopia óptica utiliza as propriedades ondulatórias da radiação eletromagnética, principalmente na faixa de energia da luz visível. As ondas eletromagnéticas têm características próprias com alguns parâmetros importantes, tais como comprimento de onda, frequência, amplitude de oscilação, velocidade de propagação dentre outros. A Fig.7.7 mostra a representação da onda de radiação eletromagnética.

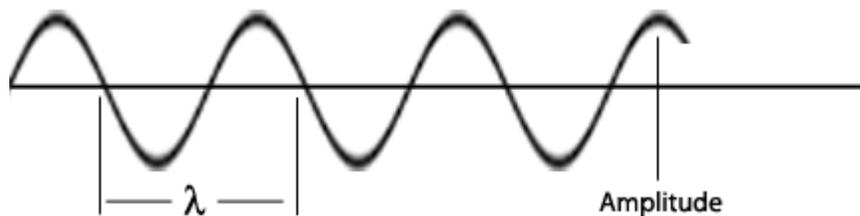
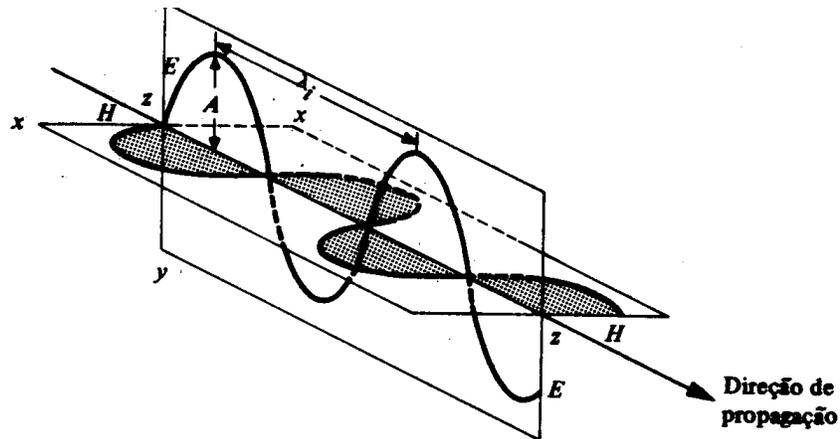


Figure 7.7. Diagrama esquemático de uma onda eletromagnética.

A Fig.7.7a ilustra a propagação de radiação eletromagnética na direção z, sendo vetores campo elétrico ( $E_y$ ) e campo magnético ( $H_x$ )



A Figura.7.7a. Representação especial da propagação de radiação eletromagnética.

A relação da velocidade de propagação da onda ( $c$ ) com sua frequência de oscilação ( $\nu$ ) e o comprimento de onda ( $\lambda$ ) é dado por:

$$c = \lambda \cdot \nu$$

Além desta relação, a energia associada a um feixe de radiação propagante, é de importância fundamental para estudo do comportamento desta radiação com a matéria. A energia de uma radiação ( $E$ ), esta relacionada com a frequência de vibração ( $\nu$ ) e um constante de Planck ( $h$ ):

$$E = h \cdot \nu$$

A variação da frequência permite a variação da energia do feixe de radiação eletromagnética. Uma faixa do espectro da radiação muito importante é a faixa do visível.

Esta faixa de comprimento de onda que abrange deste ~400 nm (violeta) até ~750 nm (vermelho). A Fig.7.8 representa o espectro da radiação visível.

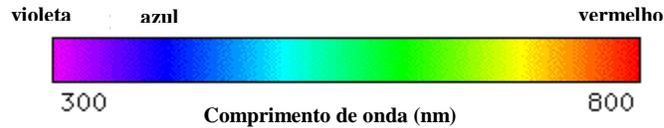


Figura.7.8. Representação do espectro da radiação visível.

Alguns fenômenos de interação da radiação com a matéria são importantes, tais como:

a) Absorção

Quando a radiação atravessa um objeto sua intensidade é atenuada. Este fenômeno decorre da absorção desta radiação provocada por transições energéticas no material, sejam estas nucleares, eletrônicas, vibracionais ou rotacionais (Fig.7.9).

b) Refração

Alteração na direção de propagação de um feixe incidente ao passar de um meio de densidade óptica para outro de densidade diferente. Este desvio da direção de propagação depende da diferenças de índice de refração dos meios e do comprimento de onda da radiação (Fig.7.10).

c) Difração

Mudança na direção de propagação de um feixe de radiação incidente decorrente da presença de obstáculo no caminho óptico. Esta mudança de direção depende das dimensões físicas do obstáculo, do comprimento de onda da radiação incidente e do ângulo de incidência. Este fenômeno promove a formação de interferências construtivas e destrutivas.

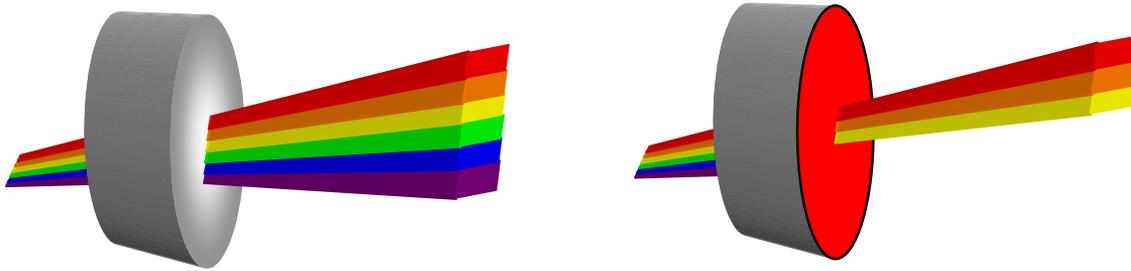


Fig.7.9. Ilustração do fenômeno de Absorção.

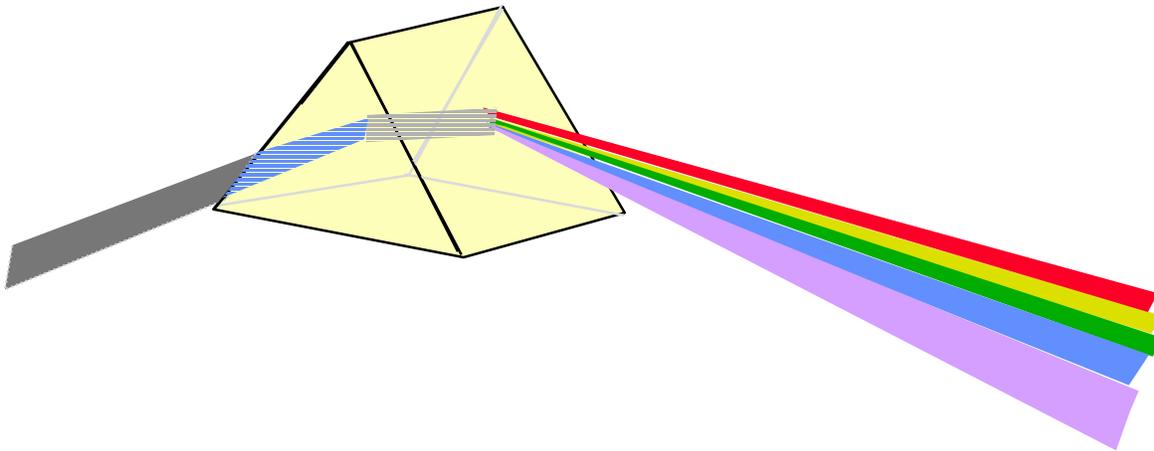


Fig.7.10. Ilustração do fenômeno de Refração.

A análise por microscopia requer o controle de parâmetros fundamentais da ampliação do objeto observado, no sentido de atribuir qualidade a imagem construída. Os aspectos mais importantes de serem abordados são: Resolução, contraste, profundidade de campo e distorção. Resolução é definida como capacidade de perceber os detalhes do objeto observado, com ou sem ampliação. Todo sistema óptico tem um limite finito de resolução, a partir do qual, uma ampliação além deste limite perderá a capacidade de definir os detalhes do objeto. Tipicamente, a resolução é expressa em uma dimensão

linear. Para microscopia óptica o valor de resolução está na ordem de 100 nm (0,1 μm). A Fig.7.11 ilustra a resolução de um sistema óptico na percepção da detalhada do objeto, dos seus contornos e fronteiras, conforme descrito por Lord Rayleigh em 1896.

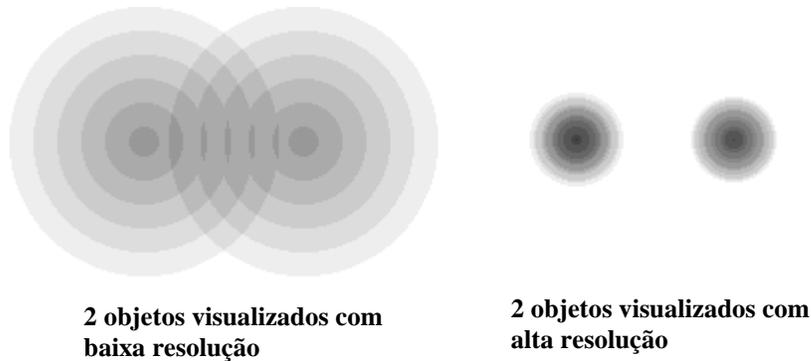


Fig.7.11. representação da resolução de um sistema com 2 objetos observados; A imagem obtida com baixa resolução (esquerda) e uma imagem com alta resolução (direita)

*Ernst Abbe* juntamente com *Carl Zeiss* publicaram um artigo em 1877 definindo as leis da física para obter o valor de resolução, denominada lei de Abbe (*Abbe's Law*)

$$D = \frac{\lambda}{2 \cdot n \cdot \sin(\theta)}$$

Sendo D= resolução; n= índice de refração; λ=comprimento de onda da radiação; θ= ângulo da radiação incidente;

A grandeza  $n \cdot \sin(\theta)$  é geralmente denominada de N.A. (do inglês “Numerical Aperture”), ou índice de concentração da radiação. As lentes trazem escritos os valores de N.A. medidos pelos seus fabricantes. Quanto maior o valor de N.A. da lente, melhor sua qualidade, e melhor será a resolução obtida para uma mesma ampliação.

Outro parâmetro fundamental na qualidade da imagem obtida por microscopia é o contraste. O contraste é o número de tons presentes em uma imagem. Uma imagem de alto contraste apresenta poucos tons, geralmente 2 tons, branco e preto. Ou seja, quanto maior o número de tons percebidos em uma imagem menor é o contraste. Pode ser definido como a diferença entre o ponto mais claro e o mais escuro da imagem observada. Contraste é considerado em termos da relação claro e escuro do objeto observado, isto é, um contraste de 100 refere-se a uma relação de 100 vezes do ponto brilhante para o ponto escuro da imagem. Geralmente as amostras biológicas apresentam um baixo contraste, requerendo portanto uma preparação adequada utilizando agentes corantes, para visualização em microscopia óptica.

Um aspecto importante a ser considerado nas análises por microscopia refere-se a profundidade de campo. A Profundidade de Campo é definida como a dimensão linear máxima entre um plano acima (+ $\delta$ ) ou abaixo (- $\delta$ ) e o plano de foco do espécime observado (pf ou plano focal). Um exemplo de profundidade de campo, seria a obtenção de uma fotografia de uma pessoa muito próxima da câmera fotográfica, geralmente provoca o fundo da imagem fora de foco (“close-up”).

### **7.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

O princípio da microscopia eletrônica de varredura consiste na emissão de um feixe de elétrons por um filamento de tungstênio, que concentrado, controlado e reduzido por um sistema de lentes eletromagnéticas, diafragmas e bobinas, conforme a Fig.7.12, incide sobre a amostra, provocando uma série de emissões de sinais relacionados com a interação do feixe de elétrons incidente e a amostra. Os sinais emitidos encontram-se sob a forma de elétrons (secundários, retroespalhados, absorvidos, transmitidos, difratados, etc.) e de fótons (fotoluminescentes e raios-X), os quais são captados por detectores apropriados, sendo amplificados e processados num sistema analisador específico para cada tipo de sinal.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a obtenção de uma imagem ampliada e tri-dimensional da amostra a partir da interação de um feixe de elétrons com o material, desde que este seja não transparente aos elétrons. O feixe de elétrons (elétrons primários) gerado por efeito termo-iônico é acelerado através de uma diferença de potencial e colimado através de uma coluna ótico-eletrônica sendo conduzido à câmara que contém a amostra. Este feixe de elétrons ao focalizar um ponto da amostra gera sinais que são captados e amplificados fornecendo um sinal elétrico que gera a imagem. Conforme o feixe varre a área em análise, uma imagem virtual vai sendo formada ponto a ponto.

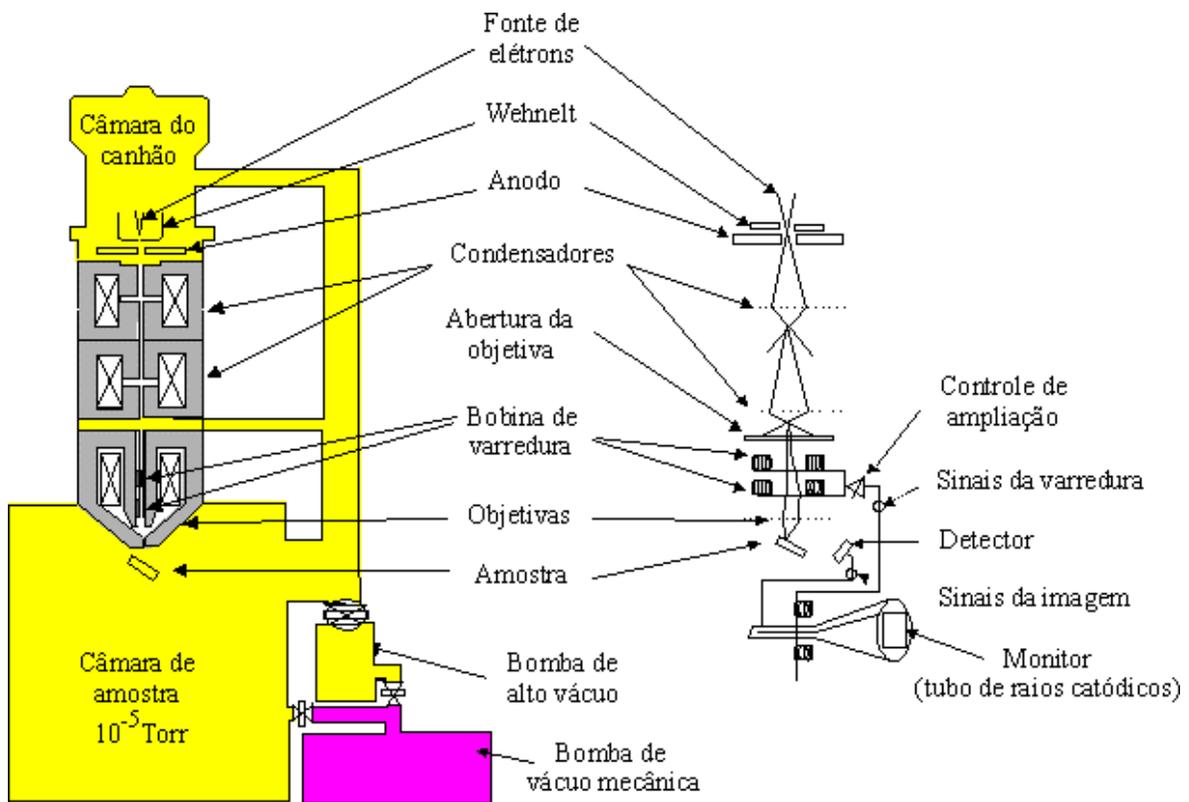


Figura.7.12. Diagrama representativo de funcionamento do microscópio eletrônico de varredura convencional.

Para a garantia do livre caminho médio dos elétrons, é necessário um sistema de alto vácuo (933 - 1333 Pa) nas partes que compõem o equipamento.

A interação do feixe de elétrons com a amostra gera uma variedade de sinais conforme pode ser observado na Fig.7.13. Na microscopia eletrônica de varredura para a obtenção da imagem são captados elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios-X característicos. A Fig.7.14 ilustra os processos decorrentes da interação feixe eletrônico com a matéria.

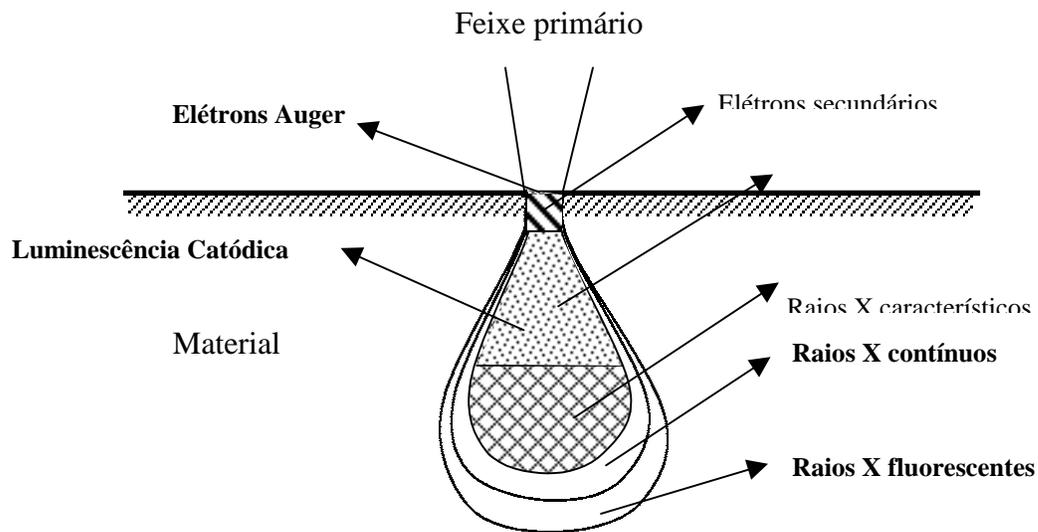


Figura.7.13 - Sinais resultantes da interação do feixe de elétrons primários com a amostra. Diagrama esquemático mostrando vários dos efeitos causados pela interação de um feixe de elétrons com um alvo sólido (adaptado de [50]).

Elétrons Primários (EP – *Primary Beam*), são os elétrons gerados pelo próprio Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e que incidem sobre a amostra. Estes elétrons são gerados por um filamento aquecido, acelerados por um forte campo elétrico e colimados (focalizados) na superfície do material a ser analisado.

Os elétrons secundários (SE – *Secondary electrons*) são resultantes da interação inelástica do feixe primário com a amostra. Nestas colisões inelásticas os elétrons do feixe perdem energia que é transferida para os elétrons da amostra que em se tratando de elétrons das últimas camadas (fracamente ligados ao núcleo) podem ser removidos do átomo e passarem a se movimentar através do material.

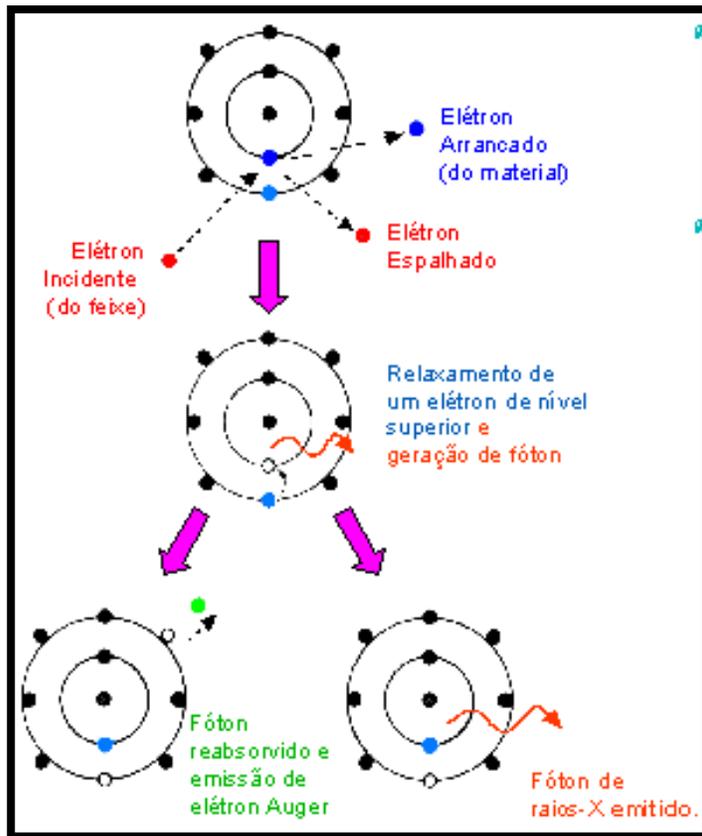
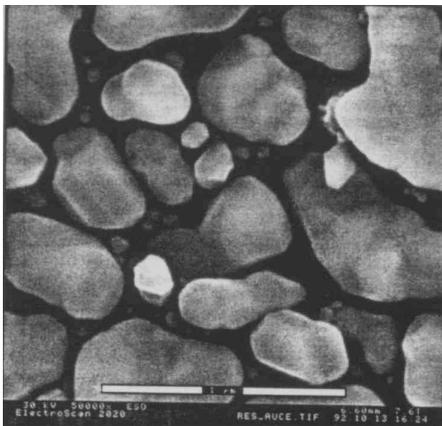


Figura.7.14 – Modelos representativos das interações atômicas decorrentes da perturbação do material com o feixe primário.

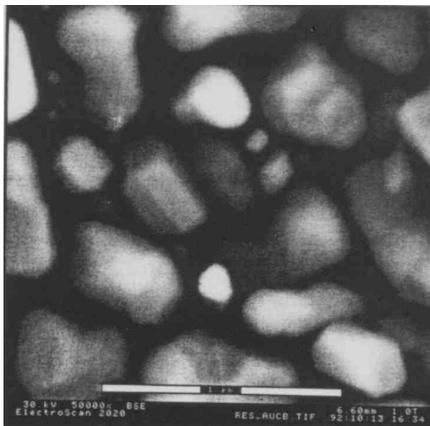
Quando estes elétrons são removidos próximos à superfície podem ser ejetados da amostra, sendo os demais absorvidos pelos átomos adjacentes. Normalmente estes são elétrons de baixa energia (por convenção, inferior a 50 eV) e por causa disso a sua origem está próxima à superfície (de modo geral, menor que 10 nm de profundidade). A consequência direta disto é que, em se tratando dos SE, o contraste nas imagens resulta da topografia da amostra, sendo os picos brilhantes e os vales escuros.

Os elétrons retroespalhados (BSE – *Backscattered electrons*) são elétrons do feixe primário que, após choques aproximadamente elásticos (interações com mudança de direção sem perda acentuada de energia) com o núcleo dos átomos da amostra, escaparam do material. Estes elétrons de alta energia (por convenção 50 eV até a voltagem de aceleração do feixe primário) resultam em um elevado volume específico de interação e em uma imagem com menor resolução que a originada pelo SE. O contraste nas imagens obtidas por BSE decorre das diferenças de número atômico dos elementos que compõem a amostra: números atômicos mais elevados retroespalham mais elétrons resultando em pontos mais brilhantes na amostra. Desta forma, a imagem virtual resultando dá idéia da heterogeneidade da composição da amostra.

Nas Fig.7.15a e Fig.7.15b são mostradas micrografias de um mesmo material analisado no microscópio eletrônico de varredura com elétrons secundários e com elétrons retroespalhados, respectivamente.



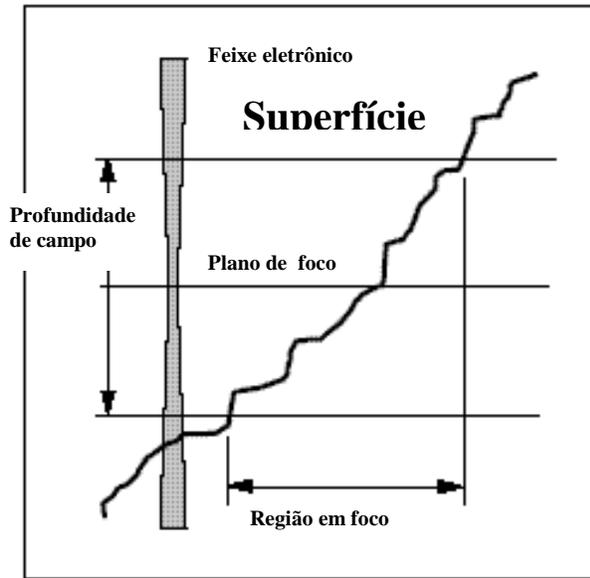
(a)



(b)

Figura.7.15 – Fotomicrografias de ouro em carbono observadas no MEV utilizando (a) SE e (b) BSE.

A profundidade de campo é uma característica de elevada importância associada à técnica de MEV. A Fig.7.16 mostra uma ilustração relativa à profundidade de campo obtida em MEV.



A Figura.7.16. Ilustração relativa à profundidade de campo obtida em MEV.

Os microscópios eletrônicos de varredura apresentam, atualmente, resoluções de até 0,5 nm (SE, 30kV e aumento 600.000X), possibilidade de aumento de até 2.000.000X e são extensivamente utilizados nas pesquisas das áreas biomédicas e de materiais, nas indústrias de semicondutores, em laboratórios de pesquisas avançadas e em muitas outras aplicações.

### **7.2.2.1. Aspectos Importantes na Execução e Interpretação de Resultados de MEV**

Na execução de avaliações utilizando MEV/EDS é importante que alguns aspectos sejam observados e considerados, a saber:

- o A aceleração dos elétrons do feixe primário é determinada pela diferença de potencial entre o catodo e o anodo no gerador de elétrons, sendo a energia (E) do feixe gerado medido em elétron-volts (eV). Nos equipamentos disponíveis, normalmente, se observa a possibilidade de variar a diferenças de potencial entre 0,5 – 30 kV. Quanto maior for esta tensão aplicada maior será a aceleração e a energia do feixe de elétrons. A consequência disto é uma maior profundidade de penetração do feixe e um maior volume de interação, que também depende de outros fatores, como por exemplo do número atômico dos elementos (Fig.7.17). De modo geral, o aumento da energia do feixe conduz a uma maior resolução da imagem, mas contribui de forma negativa aumentando o carregamento eletrostático da superfície, os danos à superfície da amostra e o efeito de borda além de deixar as imagens das superfícies menos claras. Para determinar a melhor voltagem a ser aplicada, recomenda-se que sejam avaliadas tensões ao longo da faixa do equipamento de modo a identificar aquela que conduz à melhor imagem;

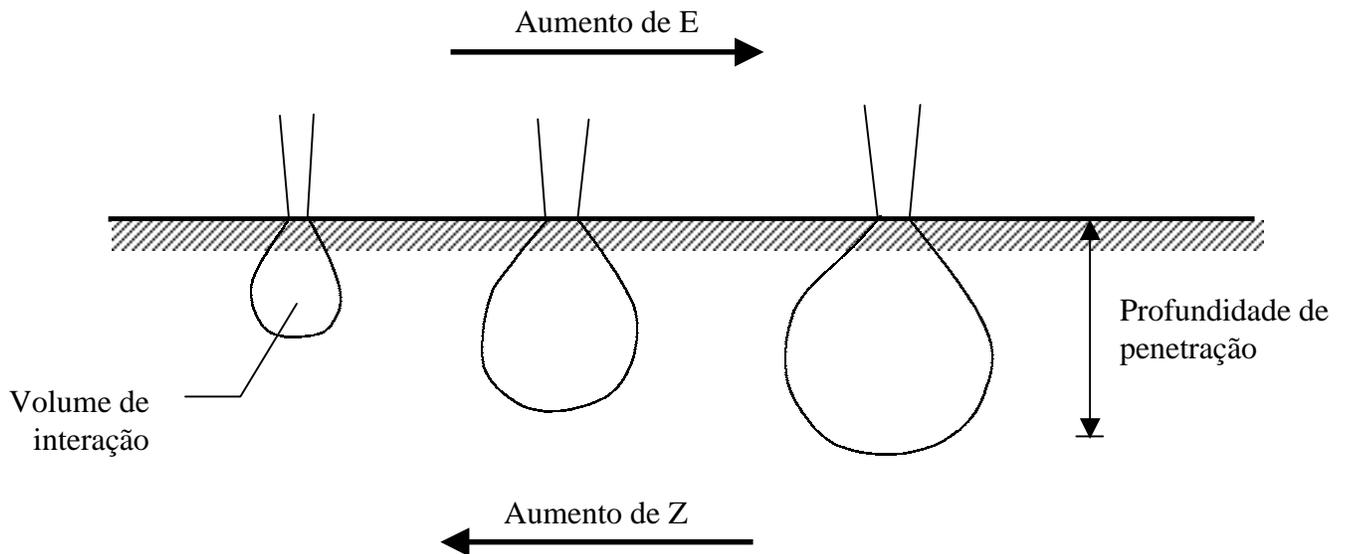


Figura.7.17– Variação do volume de interação e profundidade de penetração do feixe de elétrons da amostra com o aumento da energia do feixe (E) e com o aumento do número atômico (Z) dos elementos que compõem a amostra.

- o As amostras a serem analisadas devem estar limpas e secas. Em função da necessidade de alto-vácuo nos equipamentos de MEV amostras que contenham água devem ser primeiramente desidratadas. Em situações em que a estrutura seja deformada ou destruída pela remoção da água, as amostras devem ser estruturadas por vias químicas (agentes quelantes, por exemplo);
- o Quando amostras não condutoras são submetidas a ação do feixe de elétrons ocorre o carregamento eletrostático da superfície do material. Esta situação atrapalha a emissão dos elétrons secundários e pode desviar o feixe primário da área em estudo. Como consequência disto podem ocorrer contrastes irregulares, deformação e

deslocamento da imagem e micro-análises de regiões diferentes das consideradas. A alternativa para a observação de amostras isolantes é o recobrimento destas com um filme fino (10 – 50 nm) de material condutor. De modo geral, utilizam-se duas categorias de materiais: carbono ou metais preciosos (Au, Au/Pd, Pt). Quando da execução do recobrimento deve-se garantir que este siga o contorno do material para não resultar em imagens não verdadeiras da topografia da amostra. Uma opção para não recobrimento da amostra é a diminuição da energia do feixe de elétrons;

- o O feixe de elétrons pode danificar a amostra. A situação mais comum corresponde à geração de calor na área de incidência do feixe de elétrons. Para evitar este tipo de dano deve-se usar voltagens de aceleração mais baixas, diminuir a intensidade do feixe, diminuir o tempo de exposição da amostra, controlar a espessura do recobrimento e fotografar áreas maiores com menor aumento. Uma outra situação de prejuízo para a amostra é a ocorrência de fenômenos de desgaseificação e retração decorrente do alto-vácuo.

### **7.2.3. Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)**

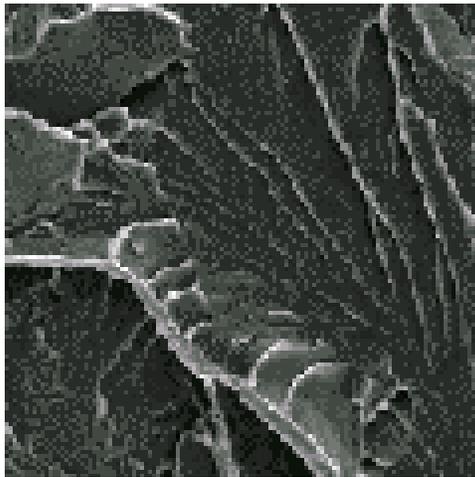
Apesar da técnica EDS ser uma análise de espectroscopia, ela é usualmente apresentada juntamente com a microscopia eletrônica de varredura pela sua disponibilidade nestes equipamentos. Os microscópios eletrônicos de varredura podem possuir equipamento de microanálise acoplado permitindo a obtenção de informações químicas em áreas da ordem de micrometros. As informações, qualitativas e quantitativas, sobre os elementos presentes são obtidas pela captação dos raios-X característicos resultantes da interação do feixe primário com a amostra (ver item 3.3.1).

Este tipo de análise, denominado espectroscopia de energia dispersiva (EDS), usa um material semiconductor, para detectar os raios-X, e um analisador multicanal e converte a energia de raios-X em uma contagem eletrônica. A partir do valor acumulado destas contagens é criado um espectro que representa a análise química da amostra. Para a análise quantitativa dos elementos, deve-se utilizar padrões com concentrações conhecidas dos elementos a serem analisados.

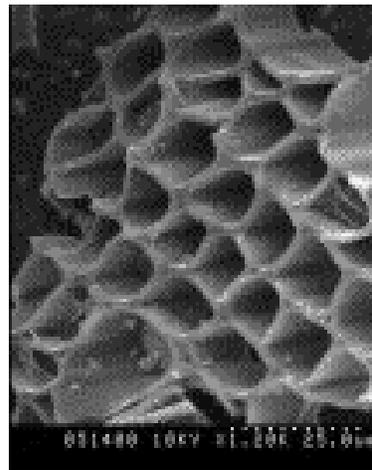
Os raios-X característicos permitem a obtenção de um mapa de imagem da distribuição de um elemento em uma amostra não-homogênea. Quando um elétron, geralmente do feixe primário, interage inelasticamente com a amostra removendo um elétron de uma camada interna (K, L, M, N) deixa o átomo em um estado excitado de energia permitindo que um elétron de uma camada mais energética decaia para preencher o vazio. Este decaimento ocorre com emissão de energia na forma de um fóton de raios-X. Como as

diferenças de energia são bem definidas e específicas dos elementos estes fótons são denominados raios-X característicos e permitem identificar o elemento que está emitindo a radiação. Nesta aplicação, um determinado elemento é inicialmente selecionado para ser detectado e ter sua posição identificada. Quando o elemento é detectado, enquanto o feixe primário varre a área em análise, um ponto brilhante é mostrado na tela do CRT e a sua localização está relacionada com o local de detecção na amostra. Após várias passagens do feixe de elétrons sobre a área, é gerado um mapa de regiões brilhantes que representa a distribuição relativa do elemento previamente selecionado.

### 7.2.3.1. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura e EDS



(a)



(b)

Figura.7.18. a)Fratura frágil de aço (500x); b) Imagem madeira da planta *Switenia macrophylla*.

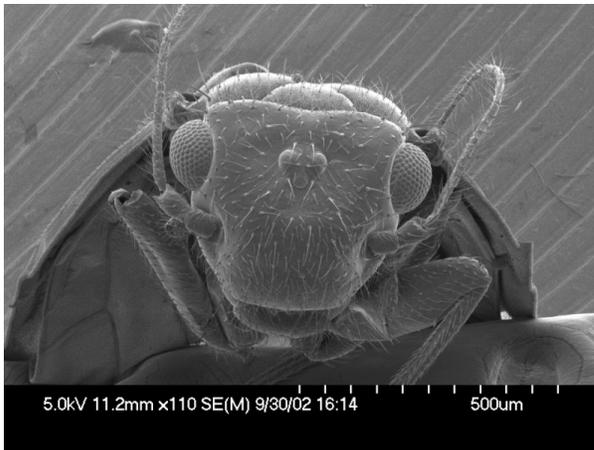
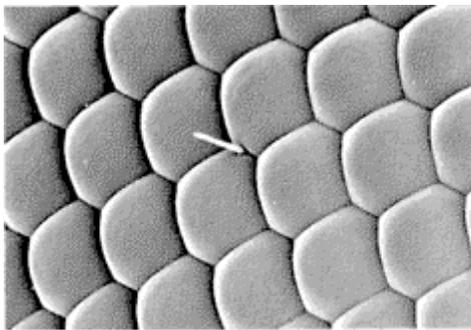
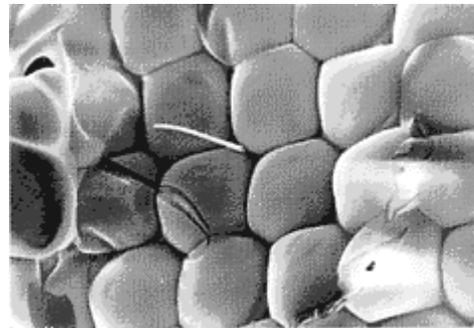


Figura.7.19. Fotomicrografia de Inseto



(a)



(b)

Figura.7.20. Olhos compostos de mosca, a) sem danificar; b) danificado pelo feixe (5 kV x 1, 100).

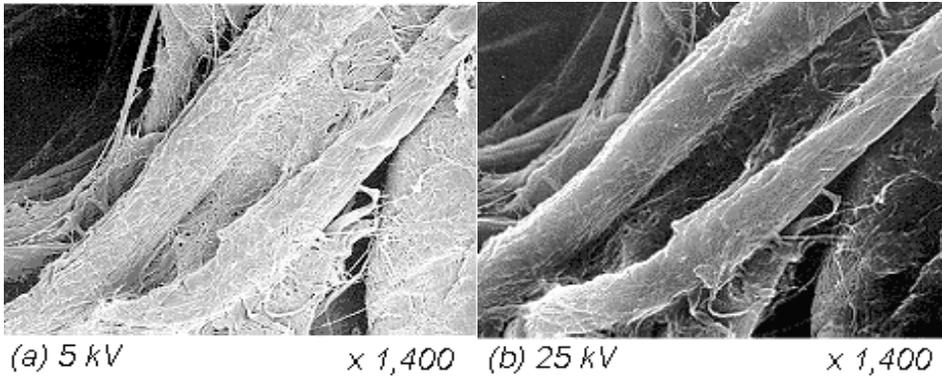


Figura.7.21. Papel de filtro, a) 5 kV ; b) 25 kV (x 1400)

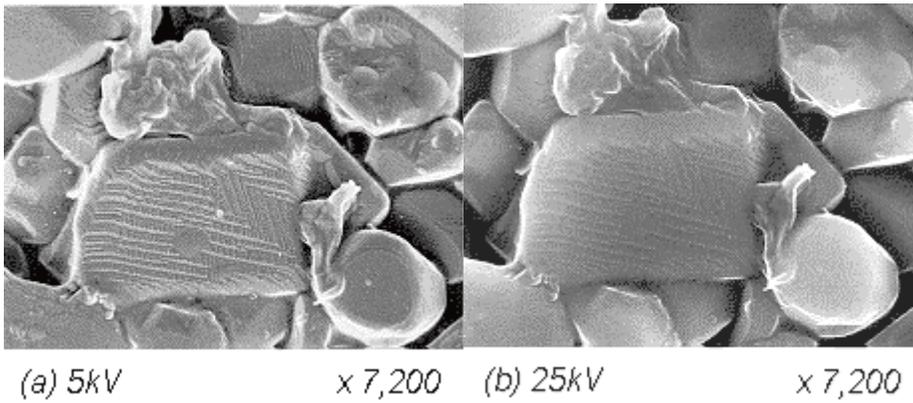


Figura.7.22. Micrografia de P6 sinterizado, a) 5 kV ; b) 25 kV (x 7200)



Figura.7.23. Fotomicrografia de Inseto.

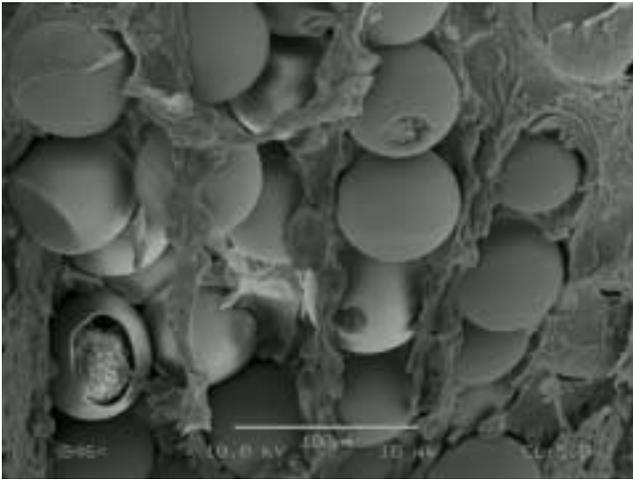


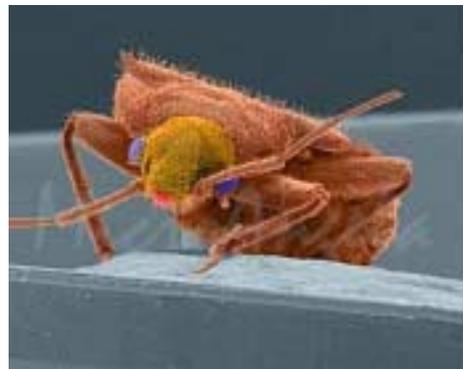
Figura.7.23. Fotomicrografia dos óvulos de acaro de tapete *Hymenolepis diminuta*.



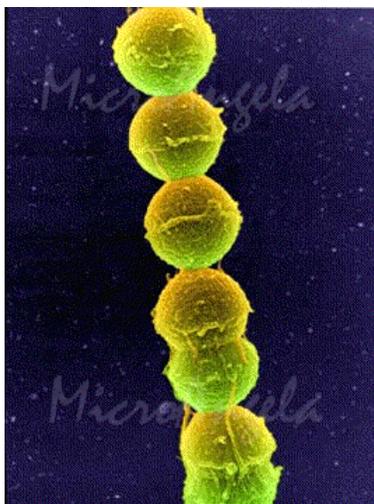
Figura.7.24. Imagem de elétrons secundários de espuma de poliestireno



(a)



(b)



(c)

Figura.7.25. Micrografia de sistemas biológicos;  
a) hemácias; b) ácaro; c) Streptococcus

A Fig.7.26 mostra um exemplo de espectro de EDS para avaliação de composição química de liga metálica. A principal desvantagem do EDS é a impossibilidade de distinção entre espécies iônicas, não-iônicas e isotrópicas, bem como de detecção de elementos de baixo número atômico ( $Z < 6$ ).

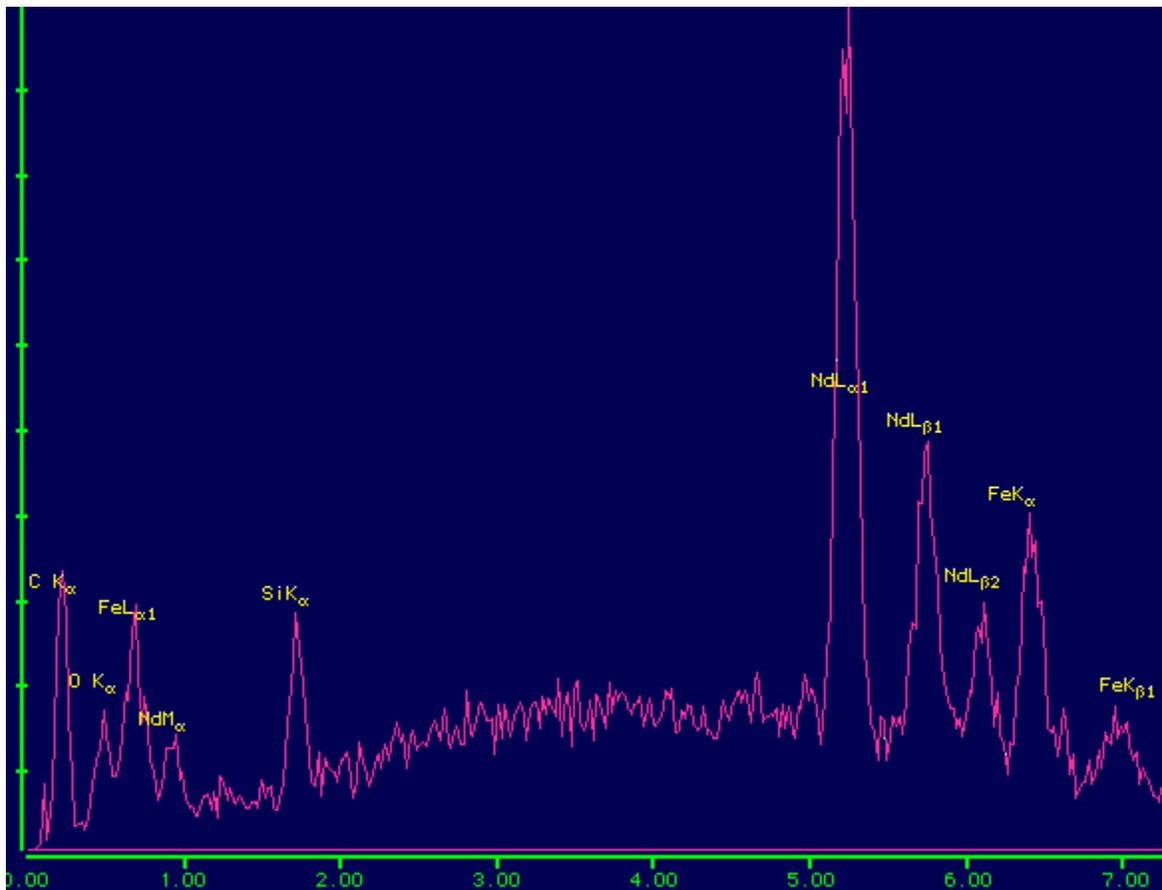


Figura.7.26. Espectro de EDS de liga Nd-Fe-B utilizado na fabricação de ímãs permanentes.

#### **7.2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura Ambiental (MEV-Ambiental)**

O princípio da microscopia eletrônica de varredura ambiental é bastante similar ao denominado microscópio eletrônico de varredura convencional (C-MEV) descrito no item 7.2.2. A diferença significativa está no sistema da coluna de aceleração do feixe eletrônico. No equipamento MEV é necessária uma elevada tensão de aceleração do feixe associada alto vácuo na coluna e na câmara onde esta posicionada a amostra. No equipamento MEV ambiental, existem sistemas de controle de pressão ao longo da coluna de aceleração que permite existir um gradiente de pressão no interior da coluna de aceleração do feixe, sendo alto vácuo na região do filamento ( $10^{-7}$  torr) e pressão de 50 torr na região de análise da amostra. O desenho esquemático de construção do MEV ambiental está mostrado na Fig.7.27.

A Fig.7.27a ilustra em detalhe do sistema de controle de pressão que permite o gradiente na coluna do feixe eletrônico. Em resumo, este sistema permite a análise de materiais condutores ou isolantes, sem a necessidade de recobrimentos, bem como materiais hidratados ou com voláteis nas pressões de operação do equipamento de MEV ambiental. Este equipamento possibilita uma excelente ferramenta para análise de biomateriais e sistemas biológicos, sem a necessidade de preparação requerida para a técnica convencional (C-MEV).

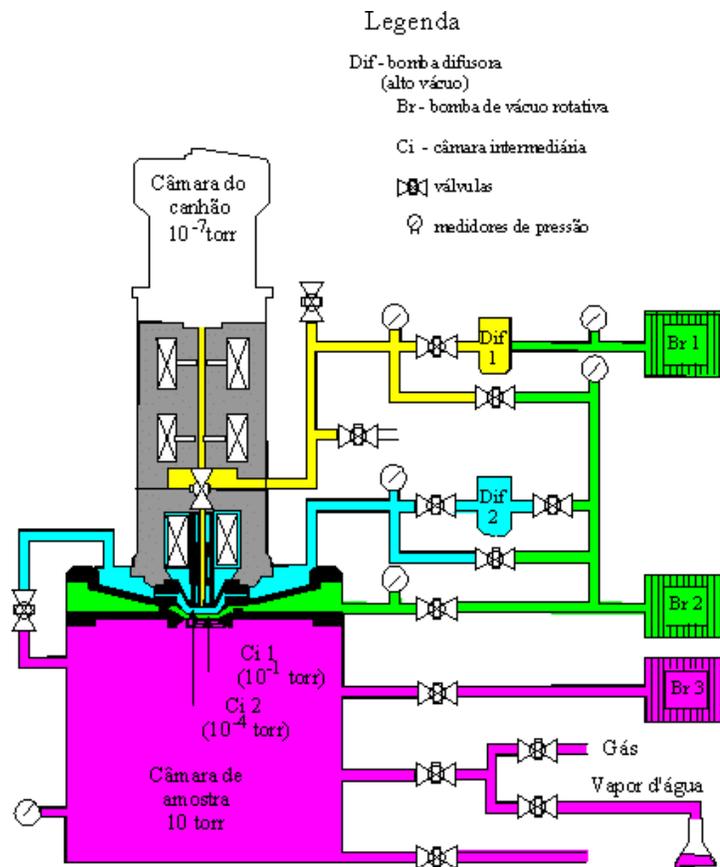


Figura.7.27. Representação esquemática de um microscópio eletrônico de varredura ambiental.

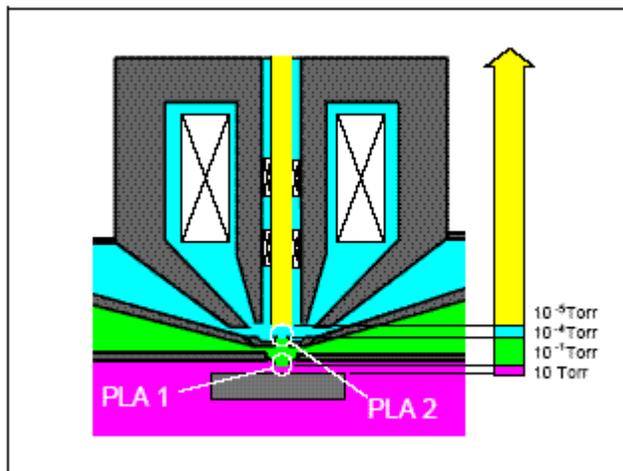


Figura.7.27a. Detalhe do sistema de pressão do MEV ambiental.

#### 7.2.4.1. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura Ambiental

Alguns exemplos de imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura ambiental estão mostradas nas Fig.7.28, Fig.7.29 e Fig.7.30. Conforme descrito, as vantagens principais da técnica de MEV-ambiental (em inglês “*Environment Scanning Electron Microscopy-ESEM*”) em comparação com o MEV-convencional são as possibilidades de análise de amostras não-condutoras e hidratadas.

a) Amostras não-condutoras

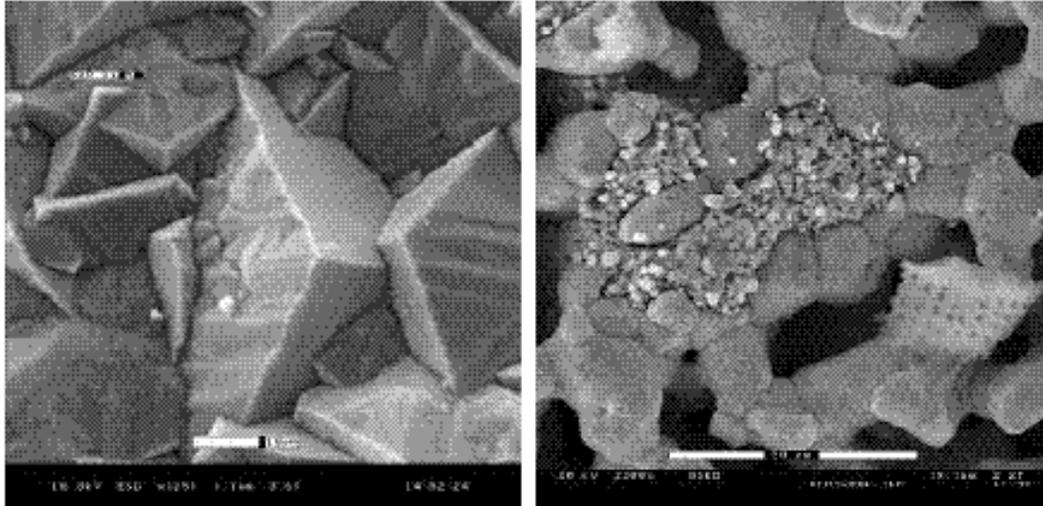


Figura.7.28. Imagens de Nitreto de silício (esquerda) e cerâmica convencional (direita)

b) Amostras hidratadas

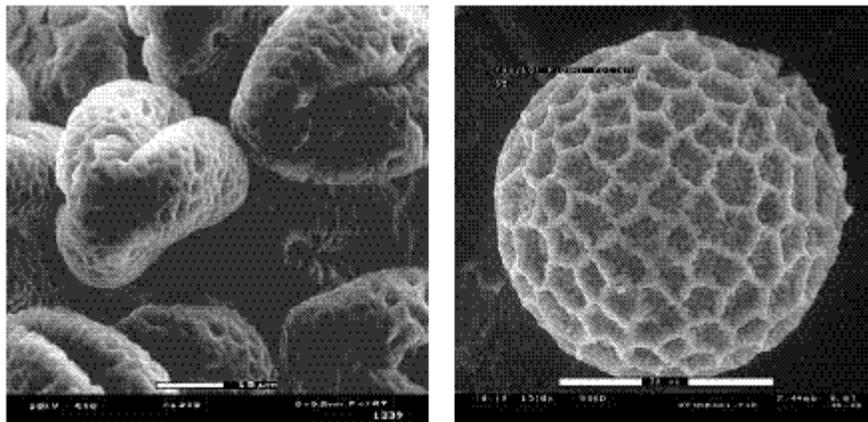


Figura.7.29. Imagens de grãos de pólen

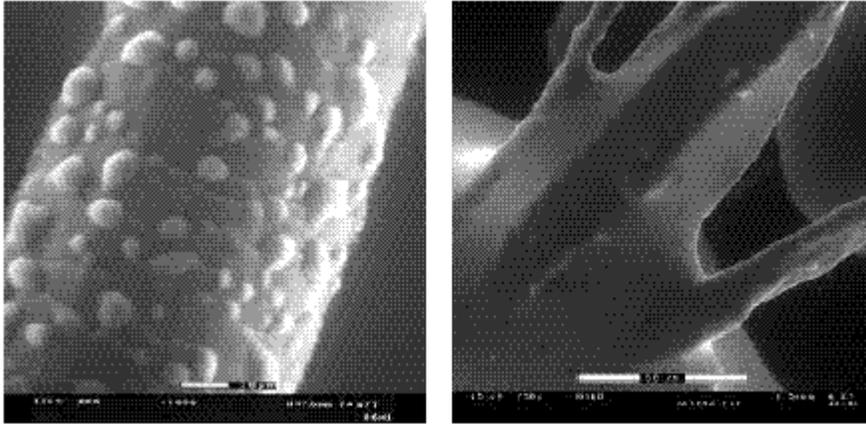


Figura.7.30. Imagens de cabelo humano com gotículas de água (esquerda) e papel úmido (direita)

### 7.2.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A técnica de caracterização por microscopia eletrônica de transmissão (MET ou em inglês *transmission electron microscopy* – TEM) oferece a possibilidade e ampliação com resolução que são da ordem de 1000X superiores ao da microscopia óptica. Foi uma técnica desenvolvida na década de 1930. O princípio de funcionamento do MET é semelhante ao sistema apresentado no item 7.2.2 para MEV. Um filamento de tungstênio aquecido promove a emissão termo-iônica de elétrons que são acelerados em um tubo sob alto vácuo em direção à amostra. A tensão aplicada varia entre 60 keV e 400 keV, sendo valores típicos na faixa de 75-100 keV. Um requisito básico para as amostras, além da estabilidade em alto vácuo, é a espessura reduzida, geralmente inferior a 200 nm. Este valor pode variar dependendo do material, uma vez que o feixe eletrônico deverá ser transmitido através da amostra. O feixe eletrônico transmitido incide sobre uma tela fluorescente, um filme fotográfico ou uma câmera de vídeo, gerando a imagem da amostra (Fig.7.31). A resolução do MET está da ordem de 0,2 nm para equipamentos com tensões da ordem de 300 keV, com ampliações de 1.000.000X.

Esta resolução obtida, com elevada ampliação, é resultante do feixe coerente, em foco e com alta energia. Teoricamente, um feixe eletrônico com tensão de aceleração de 100 keV, possui um comprimento de onda de 0,0037 nm, muito inferior ao comprimento de onda da radiação eletromagnética ultravioleta ou mesmo raios-X. A análise requer o posicionamento da amostra preparada sobre um reticulado de cobre, ouro ou carbono, onde o feixe eletrônico deverá incidir e gerar a imagem na tela. O sistema de colimação e

alinhamento do feixe eletrônico é construído por lentes eletromagnéticas. Uma particularidade que torna a caracterização por MET extremamente interessante é a possibilidade de obter imagens, padrões de difração e outras técnicas de análise espectroscópicas no mesmo equipamento.

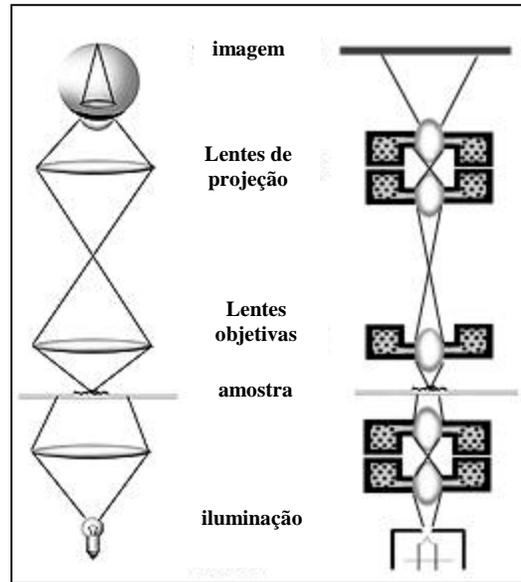


Figura.7.31. Diagrama representativo do equipamento de microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A interação do feixe eletrônico de alta energia com a matéria promove diversos efeitos tais como radiação (raios-X característicos) utilizada na espectroscopia EDS, elétrons secundários, elétrons retroespalhados e elétrons transmitidos, utilizados na formação das imagens, elétrons difratados que geram informações cristalográficas da amostra, difração de elétrons (ED). Pode-se enumerar diversas aplicações em todas as áreas da ciência para a caracterização por microscopia eletrônica de transmissão, como exemplo:

- . Imagens da superfície do material com resolução da ordem de 0,2 nm.
- . Análise de defeitos, degraus ;
- . Análise de nanopartículas;
- . Avaliação de filmes finos e contornos de grão;
- . Análise de precipitação e recristalização "*in situ*";
- . Identificação de composição de fases.

São basicamente 2 os modos de operação do MET. O primeiro consiste na obtenção da imagem e o segundo permite observar os padrões de difração dos elétrons. O primeiro possibilita análises estruturais e morfológicas e o segundo avaliação de fases cristalinas, tais como monocristais, policristais e materiais amorfos. As Fig. 7.32 a Fig.7.35 são exemplos de aplicações em áreas de ciências de materiais, ciências biológicas e alguns campos multidisciplinares.

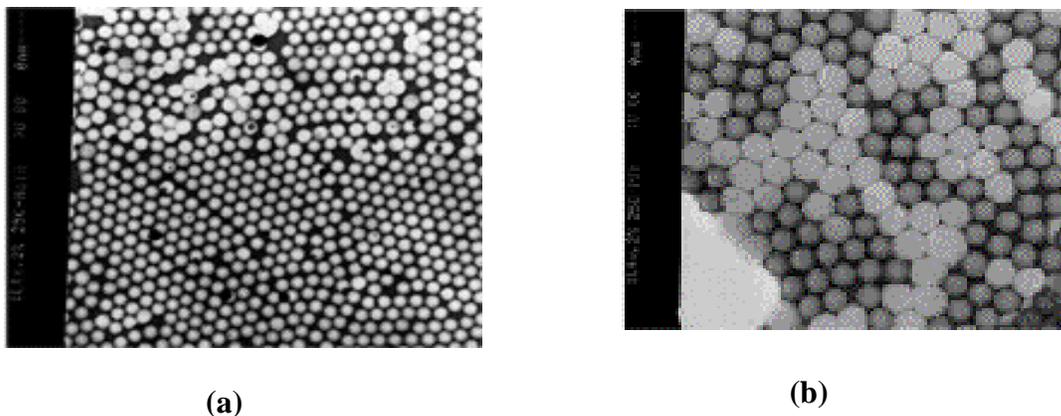


Figura.7.32. Imagem por MET de: a) ultra-estrutura de partículas poliméricas-Látex; b) detalhe ampliação superior (30.000x)

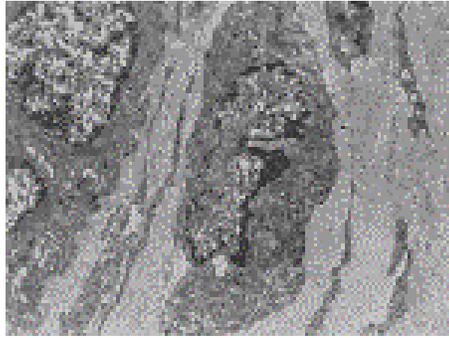


Figura.7.33. Imagens de Ultra-estrutura de Tecidos e Células: fibroblasto

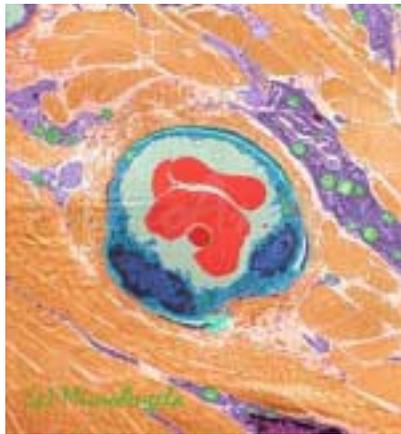


Figura.7.34. Capilares vasculares – Células sanguíneas vermelhas (vermelho), células endoteliais (azul) e colágeno (laranja)

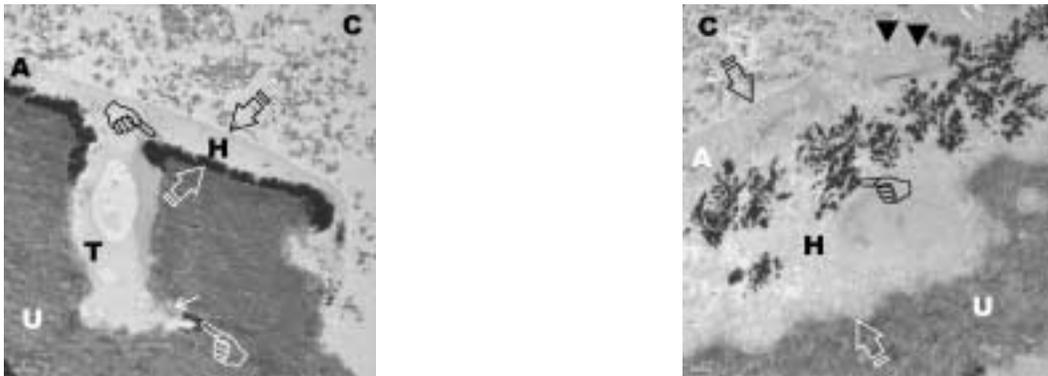


Figura.7.35. Fotomicrografias de microscopia eletrônica de transmissão de interface esmalte, dentina com sistema restaurador composto de polímero (“resina”) e partículas inorgânicas (“carga ou reforço”)

### 7.2.5.1. Preparação de Amostras para Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Um dos grandes obstáculos para avaliar amostras biológicas, materiais orgânicos e biocompósitos está relacionado com a instabilidade destes sistemas quando submetidos às condições de análise em alto vácuo e o aquecimento por feixe eletrônico. A técnica de caracterização por MET requer que as amostras sejam estáveis em alto vácuo ( $10^{-5}$  a  $10^{-8}$  Torr), suportem a incidência do feixe de elétrons com alta energia ( $> 70$  keV) e possuam espessuras extremamente delgadas, geralmente inferiores a 100 nm (50 – 200 nm). O contraste das imagens de MET depende do número atômico dos elementos presentes na amostra. No caso de amostras orgânicas, tais como as biológicas, estas são compostas de elementos leves como carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo e enxofre, que

dificulta o espalhamento eletrônico e portanto o contraste no MET. A preparação de amostras biológicas requer geralmente a utilização de agentes de contraste ou pigmentos de sais de metais pesados (acetatos, citratos e outros) de chumbo, ósmio e urânio que são elétron-opacos. Algumas etapas devem ser cumpridas no sentido de obter amostras (biológicas, poliméricas e compósitos) orgânicas estáveis para observação por MET, a saber:

- Fixação do material, geralmente utilizando glutaraldeído (agente reticulante de moléculas de proteína) e tetróxido de ósmio (estabilizador de membranas).
- Desidratação da amostra;
- Permeação com resina para polimerização em um bloco sólido. Sem esta estrutura a amostra colapsaria em alto vácuo;
- Corte da amostra: utilização de um equipamento ultramicrotomo, para produzir amostras com seção de 15 – 100 nm de espessura. O ultramicrotomo consiste de finas laminas de vidro ou diamante;
- As amostras delgadas obtidas são colocadas em reticulados metálicos e recobertas com filme fino polimérico (formvar) para observação no microscópio;
- Existem dois métodos de intensificação do contraste: recobrimento e impregnação com metais pesados. O recobrimento é obtido pela deposição na amostra delgada de metais como platina, platina/carbono, ouro, vanádio, chumbo e outros metais em uma câmara de alto vácuo. A impregnação com metais pesados é realizada pela imersão da amostra em soluções de acetato de uranila ou citrato de chumbo. Estes sais são absorvidos de modo diferenciado pelas estruturas presentes, possibilitando melhor

contraste para observação em microscopia. Podem também ser utilizadas outras soluções de contraste, tais como ácido fosfórico tungstênico e formiato de uranila.