



CENTRO BRASILEIRO DE PESQUISAS FÍSICAS

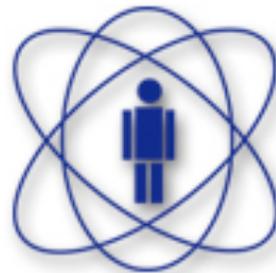
<http://www.cbpf.br>

MICROSCOPIA

Revelando um Mundo Nanométrico ao
seu Redor



ANDRÉ LUIZ PINTO



CBPF

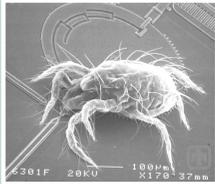
Roteiro

3

- Introdução
 - Por que?
- Microscópio Ótico
- Microscópio Eletrônico de Transmissão
- Microscópio Eletrônico de Varredura
- Microscopia de Ponta de Prova
- Comentários Finais
 - O Brasil e a microscopia

The Scale of Things – Nanometers and More

Things Natural



Dust mite
200 μm

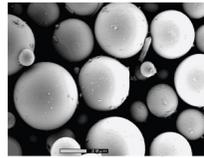


Human hair
~ 60-120 μm wide

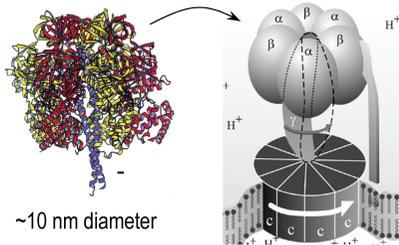
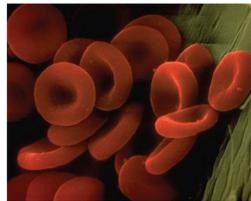
Red blood cells
(~7-8 μm)



Ant
~ 5 mm

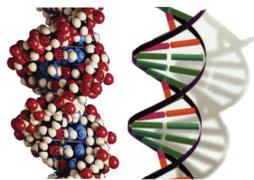


Fly ash
~ 10-20 μm

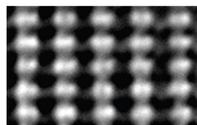


~10 nm diameter

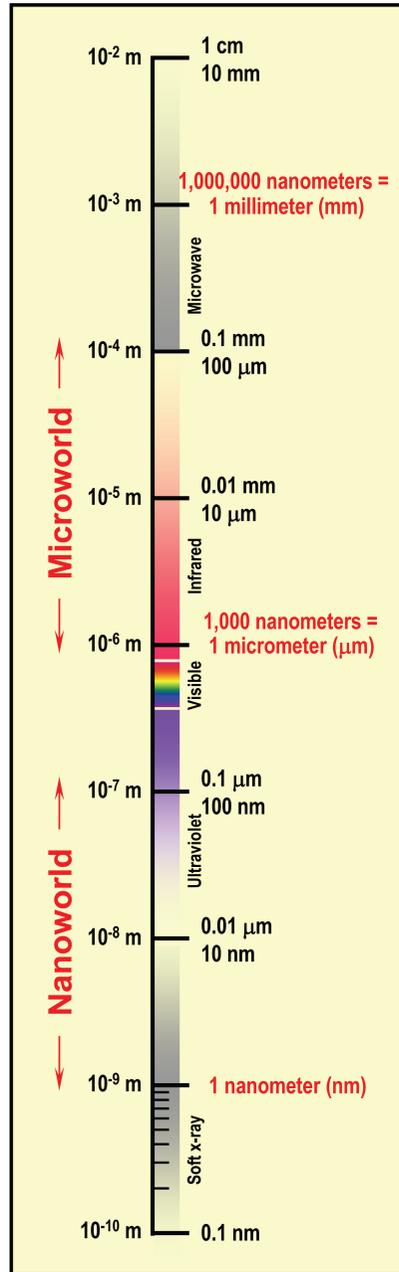
ATP synthase



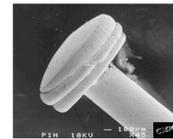
DNA
~2-1/2 nm diameter



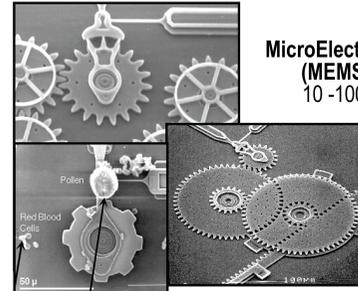
Atoms of silicon
spacing 0.078 nm



Things Manmade



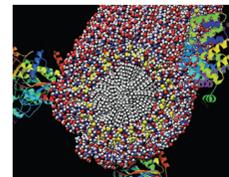
Head of a pin
1-2 mm



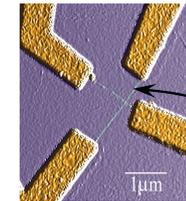
MicroElectroMechanical (MEMS) devices
10 -100 μm wide

Pollen grain
Red blood cells

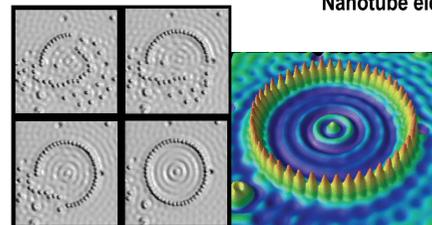
Zone plate x-ray "lens"
Outer ring spacing ~35 nm



Self-assembled,
Nature-inspired structure
Many 10s of nm

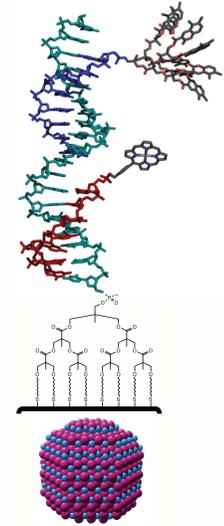


Nanotube electrode

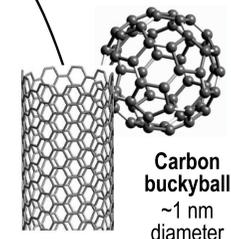


Quantum corral of 48 iron atoms on copper surface
positioned one at a time with an STM tip
Corral diameter 14 nm

The Challenge



Fabricate and combine nanoscale building blocks to make useful devices, e.g., a photosynthetic reaction center with integral semiconductor storage.

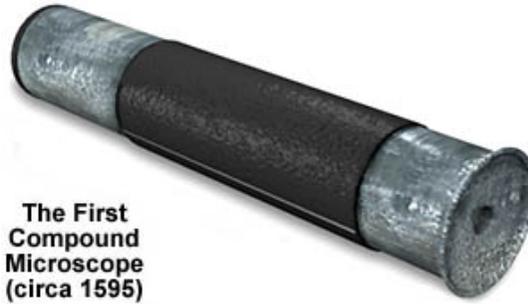


Carbon nanotube
~1.3 nm diameter

Carbon buckyball
~1 nm diameter

O 1º microscópio foi construído em 1595 por H. Lippershey, S. Jansen e Z. Jansen.

O termo microscópio com criado por G. Faber para denominar o microscópio construído por Galileu (chamado por ele de “occholino”)



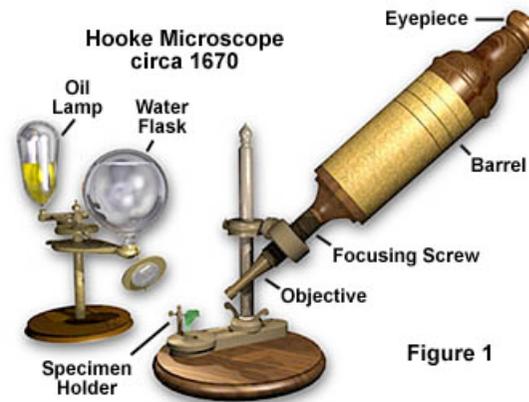
The First Compound Microscope (circa 1595)

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

Microscópio produzido por Hooke e micrografia de cortiça



Early Italian Compound Microscope (circa late 1600s)



Hooke Microscope circa 1670

Figure 1



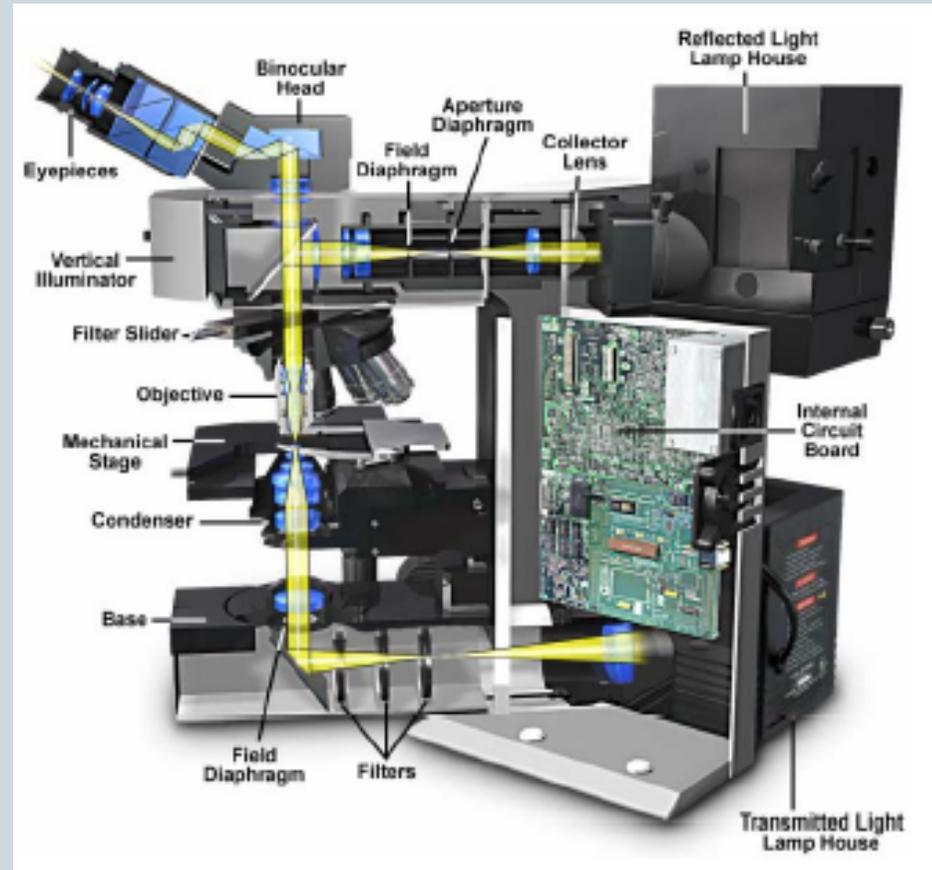
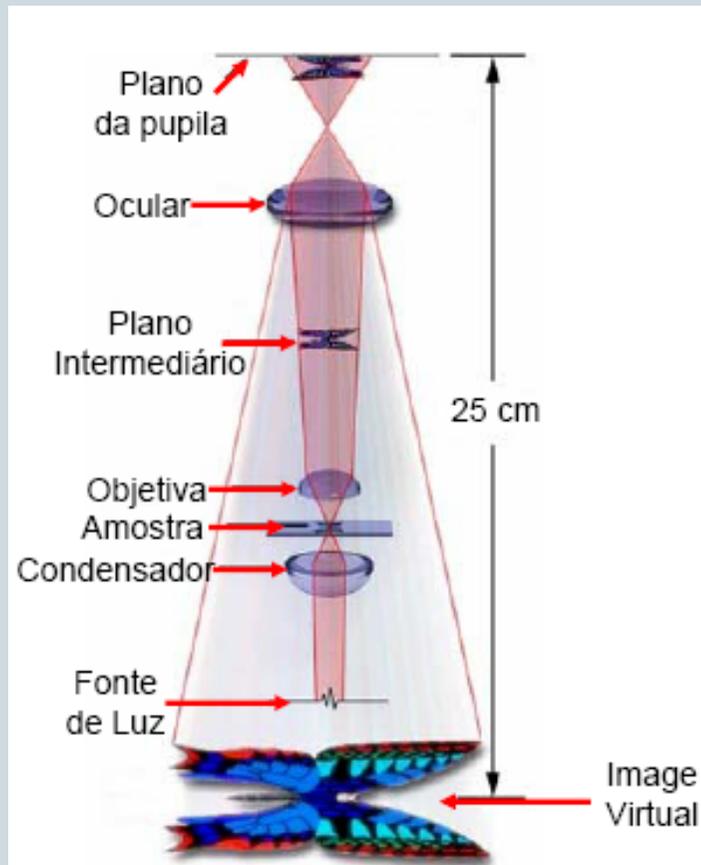
<http://micro.magnet.fsu.edu/>

Wikipedia

Microscópio Ótico

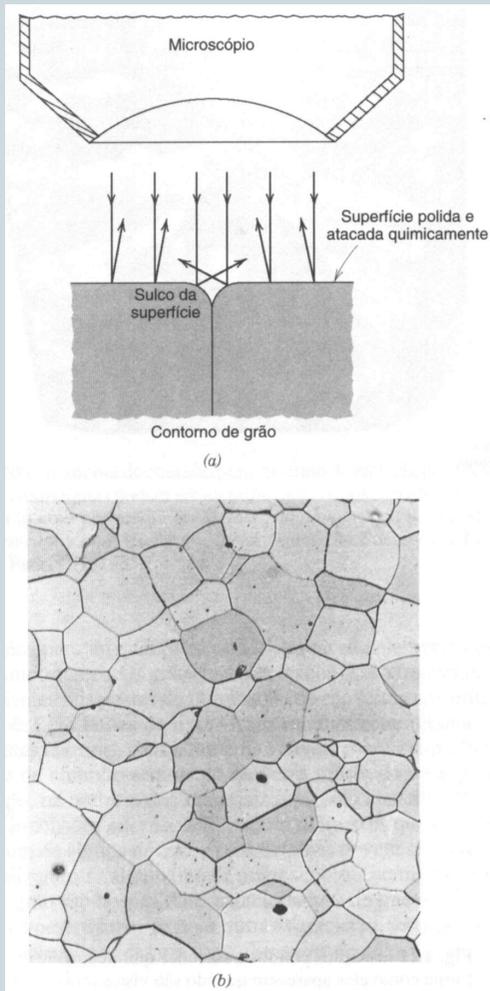
Arquitetura

6



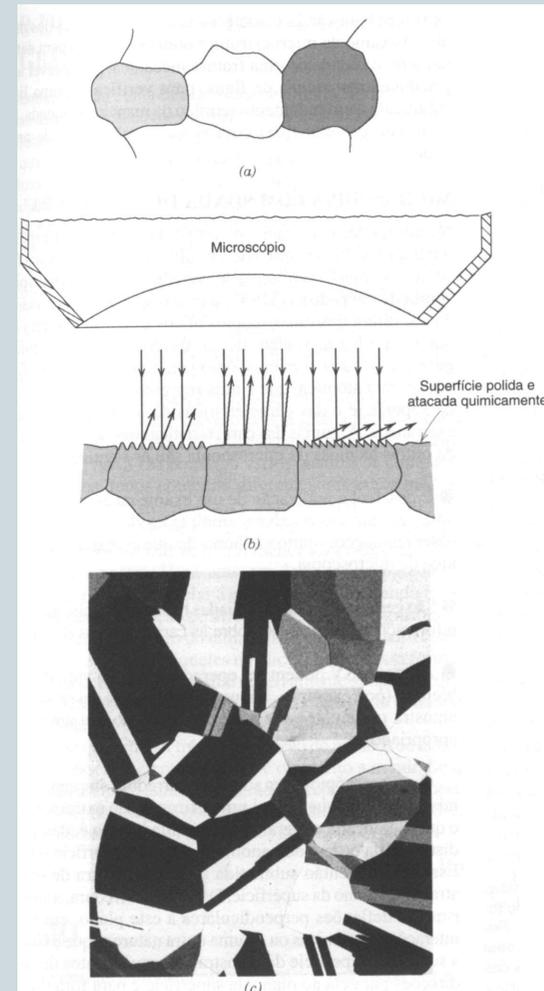
Observação com Luz Refletida

7



A observação em luz refletida demanda uma superfície polida e atacada

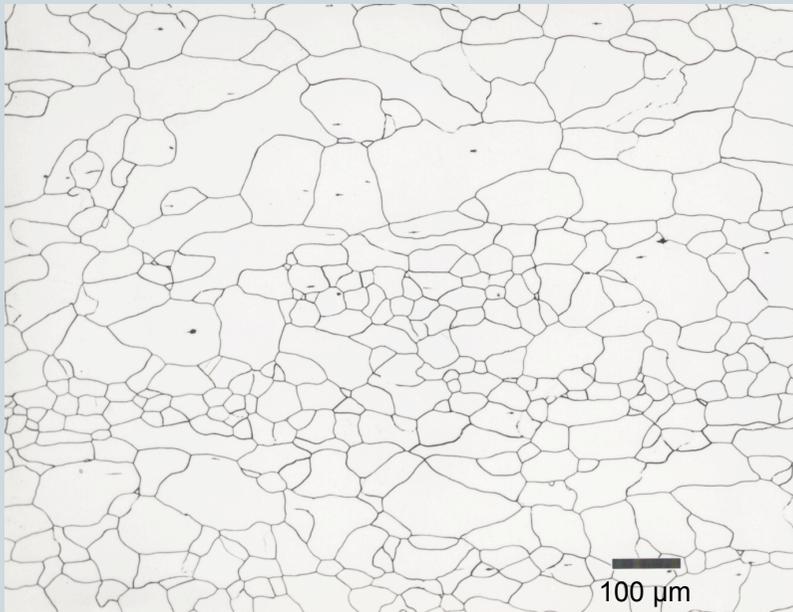
Callister, 2000



Aplicações

8

- Aço inoxidável ferrítico
(ataque eletrolítico em 60% HNO₃)
- Aço ferrítico-perlítico
(Fe_{0,6}C) (ataque pícrico)



Voort, 2002

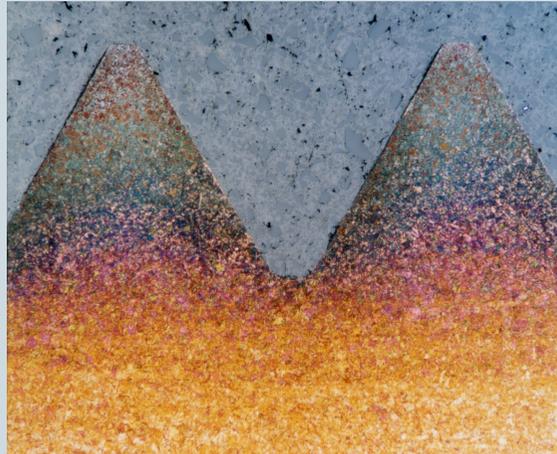


Voort, 2002

Aplicações

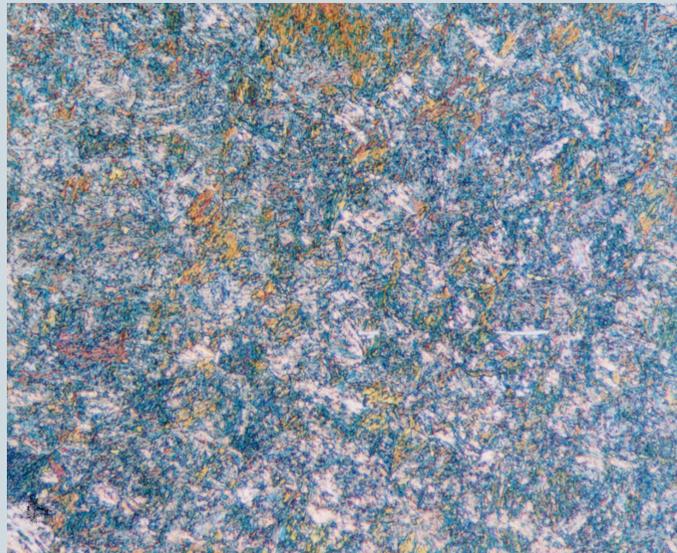
9

Aço 8620 carbonetado
(Fe0,2C0,8Mn0,25Si
0,55Ni0,5Cr0,2Mo)
(Ataque de Beraha)



Martensita acicular
de alto C

Martensita lamelar
de baixo C



Voort, 2002

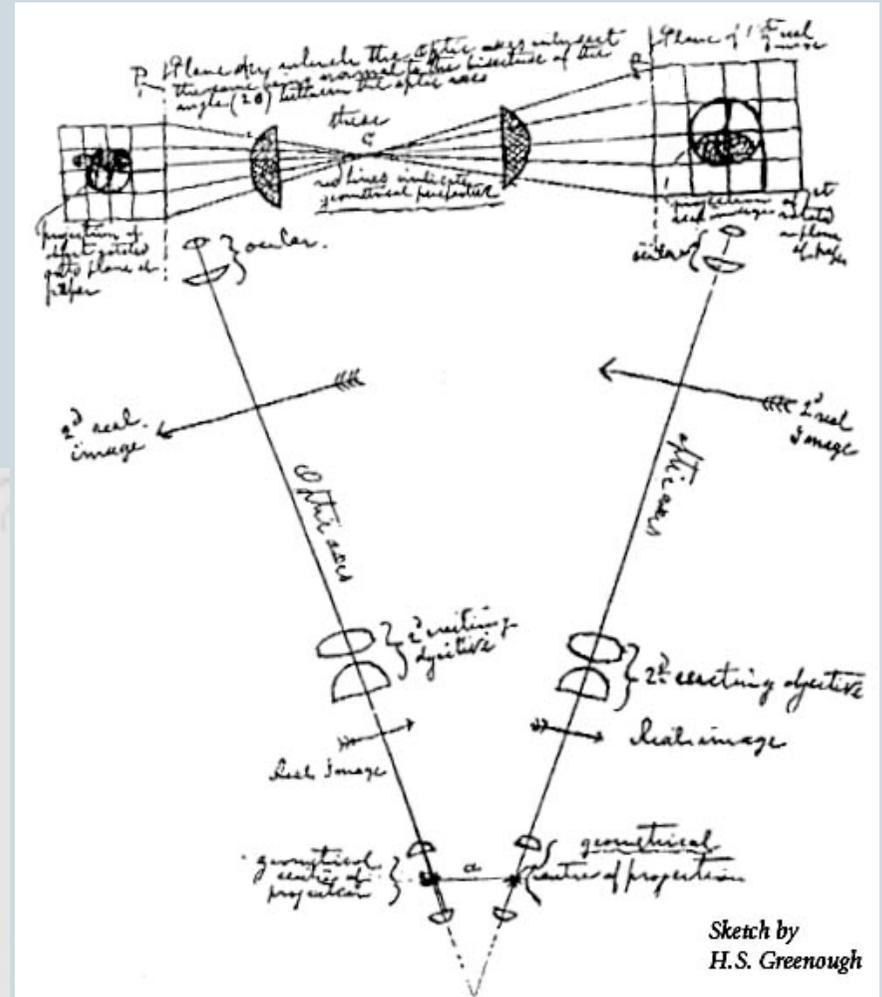
Estereomicroscópio

10

Em 1890, num um evento social de cientistas H.S. Greenough, zoologista, perguntou a Ernst Abbe da Carl Zeiss: “Não seria possível construir um microscópio para ambos os olhos e assim gerar imagens espaciais?”



Zeiss



Estereomicroscopia

11

Zeiss



Resolução Lateral

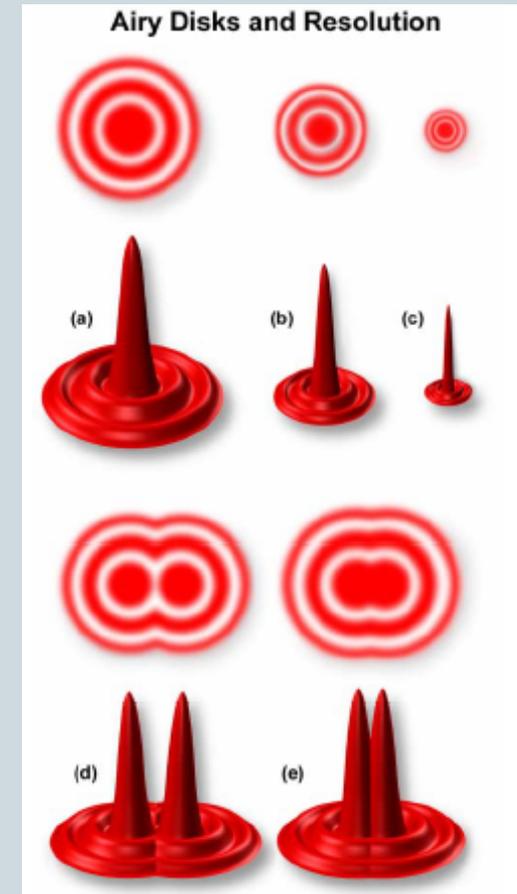
12



- George Airy propõe que o comprimento de onda da luz limitaria a resolução de sistemas óticos (1834)
- Ernst Abbe (cofundador da Carl Zeiss) aplica o critério de Rayleigh para o problema do limite de resolução de um sistema ótico:



$$\delta = \frac{0,61\lambda}{NA} = \frac{0,61\lambda}{\eta \text{sen}\alpha}$$

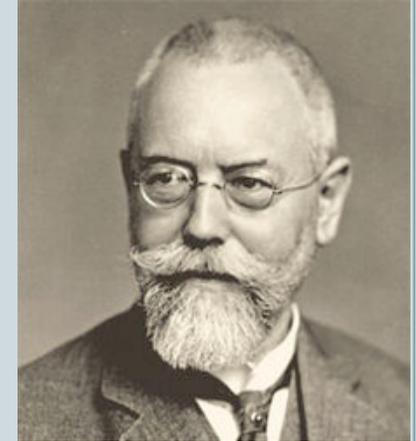


Microscopia de Fluorescência

13

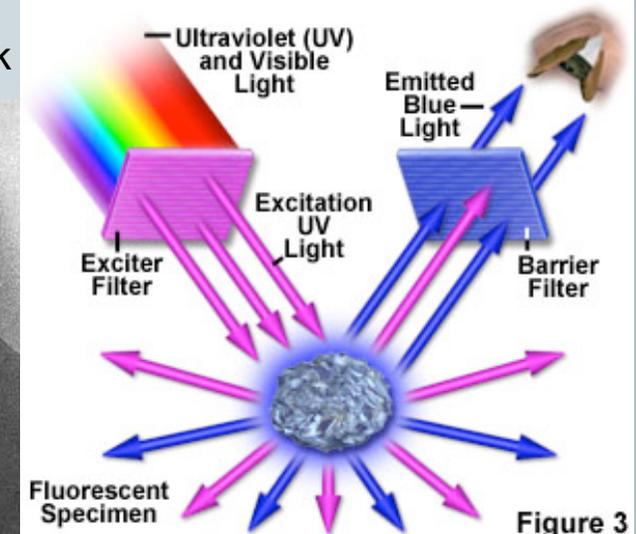
- Em 1901, A. Kohler começou a pesquisar o uso de UV em microscópios como forma de aumentar a resolução.
- Entre 1911 e 1913, O. Heimstaedt e H. Lehmann constroem o primeiro microscópio de fluorescência
- Somente em 1914 S. Von Prowazek fez uso de corantes fluorescentes para estudar células vivas.

A. Kohler

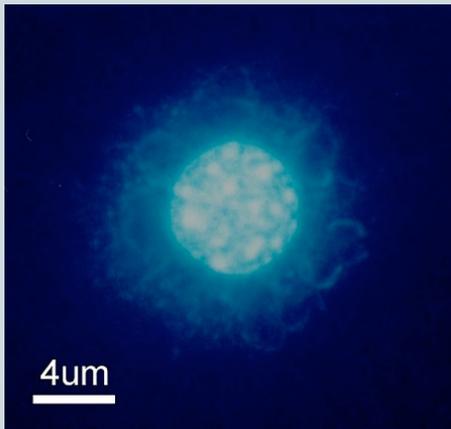
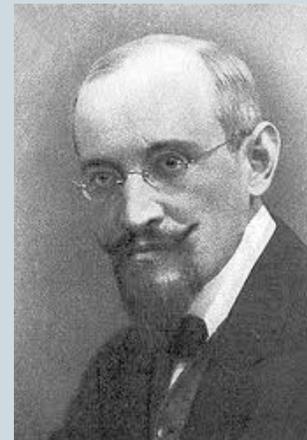


<http://www.olympusmicro.com/>

Principle of Excitation and Emission



S.Von Prowazek



Halo nuclear em hepatócito de camundongo

<http://www.sbmm.org.br>

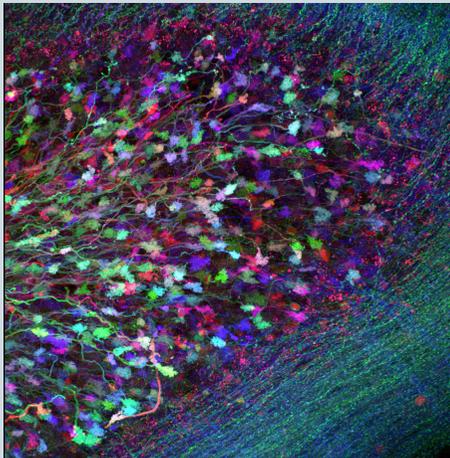
Microscopia Confocal

14

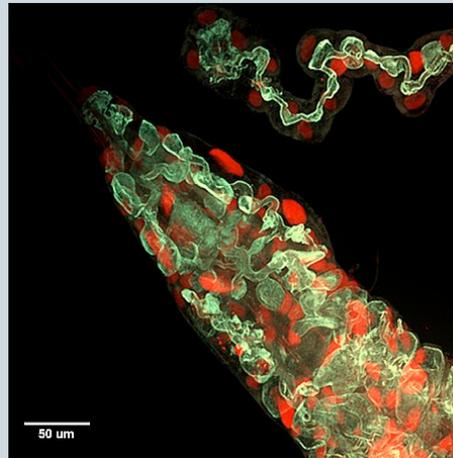
- Em 1955, Marvin Minsky desenvolveu um microscópio confocal para tentar obter imagens de redes neurais. Contudo, sua invenção precisou esperar fontes de luz mais intensas (laser) e computadores para tornar-se realidade em 1987.



<http://www.olympusmicro.com/>



Cerebelo de rato
Weissmann



Glândula salivar de saúva
<http://www.sbmm.org.br>

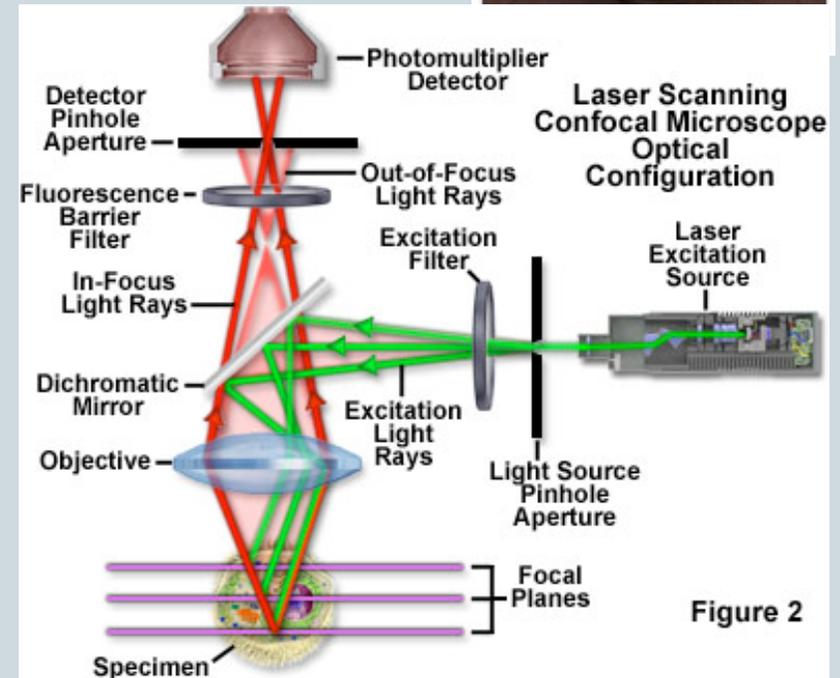
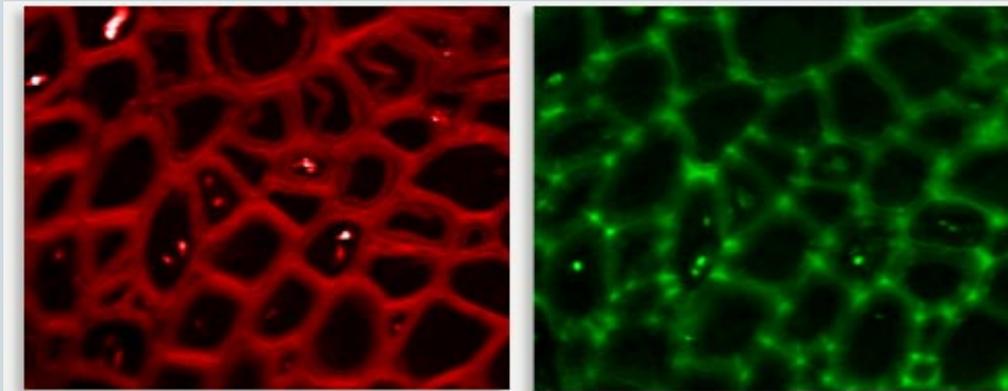
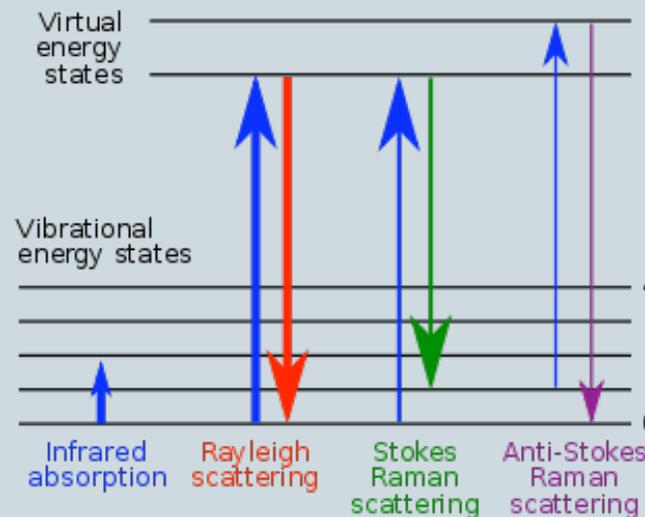


Figure 2

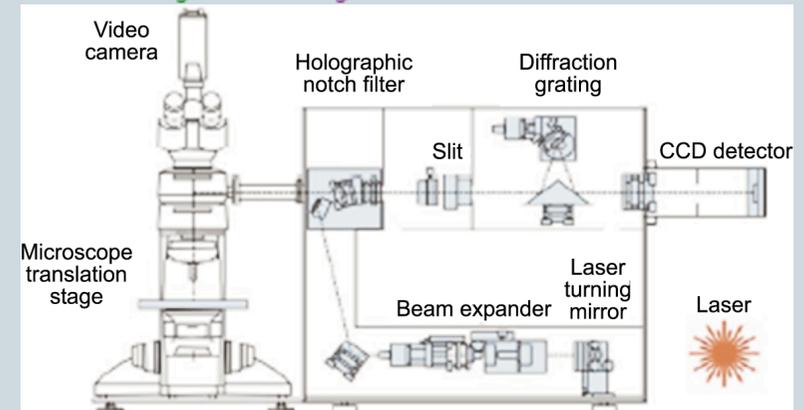
Microscopia Raman Confocal

15

- V. Raman descobriu o espalhamento inelástico da luz monocromática.
- Com o desenvolvimento dos microscópios confocais tornou-se possível acoplar as técnicas



Lignina e celulose intracelular
Nature News



Source: Smith G. D. *et al.* (2004). With permission

Elétrons poderiam substituir a luz?

16



- Através do Princípio da Dualidade Onda-Partícula de Louis de Broglie (1924) podemos associar o momento da partícula ao seu comprimento de onda

$$\lambda = \frac{h}{p}$$

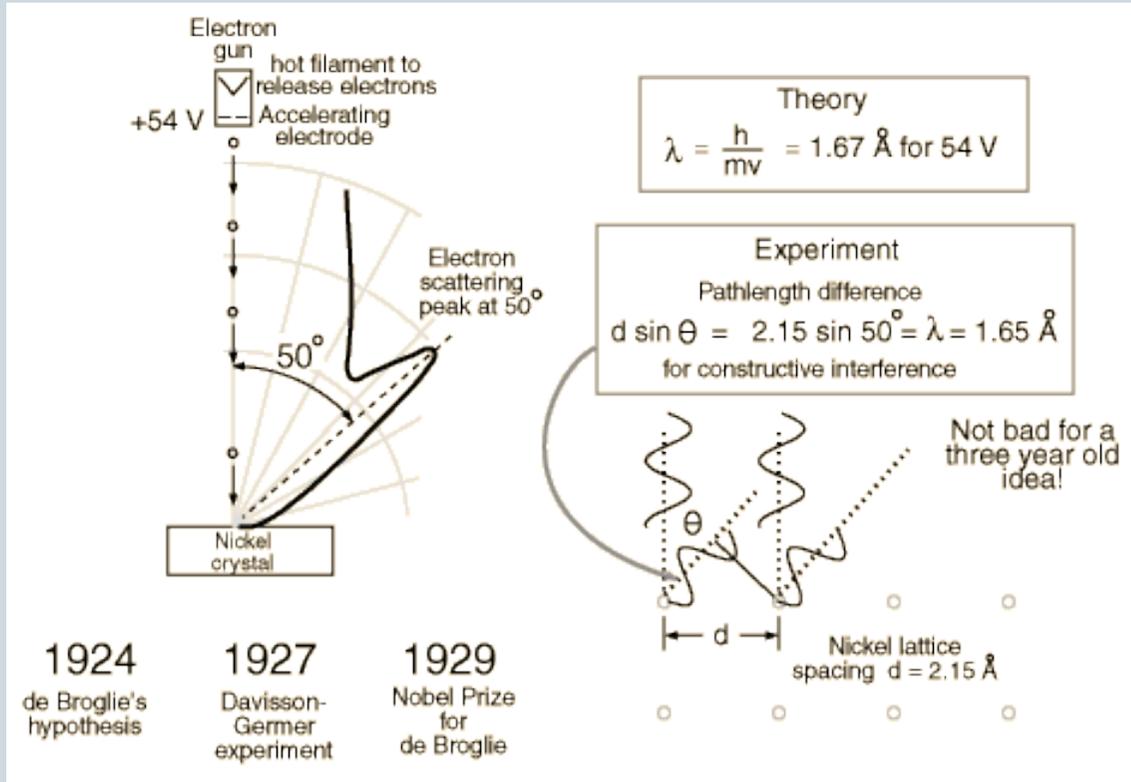
- Energia cinética do elétron a partir do seu potencial de aceleração:

$$eV = \frac{m_0 v^2}{2} \Rightarrow p = m_0 v = \sqrt{2m_0 eV}$$

- Comprimento de onda:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0 eV}}$$

Experimento de Davisson e Germer (1927)



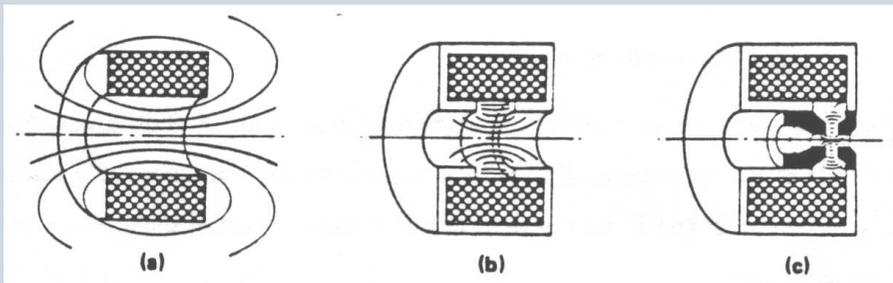
<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/Hbase/davger.html#c1>

Lentes de Elétrons

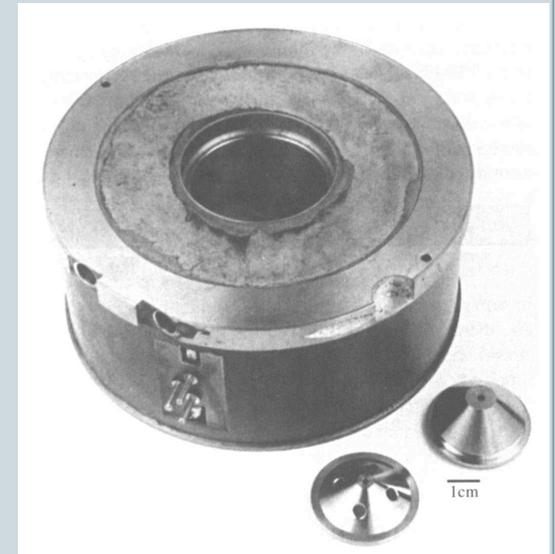
18



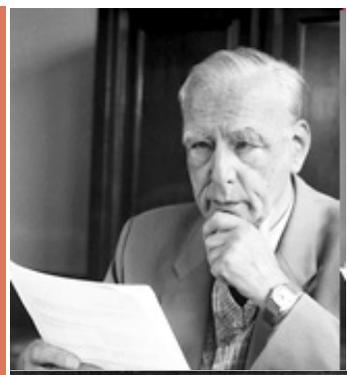
- Hans Busch imaginou que uma bobina curta poderia exercer o mesmo papel que uma lente convexa de vidro para a luz
- Esta ideia foi desenvolvida por Ernst Ruska sob orientação de Max Knoll
- Lentes eletroestáticas também foram pesquisadas por Thomson, Bruche e Johannson, mas demonstraram ter aplicabilidade limitada.



Williams e Carter, 1996



Ruska recebeu o prêmio Nobel em 1986 pelo 1º microscópio eletrônico (transmissão) em 1931



Knoll e Ruska em Berlim nos anos 1930. Em 1933, já haviam superado a resolução dos microscópios óticos.

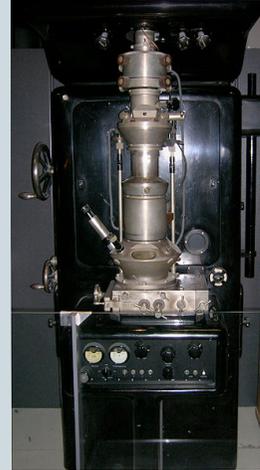
Williams e Carter, 1996

Microscópio Eletrônico de Transmissão

O desenvolvimento de produtos comerciais

20

- Já em 1935, Ruska, Von Borries e a Carl Zeiss iniciam negociações para desenvolvimento e construção de microscópios eletrônicos, mas só em 1942 a AEG e a Carl Zeiss formalizam um contrato de cooperação
- Metropolitan Vickers comercializa o EM1 em 1936
- A Siemens lança o Elmiskop em 1941
- Em 1930, Le Poole começa pesquisas com ótica eletrônica na Univ. de Delft. Em cooperação com a Philips, seu primeiro microscópio torna-se operacional em 1946. Em 1997, sua divisão de Electron Optics funde-se com a FEI Company



EM1

<http://www.wikipedia.org>



Philips



Siemens Elmiskop IA
Transmission
Electron Microscope
(circa 1964)

<http://micro.magnet.fsu.edu/>

O desenvolvimento de produtos comerciais

21

- Em 1938, J. Hillier e A. Prebus constroem o 1º ME das Américas na Univ. de Toronto
- Radio Company of America (RCA) inicia sua produção de MEs em 1941
- Desde 1939, o Japão incentivava o desenvolvimento da microscopia eletrônica.
 - A Denshikagaku Lab entrega seu primeiro equipamento à Indústria Química Mitsubishi em 1947. Posteriormente, torna-se Japan Electron Optics Lab (Jeol).
 - A Hitachi entrega seu primeiro TEM em 1941



MET da RCA



DA-1 entregue em 1947



JEM-1 de 1951

Contraste de Massa-Espessura

22

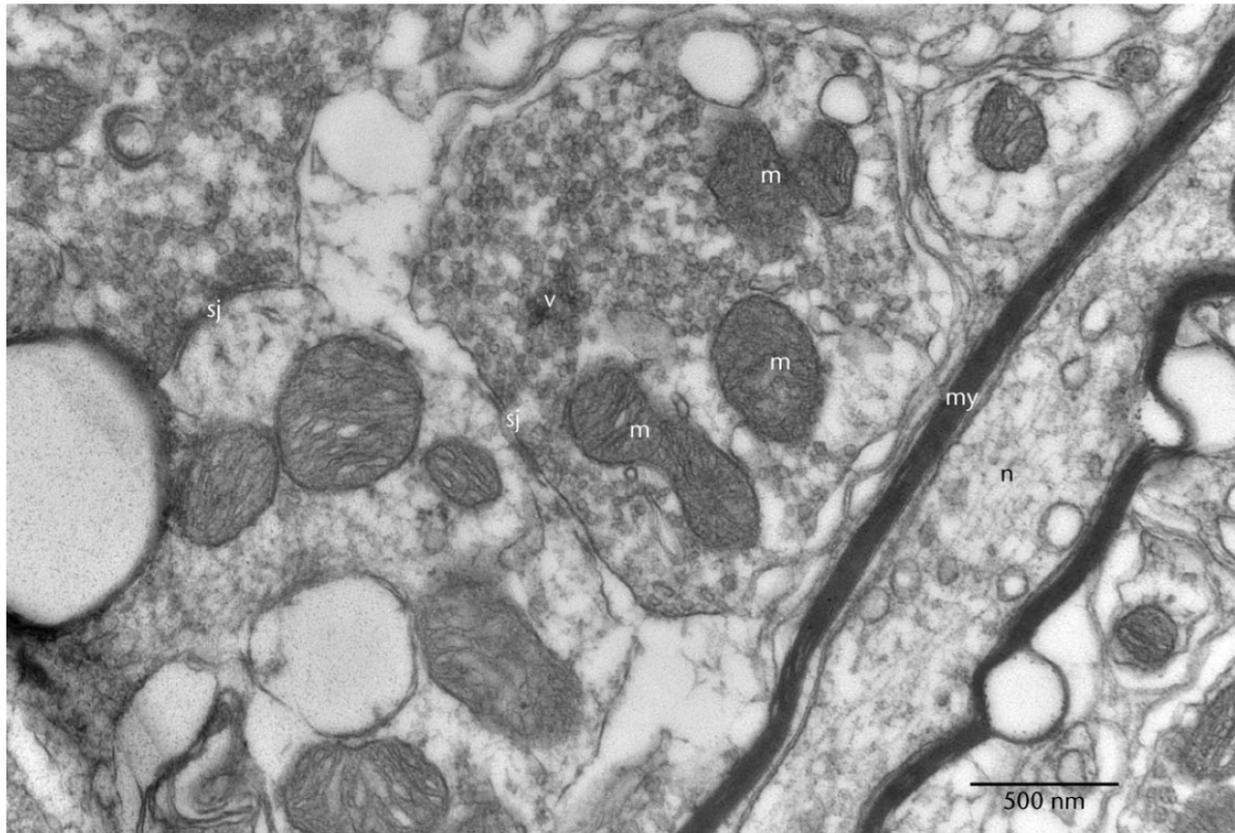


Figure 1 TEM of mouse cerebellum. v, neurotransport vesicles; m, mitochondria; my, myelin sheath; n, nerve fibre and sj, synaptic junction. Magnification bar equals 500 nm. Image obtained by Nicki Watson, Whitehead Institute, Massachusetts Institute of Technology and reproduced with permission.

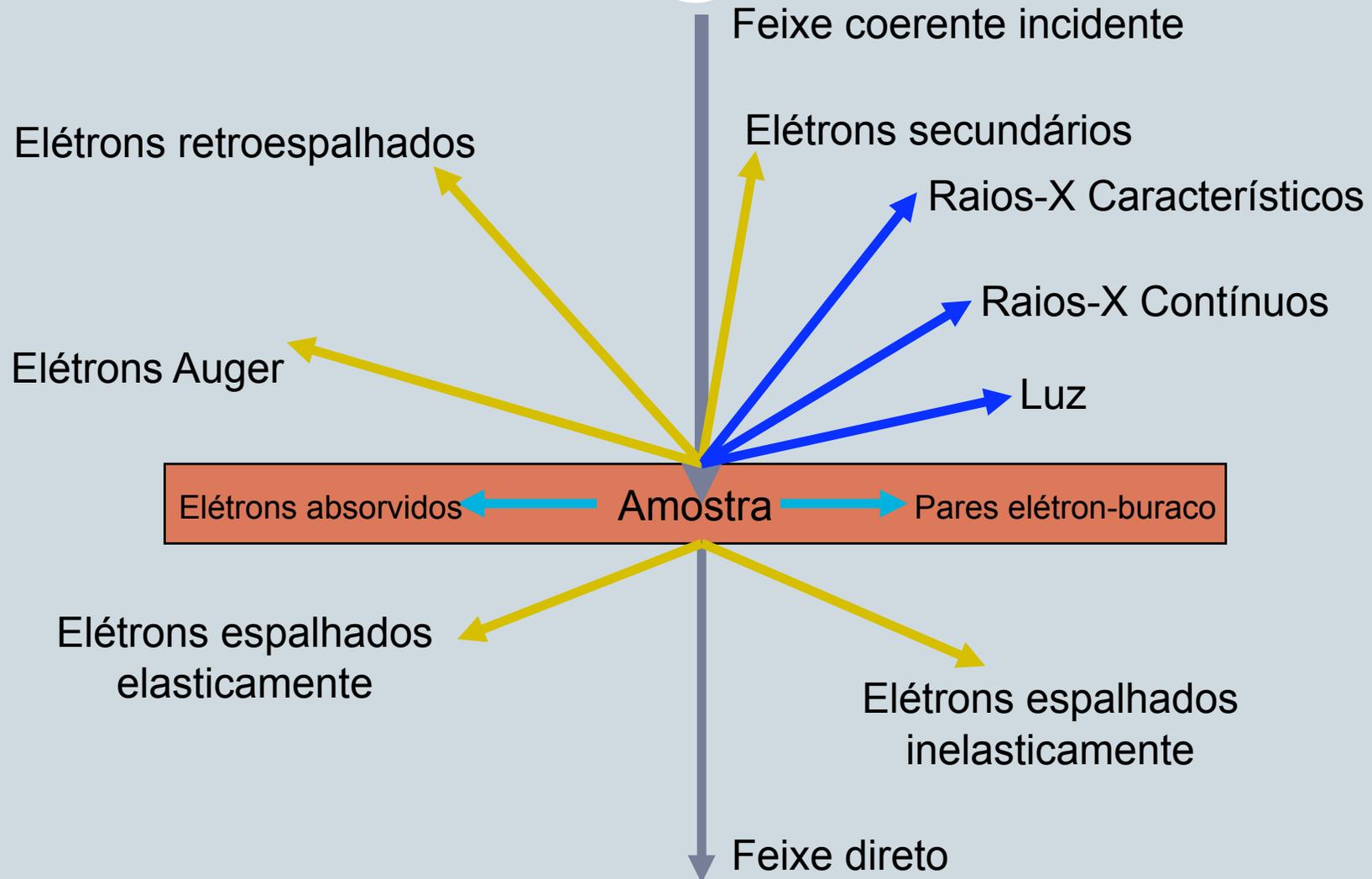
Evolução

23

- Heidenreich é o primeiro a produzir amostras finas para serem transparentes aos elétrons em 1949, logo seguidos por Bollmann (Suíça) e Hirsch (Cambridge).
- Grupo de Sir Peter Hirsch desenvolve a teoria de contraste por difração, escrevendo um texto referido com a “bíblia” de MET.

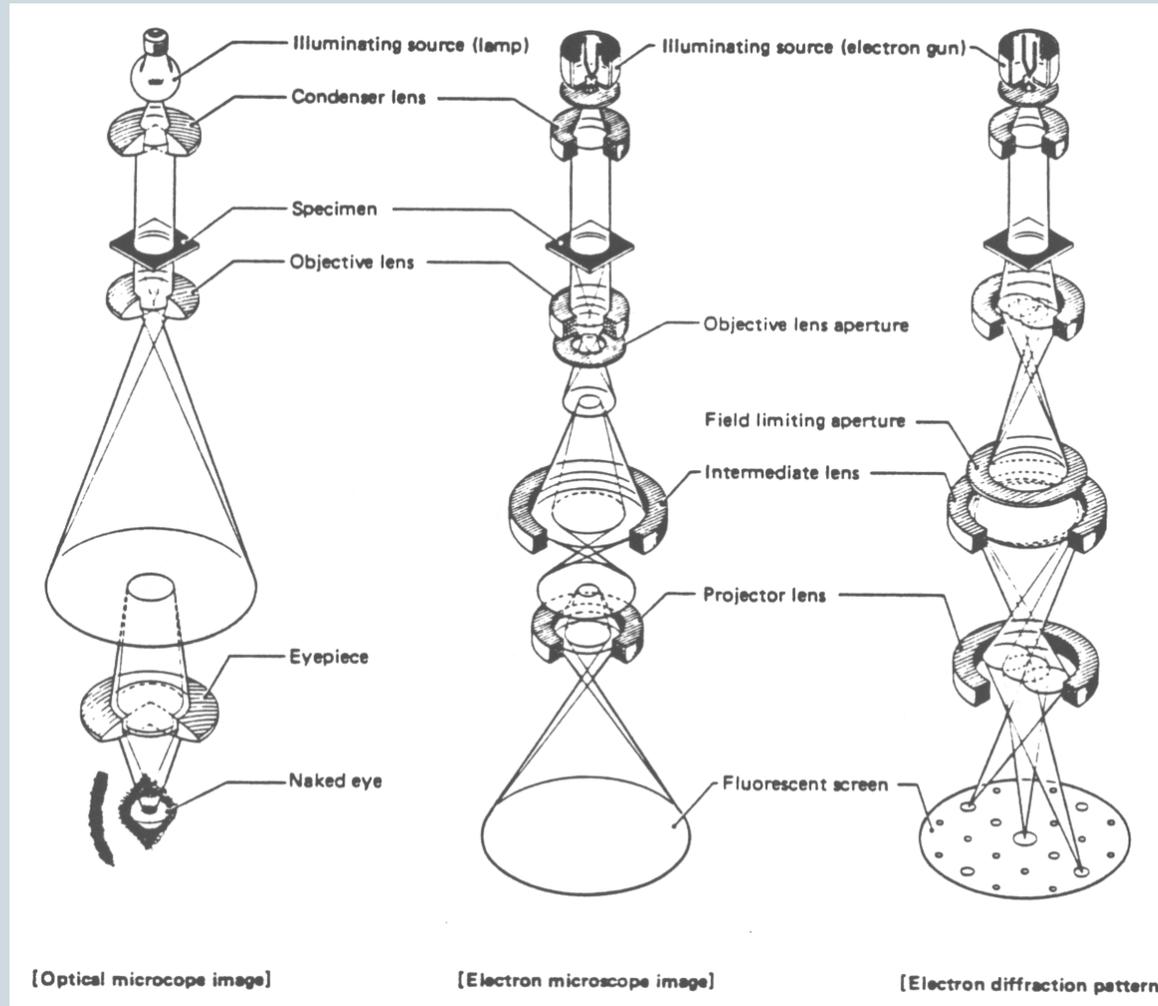
Interação Elétron-Amostra

24



Arquitectura

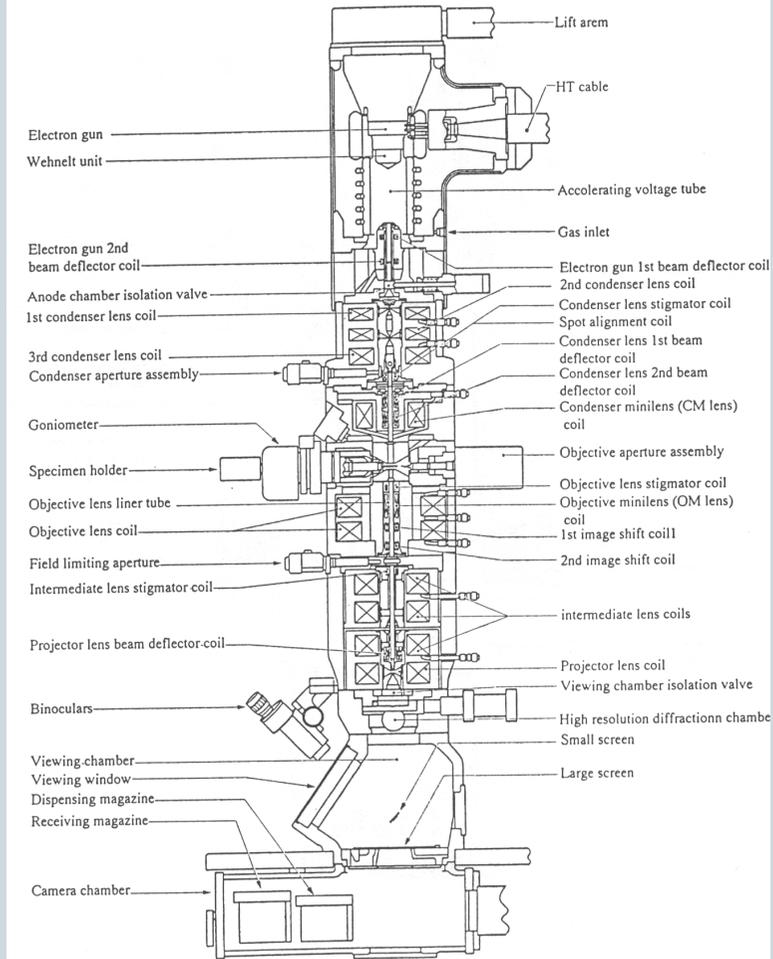
25



Jeol

Um MET moderno

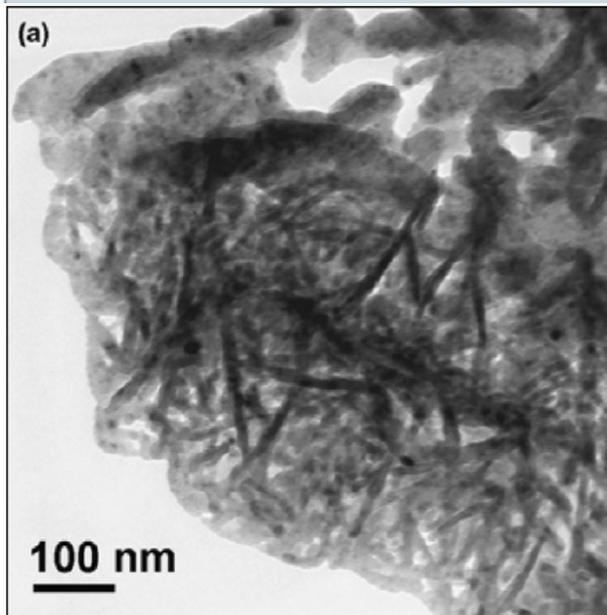
26



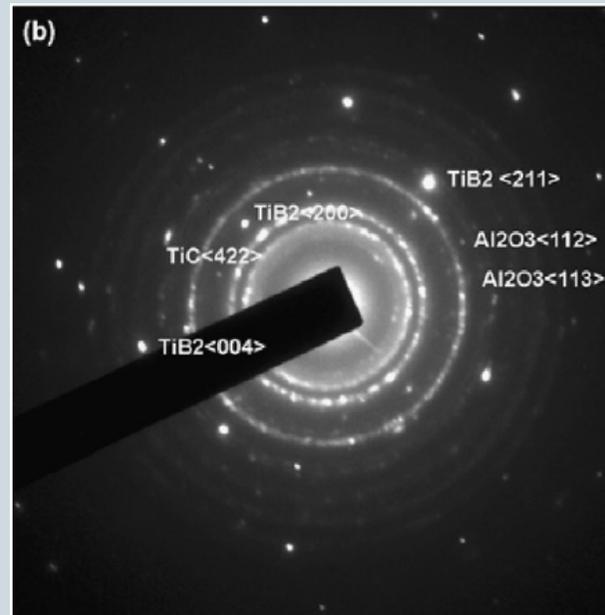
Jeol

Revestimento Cerâmico Nanoestruturado Multicomponente

27

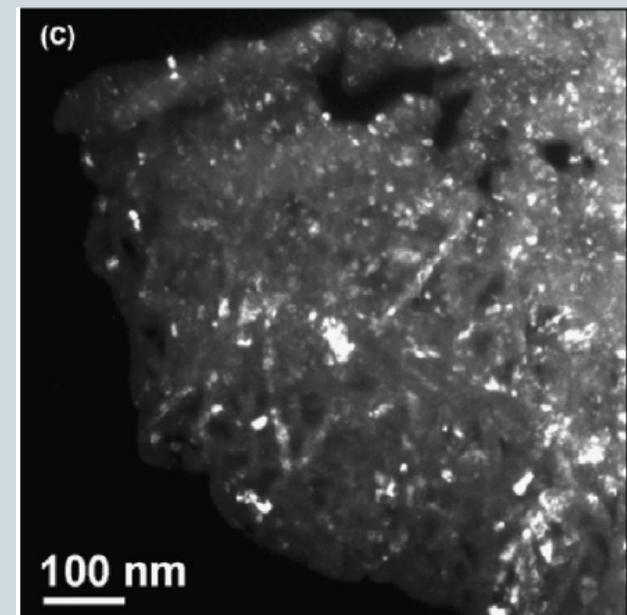


Campo claro



SAD

2,5 kW a 10 mm/s
Masanta et al. (2009)

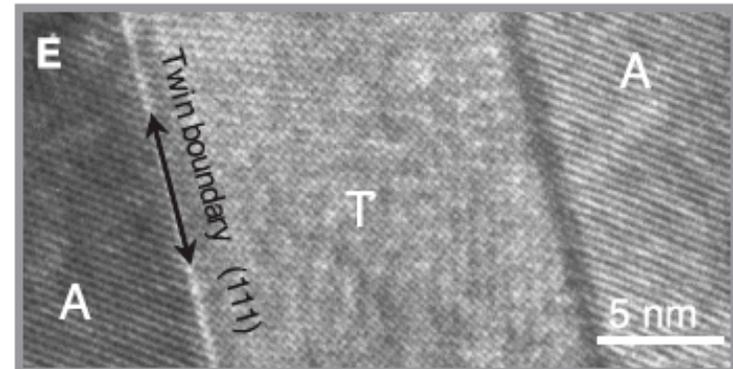
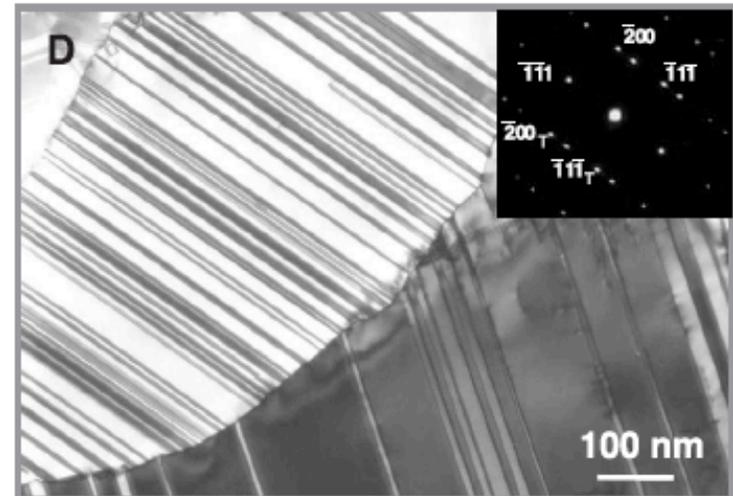
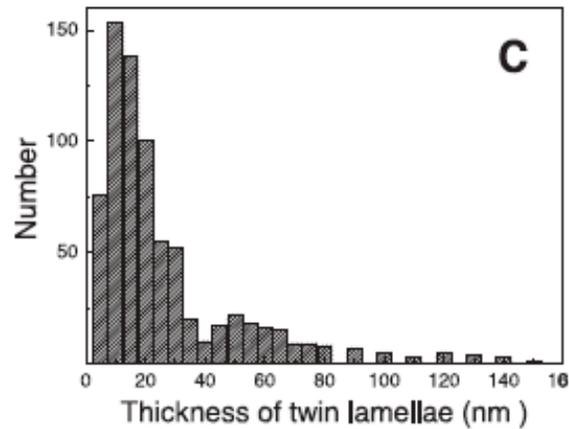
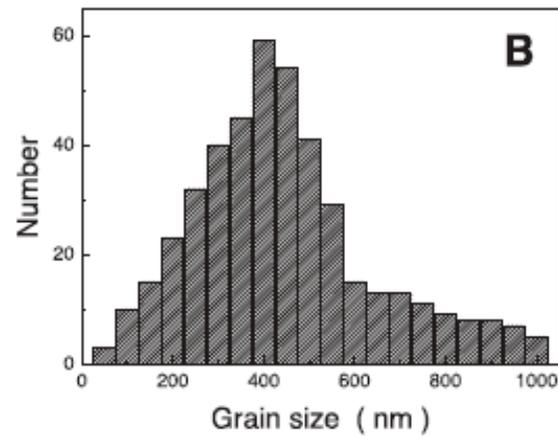
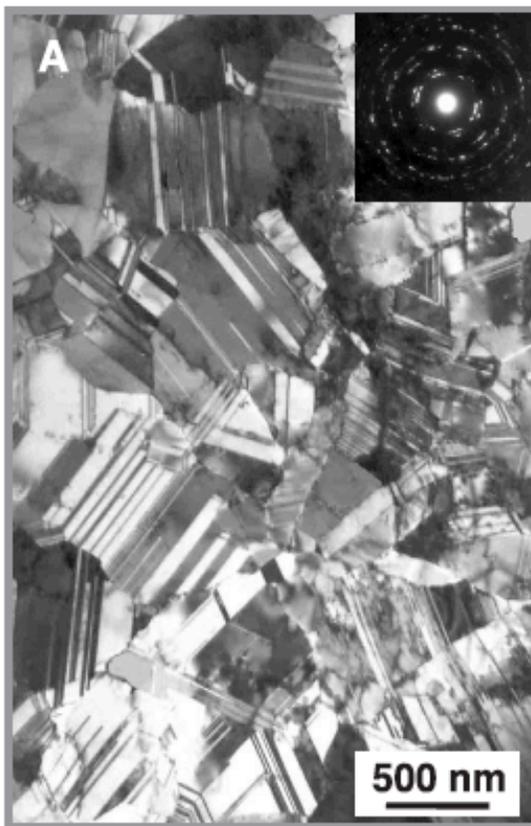


Campo escuro com o spot de TiB_2

Materiais Massivos Nanoestruturados

28

○ Nanomaclas

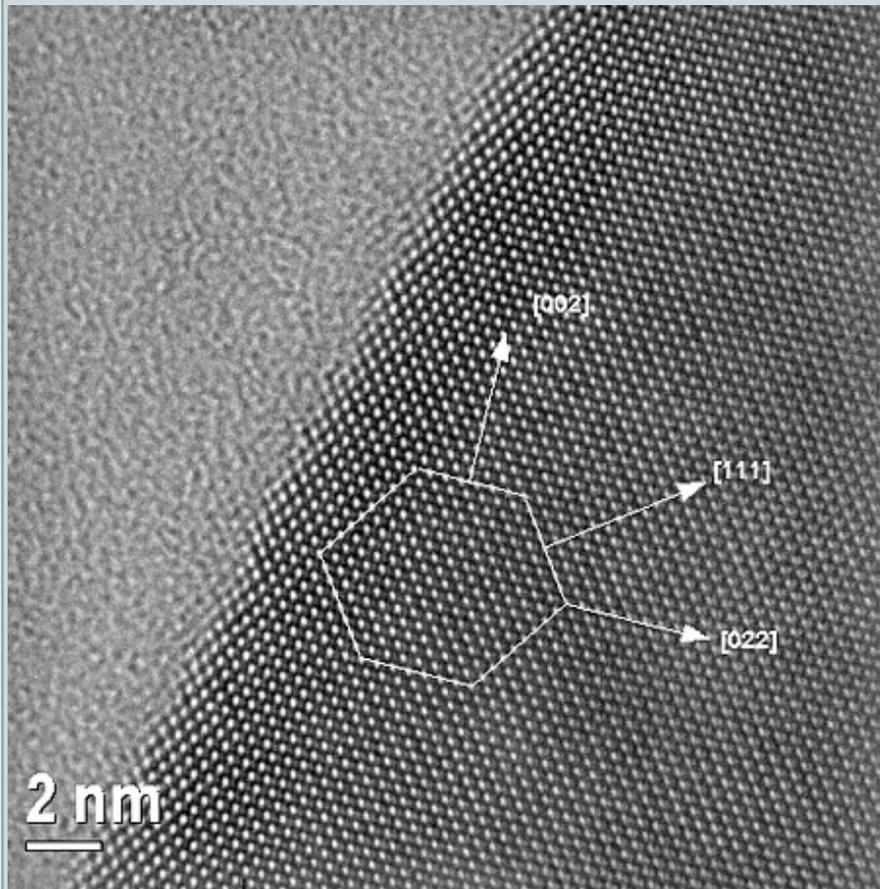


Lu, L. et al, Science, V. 304 (2004) p. 422-426

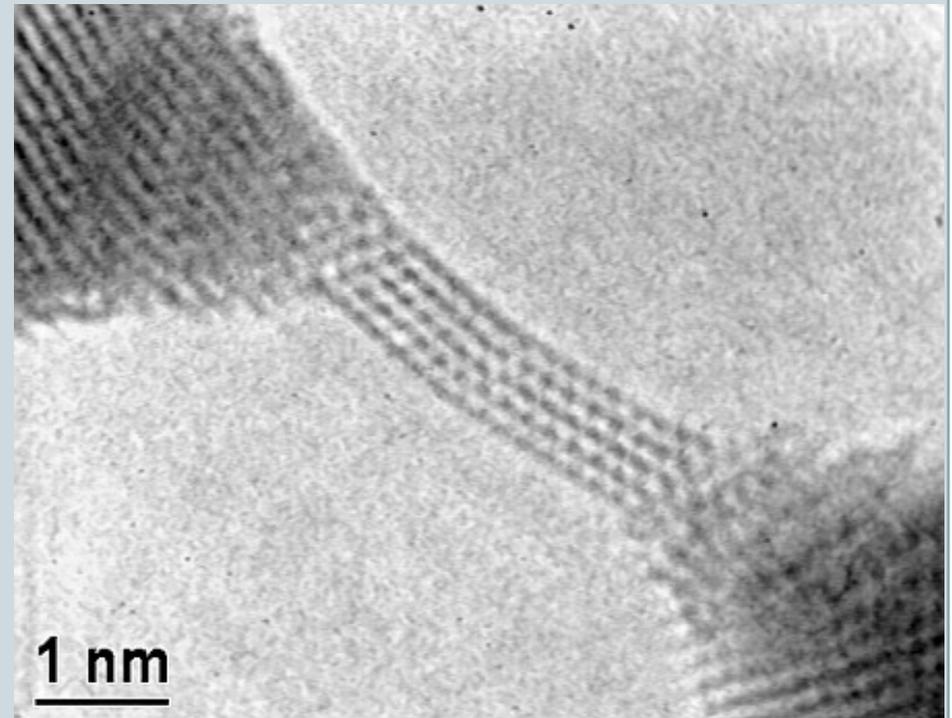
Exemplos de Alta Resolução

29

<http://www.sbmm.org.br>



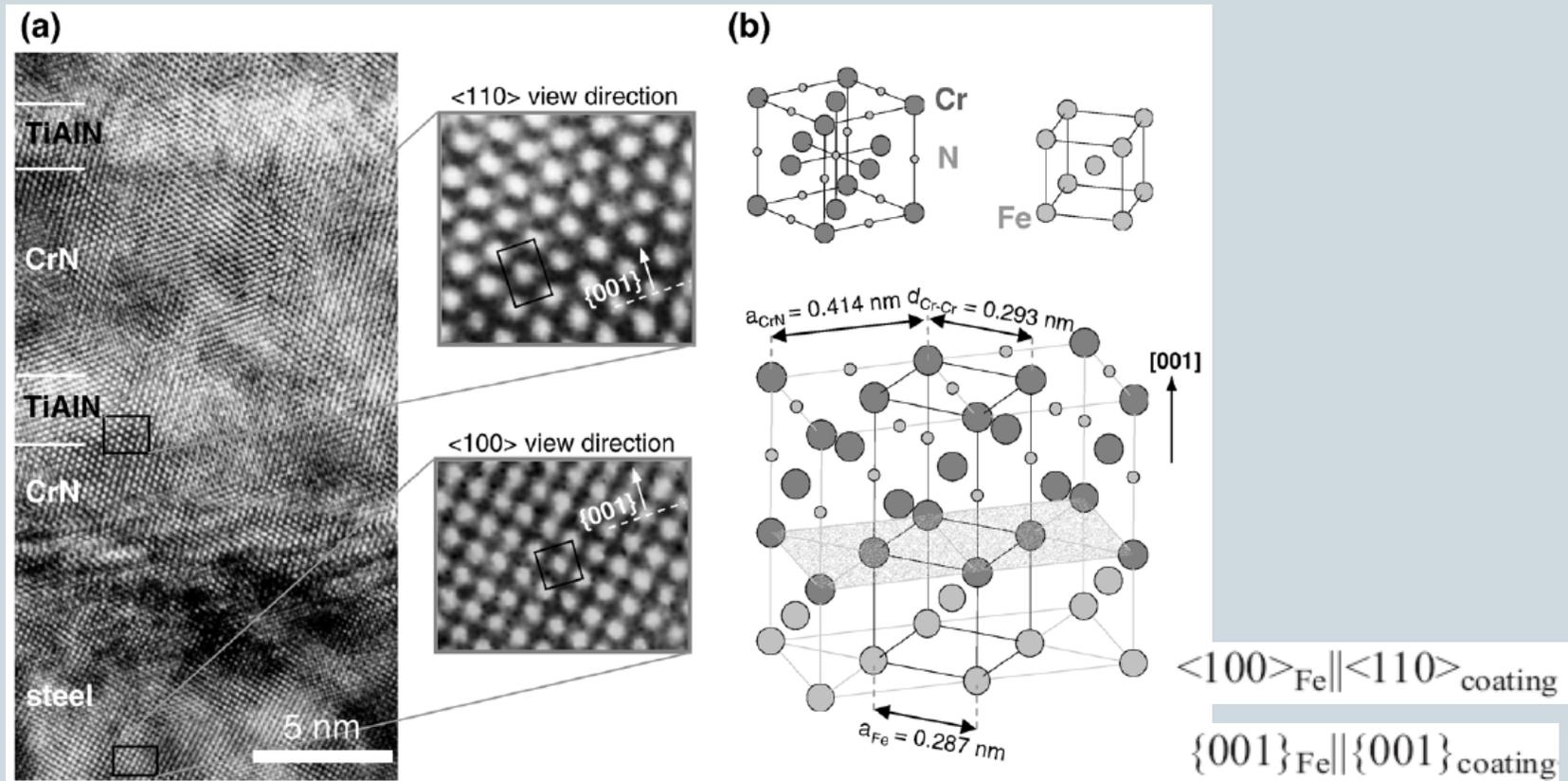
Nanofio de InP



Nanofio de Au

Revestimento Multicamada de TiAlN/CrN

30



Camadas alternadas de TiAlN e CrN sobre aço. Relação de epitaxia observada

Panjan et al. (2007)

Von Ardenne
construiu, em
1939, o primeiro
Scanning
Transmission
Electron
Microscope
(STEM)



<http://www.wikipedia.org>

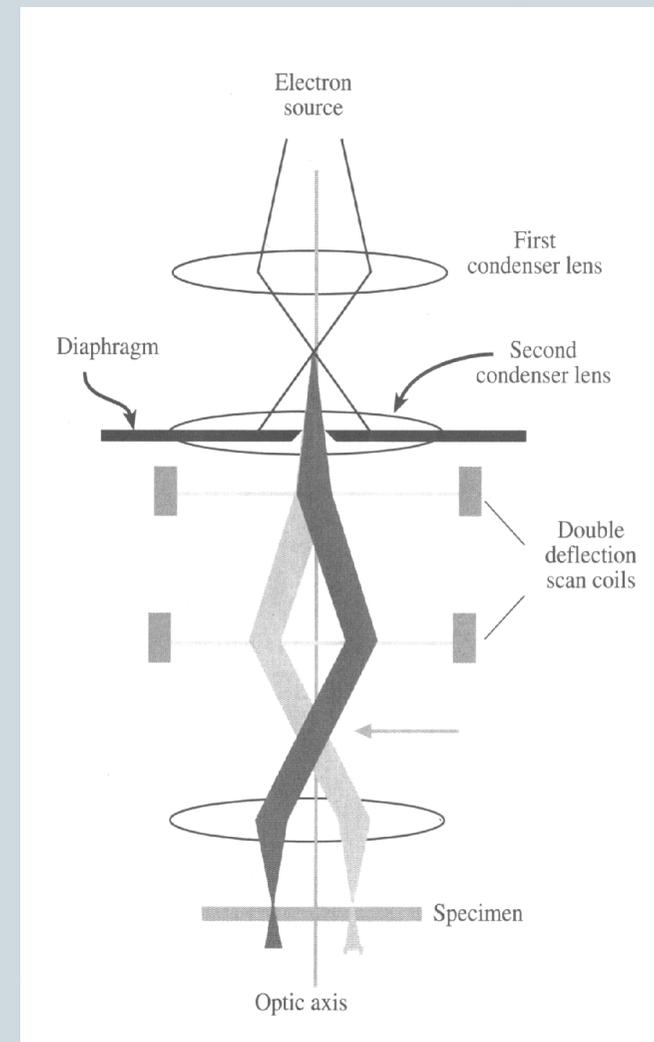
**Microscópio Eletrônico de
Transmissão com Varredura**

STEM

32

No STEM, um feixe convergente tão pequeno quanto possível varre a amostra sem variação de inclinação simulando a incidência paralela de um TEM.

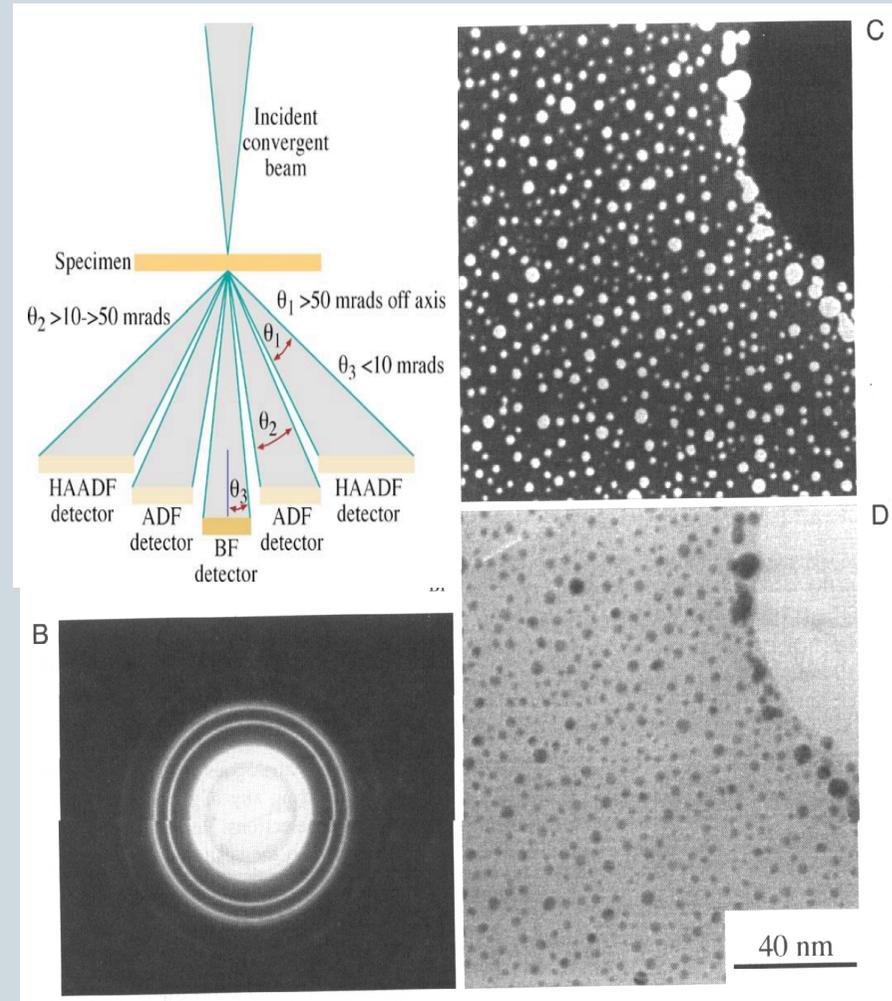
Williams e Carter, 1996



STEM

33

A construção de imagem de campo claro ou escuro depende apenas da seleção do sinal de interesse.



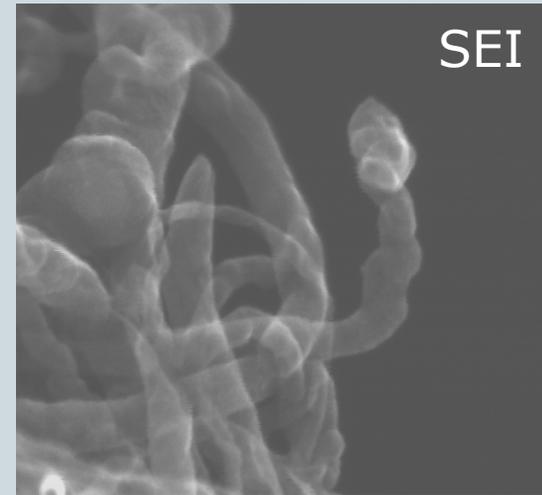
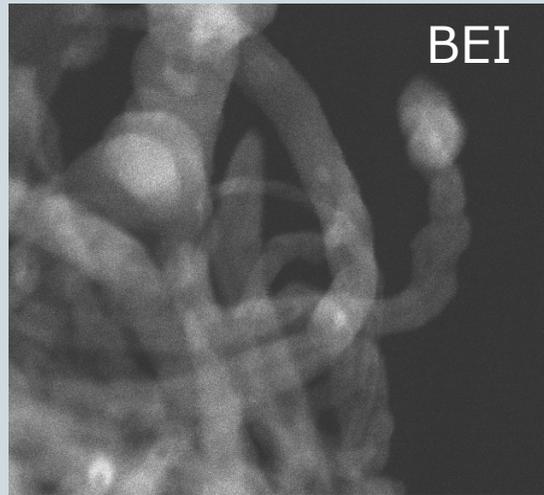
Williams e Carter, 1996

STEM

34

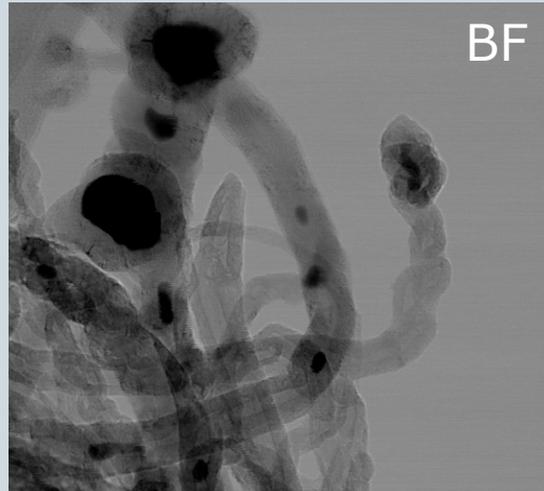
Catalisadores em nanotubos de carbono

Morfologia superficial com contraste de número atômico



Morfologia superficial

Transmissão

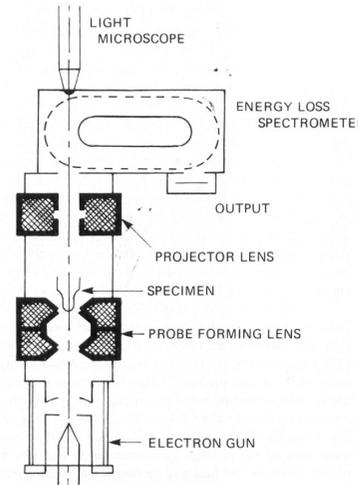


Contraste de número atômico

Jeol

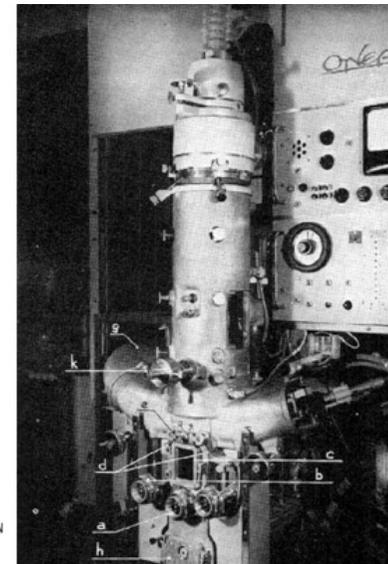
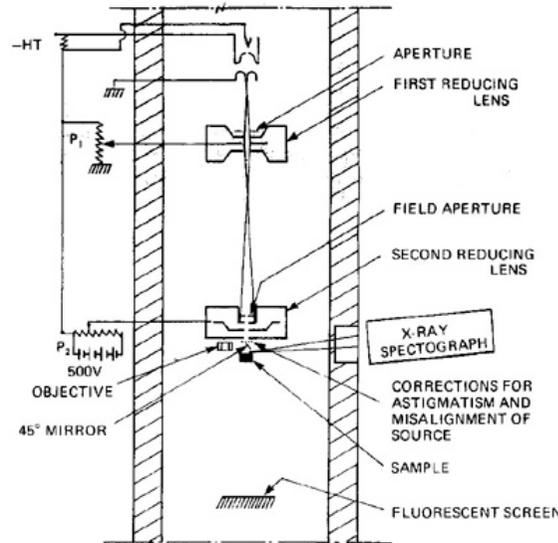
— 50 nm

Hillier desenvolve a espectroscopia da energia do feixe direto em 1944



Hillier mostra para Zworykin da RCA o primeiro espectrômetro de perda de energia dos elétrons (EELS) em 1944

Castaing desenvolve a análise de raios-X em 1951



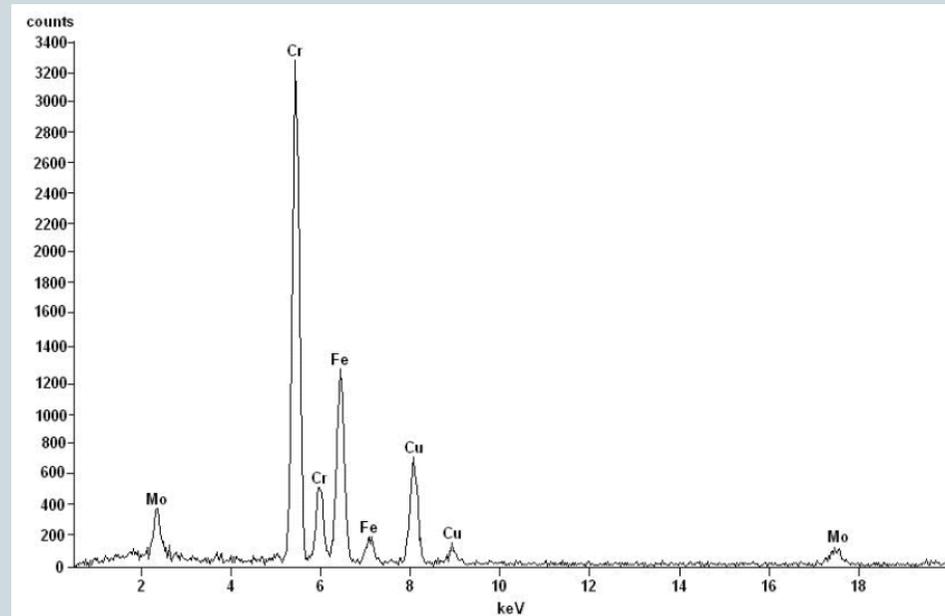
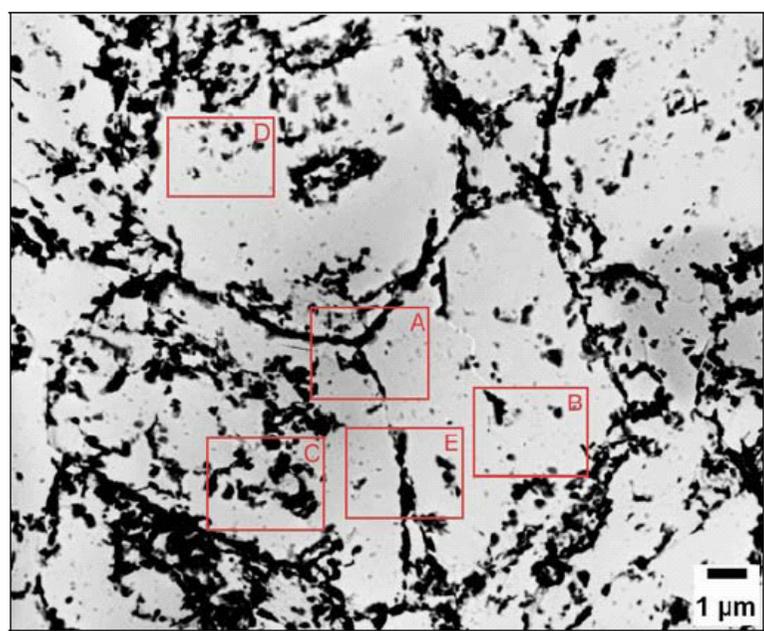
Raimond Castaing

Microcopia Eletrônica Analítica

Espectroscopia de Raios-X

36

Réplica de uma amostra de aço 2 1/4Cr 1 Mo com precipitados de M_7C_3 , $M_{23}C_6$, M_6C , VC, NbVC, $(CrMo)_2CN$ e Mo_2C

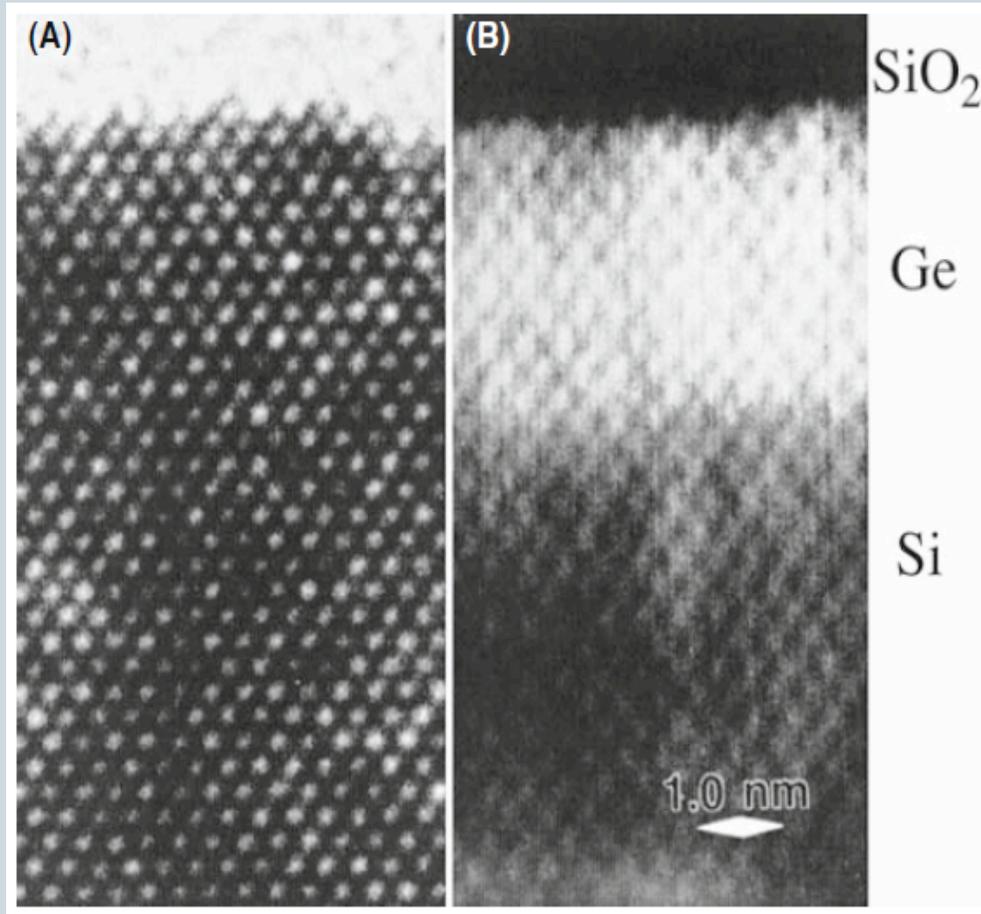


De Lima, C. R. et al. Engineering Failure Analysis 16 (2009) 1493-1500

STEM

37

TEM
Contraste de fase

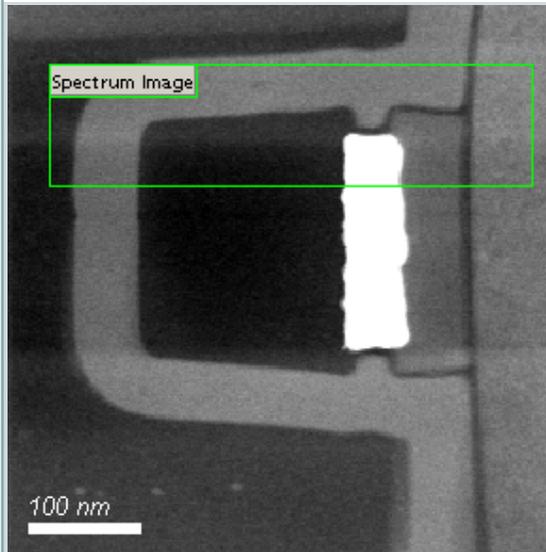


STEM
Contraste de Z

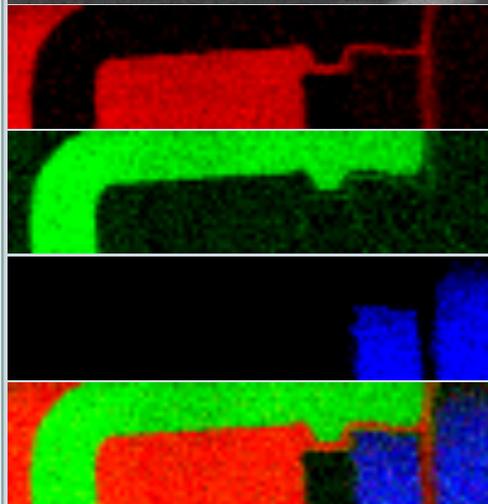
Williams e Carter

Espectroscopia de Perda de Energia dos Elétrons

38



STEM
HAADF
image

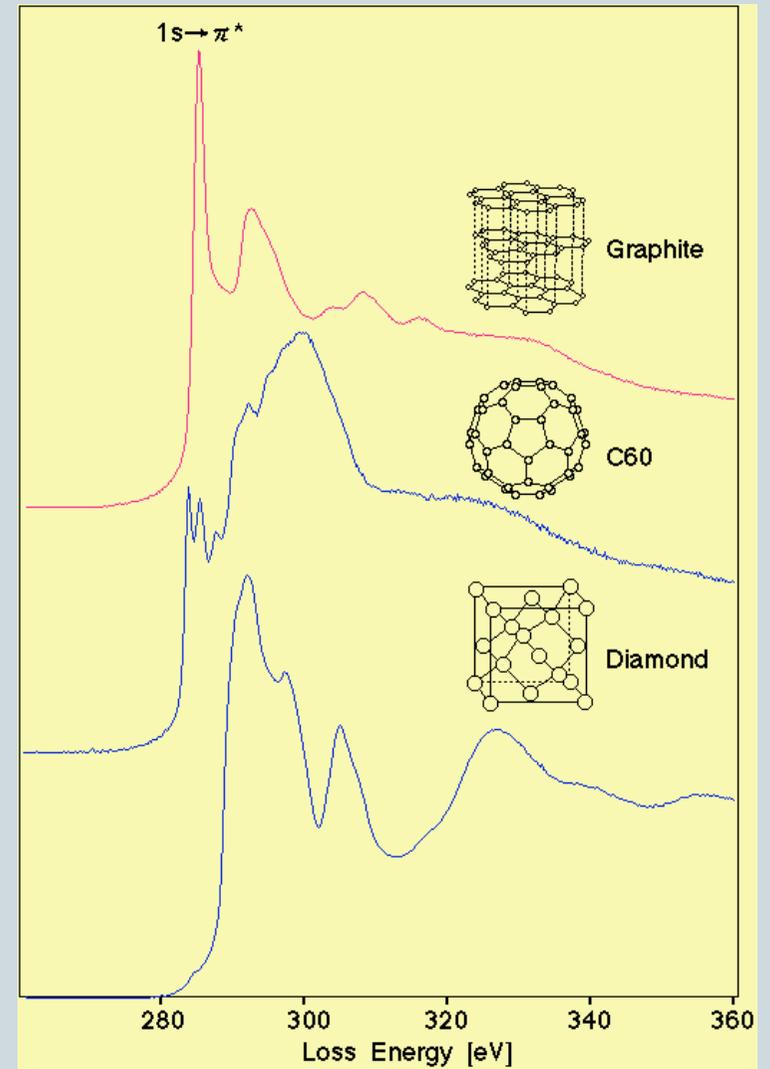


O-K map

N-K map

Si-L map

RGB map

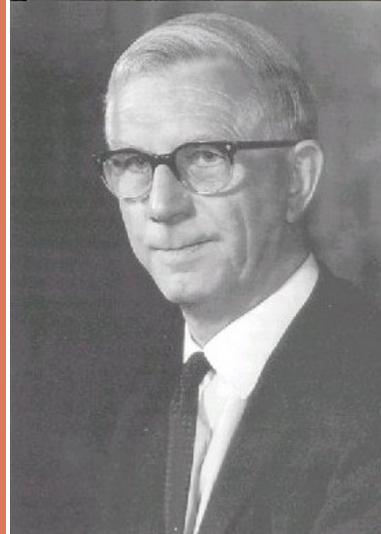
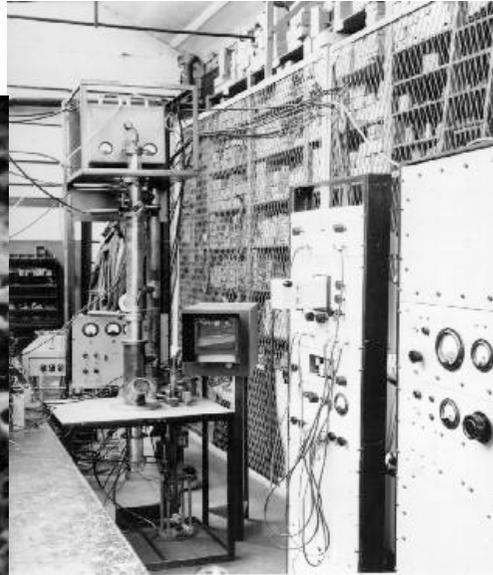


Gatan

Zworykin, em 1942, foi o 1º a construir um MEV na RCA; com uma resolução de 50nm, seu trabalho definiu os avanços a serem buscados nas próximas 3 décadas.

Mas foram as pesquisas iniciadas por Sir Charles Oatley, em 1948, na Universidade de Cambridge que levaram ao lançamento em 1965 do 1º MEV comercial.

SEM I

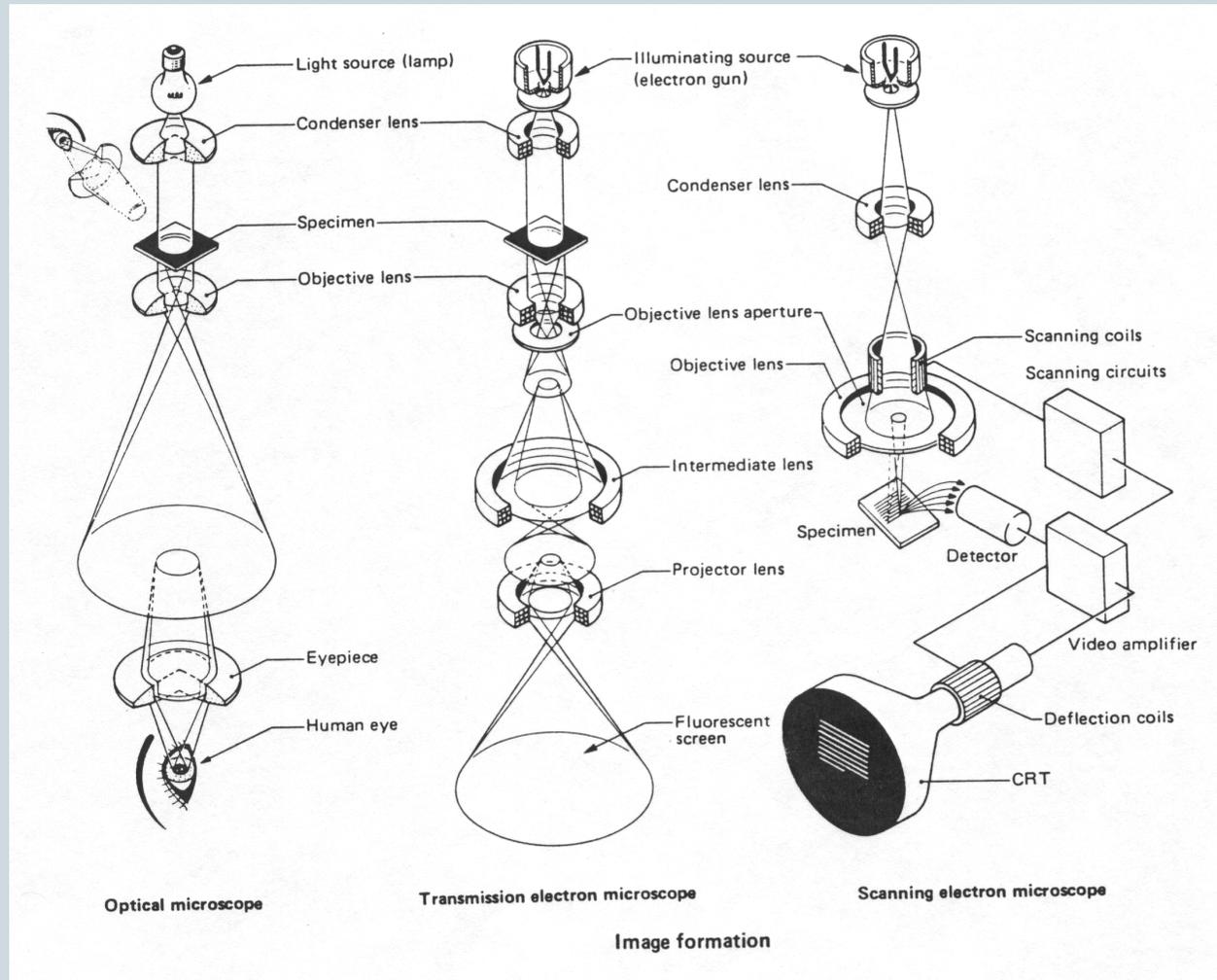


Cambridge S150

Microscópio Eletrônico de Varredura

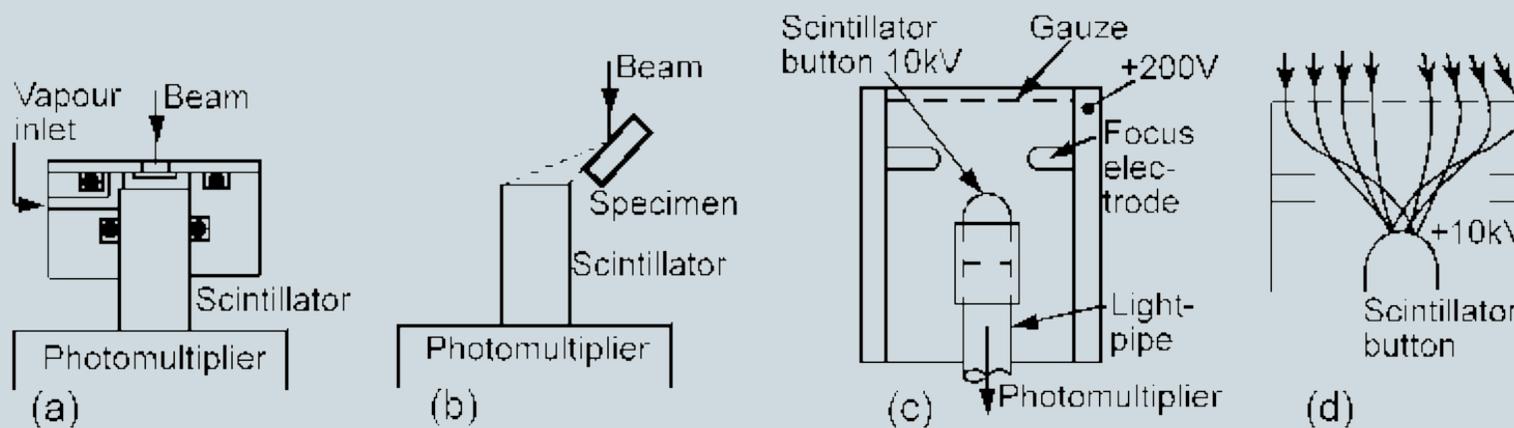
Arquitectura

40



Evolução

41



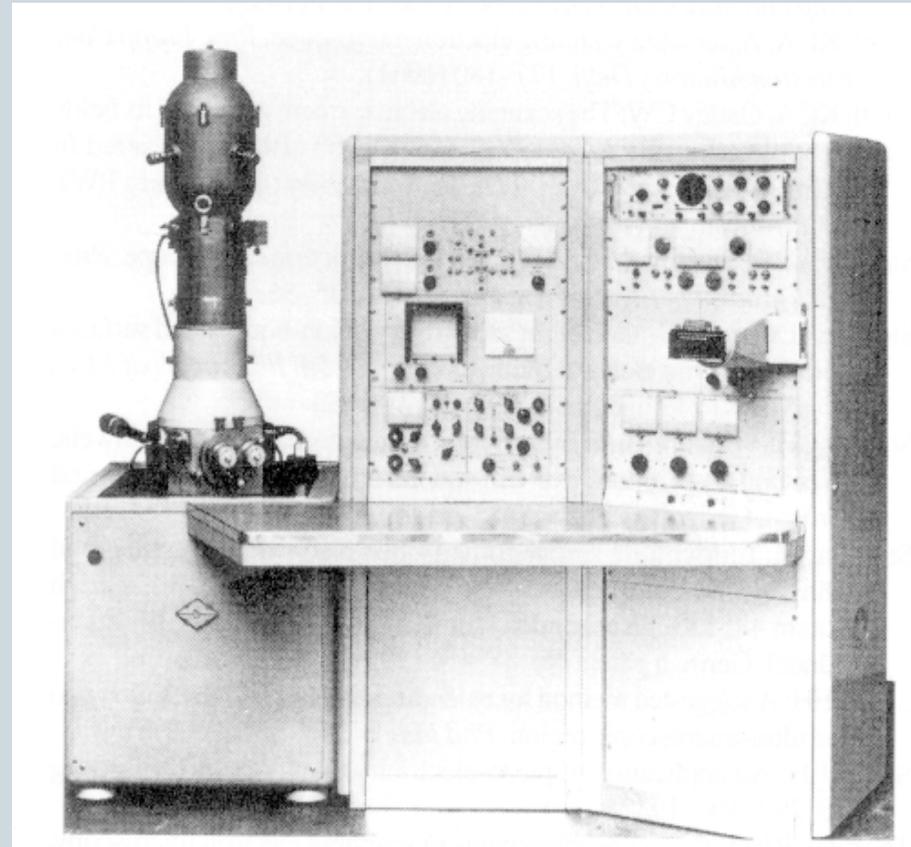
Detectores de e- desenvolvidos pelo grupo de Sir Charles Oatley

<http://www2.eng.cam.ac.uk/~bcb/cwo1.htm>

Evolução

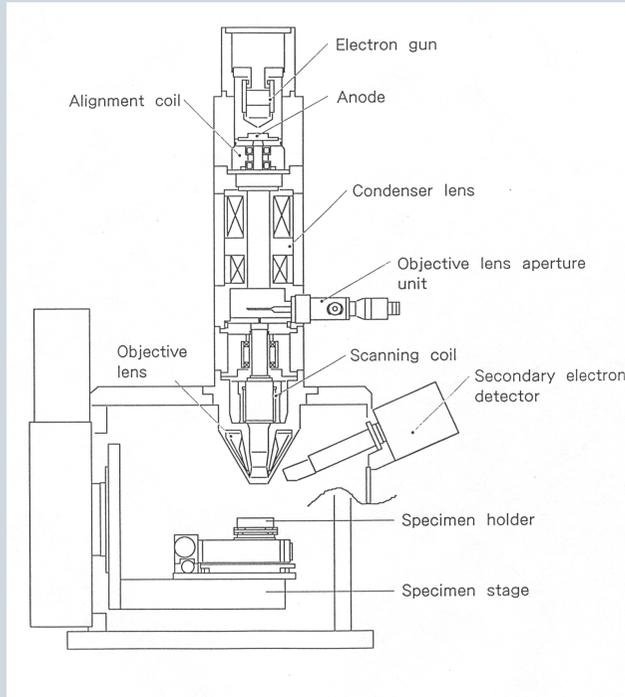
42

- O grupo de Sir Charles Oatley resolveu a maior parte dos problemas mapeados por Zworykin, entre eles a detecção eficiente de elétrons secundários, desenvolvida por Everhart e Thornley (1960).
- A Metropolitan Vickers (AEI) produziu uma versão do SEM III do grupo de Cambridge, mas ao comercializar vendeu uma versão de seu microanalisador que foi devolvida. Esta versão do SEM III foi instalada no Paper Research Institute of Canada e utilizada por diversas empresas.
- Oatley convence então a Cambridge Instruments Company a produzir dois protótipos do SEM V para a Du Pont, assim nasce o Mark I Stereoscan.



MEVs Modernos

43



Jeol

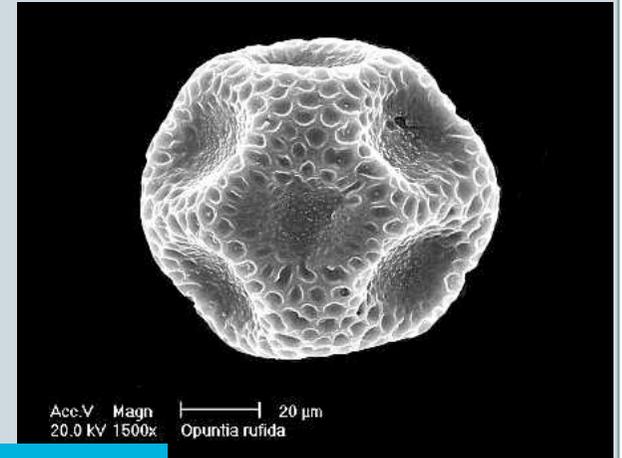


Phenom

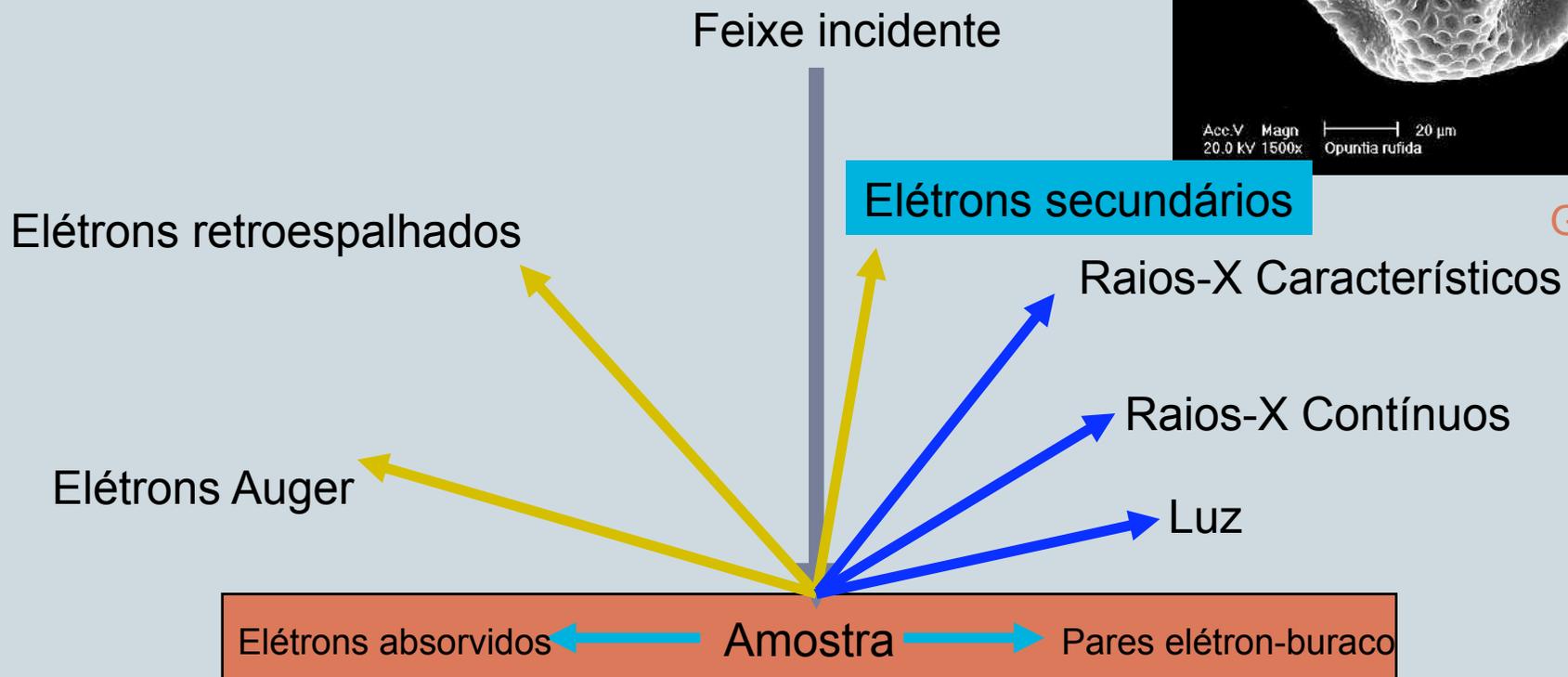
Principais Sinais

44

Morfologia



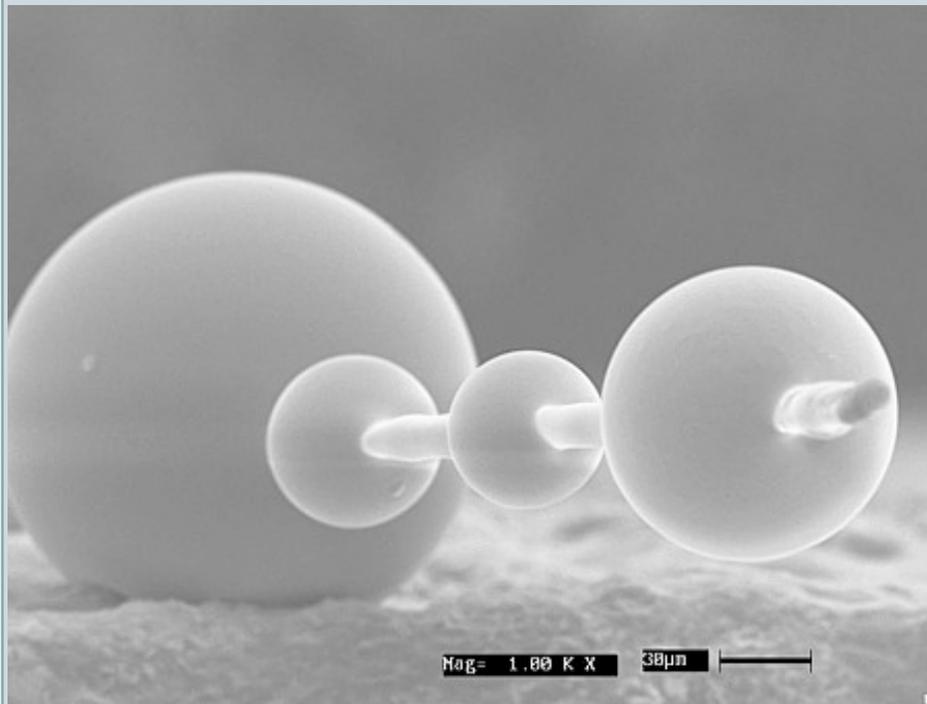
Goldstein



Topografia

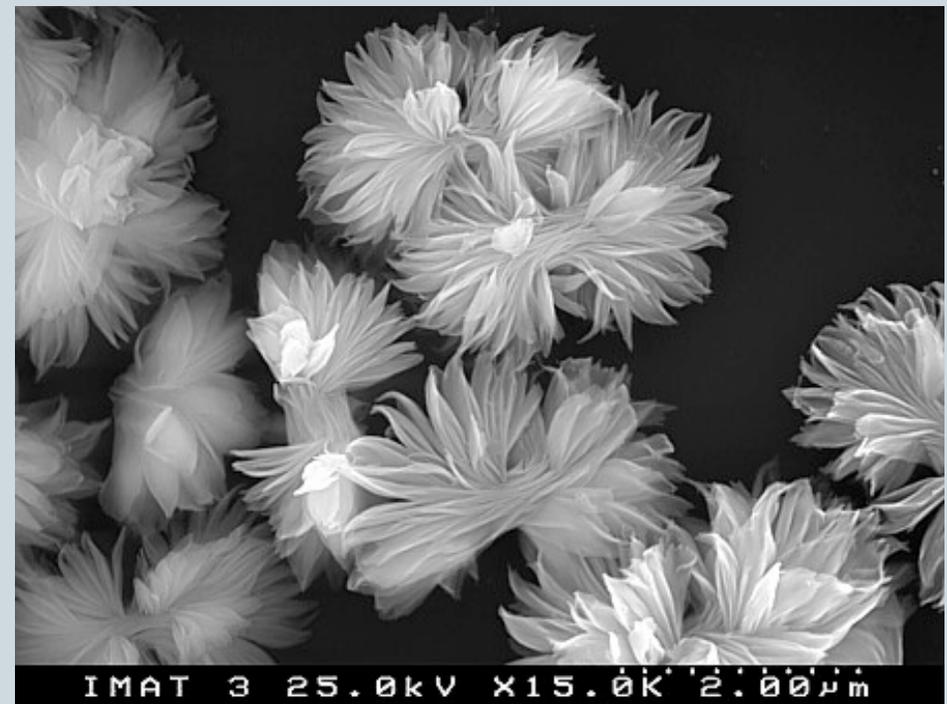
45

<http://www.sbmm.org.br>



Gotas de polímero em fibra de carbono

<http://www.sbmm.org.br>

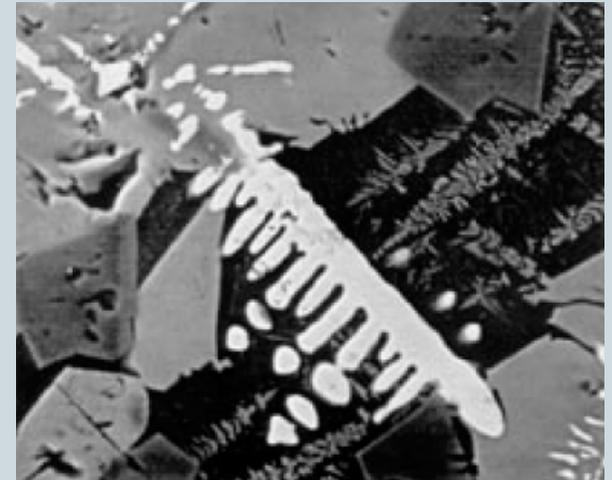


Hidroxiapatita

Principais Sinais

46

Contraste de Número Atômico



Jeol

Elétrons retroespalhados

Feixe incidente

Elétrons secundários

Raios-X Característicos

Raios-X Contínuos

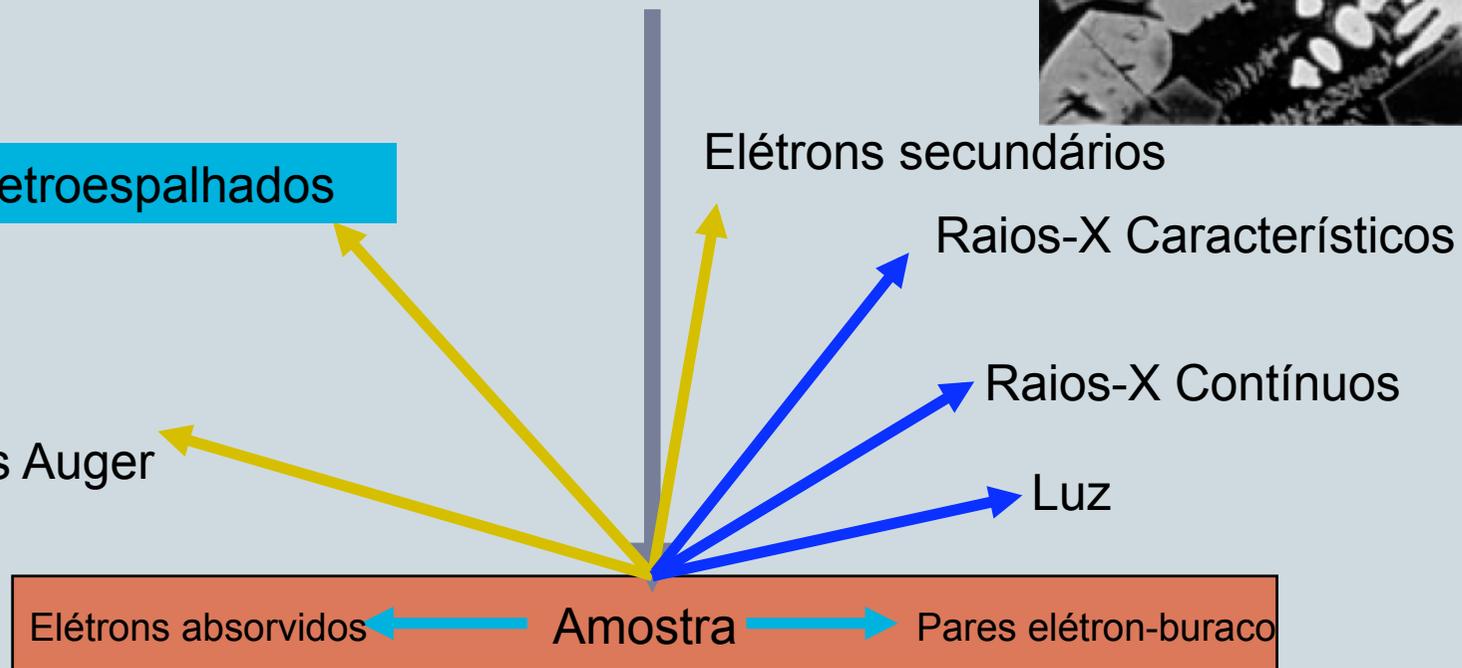
Elétrons Auger

Luz

Elétrons absorvidos

Amostra

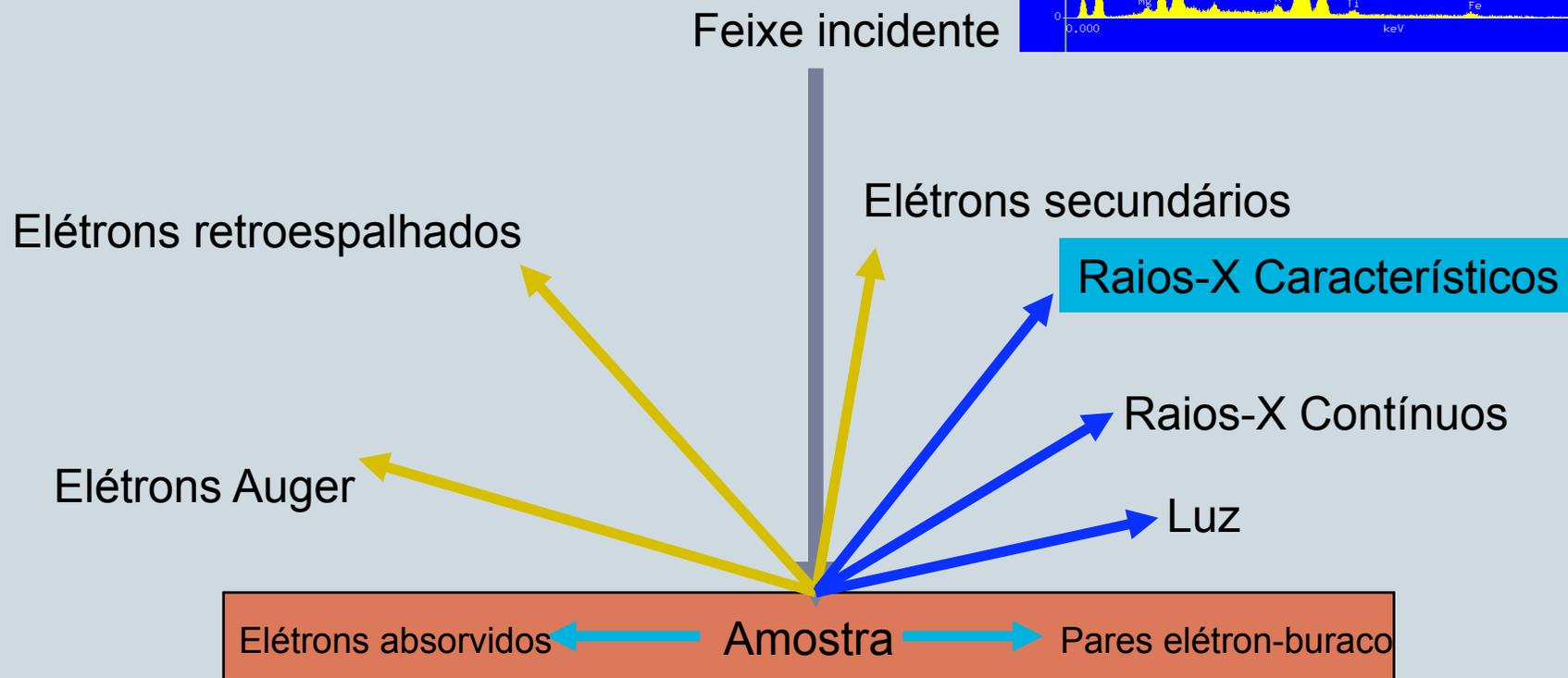
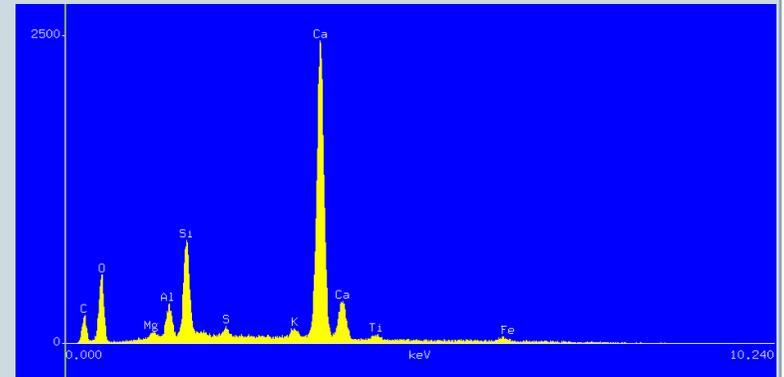
Pares elétron-buraco



Principais Sinais

47

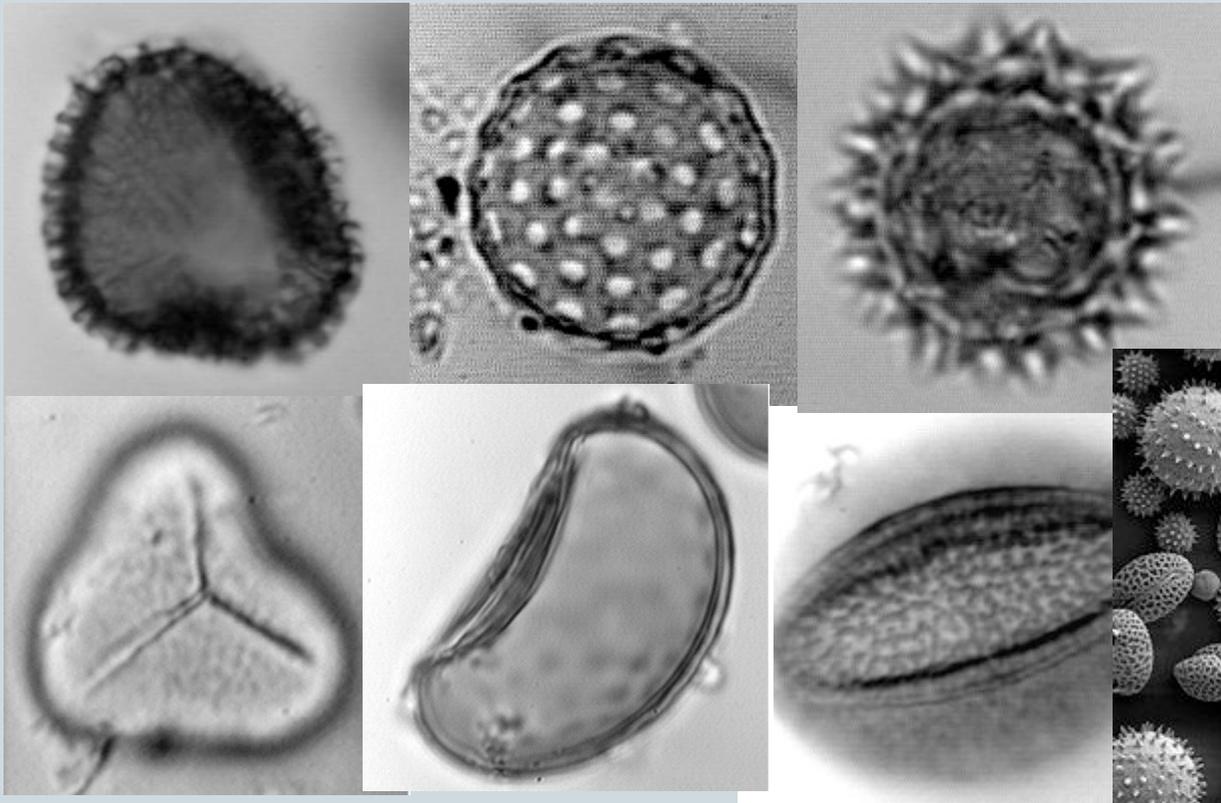
Composição Química



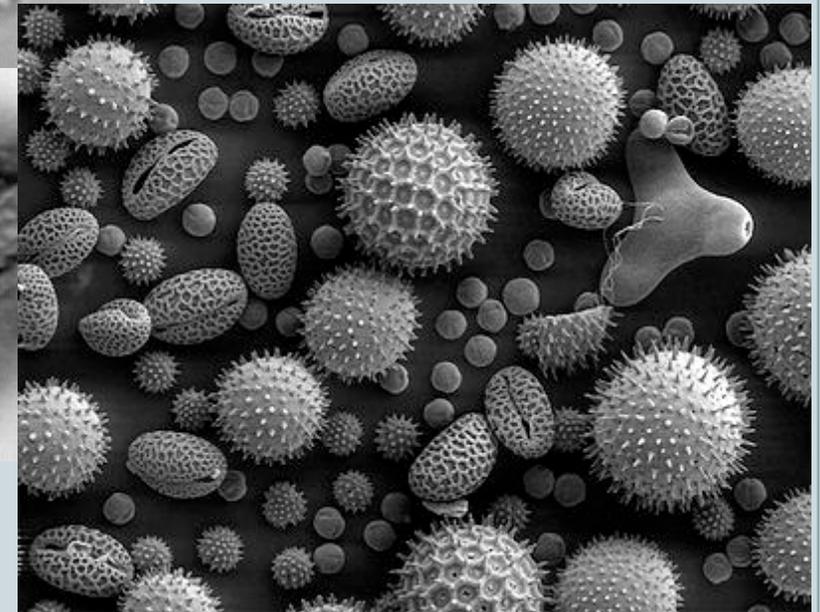
Ferramenta para Taxonomia

48

Pólen observado no MO

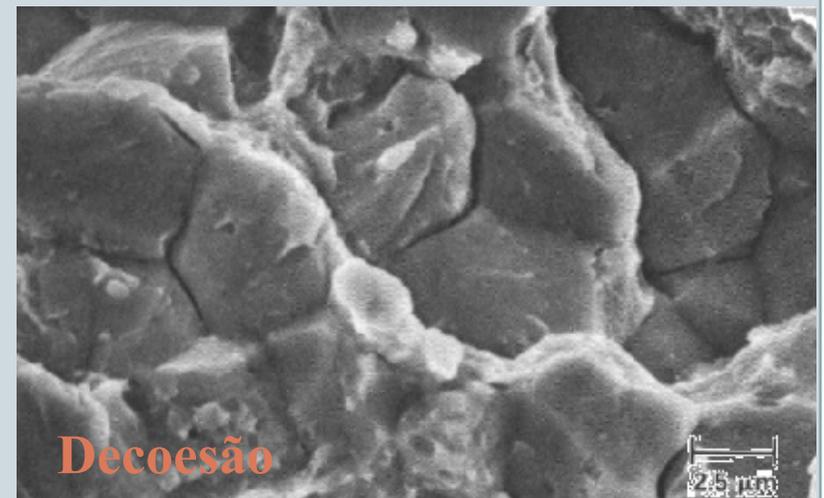
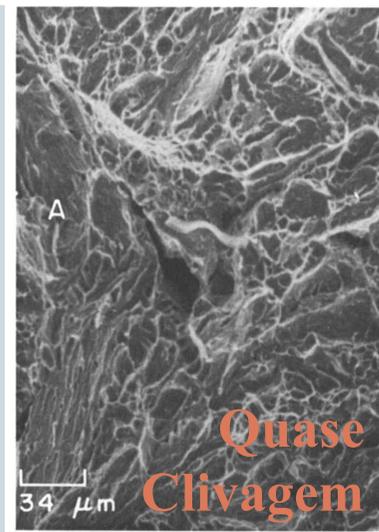
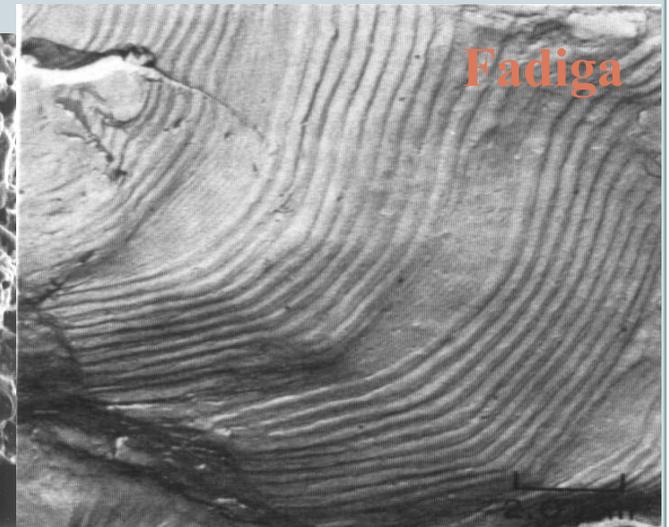
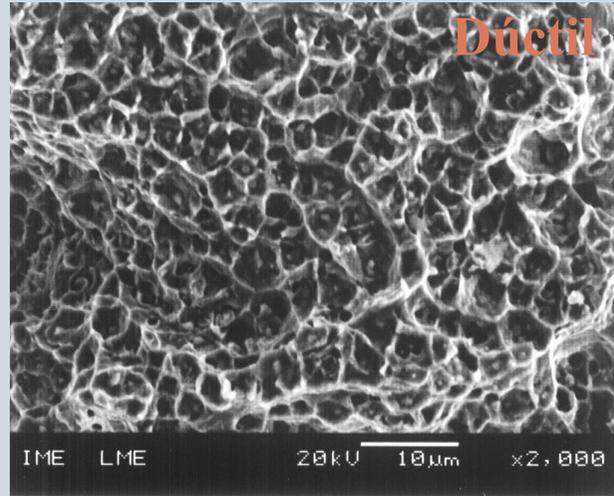
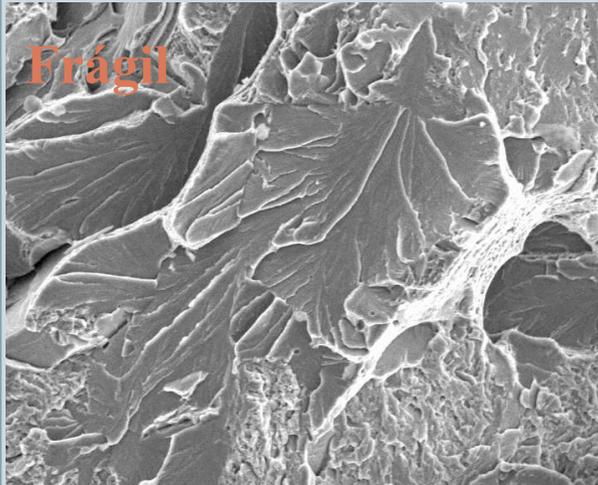


Pólen observado no MEV



Fratografia

49



Nanocordas

50

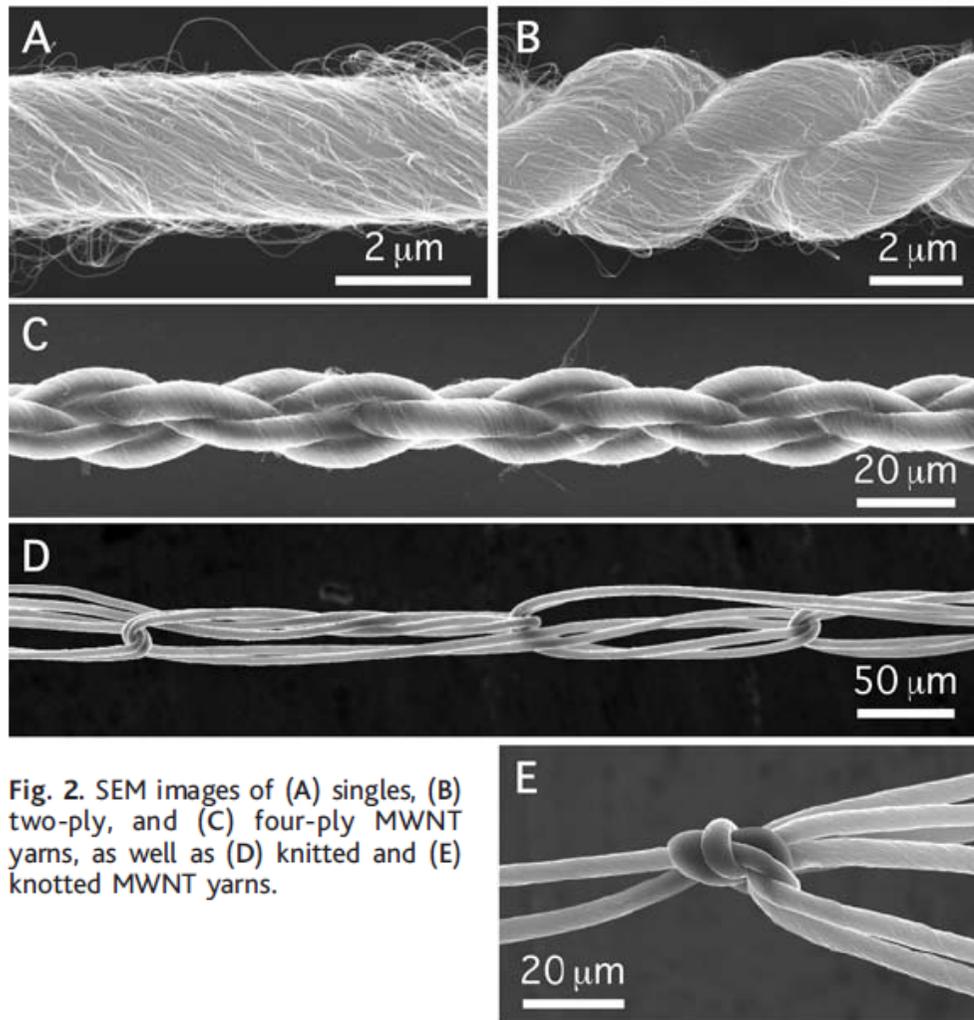
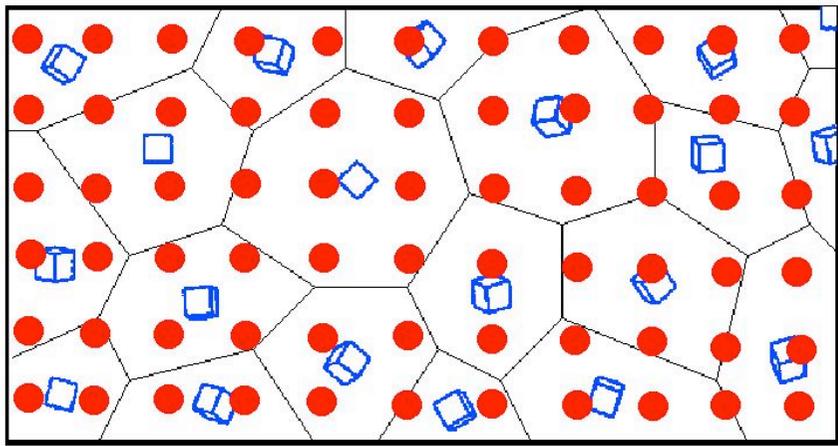


Fig. 2. SEM images of (A) singles, (B) two-ply, and (C) four-ply MWNT yarns, as well as (D) knitted and (E) knotted MWNT yarns.

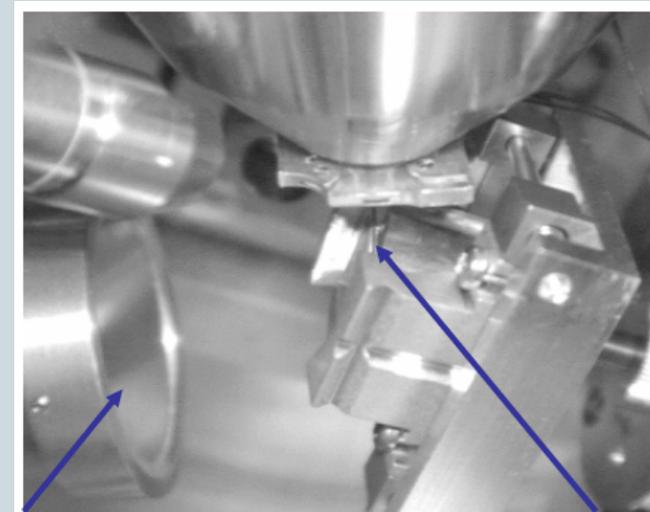
Zhang, M. et al. *Science* 306, 2004, p. 1358-1361

Difração de Elétron Retroespalhados

51

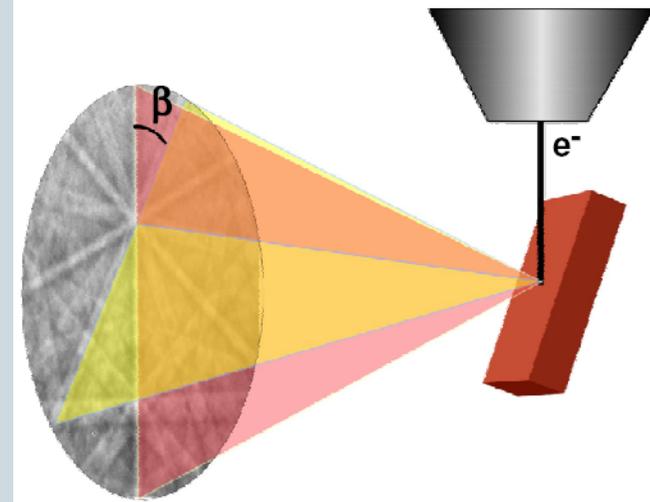


- A largura das bandas está diretamente relacionada ao espaçamento interplanar.
- O ângulo entre as bandas corresponde ao ângulo entre os planos cristalinos.
- A posição das bandas está ligada à posição dos planos.



phosphor screen

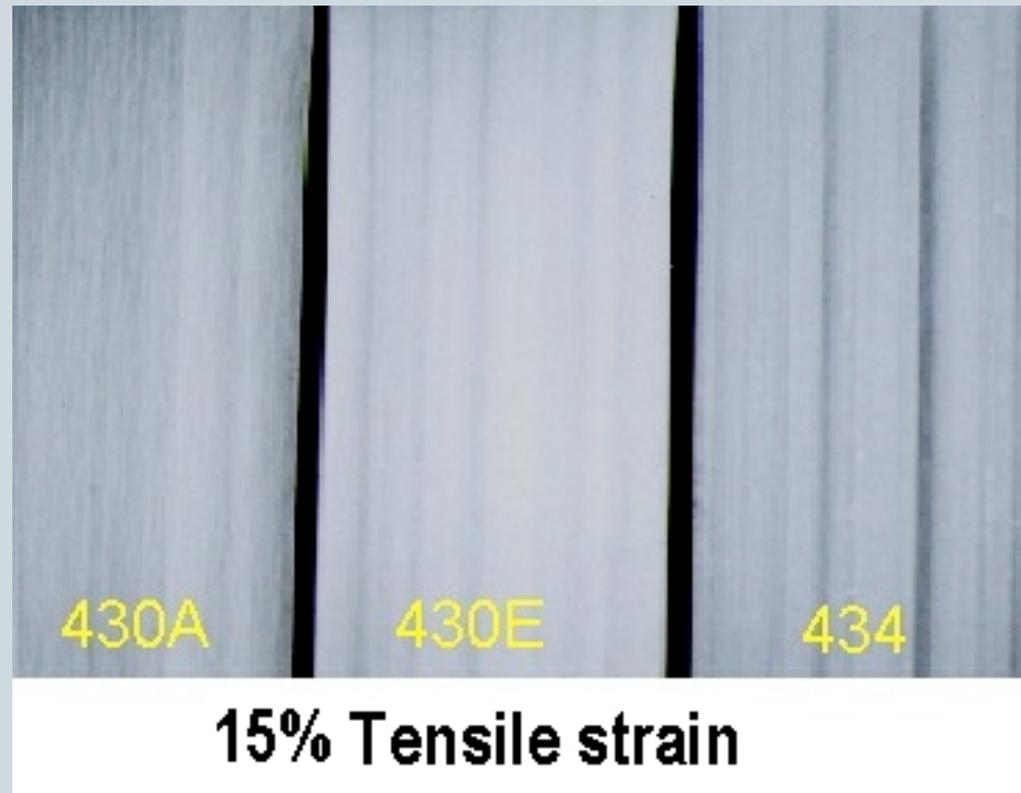
specimen



INOX Ferrítico

52

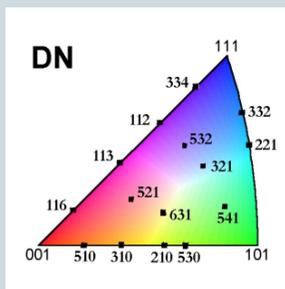
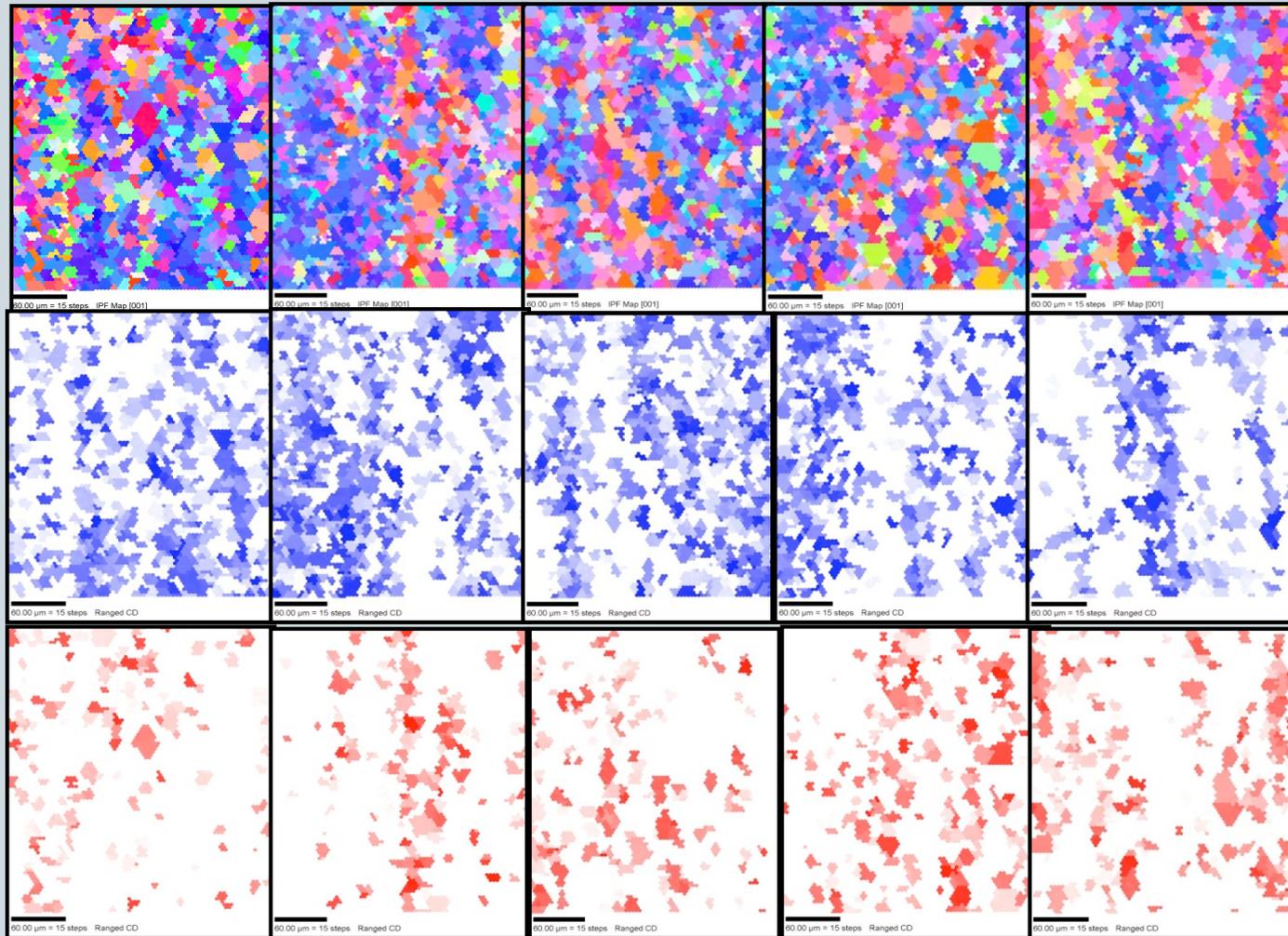
O fenômeno de "ridging" corresponde a um estriamento da chapa ao ser estirada no momento da conformação da peça final.



INOX Ferrítico

53

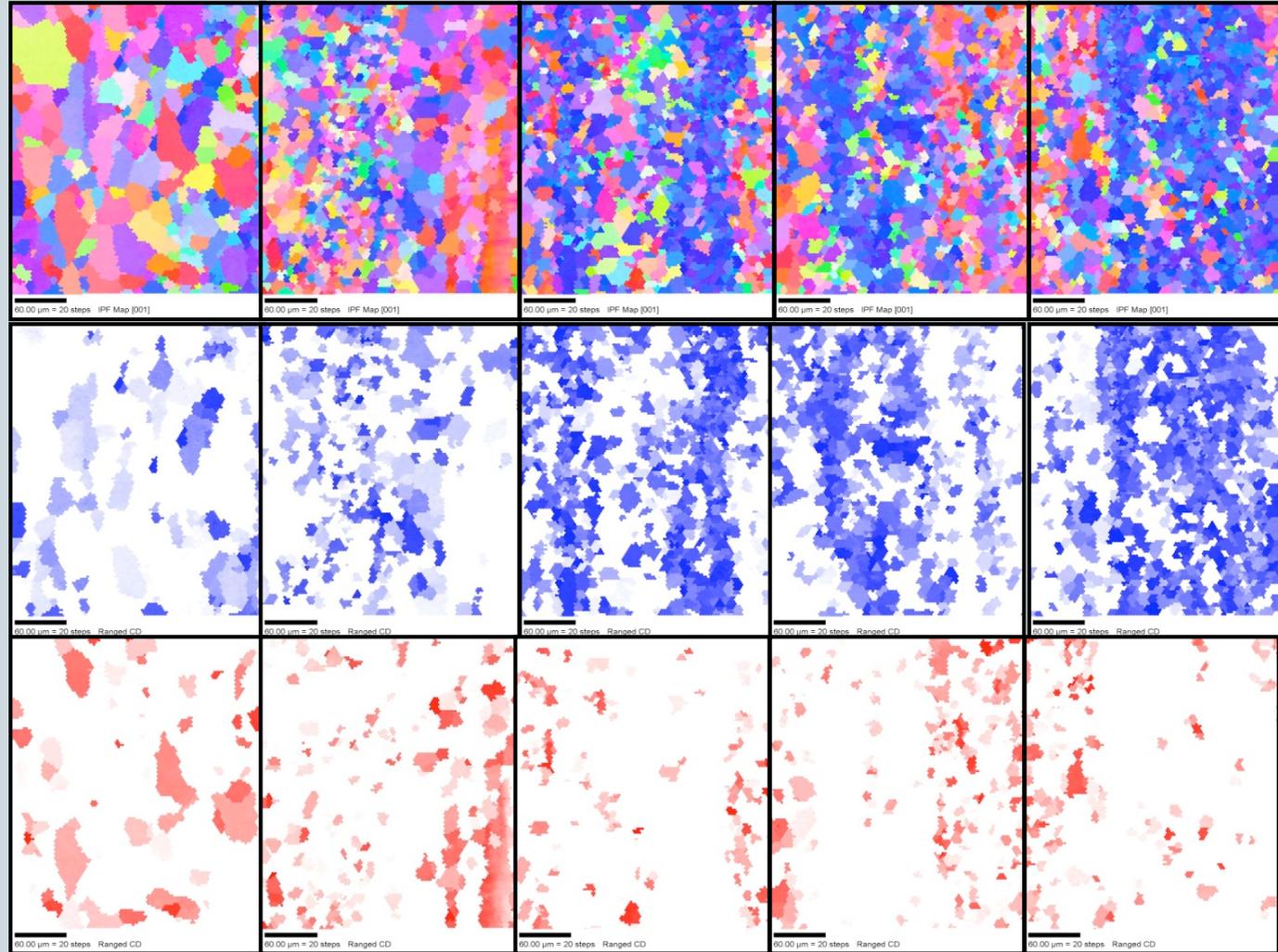
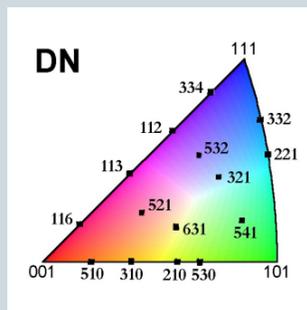
AISI 430A



INOX Ferrítico

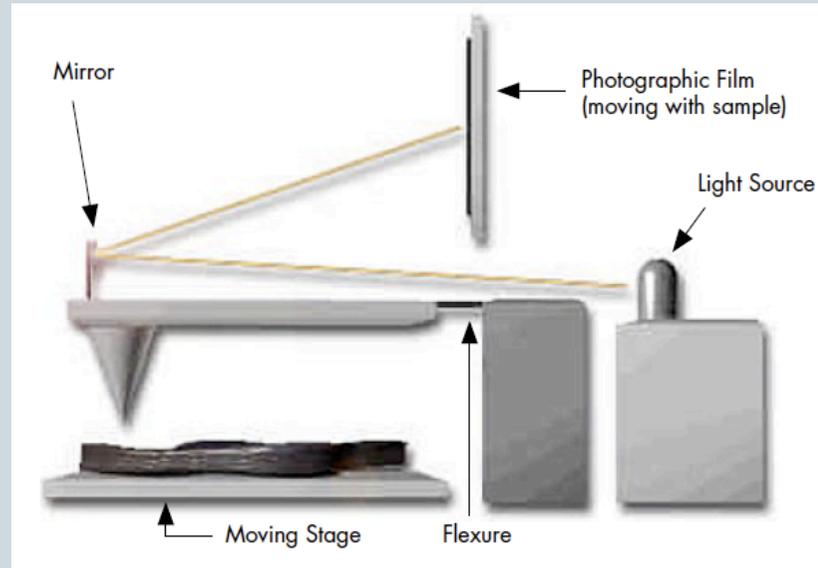
54

AISI 434



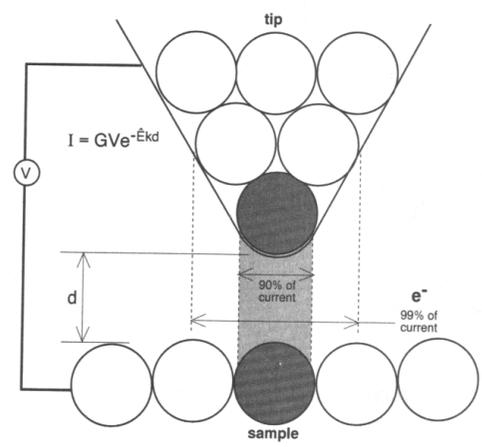
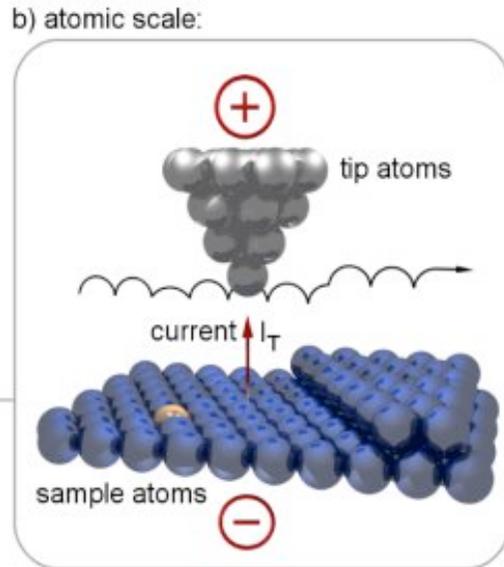
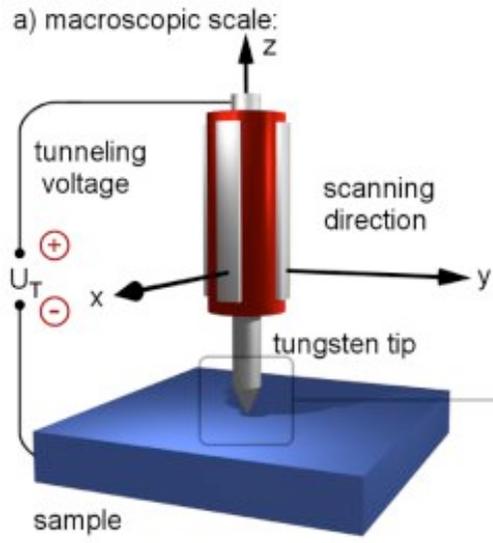
Origens do SPM

- Em 1929, Achamizcriou um perfilômetro capaz de fornecer imagens com aumentos de até 1.000x



- Em 1971, Russell Young criou o “Topographiner”, sem contato direto entre a ponta e a amostra, aproveitando a emissão por campo a partir de uma ponta muito fina. Piezoelétricos eram utilizados para mover a ponta

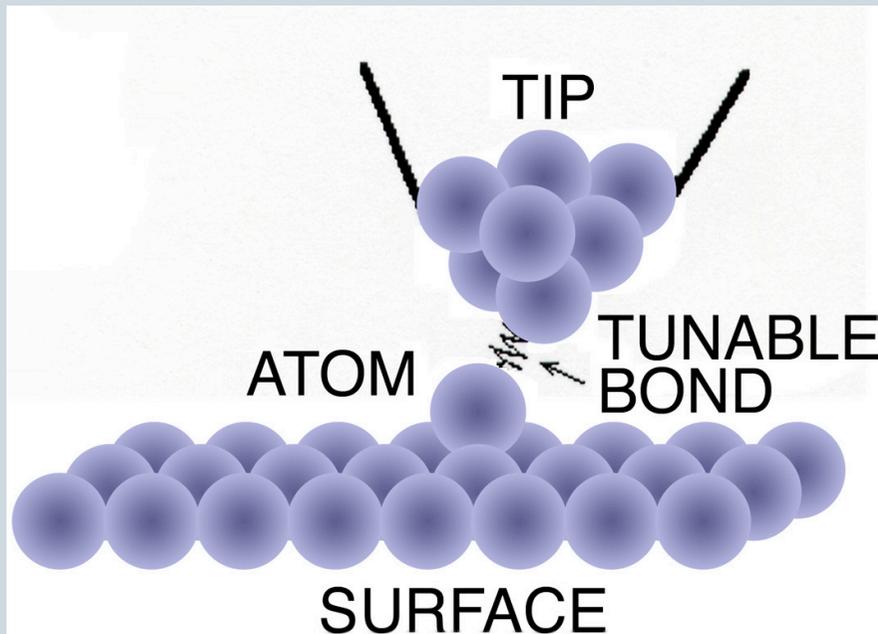
Binnig e Rohrer receberam o Nobel também em 1986 pelo primeiro STM em 1981



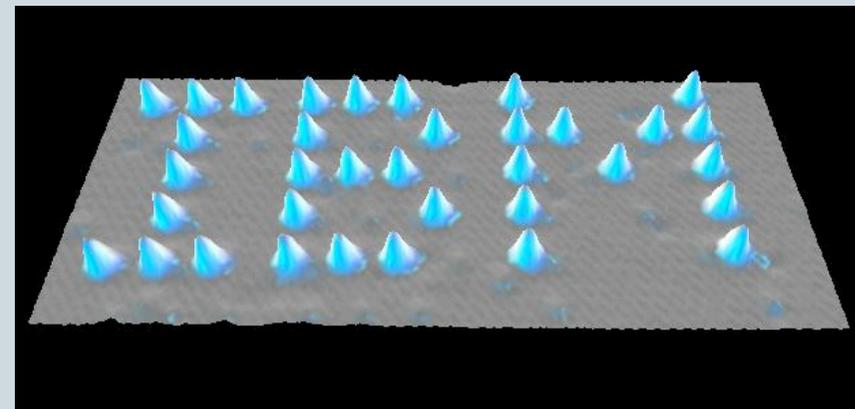
Microscópio de Ponta de Prova

Uma poderosa ferramenta de litografia

57



Com a diminuição da distância, é possível mover os átomos

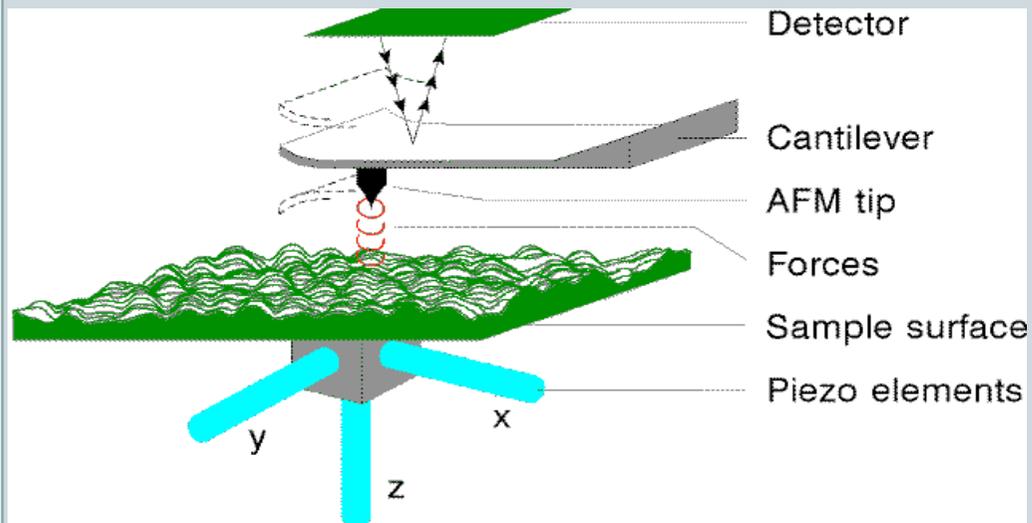


Átomos de Xe sobre superfície de Ni
Letras – 5 nm

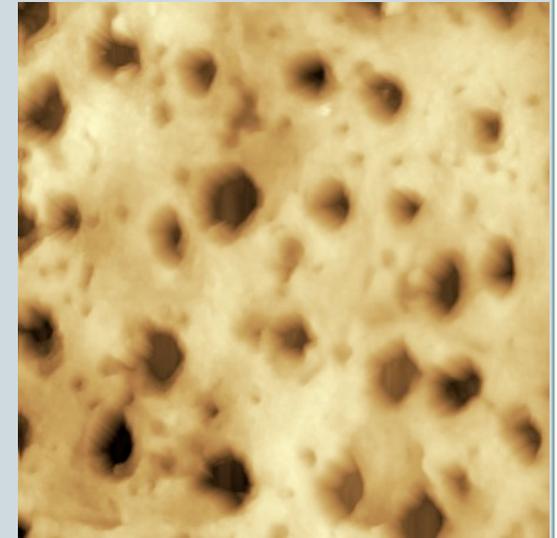
Microscópio de Força Atômica

58

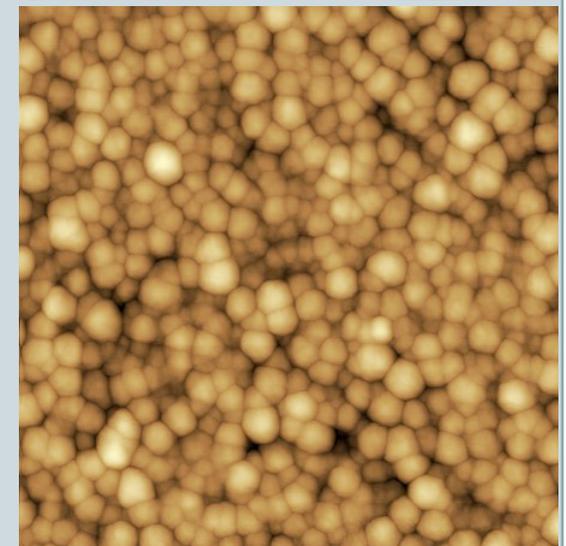
- Em 1986, Binnig e Rohrer inventam o AFM



Superfície Dentinária



Filme de Polipirrol



Um mundo de possibilidades na ponta de um SPM

59

- **Elétrica**

- Tunelamento de elétrons (1981)
- Capacitância (1984)
- Força eletrostática (1987)
- Emissão balística de elétrons - barreira Schottky (1988)
- Fotovoltagem (1990)
- Resistividade
- Constante dielétrica

- **Força**

- Topografia da superfície (1986)
- Força atrativa - resolução de 5 nm (1987)
- Força ficcional (lateral) (1987)
- Microscopia acústica de campo próximo de baixa frequência - resolução de 10 nm (1989)
- Microscopia de absorção de fônons (1989)
- Adesão
- Dureza
- Resistência mecânica
- Elasticidade

- **Magnética**

- Força magnética - resolução 100nm (1987)

- **Óptica**

- Luz de campo próximo - resolução 50nm (1982)
- Espectro de luminescência (1988)
- Espectro Raman IR
- IR Distante (1996)

- **Térmica**

- Varredura térmica - resolução de 50 nm (1985)
- Condutividade e difusividade térmica
- Calor específico
- Calorimetria de mudança de fase
- Análise mecânica-térmica

- **Química**

- Varredura eletroquímica (1989)
- Espectrometro de absorção - resolução 1nm (1989)
- Varredura de condutância de íons 500nm em eletrólitos (1989)
- Varredura de potencial químico (1990)
- Monitoramento de deposição eletroquímica *in-situ* (1997)
- Monitoramento de corrosão *in-situ*

- **Biológica**

- Micropipeta molecular

A Microscopia Eletrônica no Brasil

60

- Em 1947 a RCA (Radio Corporation of America) trouxe dois modelos de microscópio para demonstração, o EMC e o EMU, os quais foram temporariamente instalados, no Rio de Janeiro, no Instituto Oswaldo Cruz e na Polícia Técnica. Posteriormente, estes equipamentos foram instalados em São Paulo, na Escola Politécnica da USP e na Fundação Andrea e Virginia Matarazzo (Faculdade de Medicina da USP).
- O Laboratório de Microscopia Eletrônica da Escola Politécnica foi apoiado pela Fundação Rockefeller. Posteriormente passou para o Instituto de Física e recebeu pesquisas das áreas de Física, Materiais e Biologia num salutar ambiente multidisciplinar
- Em 1951, Carlos Chagas trazia um microscópio eletrônico para o Instituto de Biofísica da UFRJ, onde Hertha Meyer continuou seus estudos sobre o *Trypanosoma cruzi*. Mas tarde, o Dr Raul Machado também se agrega a este instituto após anos de trabalho em microscopia ótica no Jardim Botânico
- A partir da década de 60 diversos laboratórios são montados nos centros de pesquisa e universidades brasileiras dando origem a uma comunidade muito ativa e interdisciplinar

Panorama Atual

61

- Há centenas de microscópios espalhados pelo país, com destaque para os moderníssimos laboratórios do LNLS, INMETRO, UFMG, CETENE e, em breve, CBPF.
- Nossa tradição tem estado principalmente no uso como técnica de análise nos diversos campos do conhecimento, mas gradativamente começamos a ter mais trabalhos na instrumentação e teoria da microscopia

Em Português | In English

SBMM
Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise

Página Inicial
Institucional
Diretoria
Material didático
Galeria de Imagens
Associados
Contatos
Área do Associado
Login
Senha
Esqueceu sua senha?

Mais Notícias...
Centros e Laboratórios de Microscopia Eletrônica no Brasil

Micrografias premiadas no XXIV Congresso da SBMM
Confira aqui.

Notícias
28/05/2010
Nova conta da SBMM: Banco do Brasil agência 3652-8 conta corrente 51.419-5.
10/03/2009
A Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise coloca no ar seu novo portal!

EVENTOS e CURSOS
INTERNATIONAL MICROSCOPY CONGRESS™
IMC17
September 19-24
2010 - RIO - BRAZIL

NOVO!
Late Abstract Submission
A pedidos, o IMC17 estará aceitando a SUBMISSÃO DE RESUMOS EXCLUSIVAMENTE PARA APRESENTAÇÃO NA FORMA DE POSTER ATÉ O DIA 30 DE MAIO. Não desperdice esta oportunidade de participar do IMC 17.
Para maiores informações acesse o site clicando no logo à sua esquerda e consulte o link Late submission.

Siga as [Instructions for Authors](#) e envie seu resumo

IMC17 - International Microscopy Congress

ESCOLA DE ALTOS ESTUDOS EM BIOLOGIA CELULAR DE PROTISTAS- TÉCNICAS MICROSCÓPICAS

Fourth Brazil School for Single Particle Cryo-EM

Mais eventos e cursos...

Empresas Associadas

ELMI TEC
Microscopia Ltda.
FEI COMPANY
JEOL
AOTEC
UNION
NT-MDT
HiROX
HITACHI
ARACRUZ
ZEISS
altmann
BRUKER
SHIMADZU DO BRASIL

We make it visible.

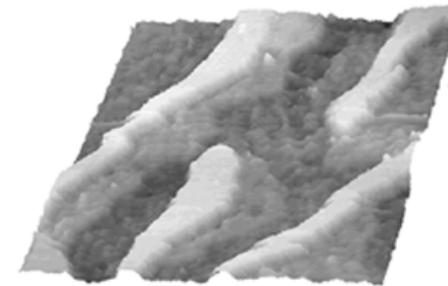
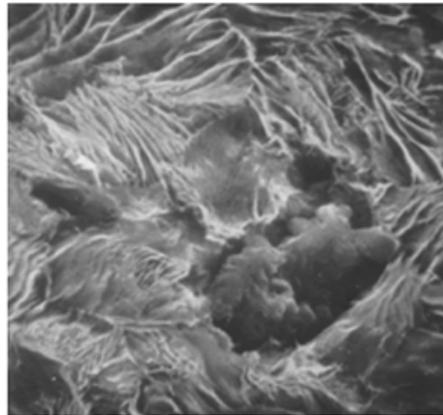
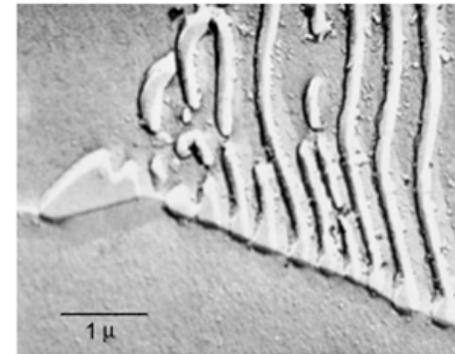
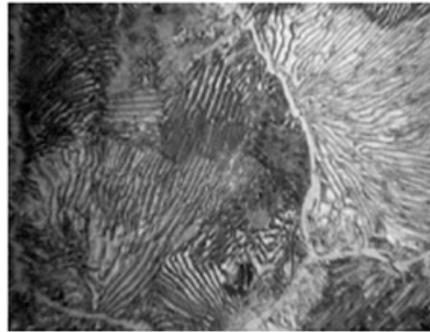
André L. Pinto

pinto@cbpf.br

INTERNATIONAL
MICROSCOPY CONGRESS

IMC17
September 19-24
2010 - RIO - BRAZIL

- Bem vindos ao mundo da microscopia eletrônica!



Bibliografia

63

- Goldstein, J. I. et alli., “Scanning Electron Microscopy and X-Ray Analysis”, Ed. Plenum, New York, 2003 Van der Voort, G. F., apresentação utilizada em curso, 2002.
- Williams, D. B. e Carter, C. B., “Transmission Electron Microscopy” , Ed. Plenum, New York, 2004.
- Goodhew, P. J. et all, *Electron Microscopy and Analysis*, Ed. Taylor & Francis, 2001.
- Lu, L. et al, Science, V. 304 (2004) p. 422-426
- Mesanta, M et al. *Development of a hard nano-structured multi-component ceramic coating by laser cladding*. Materials Science and Engineering A 508 (2009) p. 134-140.