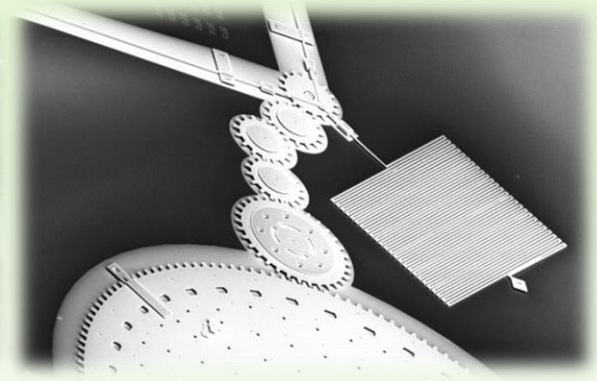
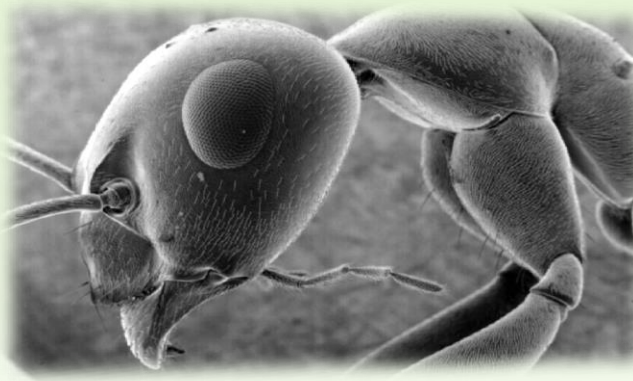
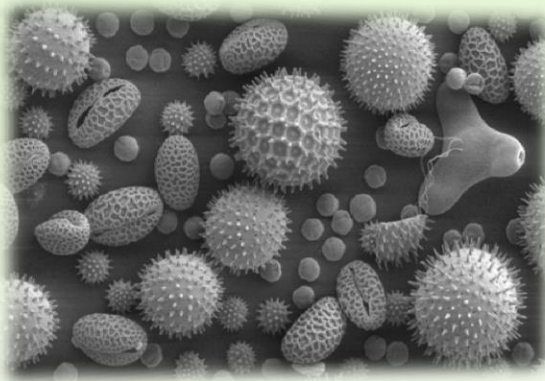


# Microscopia Eletrônica de Varredura



Dra. Bruna Costa

[b.costa@unesp.br](mailto:b.costa@unesp.br)

# Sumário

Motivação

Histórico – Microscopia

Mas... Qual é a novidade?

Alguns Desafios

Fótons x Elétrons

Resolução

# Sumário

Microscopia Eletrônica

Princípios Envolvidos

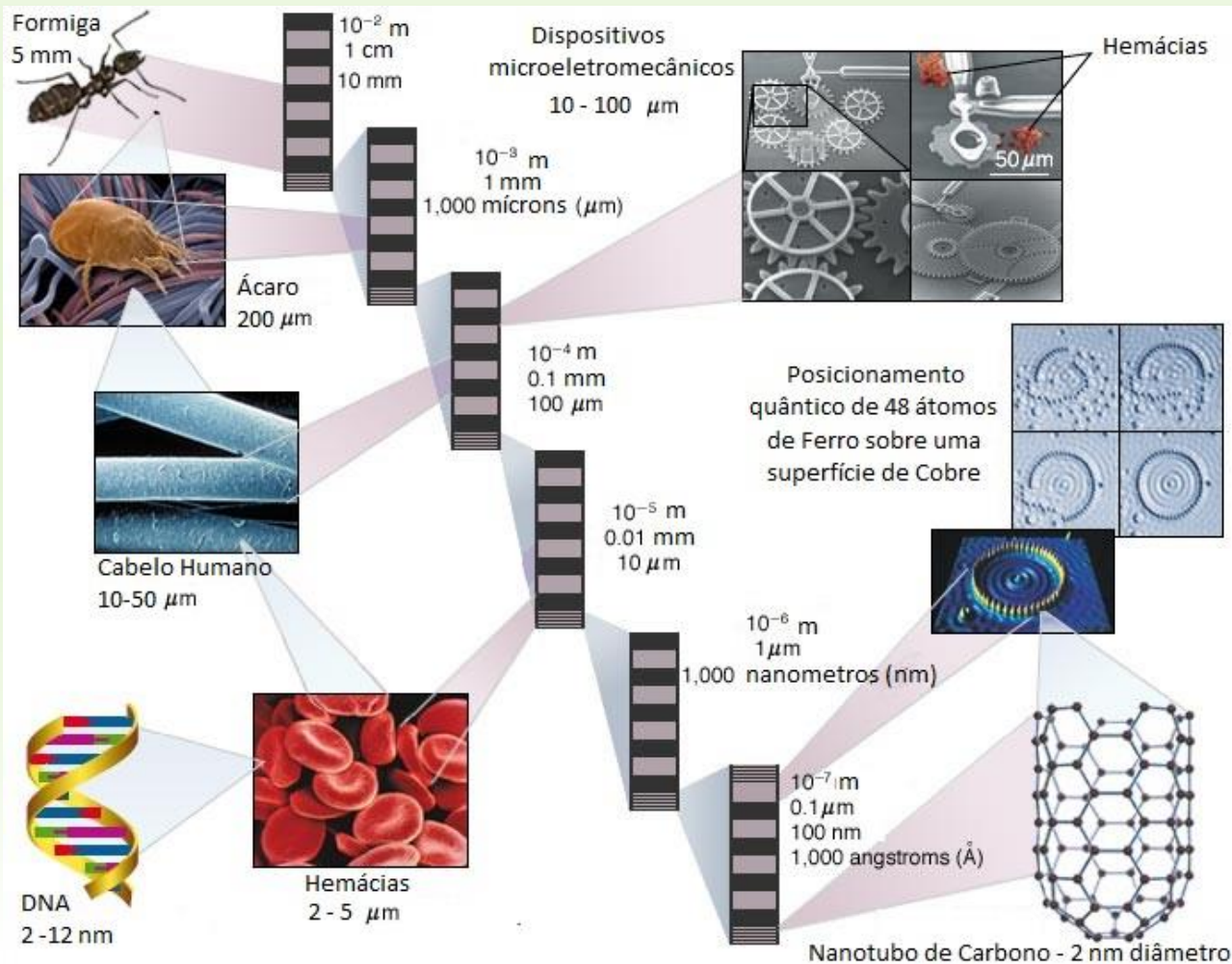
Principais Análises

O Equipamento

Formação da Imagem

Preparação de Amostras

# Motivação



- ✓ Compreender a estrutura e funcionamento de organismos vivos;
- ✓ Estudo das propriedades dos materiais;
- ✓ Tendência de miniaturização nas coisas feitas pelo homem (processadores);
- ✓ Propriedades Nano  $\neq$  Propriedades Macro.

# Histórico

- ✓ 1608 – Zacharias Jensen constrói um microscópio com duas lentes convergentes;
- ✓ 1828 – Nicol desenvolve o microscópio de luz polarizada;
- ✓ 1860 – Preocupação com a resolução de um Microscópio Óptico (MO);
- ✓ 1876 – Abbe propõe aperfeiçoamento na concepção dos microscópios;
- ✓ 1886 – Carl Zeiss fabrica lentes com o design proposto por Abbe;
- ✓ 1908 – Köhler e Siedentof desenvolvem o microscópio de interferência (MO);
- ✓ 1924 – De Broglie propõe a dualidade onda-partícula;
- ✓ 1932 – Lebedeff constrói o primeiro microscópio de contraste de fase (MO);
- ✓ 1937 – Ruska e Knoll constroem o primeiro Microscópio Eletrônico Transmissão (MET ou TEM);
- ✓ 1942 – Zworykin e colaboradores fizeram a primeira observação com um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV ou SEM);

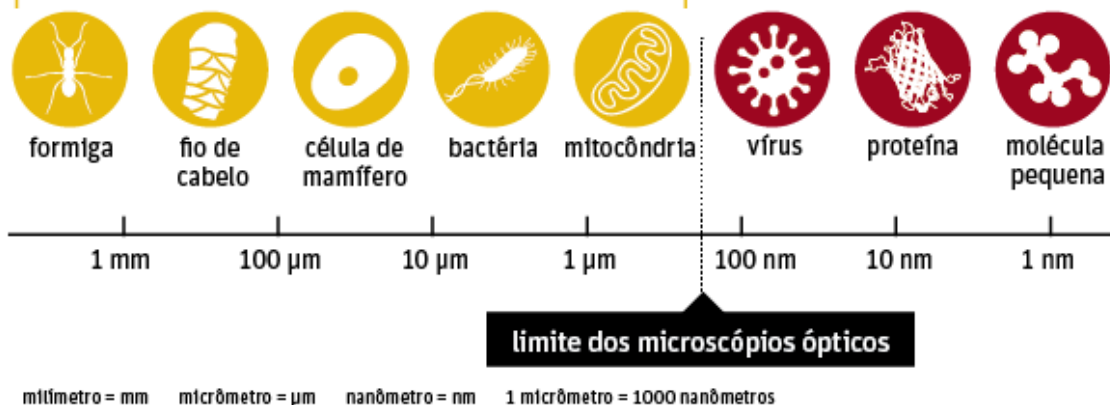
# Mas... Qual é a novidade?



# Mas... Qual é a novidade?

## LIMITE SUPERADO

> Os microscópios ópticos, que usam luz para formar imagens, tinham um limite de resolução: só podiam ver estruturas com até 0,2 micrômetros. Isso permite ver o contorno de estruturas internas das células, mas não seu funcionamento



## OS PREMIADOS

William E. Moerner  
Americano e pesquisador na Universidade Stanford (EUA)



Stefan W. Hell  
Alemão nascido na Romênia, pesquisador do Instituto Max Planck, na Alemanha



Eric Betzig  
Americano, físico-químico do Instituto Médico Howard Hughes (EUA)





# Mas... Qual é a novidade?

**nature**

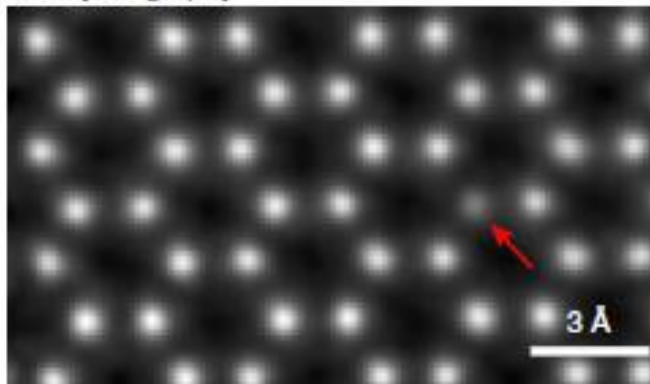
International weekly journal of science

2018, July

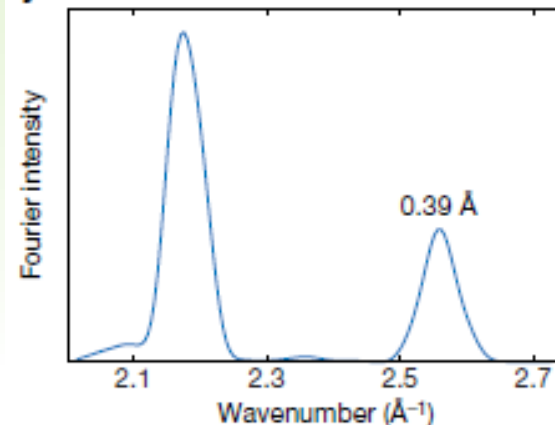
## Electron ptychography of 2D materials to deep sub-ångström resolution

Yi Jiang<sup>1,6</sup>, Zhen Chen<sup>2,6</sup>, Yimo Han<sup>2</sup>, Pratiti Deb<sup>1,2</sup>, Hui Gao<sup>3,4</sup>, Saien Xie<sup>2,3</sup>, Prafull Purohit<sup>1</sup>, Mark W. Tate<sup>1</sup>, Jiwoong Park<sup>3</sup>, Sol M. Gruner<sup>1,5</sup>, Veit Elser<sup>1</sup> & David A. Muller<sup>2,5\*</sup>

**d** Ptychography



**j**





# Alguns Desafios

---

- ✓ Melhorar a resolução;
- ✓ Correção de aberrações;
- ✓ Combinar “facilidades” das diversas técnicas: algumas análises feitas em microscopia óptica não podem ser feitas em microscopia eletrônica e vice-versa.

# Fótons x Elétrons

## Microscopia Óptica

- ✓ Contraste: diferença de refletividade;
- ✓ Fonte de iluminação de luz visível e um sistema de lentes (físicas, de vidro);
- ✓ Limite máximo de resolução (Critério de Rayleigh) é de 200 nm, imposto pelos efeitos de difração relacionados ao comprimento de onda da radiação incidente;



## Microscopia Eletrônica

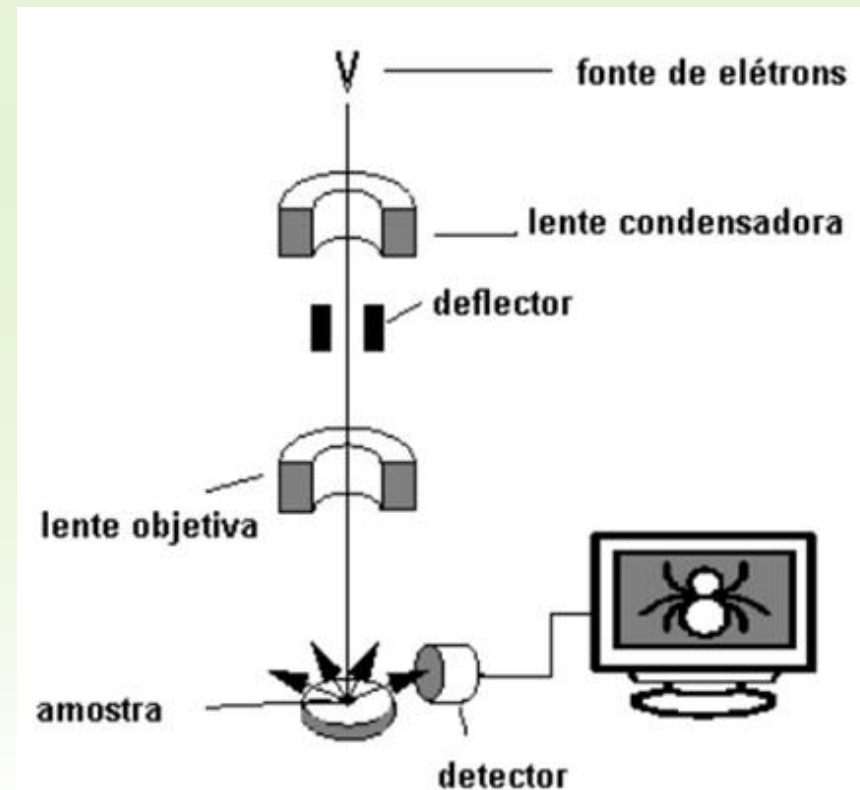
- ✓ Sistema de iluminação baseado em um feixe de elétrons (Por que?)
- ✓ Possibilita a obtenção de diferentes tipos de contraste nas imagens;
- ✓ Equipamentos com resolução teórica de até 1 nm.

# Fótons x Elétrons

## Microscopia Óptica



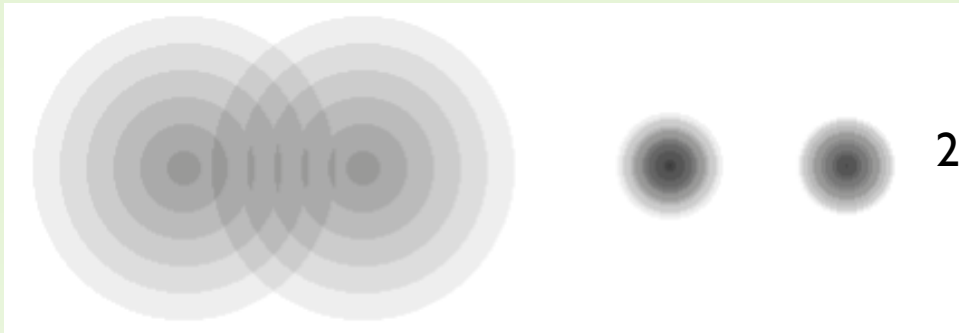
## Microscopia Eletrônica



# Resolução

- ✓ Resolução ou Poder de Resolução: Menor distância segundo a qual podemos resolver ou distinguir dois pontos do objeto.

2 objetos visualizados  
com baixa resolução



2 objetos visualizados  
com alta resolução

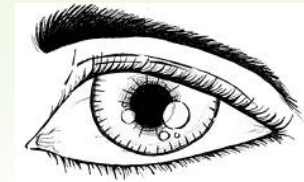


**Resolução do olho humano?**



25cm

$\delta=0,2\text{mm}$



# Resolução

- ✓ Segundo o Critério de Rayleigh:

$$\delta = \frac{0.61\lambda}{NA}, \text{ onde } NA = n.\text{sen}\theta$$

$\lambda$  é o comprimento de onda da radiação,  $n$  o índice de refração do meio, e  $\theta$  ângulo de abertura da lente.

- ✓ Assim:



- ✓ Microscópio óptico  $\rightarrow = 0,2 \mu\text{m}$  ou 200 nm.

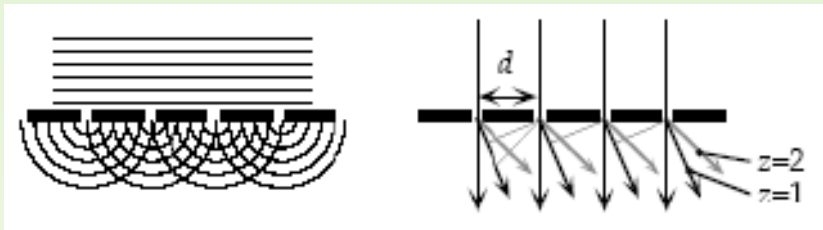
- ✓ Início Século XX a M.O. havia atingido o limite de resolução previsto pela teoria.

- ✓ Qualidade das lentes não ofereciam mais progresso



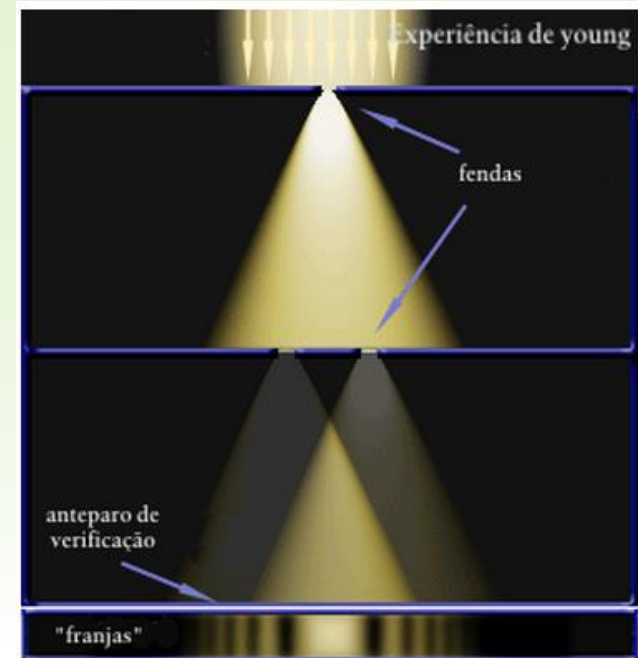
# Resolução

- ✓ Em 1876, Abbe demonstrou que a resolução de uma lente era limitada por efeitos de difração, dependendo de sua abertura e do comprimento de onda da luz:



Definição de Difração:

Interação entre uma onda de qualquer tipo e um objeto de qualquer tipo  
(Taylor, 1987).



# Resolução

- ✓ Solução: Conseguir maior resolução através da utilização de radiações com menor  $\lambda$ .
- ✓ De Broglie propõe, em seu doutoramento (1924) que deveria haver uma onda associada ao movimento de qualquer partícula material, cuja energia relacionava-se com sua frequência/ comprimento de onda. Sendo assim, de Broglie estabeleceu (de forma simplificada) que para um elétron:

$$\lambda = \frac{1,22}{E^{1/2}}$$

Onde:  $\lambda$  é o comprimento de onda para o elétron (nm), e E a energia (eV)



# Microscopia Eletrônica

## Vantagens

- ✓ Possível controlar o comprimento de onda dos elétrons (influencia a resolução);
- ✓ Contraste por topografia (análise morfológica);
- ✓ Contraste por número atômico (análise composição química);
- ✓ Análise química (composição química qualitativa e semiquantitativa);
- ✓ Mapeamento (regiões com diferentes composições químicas);

Interação  
radiação –  
matéria;

Descobriu-se  
posteriormente

# Microscopia Eletrônica

---

## Desvantagens

- ✓ Desvantagem: amostra precisa ser condutora (trabalha-se com feixe de elétrons) e “seca” (o microscópio deve ser mantido em vácuo);
- ✓ Limitações intrínsecas do equipamento podem comprometer as imagens obtidas: Aberrações Esférica e Cromática e Astigmatismo;

# Microscopia Eletrônica

## Princípios Envolvidos

- ✓ Dualidade onda-partícula;

## Relação com a Microscopia:

- ✓ Utilização de um feixe eletrônico no sistema de iluminação das amostras;
- ✓ Comprimento de onda ajustado através da aplicação de um potencial de aceleração (energia) adequado; quanto maior  $E$ , menor  $\lambda$ ;
- ✓ Maior resolução do equipamento (amenizam-se os efeitos de difração impostos pelo comprimento de onda da radiação incidente);

# Microscopia Eletrônica

---

## Princípios Envolvidos

- ✓ Espalhamento: resultado da interação entre a radiação e matéria (fundamental);
  - ✓ Espalhamento elástico: não resulta em perda de energia;
  - ✓ Espalhamento inelástico: perda mensurável de energia;

# Microscopia Eletrônica

## Princípios Envolvidos

- ✓ Espalhamento;

## Relação com a Microscopia:

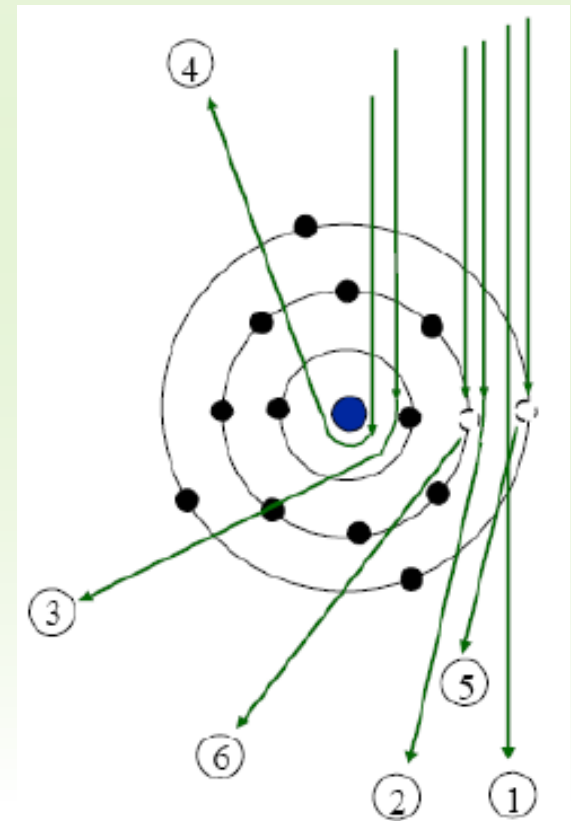
- ✓ Fatores que influenciam o espalhamento: energia do feixe de elétrons, massa atômica e número atômico dos átomos da amostra, densidade e topografia da amostra;
- ✓ Devido às diferentes interações e espalhamentos que podem ocorrer na interação entre os elétrons do feixe e a amostra, diferentes tipos de análises são possíveis no MEV, sendo as principais: imagens de elétrons secundários, imagens de elétrons retroespalhados e análise química (emissão de raios – X);

# Microscopia Eletrônica

## Princípios Envolvidos

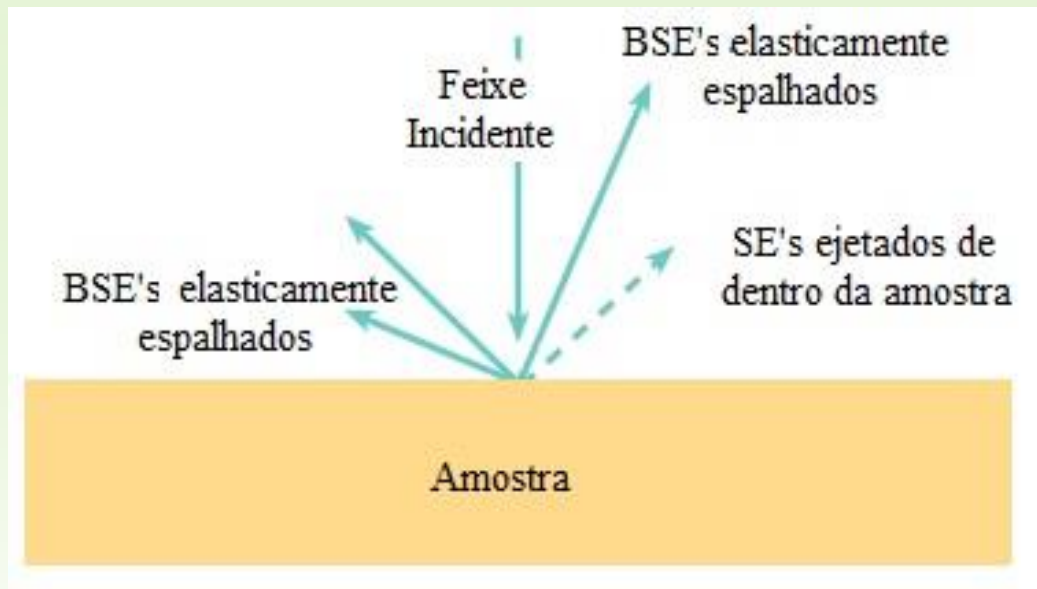
### ✓ Espalhamento;

1. Não espalhados;
2. Espalhamento elástico a ângulo baixo;
3. Espalhamento elástico a altos ângulos;
4. Retroespalhados;
5. Espalhamento inelástico a camadas externas;
6. Espalhamento inelástico camadas do interior;



# Principais Análises

## Principais Análises - Espalhamento



Fonte: WILLIAMS e CARTER, 2009

# Principais Análises

## Principais Análises – BSE

- ✓ Imagens Elétrons Retroespalhados / Backscattered Electrons - BSE
- ✓ Espalhamento elástico – não resulta em perda de energia;
- ✓ Principal interação com os núcleos dos átomos da amostra;
- ✓ Espalhamento em alto ângulo;
- ✓ O contraste observado está relacionado às diferenças entre número atômico dos átomos da amostra;
- ✓ Permite a visualização de diferentes fases (composta por diferentes elementos) em uma amostra;



# Principais Análises

## Principais Análises – SE

- ✓ Imagens de Elétrons Secundários / Secondary Electrons - SE
- ✓ Espalhamento inelástico – resulta em perda de energia;
- ✓ Principal interação com eletrosfera dos átomos da amostra;
- ✓ Espalhamento em menores ângulos;
- ✓ Elétrons da amostra (fracamente ligados) são ejetados da amostra pelo feixe eletrônico.
- ✓ O contraste observado está relacionado à topografia da amostra;
- ✓ Permite a análise morfológica;

# Principais Análises

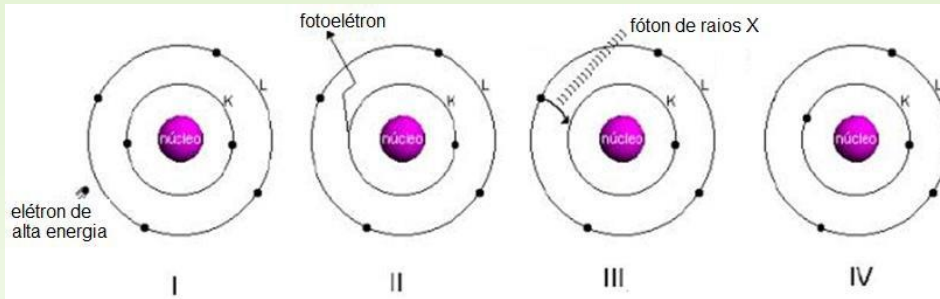
## Principais Análises – EDS

- ✓ Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X / Energy Dispersive X-ray Spectroscopy – EDS ou EDX;
- ✓ Espalhamento inelástico;
- ✓ Interação do feixe eletrônico com a amostra resulta na ionização dos átomos da mesma, e a emissão de raios-X;
- ✓ Informações químicas da composição da amostra: qualitativa (permite identificar os elementos presentes) e semiquantitativa (permite estimar a quantidade dos elementos presentes);

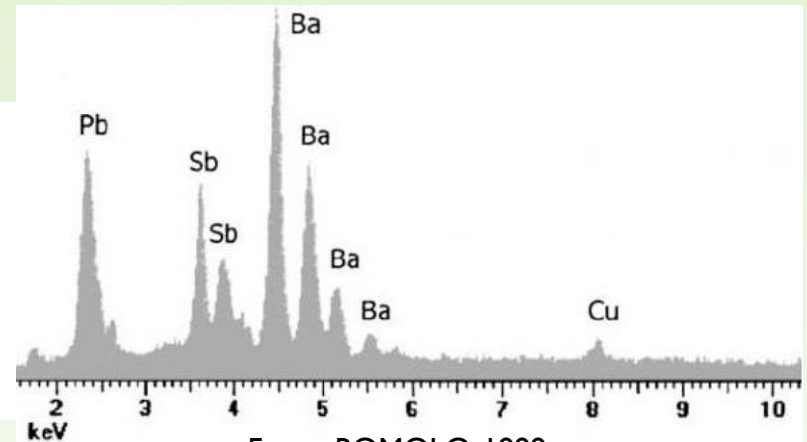
# Principais Análises

## Principais Análises – EDS

✓ Como?



Fonte: BLEICHER, 2000

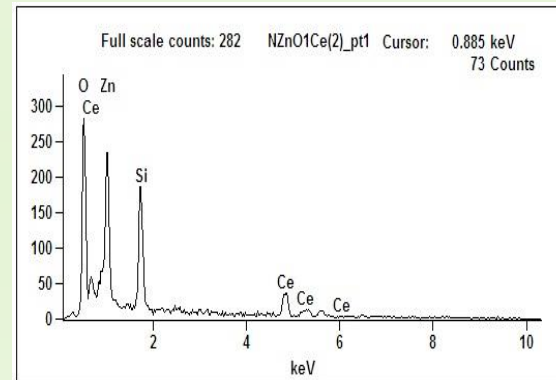
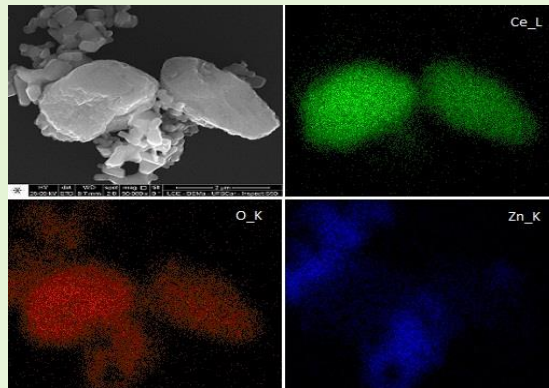


Fonte: ROMOLO, 1999

# Principais Análises

## Principais Análises

Mapeamento –  
COSTA, 2014.



EDS –  
COSTA, 2014

Imagem SE –  
OLIVEIRA, 2014.

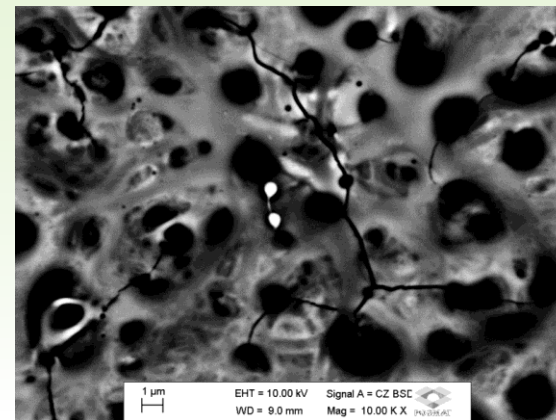
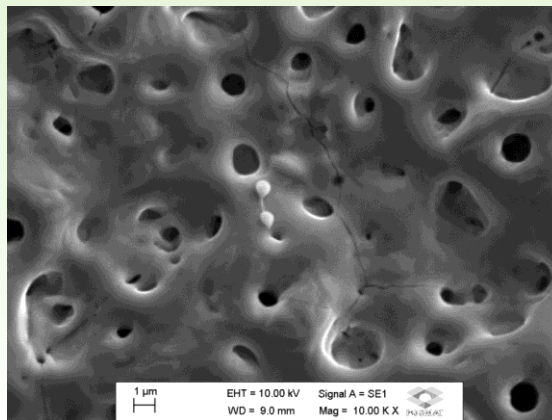
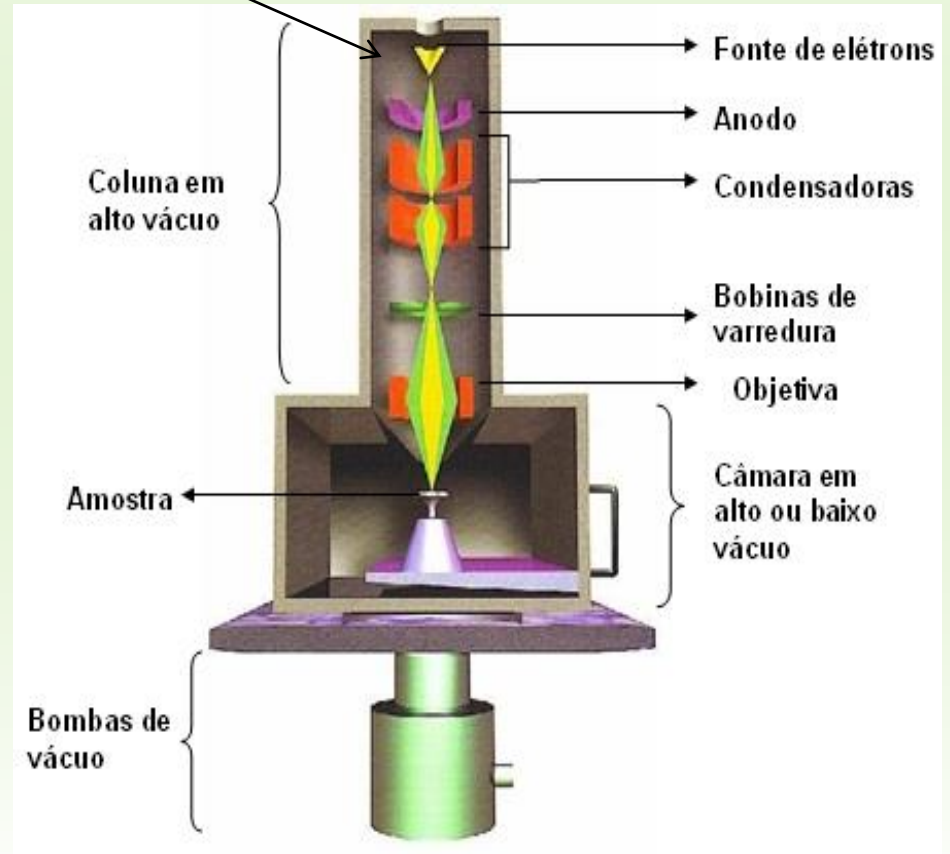


Imagem BSE –  
OLIVEIRA, 2014.

# ○ Equipamento

Cilindro de Wehnelt



# ○ Equipamento

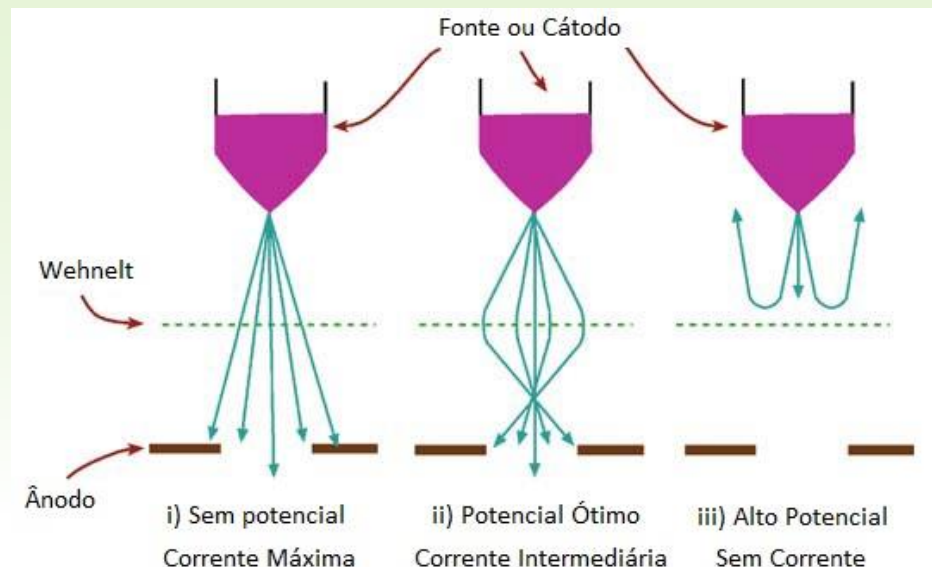
## Fonte de Elétrons / Cátodo

- ✓ De onde os elétrons que constituirão o feixe eletrônico a incidir sobre a amostra são extraídos;
- ✓ Dois tipos de fontes/cátodos são mais comumente utilizadas para geração do feixe eletrônico: Emissão Termiônica ou Emissão por Campo (Field Emission, FEG).
- ✓ Juntamente com o Ânodo e o Cilindro de Wherelt, a fonte compõe o que chamamos de **Canhão Eletrônico**.

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons / Canhão Eletrônico

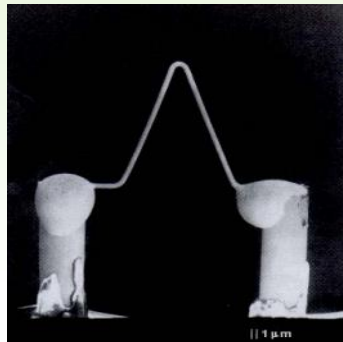
- ✓ Aplica-se um potencial positivo entre o cátodo e o ânodo, com intuito de arrancar os elétrons do cátodo e acelerá-los para dentro da coluna;
- ✓ Aplica-se um potencial negativo no Cilindro de Wehnelt, considerado como uma lente eletrostática, com o intuito de focar os elétrons que adentrarão a coluna;



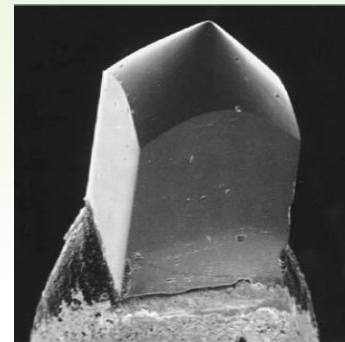
# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons – Emissão Termiônica

- ✓ Elétrons são arrancados devido ao aumento de temperatura do cátodo, a partir da aplicação da alta tensão;
- ✓ Problema: a maioria dos materiais vaporiza quando aquecidos à temperatura necessária para emissão dos elétrons;
- ✓ Solução: Tungstênio: alto ponto de fusão;  $\text{LaB}_6$ : requer menos energia (menor temperatura) para disponibilizar os elétrons;



Tungstênio



$\text{LaB}_6$

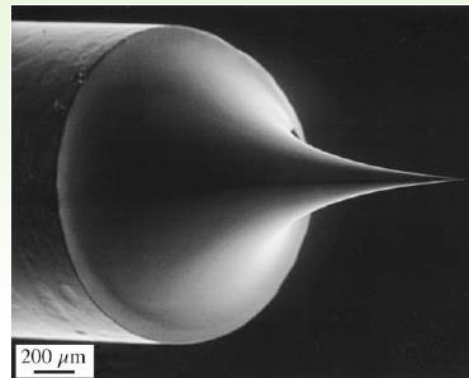


# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons – Emissão por Campo (FEG)

- ✓ Elétrons são arrancados do cátodo a partir da aplicação de um campo elétrico;
- ✓ Problema: necessidade da aplicação de campos muito altos; necessidade de utilizar alto vácuo;
- ✓ Solução: Utilização de uma ponta muito fina;

$$E = \frac{V}{r}$$



Tungstênio / FEG

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons

- ✓ Qual o melhor ou mais adequado tipo de fonte?
- ✓ **Depende!** Não existe uma fonte que seja melhor para todas as aplicações em Microscopia Eletrônica;
- ✓ Algumas das características da fonte que nos ajudam a compreender qual delas é mais adequada para a nossa análise são: Brilho, Coerência Espacial, Coerência Temporal e Estabilidade de Emissão.

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons - Brilho

- ✓ Frequentemente o termo brilho é confundido com “intensidade”, e, de fato, estes dois termos estão associados;
- ✓ O brilho de uma lâmpada, por exemplo, é dado pelo número de fótons emitidos, por unidade de área e tempo;
- ✓ Para uma fonte de elétrons, o termo mais adequado, seria densidade de corrente (ou carga), desta forma, o brilho da fonte de elétrons pode ser definido como:

*“Brilho: densidade de corrente (corrente/tempo) por unidade de ângulo sólido (ângulo de divergência dos elétrons a partir da fonte)”*

→ Depende do diâmetro a fonte

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons - Brilho

- ✓ O brilho aumenta linearmente com o aumento da temperatura para uma fonte termiônica;
- ✓ Quanto maior o brilho, mais informações podem ser extraídas, porém, pode danificar as amostras;
- ✓ Fontes com menor diâmetro, possuem maior brilho;

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons – Coerência Temporal

- ✓ A coerência de um feixe eletrônico está relacionada em quanto as ondas eletrônicas (elétron é uma partícula, mas também uma onda) estão em fase, ou seja, o quanto “*caminham juntas, sem interferir uma com a outra*”;
- ✓ Para que o feixe de elétrons seja coerente, é necessário que todos os elétrons possuam o mesmo comprimento de onda, como em um feixe de luz monocromático.
- ✓ Necessidade de uma fontes de emissão e de alta tensão estáveis; Na prática é impossível criar um feixe de elétrons perfeitamente monocromático;

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons – Coerência Espacial

- ✓ A coerência espacial está associada ao diâmetro da fonte; Uma perfeita coerência espacial implica na emissão dos elétrons do mesmo ponto da fonte;
- ✓ Fontes com diâmetros menores possuem maior coerência espacial (assim como para o brilho);
- ✓ Coerência espacial é mais importante que a coerência temporal;
- ✓ Feixes pequenos, são mais coerentes que feixes largos; O aumento na coerência do feixe implica na melhora de qualidade na obtenção de imagens (melhor resolução);

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons – Estabilidade

- ✓ A estabilidade do feixe eletrônico, depende da estabilidade da fonte de alta tensão que alimenta a fonte de emissão;
- ✓ Quanto maior a estabilidade da fonte de alta tensão, maior a estabilidade do feixe;
- ✓ Fontes de emissão termiônica, em geral, possuem maior estabilidade que fontes de emissão por campo.

# ○ Equipamento

## Fonte de Elétrons - Geral

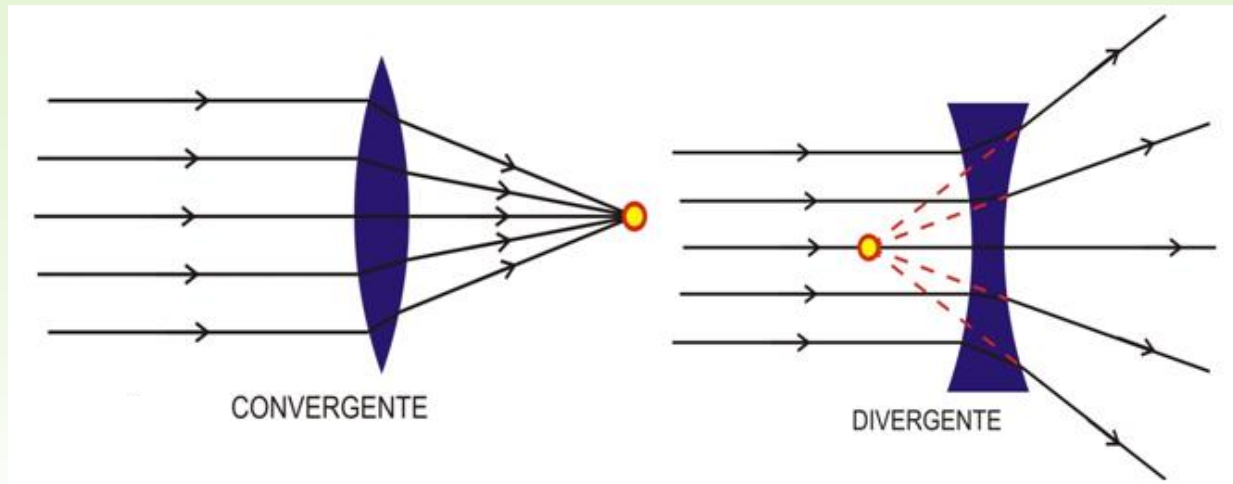
- ✓ Fontes de Emissão Termiônica: possuem maior diâmetro, portanto, um maior diâmetro para o feixe gerado, mais elétrons disponíveis: melhor para análise química (EDS);
- ✓ Fontes de Emissão por Campo: menor diâmetro do feixe, maior coerência espacial e brilho: melhor para obtenção de imagens de alta resolução.



# ○ Equipamento

## Lentes

- ✓ Função das lentes: focalizar o feixe de elétrons perfeitamente sobre a amostra para formação da imagem com mais alta resolução;
- ✓ Da óptica:



# ○ Equipamento

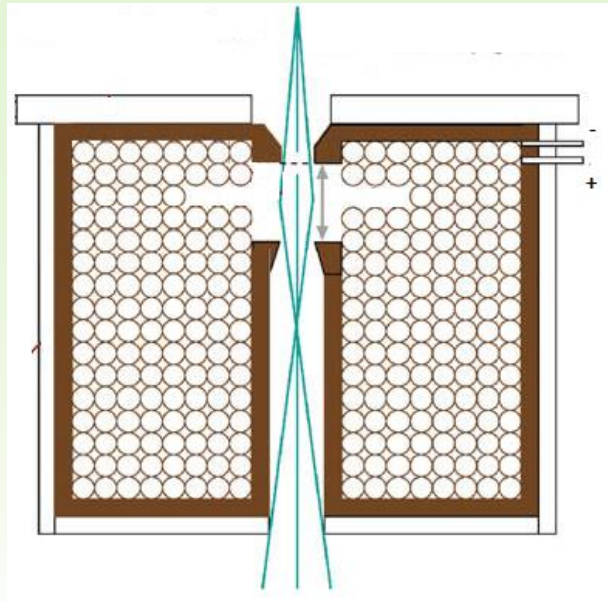
## Lentes

- ✓ Microscópios eletrônicos possuem lentes eletromagnéticas;
- ✓ Campos magnéticos têm a capacidade de defletir cargas elétricas (elétrons);
- ✓ Duas lentes: Condensadora e Objetiva; Em alguns casos três: duas condensadoras e uma objetiva. Lentes convergentes;

# ○ Equipamento

## Lentes

- ✓ As lentes possuem peças polares, pelas quais se faz passar uma corrente; Então, um campo magnético é gerado, o qual é responsável por defletir e focalizar os elétrons do feixe que atravessam a lente;



Fonte: WILLIAMS e CARTER, 2009)

# ○ Equipamento

## Lentes

- ✓ Lente Condensadora:
  - ✓ Responsável por fazer o feixe eletrônico chegar paralelo à lente objetiva;
  - ✓ Lente fraca;
- ✓ Lente Objetiva:
  - ✓ Lente forte (capaz de alta deflexão);
  - ✓ Raios que chegam paralelos à lente objetiva convergem para um ponto;
  - ✓ Responsável por focalizar o feixe sobre a região da amostra que queremos analisar;

# ○ Equipamento

## Lentes - Aberrações

- ✓ As lentes são a maior fonte de aberrações em um Microscópio Eletrônico, limitando sua resolução;
- ✓ Principais tipos de aberrações: Aberração Esférica, Aberração Cromática e Astigmatismo;

# ○ Equipamento

## Lentes - Aberrações

- ✓ Aberração Esférica:
  - ✓ Este defeito é causado porque o campo magnético da lente atua inhomogeneamente sobre os raios do feixe eletrônico que passam fora de seu eixo; O elétron mais longe do eixo é mais fortemente desviado em direção ao eixo;
  - ✓ Como resultado um objeto pontual é observado como um disco de tamanho finito, que limita nossa habilidade de magnificar detalhes;
  - ✓ Solução: Comprar lentes com menores coeficientes de aberração esférica, ou corretores. Mas... ambos instrumentos são muito caros!

# ○ Equipamento

## Lentes - Aberrações

- ✓ Aberração Cromática:
  - ✓ Este defeito está relacionado ao fato dos elétrons provenientes da fonte não serem perfeitamente monocromáticos;
  - ✓ A lente objetiva desvia mais fortemente elétrons de menor energia; Assim, novamente um objeto pontual é observado como um disco de tamanho finito;
  - ✓ Solução: Compra de lentes com menor coeficiente de aberração cromática ou corretores. Mas novamente... ambos instrumentos são muito caros.

# ○ Equipamento

## Lentes - Aberrações

- ✓ Astigmatismo:
  - ✓ Este defeito ocorre porque os elétrons “sentem” um campo magnético não uniforme quando percorrem sua trajetória espiral em torno do eixo óptico (eixo principal);
  - ✓ Pode ser corrigido a partir da utilização de pequenos octo-pólos que introduzem um campo magnético compensatório, balanceando as inomogeneidades que causam o astigmatismo;



# ○ Equipamento

## Detectores

- ✓ Como uma imagem é formada em um microscópio eletrônico, se não somos capazes de enxergar os elétrons?
- ✓ Após sofrerem o espalhamento pela amostra, os elétrons são detectados por dispositivos específicos, os detectores;
- ✓ Desta forma, os detectores são responsáveis por receber as informações contidas nos elétrons espalhados;
- ✓ Analisa a interação sofrida pelos elétrons espalhados e converte em um sinal elétrico ou luminoso;
- ✓ Este sinal é interpretado por um software gerando a imagem;
- ✓ Principais detectores: Detectores Semicondutores.

# ○ Equipamento

## Sistema de Vácuo

- ✓ O feixe eletrônico é defletido por moléculas gasosas (choque entre os elétrons e as moléculas de gás);
- ✓ Definição de vácuo (ideal): ausência total de matéria (líquidos, gases, sólidos e plasma); Real: Qualquer pressão menor que a atmosférica;
- ✓ É necessário que todas as partes do microscópio estejam sob vácuo (canhão, coluna e câmara de amostras); Amostras úmidas não podem ser analisadas;
- ✓ Diferentes bombas são responsáveis por fazer vácuo nas diferentes partes do microscópio;
- ✓ Canhão: Ultra alto-vácuo (bomba iônica); Coluna e Câmara: Alto vácuo (difusora e turbomolecular);

# Equipamento

## Sistema de Vácuo

Vácuo primário: 100 – 0.1 Pa

Baixo vácuo: 0.1 –  $10^{-4}$  Pa

Alto vácuo:  $10^{-4}$  –  $10^{-7}$  Pa

Ultra alto vácuo:  $< 10^{-7}$  Pa

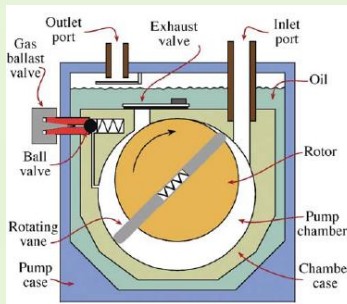
### Bomba mecânica (pistão)



Vantagem: Limpa

Desvantagem: Vácuo ruim, ruído

### Bomba mecânica (rotativa) $10^{-1}$ Pa



Vantagem: Preço acessível

Desvantagem: Óleo p/ lubrificar, ruído

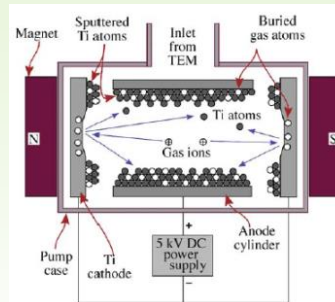
### Bomba Turbomolecular $10^{-2}$ a $10^{-6}$ Pa



Vantagem: Livre de vibração

Desvantagem: Cuidado ao desligar, alto custo, necessário outra bomba.

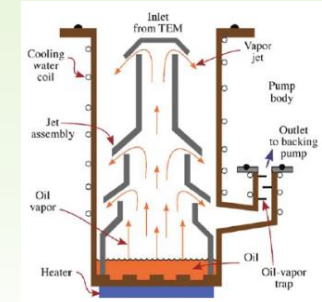
### Bomba Iônica $10^{-8}$ Pa



Vantagem: Sem vibração, ã utiliza óleo.

Desvantagem: Alto custo, necessidade de outra bomba.

### Bomba Difusora $10^{-1}$ a $10^{-6}$ Pa



Vantagem: Livre de vibração, eficiente

Desvantagem: Óleo, precisa de refrigeração.

# ○ Equipamento

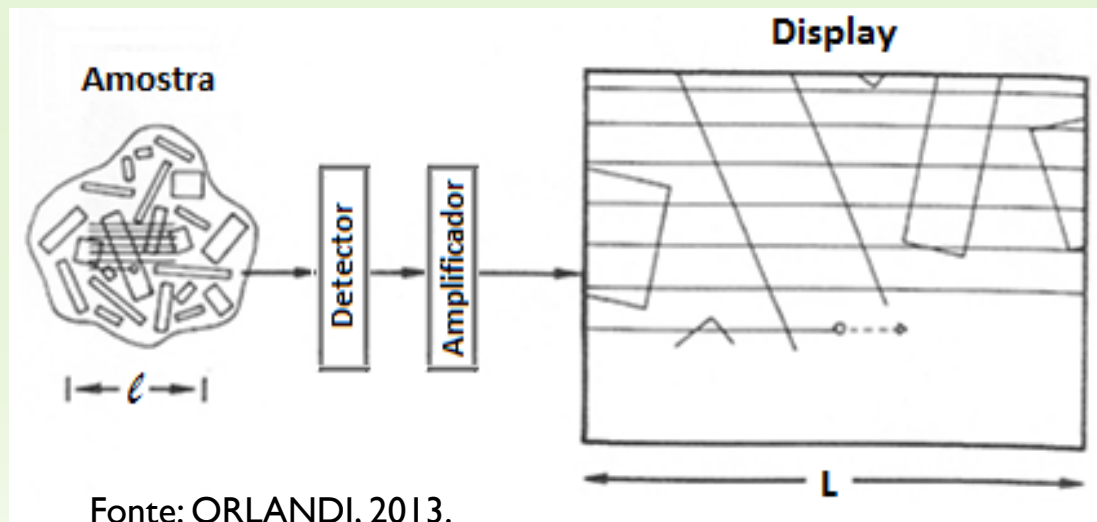
## Sistema de Vácuo

## MEV Ambiental

- ✓ Tipo específico de equipamento que permite a permanência de gases no interior da câmara de análises;
- ✓ Permite a análise de amostras biológicas úmidas (sem dissecação) e facilita a análise de amostras pouco condutoras (íons de gás gerados no choque com os elétrons do feixe neutralizam as amostra) minimizando os efeitos de carregamento (elétrons do feixe ficam “presos” a superfície da amostra degradando a qualidade das imagens obtidas);

# Formação da Imagem

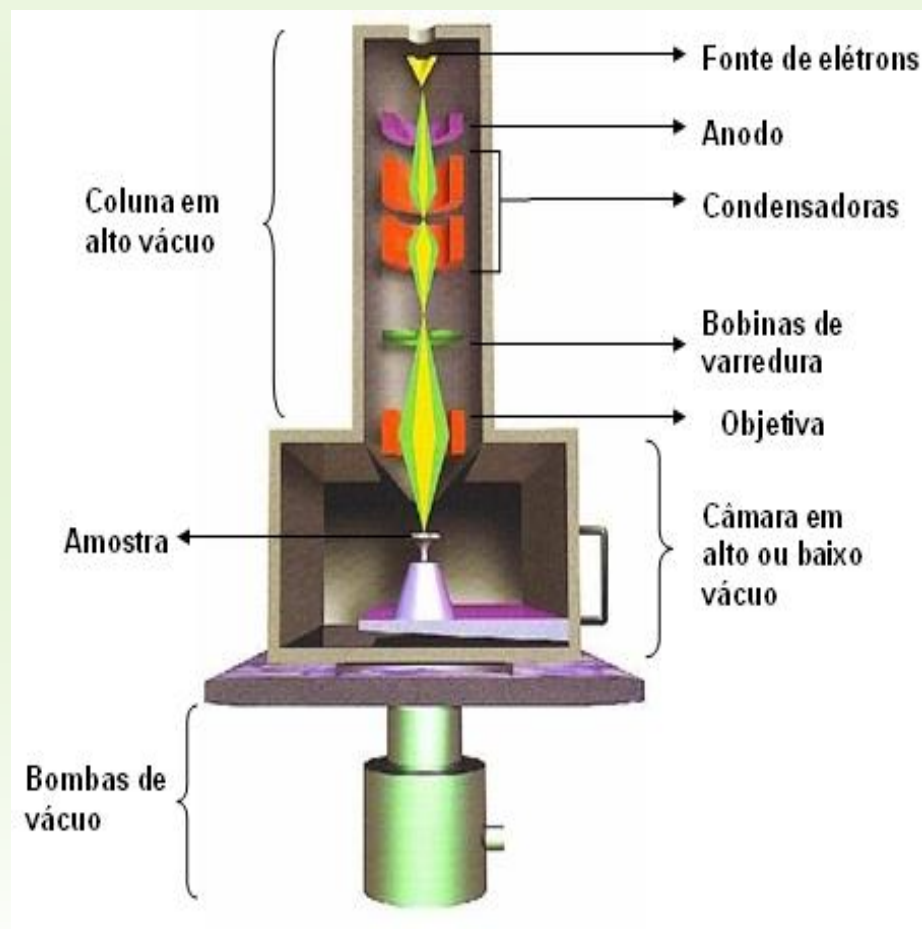
- ✓ As imagens em MEV são formadas pixel a pixel;
- ✓ O feixe varre ponto a ponto da amostra e é direcionado pela bobina de varredura;



- ✓ Magnificação:

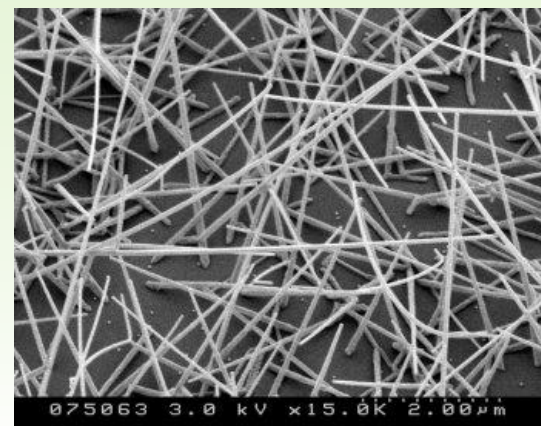
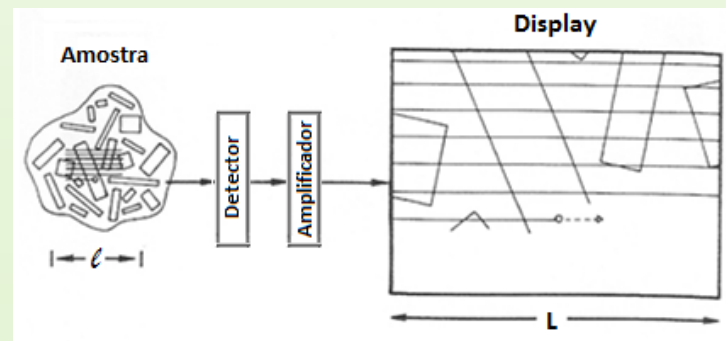
$$M = \frac{L}{l}$$

# Formação da Imagem



Fonte: ZANIN, 2012

Fonte: ORLANDI, 2013.



Fonte: Oxford University

# Preparação de Amostras

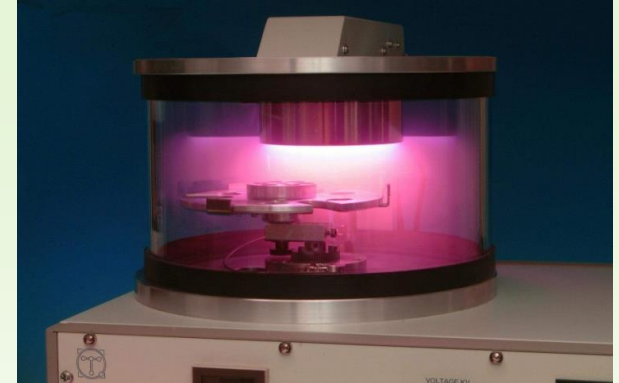
- ✓ As amostras analisadas em um MEV são fixadas sob um porta amostras, chamado "stub" e este posicionado no interior do microscópio;
- ✓ Há a necessidade de preparação destas amostras;



"Processamento"



Fixação no stub



Metalização  
(amostras não  
condutoras)

# Preparação das Amostras

## Processamento

- ✓ Geralmente amostras na forma de pó são dispersas em um solvente orgânico volátil (álcool ou acetona) e pingadas sobre um substrato (geralmente silício, condutor) e fixadas sobre o stub;
- ✓ Filmes finos depositados sobre substratos são diretamente fixados no stub;
- ✓ Materiais sólidos maiores devem ser cortados para fixação no stub;
- ✓ Materiais metálicos necessitam de polimento e ataque químico superficial para revelar sua microestrutura;





*That's all Folks!*

תודה  
Dankie Gracias  
Спасибо شكراً  
Merci Takk  
Köszönjük Terima kasih  
Grazie Dziękujemy Děkojame  
Ďakujeme Vielen Dank Paldies  
Kiitos Tänne teid 谢谢  
**Thank You** Tak  
感謝您 Obrigado Teşekkür Ederiz  
Σας Ευχαριστούμ 감사합니다  
Bedankt Дěkujeme vám ขอบคุณ  
ありがとうございます  
Tack

# Any question?

