



GRAZIELLA ANSELMO JOANITTI  
PAULO CÉSAR DE MORAIS E  
RICARDO BENTES DE AZEVEDO (ORG.)

# **NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE**

EDITORA  
**UnB 60**





**Universidade de Brasília**

**Reitora  
Vice-Reitor**

Márcia Abrahão Moura  
Enrique Huelva

EDITORA



**UnB**

**Diretora**

Germana Henriques Pereira

**Conselho editorial**

Germana Henriques Pereira (Presidente)  
Fernando César Lima Leite  
Ana Flávia Magalhães Pinto  
Andrey Rosenthal Schlee  
César Lignelli  
Gabriela Neves Delgado  
Guilherme Sales Soares de Azevedo Melo  
Liliane de Almeida Maia  
Mônica Celeida Rabelo Nogueira  
Roberto Brandão Cavalcanti  
Sely Maria de Souza Costa

---

GRAZIELLA ANSELMO JOANITTI  
PAULO CÉSAR DE MORAIS E  
RICARDO BENTES DE AZEVEDO (ORG.)

# **NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE**

---

EDITORA  
**UnB 60** 

**Coordenação de produção editorial**

**Preparação e revisão**

**Diagramação**

**Equipe editorial**

Marília Carolina de Moraes Florindo

Gabriela Artemis

Bruno Ribeiro Soares

© 2022 Editora Universidade de Brasília

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora Universidade de Brasília

Centro de Vivência, Bloco A - 2ª etapa, 1ª andar

Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília/DF

CEP: 70910-900

Site: [www.editora.unb.br](http://www.editora.unb.br)

E-mail: [contato.editora@unb.br](mailto:contato.editora@unb.br)

Todos os direitos reservados.

Nenhuma parte desta publicação poderá ser armazenada ou reproduzida por qualquer meio sem a autorização por escrito da Editora.

---

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade de Brasília - BCE/UNB)

N186 Nanotecnologia : considerações em materiais, saúde e meio ambiente / Graziella Anselmo Joanitti, Paulo César de Moraes e Ricardo Bentes de Azevedo (organizadores). – Brasília : Editora Universidade de Brasília, 2022.  
517 p.

ISBN 978-65-5846-109-8 .

1. Nanomedicina. 2. Nanotecnologia. 3. Nanociência. 4. Materiais nanoestruturados. I. Joanitti, Graziella Anselmo (org.). II. Moraes, Paulo César de (org.). III. Azevedo, Ricardo Bentes de (org.).

CDU 57:61

---

Rhuama Barbosa do Carmo - CRB 1/3060



Associação Brasileira  
das Editoras Universitárias

---

# Sumário

<b>Introdução</b> .....	<b>7</b>
-------------------------	----------

---

## PARTE I

### MATERIAIS - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS

<b>Capítulo 1</b> .....	<b>11</b>
-------------------------	-----------

Nanopartículas de ouro: métodos clássicos de obtenção e caracterização

Claire N. Lunardi, Fellipy S. Rocha e Anderson J. Gomes  
*Universidade de Brasília*

<b>Capítulo 2</b> .....	<b>45</b>
-------------------------	-----------

Nanoemulsões: preparação, características e estabilidade

Lucas C. Silva, Leonardo O. B. Silva e Graziella A. Joanitti  
*Universidade de Brasília*

<b>Capítulo 3</b> .....	<b>77</b>
-------------------------	-----------

Lipossomas e suas aplicações

Jaqueline R. Da Silva, Jaqueline V. Oliveira e Victor Hugo S Araujo  
*Universidade de Brasília*

<b>Capítulo 4</b> .....	<b>101</b>
-------------------------	------------

Síntese verde de nanomateriais

Luciano P. Silva, Beatriz S. Carvalho, Cíntia C. Bonatto, Júlia M. Pupe,  
Tatiane M. Pereira e Thalita F. Araujo  
*EMBRAPA, Universidade de Brasília e Tecsinapse*

<b>Capítulo 5</b> .....	<b>174</b>
-------------------------	------------

Microscopia eletrônica de transmissão e de varredura como ferramentas de caracterização de nanossistemas

Tatiane Oliveira dos Santos e Renata Montenegro Igo  
*Universidade Federal de Goiás e Universidade Positivo*

---

## PARTE II

### APLICAÇÕES EM SAÚDE

<b>Capítulo 6</b> .....	<b>220</b>
-------------------------	------------

Aplicações da nanotecnologia em câncer

Marcela G. Landim, Alicia S. Ombredane e Graziella A. Joanitti  
*Universidade de Brasília*

<b>Capítulo 7</b> .....	<b>266</b>
Magneto-hipertermia aplicada ao tratamento do câncer Ailton Sousa-Junior, Harley Rodrigues, Marcus Carrião, Elisângela Silveira-Lacerda e Andris Bakuzis <i>Universidade Federal de Goiás e Instituto Federal de Goiás</i>	
<b>Capítulo 8</b> .....	<b>308</b>
Aplicações da nanotecnologia em tratamentos antivirais Andréia C. Pinheiro, Beatriz C. A. O. Faria, Patrícia L. Costa, Marília F. Calmon e Graziella A. Joanitti <i>Universidade de Brasília e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”</i>	
<b>Capítulo 9</b> .....	<b>356</b>
Nanotecnologia aplicada para tratamentos de cicatrização e regeneração tecidual Marcella L. B. Carneiro, Glécia V. S. Luz, Christian R. Q. Quijia, Thamís F. Santana, Luna A. N. de Carvalho e Lourdes M. Brasil <i>Universidade de Brasília</i>	
<b>Capítulo 10</b> .....	<b>402</b>
Aplicação oftalmológica da nanotecnologia Maíra N. Pereira, Marcílio Cunha-Filho, Tais Gratieri e Guilherme M. Gelfuso <i>Universidade de Brasília</i>	
<b>Capítulo 11</b> .....	<b>436</b>
Aplicações da nanotecnologia em desordens e patologias cutâneas Patrícia Mazureki Campos, Fabíola Silva Garcia Praça e Marcelo Henrique Kravicz <i>Universidade Estadual de Ponta Grossa, Universidade de São Paulo e Universidade de Milano-Bicocca</i>	
<hr/>	
<b>PARTE III</b>	
<b>MEIO AMBIENTE</b>	
<b>Capítulo 12</b> .....	<b>479</b>
Nanotecnologias para descontaminação de águas Alex Fabiano Cortez Campos <i>Universidade de Brasília</i>	
<b>Conclusão</b> .....	<b>513</b>
<b>Sobre os Organizadores</b> .....	<b>516</b>

# **PARTE I**

## **MATERIAIS - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS**

---

## CAPÍTULO 5

# Microscopia eletrônica de transmissão e de varredura como ferramentas de caracterização de nanossistemas

Tatiane Oliveira dos Santos<sup>1\*</sup>, Renata Montenegro Igo<sup>2</sup>

---

## 1. Introdução

Ao longo dos últimos anos, os campos da nanociência e da nanotecnologia avançaram notavelmente, em grande parte devido aos equipamentos, aos métodos de caracterização e à acessibilidade aos equipamentos desenvolvidos a partir dos anos 1980. Esses campos estudam a matéria no âmbito da escala atômica e molecular, geralmente menores do que 100 nanômetros, a fim de compreender a relação entre síntese, estruturas e propriedades, tais como topografia (características de superfície), morfologia (forma e tamanho das partículas que compõem o objeto), composição (identificação dos elementos que compõem a amostra) e informação cristalográfica (como os átomos estão organizados no objeto). De posse dessas informações, podem-se definir aplicações específicas para cada tipo de nanossistemas<sup>1</sup>.

O estudo de nanomateriais não é simples de ser realizado, impondo uma série de restrições e desafios aos pesquisadores. Muitas técnicas tradicionais não funcionam nessa escala, por exemplo, não é possível usar a microscopia óptica, uma vez que sua resolução é limitada pelos

1.Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução da Universidade Federal de Goiás (LabMic/UFG), Goiânia, Goiás, Brasil.

2.Instituto Federal do Paraná - Campus Paranaguá, Paranaguá, Paraná.

\*E-mail: tatiane\_oliveira@ufg.br.

efeitos da difração da luz visível, sendo de 0,2  $\mu\text{m}$  para um aumento útil máximo de 1.000 vezes<sup>2</sup>. Qualquer partícula menor do que esse limite é indistinguível.

Por outro lado, a microscopia eletrônica é uma técnica atual que desempenha um papel fundamental na compreensão da natureza desses nanossistemas, permitindo a obtenção de informações sobre as propriedades morfológicas e físico-químicas de nanocomponentes individuais, bem como suas relações espaciais. Utilizam-se elétrons em vez da luz, possuem comprimento de onda  $\lambda$  curto (por exemplo,  $\lambda = 0,005 \text{ nm}$  para uma voltagem de aceleração de 50 kV), quando comparado com os comprimentos de luz visível ( $\lambda = 400 \text{ a } 700 \text{ nm}$ ), oferecendo, assim, maior resolução.

Da interação dos elétrons do feixe incidente com a amostra surgem vários tipos de espalhamentos, tais como: elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios X característicos. Se a amostra for suficientemente fina, ainda há os elétrons transmitidos. Cada espalhamento contém uma informação característica da amostra, como morfologia, espectroscopia, cristalografia, composição, podendo obter informações de experimentos *in situ*, dentre outras. Essas informações auxiliam no aperfeiçoamento de nanossistemas, otimizando suas aplicações.

Os dois tipos básicos de microscópios eletrônicos são o microscópio eletrônico de varredura (MEV) e o microscópio eletrônico de transmissão (MET). A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica amplamente utilizada em diversas áreas, sua varredura é superficial, e, por isso, fornece informações de topografia, identificação elementar qualitativa e quantitativa. Atualmente, os mais avançados microscópios eletrônicos de varredura podem chegar à resolução de 0,6 nm<sup>3</sup>. O MET, por sua vez, é uma das ferramentas mais importantes de caracterização com alta resolução espacial. Nos dias atuais, os equipamentos mais avançados já contam com resolução menor que 0,05 nm<sup>4,5</sup>.

Neste capítulo, serão abordados os princípios básicos da microscopia eletrônica e o funcionamento do MEV e do MET, a fim de compreender suas aplicações e obter resultados confiáveis e conclusivos para a caracterização de nanossistemas.

---

## 2. Breve histórico

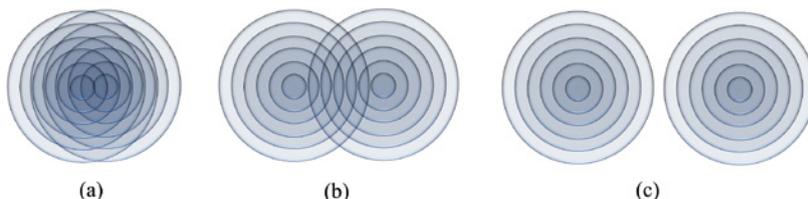
Em 1931, Max Knoll e Ernest Ruska desenvolveram o primeiro microscópio eletrônico na Alemanha, com três lentes magnéticas (condensadora, objetiva e projetora). Apesar da ampliação pequena, cerca de 14,4 vezes, o aparato provou que imagens de espécimes irradiados também podiam ser obtidas através de feixes de elétrons e campos magnéticos, e não apenas por luz. A utilização prática dessas imagens era extremamente limitada devido à pouca ampliação, mostrando que a resolução ainda era uma questão importante a ser resolvida para obter microscópios mais eficientes<sup>6,7</sup>.

O limite de resolução pode ser definido como a separação mínima entre dois objetos para que eles possam ser totalmente distinguíveis, ou seja, quanto menor for o limite de resolução, maior será a resolução ou o poder de resolução<sup>8</sup>. O limite de resolução na microscopia óptica está relacionado com o comprimento de onda  $\lambda$  da luz. A luz proveniente de um ponto do objeto atravessa uma série de aberturas circulares, por exemplo, diafragmas e lentes. Dessa forma, a imagem de um ponto não será puntiforme por causa da limitação imposta pela difração nas aberturas<sup>9</sup>. Se dois pontos do objeto estiverem muito próximos, os discos centrais de difração das suas imagens se sobreporão, conforme observado na Figura 1(a).

O critério de Rayleigh define a menor distância possível entre dois objetos luminosos pontuais na qual os dois objetos são distinguíveis. Ainda afirma que os corpos começam a ser distinguíveis quando o centro do padrão de difração de um deles coincide com o primeiro mínimo de difração do outro<sup>10</sup>, conforme é mostrado na Figura 1(b). Na

Figura 1(c), já é possível distinguir totalmente os dois objetos, pois os padrões de difração não se encontram.

**Figura 1:** Padrão de difração formado por dois objetos luminosos pontuais (a) com superposição, (b) no limite de resolução dado pelo critério de Rayleigh e (c) totalmente separados



**Fonte:** elaborada pelos autores.

Portanto, a resolução do microscópio óptico depende somente do efeito de difração da luz. A menor distância é o raio do primeiro mínimo do padrão de difração associado a um ponto do objeto, ou raio do disco de Airy ( $R_d$ ), cujo valor é dado pela equação<sup>8,10</sup>:

$$R_d = \frac{0,61}{NA} \quad (1)$$

em que  $\lambda$  é o comprimento de onda da luz;  $NA$  é o número de aberturas ou abertura numérica da lente.

O físico Ernst Abbé, analisando em detalhe a resolução dos microscópios ópticos, observou que quanto maior fosse o número de aberturas ( $NA$ ) na equação (1) menor seria o valor de  $R_d$ , mostrando que aberturas numéricas altas produzem melhor resolução<sup>8</sup>. Abbé propôs, assim, que a relação para o limite de resolução  $\delta$  decorre diretamente da equação (1), podendo ser reescrita como:

$$\delta = \frac{0,61}{\lambda NA} \quad (2)$$

Até então, Knoll e Ruska não tinham conhecimento da teoria de De Broglie sobre as ondas de matéria. Em 1986, Ruska recebeu o prêmio Nobel de Física por seu trabalho fundamental em óptica eletrônica e pelo projeto do primeiro microscópio eletrônico. Em seu discurso menciona que, ao ter conhecimento das ondas de matéria, ficou desapontado pela resolução do microscópio eletrônico também estar limitada pelo comprimento de onda. Contudo, ao se aprofundar na teoria de De Broglie, surpreendeu-se ao notar que as ondas associadas aos elétrons deveriam ter comprimentos de onda muito menores do que as ondas de luz e, em virtude disso, não haveria razão para abandonar a sua ideia da microscopia.

Em 1938, Manfred von Ardenne construiu o primeiro microscópio de transmissão-varredura. O primeiro microscópio eletrônico de varredura usado para observar superfície de amostras espessas foi descrito por Zworykin, em 1948<sup>12</sup>. Desde então, houve uma rápida evolução dos microscópios e um grande avanço na qualidade e no conteúdo da informação obtida com a microscopia eletrônica computadorizada e os sistemas com resolução subangstrom.

O microscópio eletrônico atual, seja ele de transmissão, seja de varredura, tem fornecido informações analíticas, juntamente com a observação da ultraestrutura e da morfologia. Essas informações podem ser qualitativas (identificação e localização de elementos químicos) ou semiquantitativas, que informam sobre concentrações relativas ou absolutas, respectivamente, de elementos presentes na amostra.

Com a nova geração de microscópios com correção da aberração esférica, têm-se obtido imagens com resolução suficiente para mostrar a separação entre dois átomos com distância menor que  $0,05 \text{ nm}$ <sup>5,13-15</sup>. Além disso, as técnicas acopladas aos microscópios eletrônicos têm evoluído significativamente, aumentando a capacidade de fornecer inúmeras informações. Isso tem tornado a microscopia eletrônica indispensável às pesquisas em nanotecnologia e em nanossistemas.

## 2.1. Postulado de De Broglie

Louis De Broglie, em sua tese apresentada em 1924, propôs a existência de ondas de matéria. Como um fóton tem associada uma onda luminosa que governa seu movimento, uma partícula carregada (por exemplo, elétrons e prótons) também tem associada uma onda de matéria que governa o seu movimento. Em outras palavras, a luz possui uma natureza dual, comportando-se ora como onda, ora como partícula. A mesma dualidade é válida para a matéria, podendo se comportar ora como onda, ora como partícula<sup>10,11</sup>.

De acordo com De Broglie, tanto para a matéria quanto para a radiação, a energia total  $E$  está relacionada com a frequência  $\nu$  da onda associada ao seu movimento pela equação:

$$E = h\nu \quad (3)$$

sendo  $h$  a constante de Planck, com valor de  $6,62 \times 10^{-39}$  J.s.

De Broglie postulou que uma partícula livre com massa de repouso  $m$ , deslocando-se com velocidade não relativística  $v$ , deve ter um comprimento de onda  $\lambda$  associado a seu momento linear  $p = mv$ , do mesmo modo que um fóton, dado por:

$$\lambda = h / p \quad (4)$$

O comprimento de onda  $\lambda$  de De Broglie de uma partícula é, então:

$$\lambda = h / mv \quad (5)$$

## 2.2. Comprimento de onda associado ao elétron no microscópio eletrônico

Quando um elétron é acelerado por uma diferença de potencial no interior do microscópio eletrônico, pode-se considerar que a energia potencial ( $E_p$ ) será totalmente convertida em energia cinética ( $E_c$ ). Assim, desprezando os efeitos relativísticos, tem-se<sup>2,16</sup>:

$$eV = \frac{m_e v^2}{2} \quad (6)$$

em que  $e$  é o módulo da carga do elétron ( $1,602 \times 10^{-19}$  C),  $m_e$  é a sua massa de repouso ( $9,108 \times 10^{-31}$  Kg) e  $v$ , a velocidade do elétron. Combinando a equação (5) com a equação (6) e substituindo os valores das constantes  $h$ ,  $e$  e  $m_e$ , obtém-se  $\lambda$ :

$$\lambda = \sqrt{\frac{1,5}{V}} \text{ (nm)} \quad (7)$$

A equação (7) revela a dependência do comprimento de onda  $\lambda$  do elétron com o potencial de aceleração do microscópio eletrônico ( $V$ ), isto é,  $\lambda$  diminuirá na medida em que aumenta o potencial de aceleração  $V$ . Assim, se o elétron for acelerado com uma tensão de 100 kV, o seu comprimento de onda será de 0,0038 nm<sup>7</sup>.

Usando a equação de Abbé (2), assumindo  $NA = 1$  (comparável ao da objetiva de um microscópio óptico) e o comprimento de onda encontrado para a aceleração de 100 kV, a resolução do microscópio eletrônico será de 0,002 nm. Contudo, esse valor não poderá ser atingido, uma vez que existem outros fatores que influenciam na limitação da resolução de um microscópio, como a aberração esférica inerente às lentes magnéticas e da própria difração, conforme mostrado anteriormente.

Se o elétron for acelerado por uma grande diferença de potencial, tal que sua velocidade seja próxima à da luz  $c$ , sendo  $c = 2,998 \times 10^8$  m/s,

os efeitos relativísticos não podem ser ignorados. A massa do elétron, então, crescerá quando comparada com sua massa de repouso, de acordo com a expressão de Lorentz<sup>2,16</sup>:

$$m = \frac{m_e}{\sqrt{1 - \left(\frac{v}{c}\right)^2}} \quad (8)$$

A energia cinética do elétron não será mais dada pela equação (6), tendo que ser reescrita levando em consideração a equação (8):

$$eV = (m - m_e)c^2 \quad (9)$$

Combinando as equações (5), (8) e (9), tem-se a relação entre o comprimento de onda  $\lambda$  e o potencial de aceleração  $V$ , dada por:

$$\lambda^2 = \frac{h^2}{2eVm_e + e^2V^2/c^2} \quad (10)$$

Substituindo os valores das constantes  $h$ ,  $e$ ,  $m_e$  e  $c$  na relação na equação (10), obtém-se:

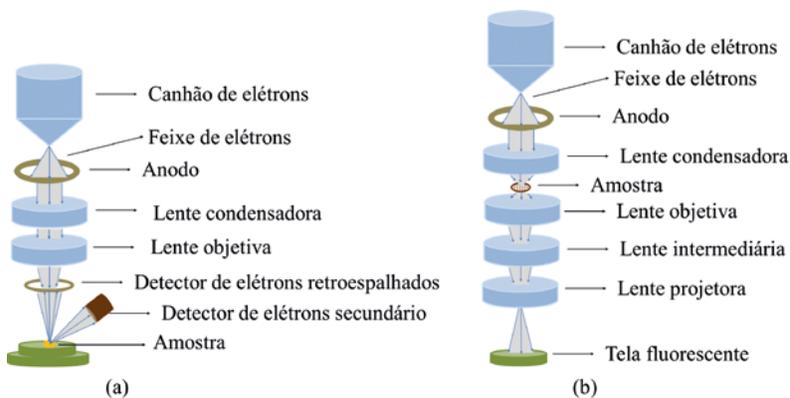
$$\lambda = \sqrt{\frac{1,5}{V + 10^{-6}V^2}} \text{ (nm)} \quad (11)$$

A equação (11) deve ser considerada para microscópios eletrônicos de média e alta voltagem. Para baixa voltagem, vale a equação (7).

### 3. Microscópio eletrônico

O microscópio eletrônico é composto por uma coluna mantida em alto vácuo, em que estão contidos um canhão de elétrons e um sistema de lentes magnéticas (condensadora e objetiva). No caso do microscópio eletrônico de transmissão (MET), ainda há as lentes projetora e intermediária. Na Figura 2(a), estão representados esquematicamente os componentes do microscópio eletrônico de varredura (MEV) e, na Figura 2(b), do microscópio eletrônico de transmissão (MET), que serão tratados em detalhes nas sessões seguintes.

**Figura 2:** Representação esquemática dos componentes do (a) MEV e (b) do MET



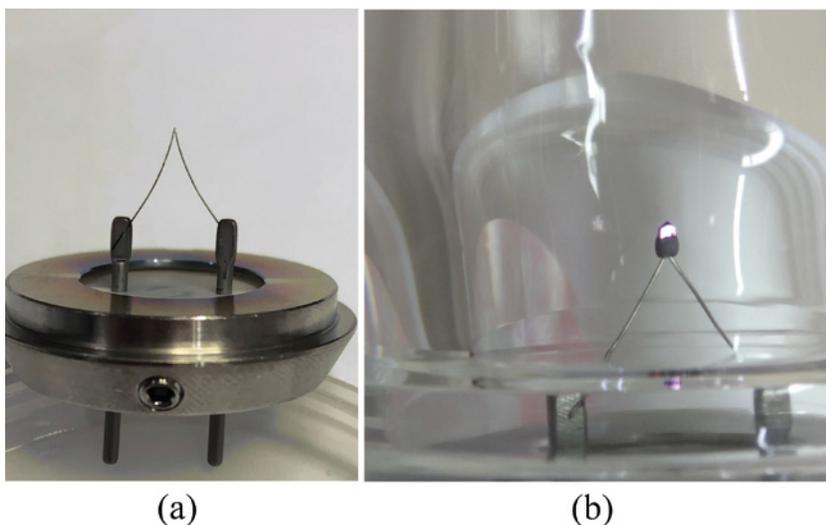
**Fonte:** elaborada pelos autores.

#### 3.1. Tipos de fontes de elétrons

##### 3.1.1. Fonte de emissão termiônica

A emissão termiônica corresponde ao escape de elétrons de uma superfície quando é fornecida energia suficiente para os elétrons vencerem a barreira de energia que os mantém presos na superfície. Essa energia é fornecida na forma de calor<sup>7,16</sup>. Nos microscópios eletrônicos, são utilizadas duas fontes de emissão termiônica: o filamento de tungstênio e o cristal de hexaboreto de lantânio ( $\text{LaB}_6$ ) (Figura 3).

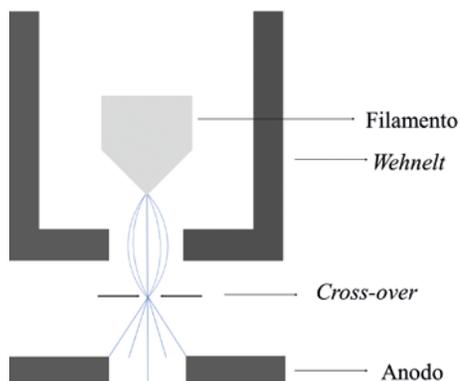
**Figura 3:** Filamento de (a) tungstênio e (b) cristal de hexaboreto de lantânio ( $\text{LaB}_6$ ). Imagens obtidas no LabMic/UFG



**Fonte:** elaborada pelos autores.

O canhão de elétrons que usa esse tipo de emissão é constituído por três partes, um arranjo tipo triodo: um filamento, o *wehnelt* (uma capa metálica) e o anodo ligado ao fio terra, conforme Figura 4.

**Figura 4:** Representação do canhão de elétrons tipo triodo



**Fonte:** elaborada pelos autores.

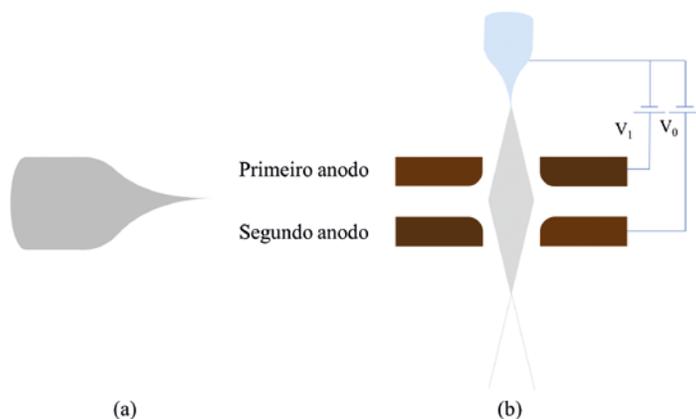
O filamento é aquecido pela passagem de uma corrente elétrica até a temperatura de ótima operação. Essa condição é conhecida como saturação do filamento, uma vez que o aquecimento adicional não arrancará mais elétrons da superfície deste, mas apenas diminuirá a sua vida útil. A partir desse ponto, o filamento começa a emitir elétrons e, para convergi-los no *cross-over*, é aplicada uma pequena diferença de potencial negativa no *wehnelt*, chamada de *bias*, conforme apresentado na Figura 4.

### 3.1.2. Fonte de emissão de campo (FEG)

Nas fontes de emissão de campo, *field emission electron gun (FEG)*, o filamento é um cristal de tungstênio com uma ponta muito fina, conforme mostrado na Figura 5(a). Essa condição favorece o “poder das pontas”, ou seja, a intensidade do campo elétrico aumenta em regiões pontiagudas, obedecendo à equação  $\mathcal{E} = V/r$ , em que  $\mathcal{E}$  é o módulo do campo elétrico gerado por uma diferença de potencial  $V$  e  $r$ , o raio de uma região esférica.

Na emissão de campo, a ponta do filamento atua como catodo e há, ainda, dois anodos (Figura 5(b)). O primeiro anodo gera um campo elétrico intenso, no qual os elétrons ganham energia suficiente para vencer a barreira de potencial que os prende no cristal, tornando-os livres. Esses elétrons livres são acelerados por outra diferença de potencial, que é aplicada pelo segundo anodo. Os campos combinados dos anodos atuam como uma lente eletrostática para produzir uma região de *cross-over*<sup>7,16</sup>.

**Figura 5:** Esquema (a) da ponta do filamento tipo FEG e (b) do canhão de emissão de campo



**Fonte:** elaborada pelos autores.

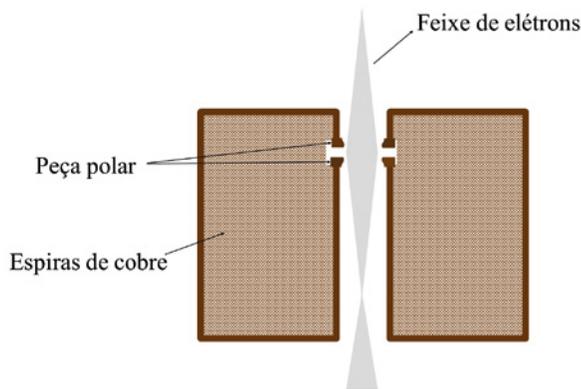
### 3.2. Sistema de lentes magnéticas

As lentes eletrônicas têm a função de convergir o feixe eletrônico na amostra e formar a imagem, podendo ser classificadas como eletrostática e magnética. O canhão de elétrons é considerado a lente eletrostática do microscópio.

Uma lente magnética é constituída por uma bobina com uma capa de ferro e peça polar, conforme esquematizado na Figura 6. Quando a corrente passa pelas espiras da bobina, um campo magnético é gerado, cuja função é a de convergir o feixe proveniente de um objeto em um ponto de imagem. Para ter lentes magnéticas mais potentes e com baixa distância focal, é necessário reduzir a região na bobina, na qual o campo é intenso. Para isso, é utilizada uma peça polar, que é um pequeno núcleo cilíndrico de ferro doce dentro da bobina. Nessa região, o campo magnético é mais intenso, permitindo o controle da ação de focalização da lente<sup>16</sup>.

Assim, as lentes magnéticas têm duas funções principais. A primeira é corrigir a trajetória dos elétrons desviados do eixo, por meio do campo magnético gerado na bobina e, também, permitir a ação focal da lente e maiores ampliações do objeto, já que campos intensos produzem distâncias focais menores.

**Figura 6:** Representação esquemática de uma lente magnética com capa de ferro e peça polar



**Fonte:** elaborada pelos autores.

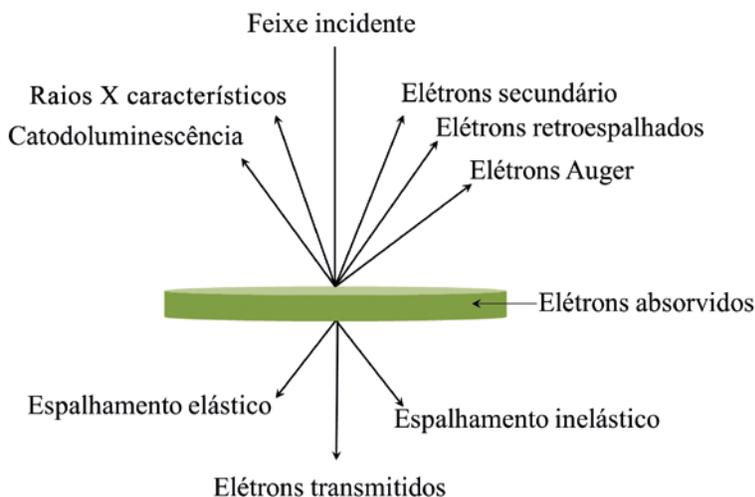
No microscópio eletrônico, pode-se ter as lentes condensadoras e a objetiva. Para o MET, ainda há as lentes intermediárias e a projetora.

A lente condensadora concentrará o feixe de elétrons na amostra em uma região a ser analisada. A objetiva foca a imagem variando a distância focal do feixe eletrônico. A intermediária magnificará a imagem a partir da imagem formada pela lente objetiva e a projetora produzirá a imagem final ampliada na tela fluorescente.

### 3.3. Interação do feixe com a amostra

Os elétrons do feixe eletrônico, ao incidir na amostra, interagirão com os átomos da amostra e, como consequência, ocorrerão vários tipos de espalhamentos simultaneamente, descritos na Figura 7. Cada espalhamento fornecerá alguma informação da amostra.

**Figura 7:** Representação esquemática dos tipos de espalhamento quando os elétrons do feixe principal interagem com os átomos da amostra



**Fonte:** elaborada pelos autores.

### 3.3.1. Espalhamento elástico

Os elétrons do feixe incidente podem interagir com o núcleo do átomo da amostra por meio de uma interação eletrostática (coulombiana). Esses elétrons podem mudar sua direção, ou seja, serem defletidos com ângulos maiores que  $90^\circ$ , podendo retornar pela mesma direção. Esse tipo de espalhamento é conhecido como espalhamento elástico, pois o elétron muda a direção quase sem perda de energia. Os elétrons desviados são conhecidos como elétrons retroespalhados ou *backscattered*<sup>7,12</sup>.

No microscópio eletrônico de transmissão, os elétrons retroespalhados são responsáveis pelo contraste na imagem. Já no microscópio eletrônico de varredura, eles podem fornecer um contraste na imagem devido à diferença do número atômico dos átomos presentes na amostra, fornecendo, assim, informações sobre a composição química desta<sup>17</sup>.

### 3.3.2. Espalhamento inelástico

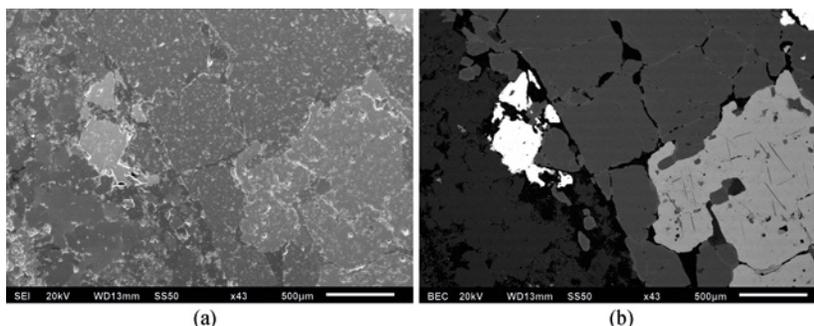
Os elétrons do feixe incidente também podem interagir com os dos átomos da amostra. Nessa situação, um elétron do feixe incidente pode fornecer energia para um elétron de um átomo da amostra ser ejetado, ionizando esse átomo, ou pode fornecer energia para o elétron sofrer uma transição eletrônica, saindo de um nível mais baixo para outro de mais alta energia. Esse tipo de espalhamento é conhecido como espalhamento inelástico, no qual o elétron do feixe incidente perde energia e tem sua direção desviada para baixos ângulos<sup>7,12</sup>.

Nesse caso, a perda de energia fornece informação sobre um átomo da amostra, sendo a base para a identificação elementar em técnicas de microanálise, tais como a espectroscopia de perda de energia de elétrons (*EELS*) e a espectroscopia de energia dispersiva (*EDS*).

### 3.3.3. Elétrons secundários

Esses elétrons são gerados quando o elétron do feixe incidente interage com os elétrons do átomo da amostra, transferindo energia suficiente para ejetar o elétron do átomo. Esse elétron livre pode ser capturado por um átomo ionizado ou, se estiver próximo da superfície da amostra, pode dela escapar. Esses elétrons são conhecidos como secundários e fornecem informações sobre a superfície da amostra<sup>7,12</sup>. Nas micrografias da Figura 8, pode ser visto um exemplo de imagem de elétrons secundários (*SEI*) e de elétrons retroespalhados (*BEC*), obtidas na mesma região da amostra.

**Figura 8:** Micrografia de lâmina delgada com (a) elétrons secundários (SEI) e (b) elétrons retroespalhados (BEC)



**Fonte:** Imagens cedidas por José Affonso Brod, da Unidade Acadêmica Especial de Ciências e Tecnologia da UFG.

### 3.3.4. Raios X característicos e elétrons Auger

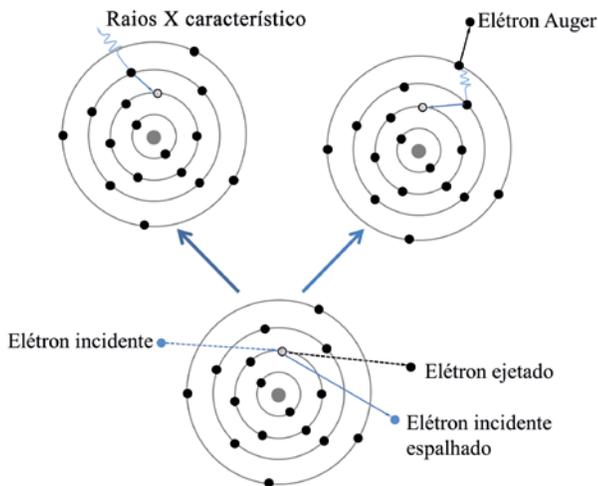
O átomo que ejetou um elétron ou que está em estado excitado não é mais estável. Nessa condição, um elétron de uma camada acima tende a preencher essa vacância para que o átomo retorne ao seu estado fundamental. Ao fazer essa transição, o elétron libera uma quantidade de energia cujo valor é igual à diferença entre os dois níveis de energia<sup>7,12</sup>. Essa energia pode ser liberada de duas formas, conforme ilustrado na Figura 9:

- por meio de raios X característicos, que fornecem informações sobre a identificação do elemento que emitiu essa radiação específica, ou
- quando essa energia liberada é absorvida por outro elétron do átomo, fornecendo a energia necessária para ser ejetado, sendo conhecido como elétron Auger. Em geral, o elétron Auger é de baixa energia e fornece informação sobre a natureza química de uma camada fina da superfície da amostra.

### 3.3.5. Catodoluminescência

Alguns materiais têm a propriedade de emitir luz quando o feixe de elétrons incide sobre a amostra (Efeito de Catodoluminescência). Essa emissão será na faixa visível do espectro eletromagnético e pode fornecer informações sobre a recombinação de portadores de carga em defeitos da rede cristalina de material<sup>7</sup>.

**Figura 9:** Representação esquemática da ionização de um átomo e das transições dos elétrons com emissão de raios X característicos ou do elétron de Auger



**Fonte:** elaborada pelos autores.

## 4. Microscópio eletrônico de transmissão (MET)

O microscópio eletrônico de transmissão (MET) é uma poderosa ferramenta com alta resolução espacial para caracterização morfológica, estrutural e química de nanossistemas. Com os avanços de acessórios e o surgimento de novas técnicas, bem como o desenvolvimento de poderosos *softwares* de tratamento de dados e imagens, é possível obter informações de estruturas congeladas (criomicroscopia), fazer reconstrução tridimensional em alta resolução, realizar estudo da dinâmica de experimentos *in situ*, fazer mapeamento quantitativo químico, obter imagens com ultrarresolução, dentre outros<sup>4,5,13,18</sup>.

A Figura 10 mostra o MET convencional com aceleração de 200 kV, que está instalado no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução da Universidade Federal de Goiás (LabMic/UFG).

**Figura 10:** Microscópio eletrônico de transmissão (MET) instalado no LabMic/UFG



**Fonte:** elaborada pelos autores.

Como visto, o feixe eletrônico é gerado no ganhão de elétrons, acelerado por uma diferença de potencial, que pode variar entre 100 kV e 1000 kV, por exemplo, dependendo da configuração do MET. O feixe formado imerge na coluna eletrônica com lentes magnéticas, responsáveis pela convergência dos feixes, formação e focalização da imagem.

O feixe é transmitido através da amostra, que deve ser fina, abaixo de 100 nm de espessura. Durante a passagem do feixe, surgem três diferentes interações dos elétrons do feixe transmitido com a amostra: os elétrons que são espalhados elasticamente, os elétrons que são espalhados inelasticamente e os elétrons que não sofrem nenhuma interação (elétrons transmitidos), conforme ilustrado na Figura 7.

Em amostras finas, há uma maior probabilidade de os elétrons do feixe transmitido não interagirem com os átomos da amostra<sup>17,19</sup>. Nesse caso, a contribuição da espessura da amostra e da energia dos elétrons será expressa pelo parâmetro do livre caminho médio do elétron no material, que é a distância média percorrida por um elétron entre colisões.

O espalhamento elástico contribui para a formação da imagem de campo claro de alta resolução, sendo responsável pelo contraste no MET, pois podem ser bloqueados pela abertura da lente objetiva. Elétrons espalhados elasticamente podem sofrer desvios em grandes ângulos, contribuindo para a formação de imagens de campo escuro por meio de uma técnica conhecida como detector anular de grande ângulo (*high angle anular dark field - HAADF*), formando a imagem no microscópio eletrônico de transmissão-varredura (*STEM*)<sup>19,20</sup>.

No espalhamento inelástico, a perda de energia é característica de cada tipo de átomo, fornecendo informações sobre a composição da amostra pela técnica de microanálise conhecida como Espectroscopia de perda de energia de elétrons (*EELS*).

## 4.1. Formação da imagem no microscópio eletrônico de transmissão (MET)

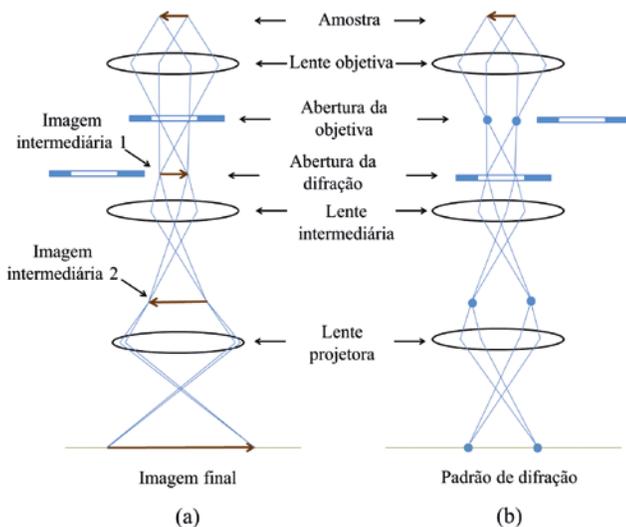
A geometria dos raios envolvidos na formação da imagem no microscópio eletrônico de transmissão está apresentada na Figura 11(a). Depois que o feixe atravessa a amostra, a primeira lente é a objetiva, que fornecerá uma imagem ampliada do objeto (imagem da intermediária 1). A lente intermediária fornece uma segunda imagem ampliada (imagem da intermediária 2). Por fim, a lente projetora fornece a imagem ampliada final na tela, denominada de imagem de campo claro (*bright field*)<sup>7</sup>.

Os elétrons do feixe transmitido sofrem difração ao interagirem com amostras cristalinas. O padrão de difração aparece na forma de *spots* (pontos), conforme ilustrado na Figura 11(b), e está focalizado no plano focal posterior da lente objetiva<sup>21</sup>. Cada *spot* corresponde a um espaçamento atômico específico (um plano), fornecendo informações sobre a orientação, os arranjos atômicos e as fases presentes na área analisada.

É importante ressaltar que todos os espalhamentos descritos acontecem ao mesmo tempo e, assim, alguns raios difratados seguem o mesmo caminho do feixe na formação da imagem de campo claro. Portanto, é possível selecionar o tipo de observação por meio do uso de aberturas.

No MET, tem-se a abertura da condensadora, responsável por bloquear os elétrons que estão desviados com grandes ângulos do feixe principal, e a abertura da objetiva, responsável pelo contraste na imagem e pela seleção da imagem de campo claro ou campo escuro (*dark field*). A imagem de campo escuro é formada apenas pelos raios difratados pela amostra, fornecendo informação de cristalinidade.

**Figura 11:** Representação da geometria dos raios para formação de imagens no MET (a) para formação da imagem da amostra e (b) para formar a imagem do padrão de difração de elétrons



**Fonte:** elaborada pelos autores.

## 4.2. Exemplos de informações obtidas no MET

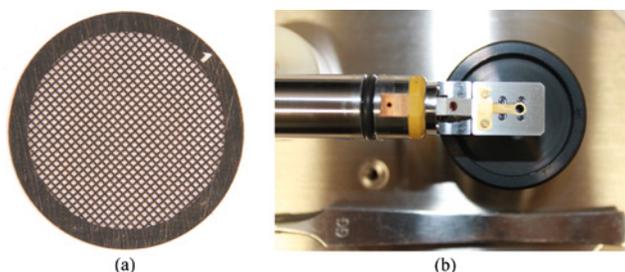
Para obter uma informação confiável e conclusiva, quer seja por microscopia eletrônica de transmissão, quer seja por microscopia eletrônica de varredura, é importante conhecer a amostra ou ter informações prévias sobre a composição, a estrutura, a homogeneidade ou os possíveis defeitos. Além disso, definir a forma como a amostra será preparada é essencial para obter sucesso na análise e resultados satisfatórios.

Alguns tipos de amostras necessitam de preparos especiais. Amostras biológicas, por exemplo, passam por uma série de etapas para garantir que tenham suas características preservadas e possam resistir ao alto vácuo no microscópio, bem como ao intenso feixe de elétrons.

Hoje, há uma variedade de técnicas e equipamentos que auxiliam na preparação de amostras. Em geral, a etapa de preparação para visualização no MET envolve métodos de fixação para preservar as

estruturas celulares e intracelulares, que podem ser químicos, por meios de reagentes, ou físicos, por meios criogênicos. Na sequência, há a desidratação, a inclusão em resina e os cortes ultrafinos (entre 50 e 70 nm). Os filmes ultrafinos são colocados em uma grade (*grid*), conforme mostrado na Figura 12(a). A última etapa é a contrastação, a qual utiliza sais de metais pesados para melhorar o contraste, uma vez que a composição da amostra biológica é de elementos de baixo número atômico<sup>7,21</sup>. Após a secagem, a amostra está pronta para ser colocada no porta-amostras (Figura 12(b)).

**Figura 12:** (a) Imagem da grade de 300 mesh, registrada no microscópio óptico Axio Zoom.V16 da Zeiss. (b) Porta-amostras do MET do LabMic/UFG



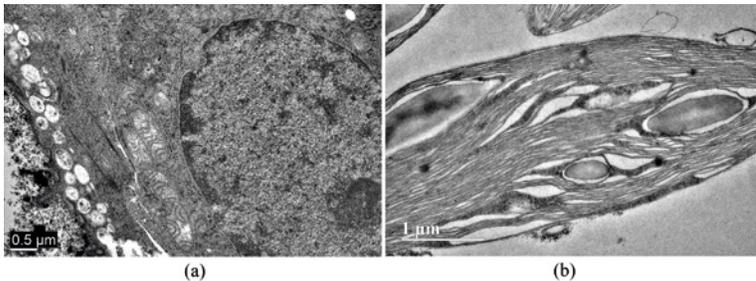
**Fonte:** elaborada pelos autores.

Em seguida, serão apresentados alguns exemplos de micrografias de análises realizadas no microscópio eletrônico de transmissão (MET), Jeol, JEM-2100, instalado no LabMic/UFG, operando em 100 kV.

Nas micrografias das Figuras 13(a) e 14(b), observam-se a morfologia de diferentes células animais e a presença de diversas organelas na região do citoplasma perinuclear. Ainda na Figura 14(b), é possível verificar a presença de aglomerados de nanopartículas de ferrita, indicadas pelas setas. Esse tipo de análise é importante na nanobiotecnologia, pois confirma a presença das nanopartículas no interior da célula; também fornece informações sobre as mudanças morfológicas causadas pela entrada das nanopartículas na célula, como um fármaco.

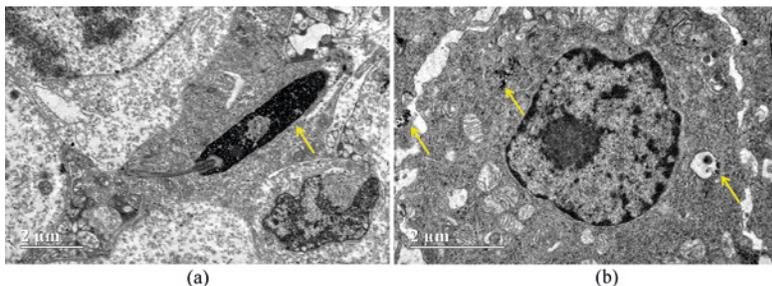
A micrografia da Figura 13(b) apresenta um exemplo de ultraestrutura de cloroplastos presente no interior de células vegetais. Já na Figura 14(a), a micrografia mostra a ultraestrutura de um espermatozoide, indicada pela seta, dentro do testículo de uma arara-canindé (*Ara ararauna*).

**Figura 13:** (a) Micrografia da região do citoplasma perinuclear de célula prostática de gerbilo (*Meriones unguiculatus*)



**Fonte:** Imagem cedida por Fernanda Cristina Alcântara dos Santos e Manoel Francisco Biancardi, do Instituto de Ciências Biológicas da UFG. (b) Micrografia de cloroplastos de *Aechmea bromeliifolia* (Rudge) Baker (Bromeliaceae) germinada *in vitro*. Imagem cedida por Leticia de Almeida Gonçalves e Elienai Cândida e Silva, do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

**Figura 14:** (a) Micrografia do testículo de uma arara-canindé (*Ara ararauna*). Em destaque, a ultraestrutura do espermatozoide (indicada pela seta). Imagem cedida por Karina Simões, do Instituto de Ciências Biológicas da UFG. (b) Micrografia de células macrófagos com a presença de aglomerados de nanopartícula de ferrita (indicados pela seta)



**Fonte:** Imagem cedida por André Côrrea Amaral e Anielle Carvalho Bandeira (*in memoriam*), do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG.

Nas ciências de materiais, algumas amostras não precisam de procedimentos especiais de preparo, como as nanopartículas (metálicas, cerâmicas etc.), os nanotubos, dentre outros. O preparo desse tipo de amostra é relativamente simples, o material é suspenso e uma alíquota é depositada na grade. Após a secagem, a análise é realizada.

Para determinadas amostras, o preparo requer o uso de um conjunto de técnicas de polimentos e desbastes, incluindo o uso do *Focused Ion Beam (FIB)*. O *FIB* é um feixe de íons que, quando focalizado, pode modificar diretamente a superfície da amostra, por meio de um processo de *sputtering*. Ao controlar a energia e a intensidade do feixe de íons, é possível remover material da superfície ou produzir camadas com precisão nanométrica, até que a amostra fique com a espessura adequada para a visualização no MET.

As Figuras de 15 a 19 mostram alguns exemplos de micrografias obtidas no MET, Jeol, JEM-2100, instalado no LabMic/UFG, operando em 200 kV.

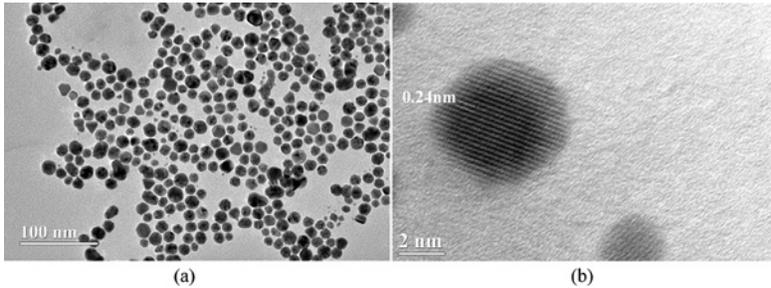
A Figura 15(a) apresenta a morfologia de nanopartículas de ouro (Au), sendo possível determinar a dispersão de tamanho pela contagem de diâmetros. A imagem de alta resolução fornece informações sobre a cristalinidade e a distância interplanar, conforme indicado na Figura 15(b).

Como mencionado, o MET também fornece a imagem por difração de elétrons. Na Figura 16(b), está apresentado o padrão de difração de elétrons das nanopartículas da Figura 16(a), sendo possível determinar a distância interplanar de diferentes planos e fazer a indexação com os índices  $hkl$  diretamente do padrão de difração. Já a Figura 17(b) mostra a difração de elétrons de um nanocristal de sílica ( $\text{SiO}_2$ ), e, na Figura 17(a), os planos cristalinos de uma região do nanocristal.

A Figura 18(b) mostra a imagem de campo escuro de uma matriz polimérica (amorfa), cujos pontos brilhantes indicam a presença de material cristalino, que são nanopartículas de níquel. Na imagem de campo claro, não se pode observar a distribuição das nanopartículas, uma vez que elas estão em todo o volume do polímero, o que dificulta a visualização das nanoestruturas.

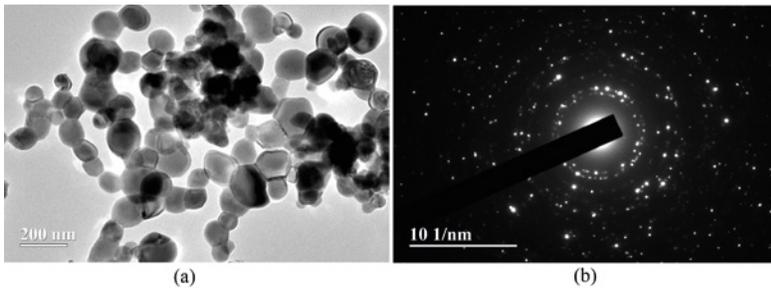
Um dos desafios da atualidade é compreender e melhorar o transporte de fármacos (*drug delivery*). Para isso, o estudo de novos sistemas é essencial para maximizar os efeitos e a eficácia dos fármacos. A Figura 19 mostra um tipo de sistema polimérico que tem sido estudado para as aplicações de transporte de fármacos. Esse tipo de amostra requer um preparo especial, com o uso de contrastes à base de sais de metais pesados, por meio de uma técnica conhecida como *contrastação negativa* (*negative stain*).

**Figura 15:** (a) Micrografia de nanopartículas de ouro (Au) e (b) alta resolução de uma nanopartícula de ouro



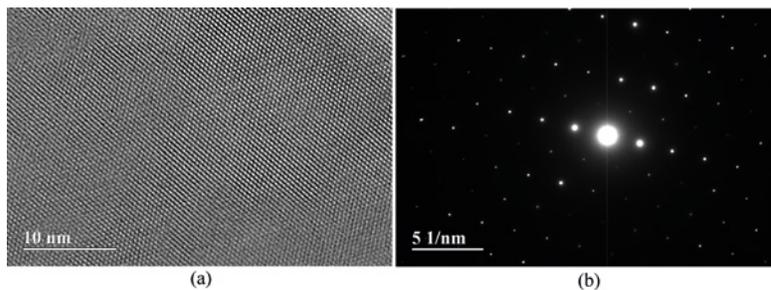
**Fonte:** Imagens cedidas por Emília Celma de Oliveira Lima, do Instituto de Química da UFG.

**Figura 16:** Micrografia de nanopartículas de óxido de zinco dopado com gadolínio (a) com campo claro e (b) padrão de difração de elétrons de uma área selecionada



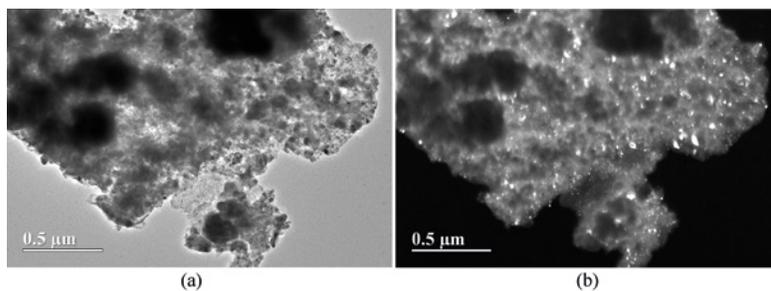
**Fonte:** Imagens cedidas por Adolfo Franco Júnior, do Instituto de Física da UFG.

**Figura 17:** (a) Micrografia de alta resolução de um nanocristal de sílica ( $\text{SiO}_2$ ) e (b) o padrão de difração de elétron de uma área selecionada no nanocristal



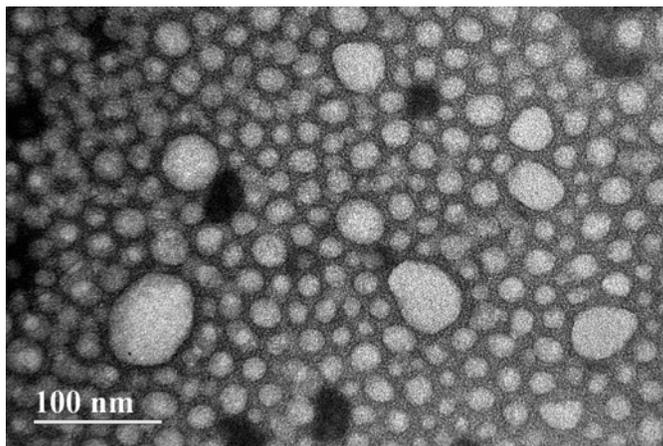
**Fonte:** elaborada pelos autores.

**Figura 18:** Micrografia de uma matriz polimérica com a presença de nanopartículas de níquel com (a) campo claro e (b) campo escuro



**Fonte:** Imagens cedidas por Marco Antonio Morales Torres, do Departamento de Física Teórica e Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

**Figura 19:** Micrografia de nanocápsula polimérica (micela) com fármaco encapsulado



**Fonte:** Imagem cedida por Emília Celma de Oliveira Lima, do Instituto de Química da UFG.

---

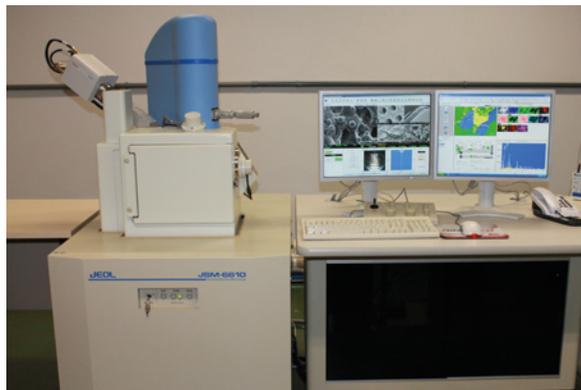
## 5. Microscópio eletrônico de varredura (MEV)

O MEV é comumente utilizado para a análise de amostras grandes e espessas, a fim de obter informações sobre as características da superfície e de sua identificação química. Nos equipamentos convencionais, a resolução é da ordem de 3 nm e possui uma grande profundidade de foco, fornecendo uma impressão de imagem tridimensional. Os elétrons são acelerados com uma energia entre 0,5 keV e 30 keV. A Figura 20 mostra o MEV convencional instalado no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução da Universidade Federal de Goiás (LabMic/UFG).

O MEV-FEG, conhecido assim por possuir fonte de emissão de campo (*field emission electron gun*), apresenta um feixe com alta densidade eletrônica e resolução superior à do MEV convencional. Com avanços

no sistema de detecção e aquisição de imagens, além dos demais acessórios, principalmente para baixa tensão (abaixo de 100 eV - MEV de ultrabaixa voltagem), o MEV-FEG tem se tornado uma poderosa ferramenta para o estudo de materiais orgânicos e inorgânicos em escalas nanométricas<sup>1</sup>.

**Figura 20:** Microscópio eletrônico de varredura (MEV) instalado no LabMic/UFG



**Fonte:** Elaborada pelos autores.

Os microscópios de alta resolução e as técnicas associadas aumentam a extensão de aplicabilidade desses equipamentos, desde a pesquisa em materiais até as ciências biológicas. Por exemplo, podem ser utilizados em estudos de polímeros e catalisadores, em nanotecnologia e nanobiotecnologia, estudos na indústria farmacêutica em sistemas de transporte de fármacos, por exemplo. Ainda há a possibilidade de analisar amostras com baixa temperatura em sistemas biológicos hidratados, com alta resolução espacial, obtendo informações morfológicas e de ultraestrutura<sup>1</sup>.

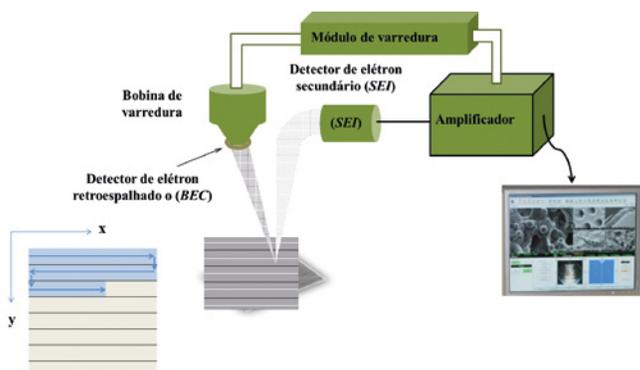
### 5.1. Funcionamento do MEV

Após o feixe ser formado e acelerado pela tensão de aceleração, ele é condensado pela primeira lente condensadora e novamente por uma segunda lente condensadora, reduzindo ainda mais o diâmetro do feixe. Assim como no MET, o MEV também possui as aberturas da condensadora e objetiva, com a finalidade de bloquear os elétrons que

estão desviados com grandes ângulos. Por fim, a lente objetiva forma um feixe ainda mais fino e um conjunto de bobinas o deflete, iniciando a varredura. O diâmetro do feixe final será entre 2 nm e 10 nm para o MEV convencional, e 1 nm para o MEV-FEG<sup>1,2,17</sup>.

A Figura 21 mostra um esquema do sistema de varredura. O feixe é defletido por um conjunto de bobinas que varre a amostra em linhas, indicado em detalhe no canto inferior esquerdo da Figura 21. Conforme o feixe varre a amostra, os elétrons secundários são gerados e um detector os coleta, amplifica o sinal e gera a imagem. A magnificação da imagem será dada pela relação entre o tamanho da área varrida em relação ao tamanho da imagem que aparece no monitor. Portanto, quanto maior a magnificação, menor será a área varrida e, consequentemente, a deflexão do feixe sobre a amostra.

**Figura 21:** Esquema do sistema de varredura no MEV



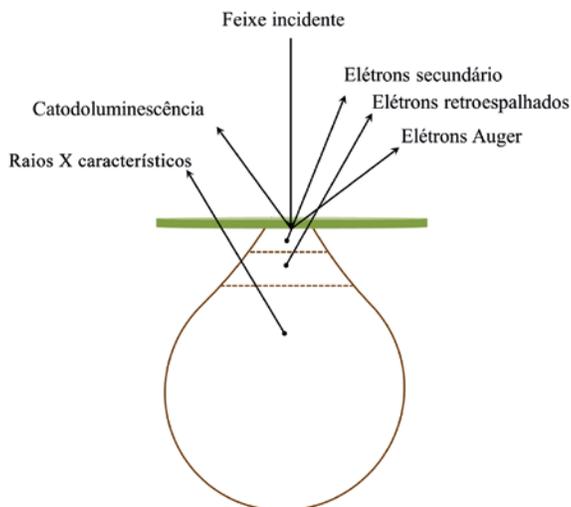
**Fonte:** elaborada pelos autores.

Como visto anteriormente, quando o feixe eletrônico incide na amostra, os elétrons são espalhados elasticamente ou inelasticamente. Uma pequena fração desse espalhamento é desviada com ângulos maiores que 90° e com pequena perda de energia. Portanto, há uma maior probabilidade de os elétrons deixarem a amostra e serem coletados pelo sistema de detecção. No caso do espalhamento inelástico, os elétrons não terão energia suficiente para deixar a amostra e podem

ser absorvidos pelos átomos do material. Se for um metal, os elétrons livres contribuirão para a banda de condução.

A profundidade de penetração do feixe eletrônico produz o volume de interação, onde as interações ocorrem, durante a varredura do feixe sobre a amostra. Esse volume, normalmente, tem a forma de uma “pera”, conforme ilustrado na Figura 22, e a profundidade diminui com o aumento do número atômico. Para uma aceleração de feixe de 1 keV, a profundidade de penetração do carbono será de 50 nm, e menos de 10 nm para o ouro<sup>17</sup>.

**Figura 22:** Representação esquemática do volume de interação e origem dos sinais



**Fonte:** elaborada pelos autores.

## 5.2. Exemplos de informações obtidas no MEV

As micrografias das Figuras 23 a 25 foram obtidas no MEV, Jeol, JSM-6610 do LabMic/UFG, e ilustram alguns exemplos de informações obtidas usando o MEV convencional.

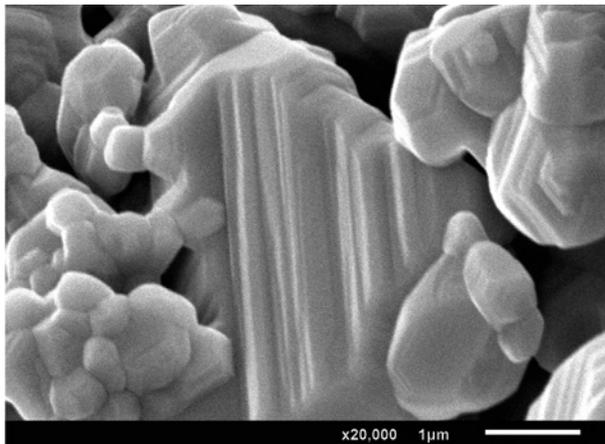
Na Figura 23, verifica-se a morfologia de particulados cerâmicos, revelando o crescimento lamelar do grão.

Uma distribuição de aglomerados de óxidos de metais de transição para catalisadores e informações morfológicas sobre a formação de precipitados da pasta de cimento hidratada são apresentadas nas Figuras 24(a) e 24(b).

Para algumas amostras, é possível obter a dispersão de tamanho, informações sobre aglomeração e morfologia de nanopartículas, conforme apresentado na Figura 25(a), para nanopartículas de óxido de nióbio, e na Figura 25(b), para nanopartículas de cromita.

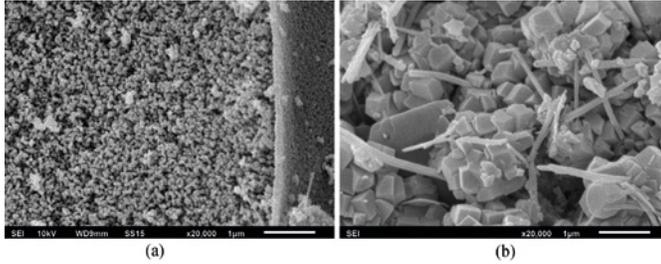
Para fins de comparação, a Figura 26 apresenta a micrografia de nanopartícula de ouro, com diâmetro médio de 10 nm, obtida no MEV-FEG, JEOL JSM 7100F, do Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI).

**Figura 23:** Micrografia de particulados cerâmicos



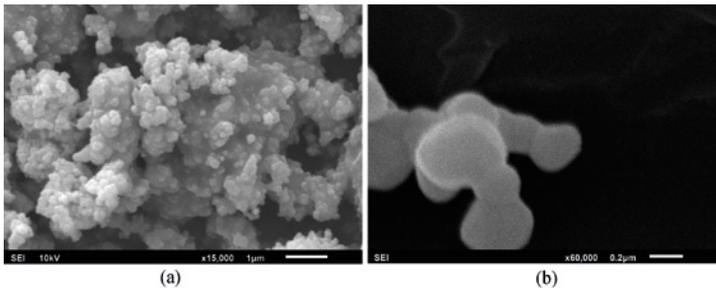
**Fonte:** Imagens cedidas por Adolfo Franco Júnior, do Instituto de Física da UFG.

**Figura 24:** (a) Micrografia de óxidos de metais de transição para catalisadores. Imagem cedida por Maria Rita de Cássia Santos, do Departamento de Química do Campus Catalão da UFG. (b) Micrografia da superfície fraturada de um concreto, destacando alguns compostos precipitados da pasta de cimento hidratada



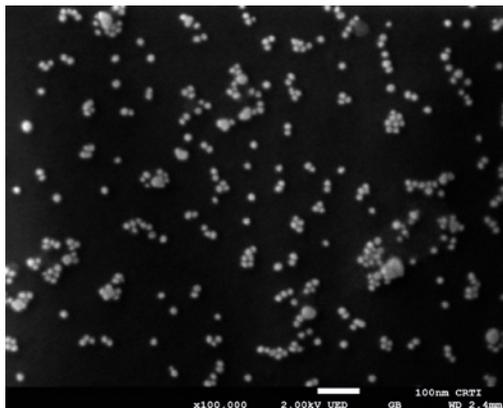
**Fonte:** Imagem cedida por Oswaldo Cascudo e Helena Carasek, da Escola de Engenharia Civil e Ambiental da UFG.

**Figura 25:** (a) Micrografia de nanopartículas de óxido de nióbio. Imagem cedida por Christian Gonçalves Alonso, do Instituto de Química da UFG. (b) Micrografia de nanopartículas de cromita



**Fonte:** Imagem cedida por Jesiel Freitas Carvalho, do Instituto de Física da UFG.

**Figura 26:** Micrografia de nanopartículas de ouro (Au) em alta resolução, obtida no MEV-FEG, JEOL JSM 7100F do CRTI



**Fonte:** Imagens cedidas por Emília Celma de Oliveira Lima, do Instituto de Química da UFG.

---

## 6. Microanálise analítica

Um aspecto importante no estudo de materiais é a determinação da relação entre a microestrutura e as propriedades macroscópicas físico-químicas. A microestrutura determina muitas propriedades de interesse e sua formação depende basicamente da composição química e da síntese dos materiais<sup>23</sup>. Nesse sentido, as microscopias eletrônica de transmissão e de varredura são importantes ferramentas, pois combinam imagens morfológicas de alta resolução com análises químicas, qualitativa e quantitativa, com alta resolução espacial.

Na microanálise analítica, há dois tipos de técnicas: a microanálise de raios X e a espectroscopia de perda de energia de elétrons. A primeira pode ser associada tanto ao MEV como ao MET e, a segunda somente ao MET.

## 6.1. Microanálise de raios X

Como visto anteriormente, para que um átomo excitado retorne ao seu estado fundamental, é necessário que um elétron sofra uma transição, liberando uma quantidade de energia cujo valor é igual à diferença entre os dois níveis de energia. Essa energia pode ser liberada como raios X característicos, que fornecem informações sobre a identificação do elemento que emitiu essa radiação específica. Em outras palavras, esse tipo de análise permite identificar os átomos presentes na amostra.

Portanto, a microanálise de raios X utiliza os raios X característicos emitidos de uma microrregião da amostra quando um feixe eletrônico incide sobre ela. Há duas formas de detecção dos raios X característicos:

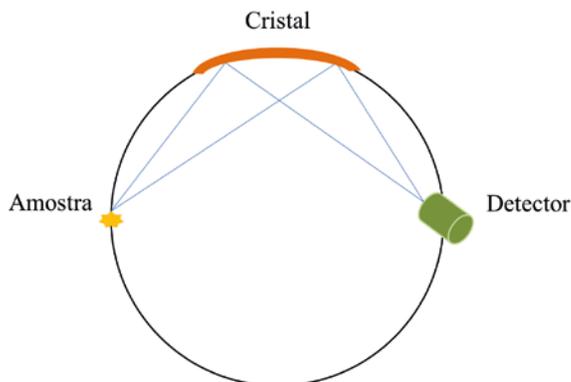
- Espectroscopia por dispersão de comprimento de onda (*Wavelength dispersive spectroscopy – WDS*)

Os raios X característicos são difratados por um cristal analisador, conforme representado na Figura 27. O cristal age como uma grade de difração tridimensional e reflete os raios X (fortemente difratados) quando um comprimento de onda  $\lambda$  dos raios X satisfaz a equação de Bragg<sup>17</sup>, dada por:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (12)$$

em que  $n$  é a ordem da reflexão,  $\theta$  é o ângulo entre os raios X incidentes e um plano cristalino de distância  $d$  do cristal. Os raios difratados pelo cristal são coletados por um detector, que mede a intensidade dos raios X em função do comprimento de onda  $\lambda$ .

**Figura 27:** Representação da geometria do espectrômetro por dispersão de comprimento de onda



**Fonte:** elaborada pelos autores.

- Espectroscopia por energia dispersiva (*Energy dispersive spectroscopy - EDS*)

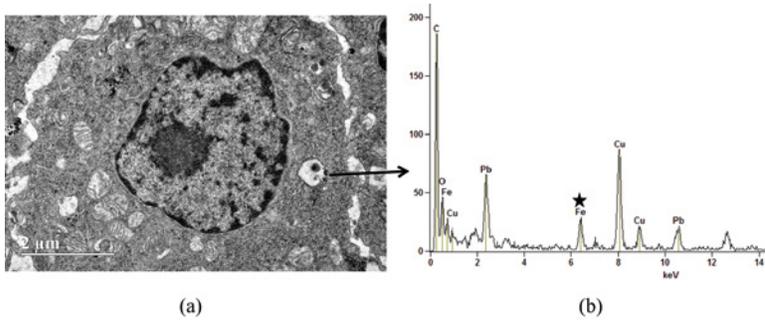
Os raios X característicos são coletados por um detector de estado sólido. No detector, os raios X incidentes são separados por suas energias utilizando os picos de corrente gerados por eles no detector<sup>7</sup>. O resultado é apresentado na forma de espectro em função da energia em keV.

Nas Figuras 28 e 29, observam-se alguns exemplos de análises pontuais por EDS. Os espectros foram obtidos com o detector de EDS acoplado ao MET, Figura 28, e no MEV, Figura 29.

É possível a análise em amostras biológicas, como visto na Figura 28(a). O pico de interesse é o ferro (Fe), que confirma a presença de nanopartículas de ferrita no interior da célula, conforme indicado (estrela) no espectro da Figura 28(b).

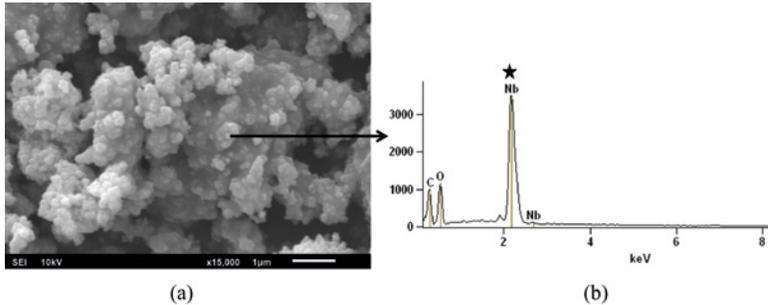
Na Figura 29, o espectro indica a presença de nióbio (Nb), Figura 29(a), devido à composição da amostra, nanopartículas de óxido de nióbio.

**Figura 28:** (a) Micrografia de células macrófagos (Figura 14(a)). (b)



**Fonte:** Imagem cedida por André Côrrea Amaral e Anielle Carvalho Bandeira (*in memoriam*), do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG.

**Figura 29:** (a) Micrografia de nanopartículas de óxido de nióbio (Figura 25(a)). (b) Espectro de EDS indicando a de nióbio (Nb) (estrela)

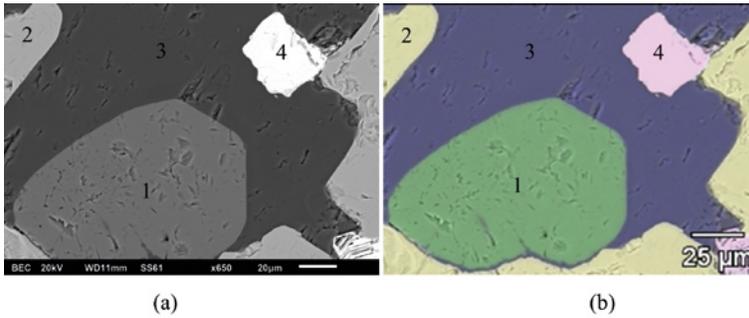


**Fonte:** Imagem cedida por Christian Gonçalves Alonso, do Instituto de Química da UFG.

Além de análises pontuais, o EDS fornece mapa de identificação elementar, no qual é atribuída uma cor para cada elemento mapeado. Para cada região (1, 2, 3 e 4) da Figura 30(a), há um mapa e um espectro com a identificação dos elementos, indicando a distribuição do elemento; posteriormente, os mapas individuais são superpostos, fornecendo

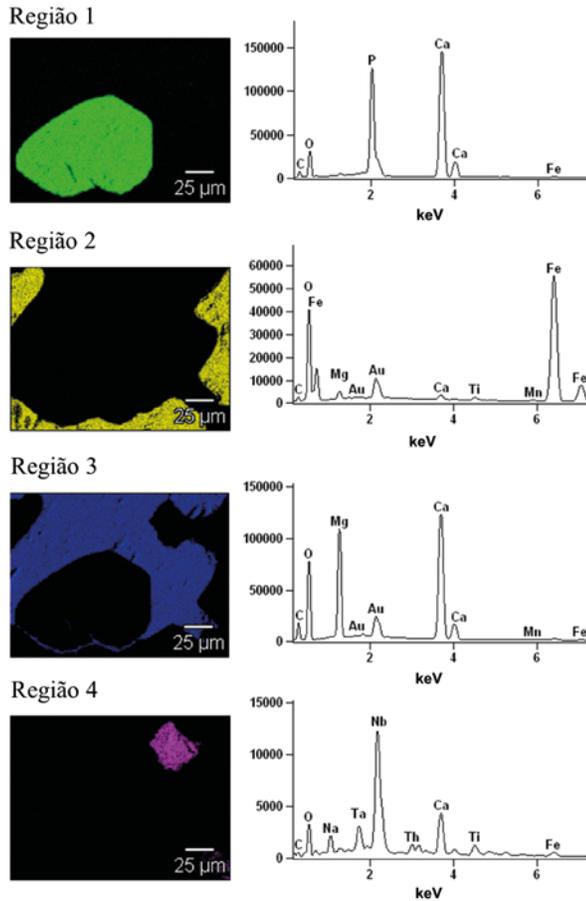
a imagem da Figura 30(b). A Figura 31 mostra as regiões mapeadas referentes à Figura 30, com os respectivos espectros de EDS.

**Figura 30:** (a) Micrografia de lâmina delgada. (b) Superposição dos mapas de identificação qualitativa elementar de cada região



**Fonte:** Imagens cedidas por José Affonso Brod, da Unidade Acadêmica Especial de Ciências e Tecnologia da UFG.

**Figura 31:** Regiões mapeadas referentes à Figura 30, com os respectivos espectros de EDS

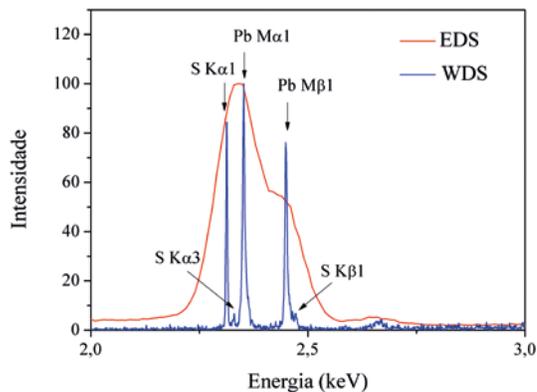


**Fonte:** Imagens cedidas por José Affonso Brod, da Unidade Acadêmica Especial de Ciências e Tecnologia da UFG.

As técnicas de *EDS* e *WDS* fornecem a mesma informação, diferenciando-se em algumas características operacionais. A espectroscopia por energia dispersiva (*EDS*) detecta vários elementos ao mesmo tempo, permitindo uma análise relativamente rápida. Há apenas um detector para coletar o sinal e, comumente, há a superposição de picos devido à sua resolução espectral. Já na espectroscopia por dispersão de

comprimento de onda (*WDS*), há mais de um detector e a identificação elementar é realizada com um elemento por vez, aumentando o tempo de análise. Contudo, a resolução espectral é superior à do *EDS*, reduzindo a superposição de picos. A Figura 32 apresenta um exemplo de superposição no espectro de *EDS* (curva em vermelho) entre os elementos enxofre (S), na transição  $K\alpha_1$ , e chumbo (Pb), na transição  $M\alpha_1$ . Essa superposição se deve à larga resolução espectral do *EDS*. Já no espectro *WDS* (curva em azul), por ele ter resolução espectral superior à do *EDS*, aparecem picos definidos e separados. Ambos os espectros foram obtidos da mesma região da amostra, com as mesmas condições de medidas e realizados na microsonda eletrônica Jeol JXA-8230 do Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI).

**Figura 32:** Espectro de *EDS*, curva em vermelho, e na curva em azul o espectro *WDS*



**Fonte:** Imagens cedidas pelo CRTI.

## 6.1. Espectroscopia de perda de energia de elétrons (Electron energy-loss spectroscopy - EELS)

A espectroscopia de perda de energia de elétrons (*EELS*) analisa os elétrons do feixe eletrônico após sua interação com a amostra. Esses elétrons carregam informações de número atômico na forma da quantidade de energia que eles transferiram para a amostra, tanto de átomos leves como pesados.

Essa espectroscopia só é permitida no MET, pois é necessário que as amostras sejam finas, com espessura em torno do livre caminho médio para uma interação inelástica do elétron do feixe eletrônico com átomos do material. Nessa condição, o elétron interage uma única vez e, portanto, a perda de energia após a interação corresponderá a alguma energia necessária para fazer um elétron sofrer uma transição ou ser ejetado do átomo. A análise do espectro de perdas de energia permite identificar os átomos da amostra.

---

## 7. Outras técnicas

Com os avanços das técnicas de preparação de amostras, tanto materiais inorgânicos quanto biológicos, melhorias no sistema de detecção e no tratamento de dados têm contribuído para o surgimento de diferentes técnicas com alta resolução espacial, dentro da microscopia eletrônica, sendo possível destacar as seguintes técnicas:

**Tomografia eletrônica:** permite a análise de amostras entre 0,2  $\mu\text{m}$  e 2  $\mu\text{m}$  no MET, partindo da aquisição e do processamento de uma série de imagens com diferentes ângulos. O volume de imagens será recombinado em uma imagem tridimensional, permitindo extrair informações de planos individuais, com alta resolução, sem que haja sobreposição de estruturas. Na prática, tem-se uma reconstrução tridimensional a partir de retroprojeções bidimensionais da amostra em diversos ângulos<sup>24</sup>.

**Criotransmissão:** permite analisar amostras congeladas no MET, como proteínas, lipossomas, nanocápsulas poliméricas, entre outras. As amostras são preparadas por meio de técnicas criogênicas e analisadas no MET usando um porta-amostras com nitrogênio líquido para manter as amostras congeladas.

**Microscopia eletrônica de varredura de duplo feixe:** combina o MEV com o feixe de íons focalizados (*FIB*). O feixe de íons, ao interagir com a amostra, desbasta uma fina camada, permitindo o estudo de estruturas internas e o imageamento em cortes seriados, resultando em uma série de imagens que podem ser recombinadas para formar uma imagem tridimensional<sup>25</sup>.

Portanto, a microscopia eletrônica oferece amplas possibilidades para a compressão da natureza de nanossistemas, permitindo a obtenção de informações sobre as propriedades morfológicas e físico-químicas de nanocomponentes individuais.

## 8. Referências

1. LIU, Jingyue. High-resolution scanning electron microscopy. In: YAO, Nano; WANG, Zhong L. **Handbook of microscopy for nanotechnology**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2005.
2. GOODHEW, Peter J.; HUMPHREYS, John; BEANLAND, Richard. **Electron microscopy and analysis**. 3.ed. London: Taylor & Francis, 2001.
3. ASAHINA, Shunsuke et al. High-resolution low-voltage scanning electron microscope study of nanostructured materials. **Microscopy and Analysis**, Nanotechnology Issue, 2012.
4. CHARURVEDI, Shalini; DAVE, Pragnesh N. Microscopy in Nanotechnology. In: MÉNDEZ-VILAS, A. **Current microscopy contributions to advances in science and technology**. [S.l.]: Formatex Research Center, 2012.
5. SAWADA, Hidetaka et al. Super high resolution imaging with atomic resolution electron microscope of JEM-ARM300F. **JEOL News**, v. 49, n. 1, 2014.
6. RUSKA, Ernest. The development of the electron microscope and of electron microscopy. **Nobel lecture**, december 8, 1986.
7. FARINA, Marcos. **Uma introdução à microscopia eletrônica de transmissão**. Rio de Janeiro: Livraria da Física, 2010.
8. SOUZA, Wanderley. Microscopia ótica básica: aspectos da ótica geométrica e conceito de resolução. In: SOUZA, Wanderley. **Microscopia óptica: fundamentos e aplicações às ciências biomédicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2010.

9. NUSSENZVEIG, Herch Moysés. **Curso de Física básica 4**. São Paulo: Blucher, 1998.
10. SEARS, Zemansky. **Física IV: ótica e física moderna**. 12. ed. [S.l.]: Addison Wesley, 2009.
11. EISBERG, Robert; RESNICK, Robert. **Física Quântica**. 14. ed. Rio de Janeiro: Editora Campus, 1979.
12. FARINA, Marcos; LINS, Ulysses. Introdução à microscopia eletrônica analítica: aplicações biológicas. In: SOUZA, Wanderley. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.
13. JIN, Lei et al. Atomic resolution imaging of  $\text{YAlO}_3$ : Ce in the chromatic and spherical aberration corrected PICO electron microscope. **Ultramicroscopy**, v. 176, 2017.
14. HAWKES, Peter. The correction of electron lens aberrations. **Ultramicroscopy**, v. 156, 2015.
15. MORISHITA, Shigeyuki et al. Atomic resolution imaging at an ultralow accelerating voltage by a monochromatic transmission electron microscope. *Phys. Rev. Lett.*, v. 117, n. 7, 2016.
16. WILIAMS, David B.; CARTER, C. Barry. **Transmission electron microscopy: a textbook for materials science**. New York: Springer, 1996.
17. EGERTON, Ray F. **Physical principles of electron microscopy: an introduction to TEM, SEM, and AEM**. New York: Springer, 2005.
18. CHEN, Chien-Chun et al. Three-dimensional imaging of dislocations in a nanoparticle at atomic resolution. **Nature**, v. 496, 2013.

19. SMITH, David J. High resolution transmission electron microscopy. In: YAO, Nano; WANG, Zhong L. **Handbook of microscopy for nanotechnology**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2005.
20. WERCKMANN, Jacques; CAMPOS, Andrea P. C.; FARINA, Marcos. Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução. In: SOUZA, Wanderley. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.
21. BENDERSKY, Leonid A.; GAYLE, Frank W. Electron diffraction using transmission electron microscopy. **Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology**, v. 106, n. 6, 2001.
22. MATIAS, Márcia. Desidratação, inclusão, ultramicrotomia e contra-  
tação. In: SOUZA, Wanderley. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.
23. NEWBURY, Dale E. et al. High spatial resolution quantitative electron beam microanalysis for nanoscale materials. In: YAO, Nano; WANG, Zhong L. **Handbook of microscopy for nanotechnology**. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2005.
24. MIRANDA, Kildare et al. Tomografia eletrônica. In: SOUZA, Wanderley. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.
25. MIRANDA, Kildare et al. Microscopia eletrônica de varredura de duplo feixe. In: SOUZA, Wanderley. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 2007.

---

## SOBRE OS ORGANIZADORES



### **Graziella Anselmo Joanitti**

Bióloga pela UnB, mestre e doutora em Biologia Animal, com ênfase em biologia celular e nanotecnologia, pela UnB; doutorado sanduíche (Northeastern University (EUA)); Profa. Assistente na UnB; credenciada no PPG em Nanociência e Nanobiotecnologia e no PPG em Ciências e Tecnologias em Saúde da UnB. É uma das pesquisadoras integrantes do INCT em Nanobiotecnologia. Atua na área de desenvolvimento de nanoestruturas baseadas em compostos naturais para aplicações biomédicas e nutracêuticas.



### **Paulo César de Morais**

Especialista em nanomateriais; Professor Titular (UnB); Professor Emérito (UnB); Professor Visitante (HUST e AHU – China); Professor (UCB); Pesquisador CNPq-1A; Membro Sênior IEEE; Parecerista (40+); Membro de corpo editorial (7); 450+ trabalhos no WoS; 130+ palestras (20+ países); Orientador de 70+ estudantes; Coordenador de projetos nacionais (10+ instituições) e internacionais (15+ países). Bacharel em Química e Física (UnB); Mestre em Física (UnB); Doutor em Física (UFMG); Pós-doutorado (Bellcore – USA).



### **Ricardo Bentes de Azevedo**

Biomédico pela UFPA, mestre e doutor em Biologia Celular e Tecidual pela USP-SP; pós-doutor pelo NIH (EUA). Prof. titular livre em Nanobiotecnologia pelo IB-UnB; Prof. Honorário pela Universidade de Jinan (China); bolsista de produtividade 1A do CNPq e Coordenador do INCT em Nanobiotecnologia. Possui mais de 200 artigos publicados em diferentes periódicos científicos, incluindo Nature, Biomaterials, Nanoscale, entre outros. Atua na área de Nanotecnologia aplicada a saúde humana e animal.

# NANOTECNOLOGIA: CONSIDERAÇÕES EM MATERIAIS, SAÚDE E MEIO AMBIENTE

Qualquer leitor, com o mínimo de interesse em Tecnologia, não pode ficar alheio à Nanociência e Nanotecnologia (N&N), que representam importantes fronteiras do conhecimento científico e tecnológico. O traço da N&N é a transversalidade de sua atuação e o impacto que protagoniza nos dias de hoje, em franco crescimento. Este livro foi concebido e produzido para fornecer ao leitor informações básicas e aplicadas sobre a N&N. O livro destaca duas vertentes importantes da N&N: síntese e caracterização de nanomateriais e aplicações em saúde e meio ambiente. O texto não pretende cobrir todo o universo da N&N, porém inclui tópicos relevantes, organizados dos fundamentos para as aplicações, oferecendo ao leitor um marco introdutório, que por iniciativas individuais poderá se aprofundar em diferentes direções da N&N. O texto reflete parte da experiência acumulada pela rede de N&N, organizada a partir do trabalho conjunto de diferentes laboratórios e unidades acadêmicas pertencentes à Universidade de Brasília (UnB), com foco no ensino de pós-graduação, pesquisa, desenvolvimento e inovação. Esta rede foi organizada a partir do final da década de 1990, e nos anos subsequentes estendeu-se muito além da UnB, envolvendo cerca de duas dezenas de instituições parceiras no país e no exterior, coletando o saldo de quase um milhar de patentes e artigos publicados em revistas científicas indexadas e cerca de cinco centenas de orientações de alunos de pós-graduação.