



Preparação de Amostras pela Técnica de Ultramicrotomia

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



- **Introdução**
- **Preparação de amostras para Análise morfológica através de TEM:**
 - Desbaste (*Trimming*)**
 - Seccionamento**
 - Recolha das Secções**
- **Imagens obtidas através de TEM**
 - Características das amostras que podem dificultar a Ultramicrotomia**
 - Defeitos causados pela Ultramicrotomia**
 - Exemplos e condições de preparação**
- **Preparação de amostras para análise morfológica através de Microscopia Óptica**
- **Referências**



Introdução

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Microtomia e Ultramicrotomia à Temperatura Ambiente e Subambiente

Preparação de secções ou superfícies de materiais para análise morfológica através de:

Microscopia Eléctronica de Transmissão (TEM), Microscopia Eléctronica de Varrimento (SEM), Microscopia de Força Atómica (AFM), Microscopia Óptica.

Outras aplicações ex: *FT-IR com microscópio, Microscopia com Platina de Aquecimento, AFM com Platina de Aquecimento, Técnicas de Difração de Raios X, etc.*

| | Microtomia | Ultramicrotomia |
|------------------|-------------------------|-------------------------|
| Temperatura: | ambiente ou subambiente | |
| Faca: | 45° diamante ou vidro | 35° diamante |
| Tipo de Secções: | grandes | pequenas |
| Dimensões: | 0.1 x 1 mm - 2 x 4 mm | 100 x 200 µm ou menores |
| Espessura: | 0.15 – 15 µm | 40 – 100 nm |

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Os materiais poliméricos apresentam uma grande variedade de formas, dimensões e estados:

- Granulos, pós
- Filmes
- Extrudidos(mono, co-extrudidos, etc)
- Moldações (injecção, compressão, termoformação, sopro, etc)
- Espumas
- Fibras
- Emulsões, suspensões
- Laminados
- Revestimentos
- Etc ...

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



- Os materiais poliméricos são frequentemente misturas de diferentes polímeros ou compósitos com variados tipos de cargas.
- A ultramicrotomia ou microtomia de misturas ou compósitos é sempre um compromisso entre o comportamento/características dos diferentes componentes:
 - Duro / Frágil.
 - Macio / Rígido.
 - Fases pequenas / Fases grandes.
 - Amorfo / Cristalino.
 - Pigmentos.
 - Cargas (Talco, Argila, Mica, etc.)
 - Fibras. (Poliméricas, Carbono, Vidro)
 - Aditivos.
 - Etc ...

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



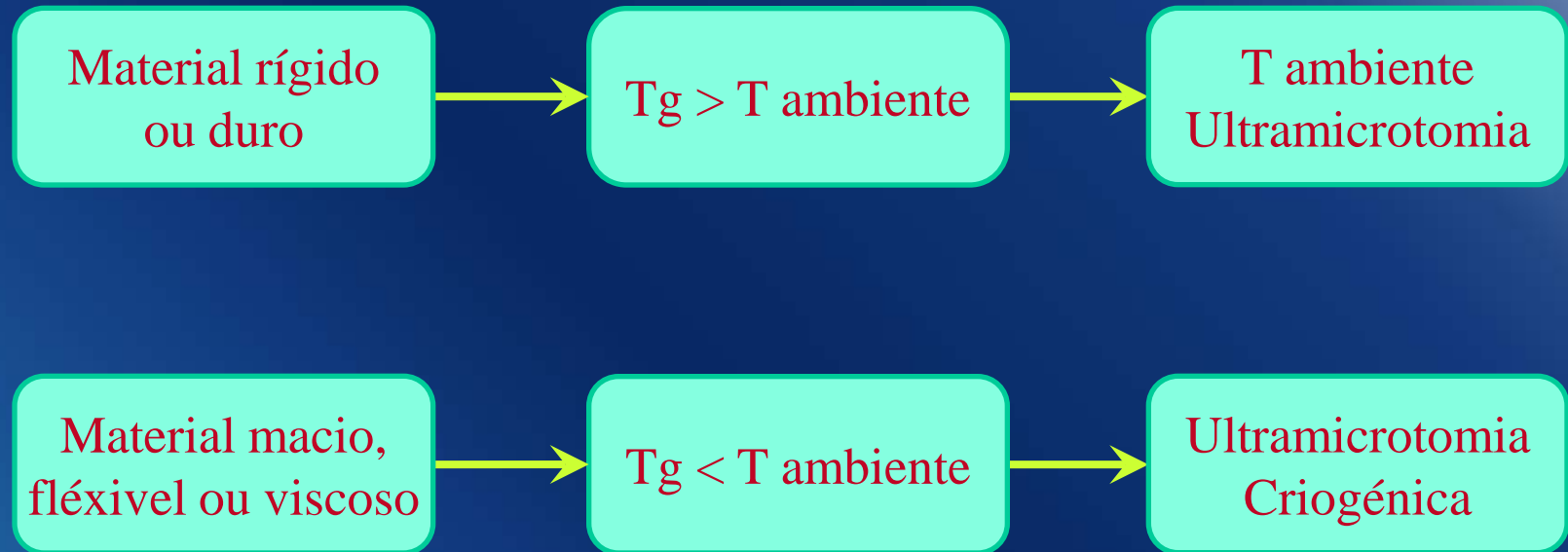
- **Antes de preparar uma amostra polimérica é necessário reunir o máximo de informação possível acerca do material.**
- **Para isso é necessário responder a uma série de questões:**
 - ✓ Tipo de material?
 - ✓ Propriedades: Tg, fases pequenas, fases grandes, amorfo-cristalino, duro-frágil, macio-rígido, com lubrificantes ou plasticizadores?
 - ✓ Mistura ou compósito?
 - ✓ Aditivos e cargas (pigmentos, talco, argilas, negro de fumo, etc)?
 - ✓ Fibras (poliméricas, carbono, vidro, etc)?
 - ✓ Contaminações, inclusões?
 - ✓ Processamento: injeção, extrusão, compressão, termoformação, etc?
 - ✓ Morfologia: centro ou casca?
 - ✓ Multicamadas, coextrusão?
 - ✓ Coloração (*Staining*) Sim ou Não?

Quanto maior o conhecimento acerca da amostra melhor será o resultado final.

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Corte de Secções à Temperatura Ambiente ou Sub-ambiente?





Temperatura de seccionamento de alguns polímeros

Ambiente

- Policarbonato (PC)
- Polimetilmetacrilato (PMMA)
- Polipropileno (PP) ⁽¹⁾
- Polietileno de Alta Densidade (HDPE) ⁽¹⁾
- Resina Epóxida
- Poliestireno de Alto Impacto (HIPS) ⁽²⁾
- Acrilonitrilo Butadieno Estireno (ABS) ⁽²⁾
- PC/ABS
- Nylons.
- Poliuretanos rígidos
- Etc

Sub-ambiente

- Polipropileno (PP)
- Polietilenos (LDPE, LLDPE, HDPE)
- Borrachas
- Politetrafluoretileno (PTFE)
- Nylons.
- Policloreto de Vinilo (PVC)
- Poliuretanos flexíveis
- ABS, HIPS
- Latex
- Etc
- Todas as amostras que revelem problemas de compressão à temperatura ambiente.

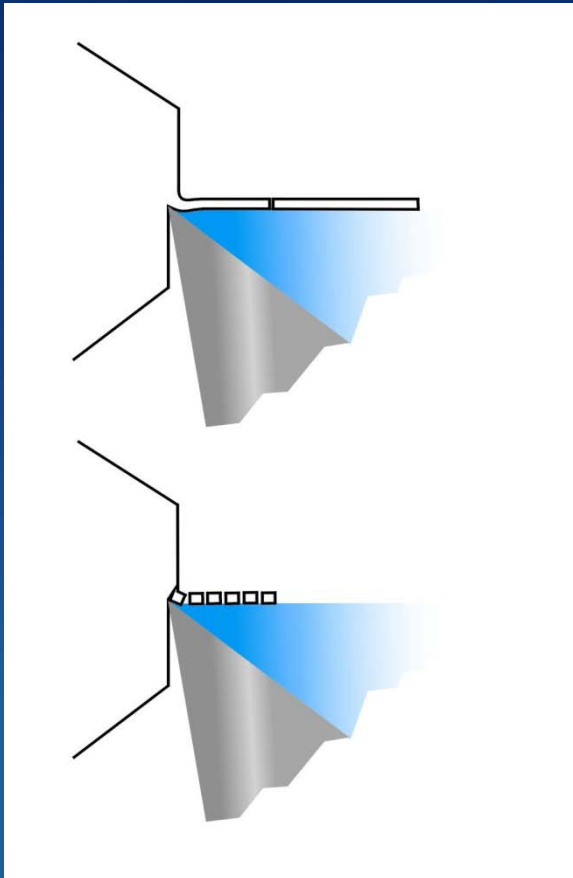
(1) Tratamento com Tetróxido de Ruténio (RuO_4)

(2) Tratamento com Tetróxido de Ósmio (OsO_4)



Processo de corte de secções

Materiais dúcteis e materiais frágeis (dificuldades de seccionamento)



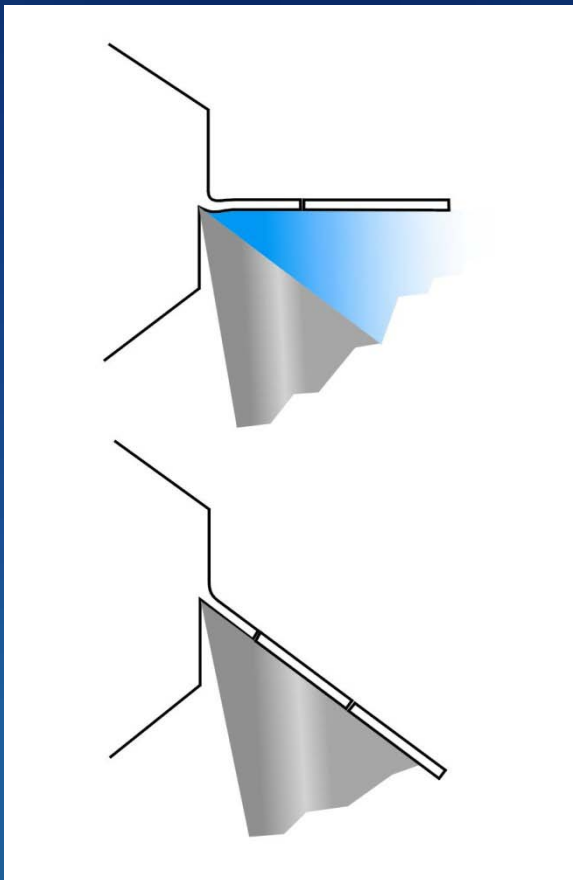
Materiais dúcteis: a força de corte necessária para separar as secções da amostra provoca deformação (compressão, deslocamento de partículas, etc.)

Materiais frágeis: as secções partem em pequenos fragmentos.



Processo de corte de secções

Seccionamento seco Versus seccionamento húmido à temperatura sub-ambiente



Seccionamento húmido: a líquido actua como lubrificante.

Seccionamento seco: interacção forte entre a superfície da faca e a superfície da secção.



Processo de corte de secções

Seccionamento seco Versus seccionamento húmido à temperatura sub-ambiente

Vantagens do seccionamento seco à temperatura sub-ambiente:

- mesma temperatura para a câmara, faca e amostra.
- sem influência do líquido na amostra.

Desvantagens do seccionamento seco à temperatura sub-ambiente:

- cargas electrostáticas (aumentam com a diminuição da temperatura).
- compressão (falta de líquido a funcionar como lubrificante).
- dificuldade na recolha das secções.



Preparação de amostras para Análise Morfológica através de TEM:

Desbaste, Seccionamento e Recolha das Secções



Onde recolher a amostra?

Importante saber onde recolher a amostra pois a morfologia e a distribuição de componentes varia ao longo do material.

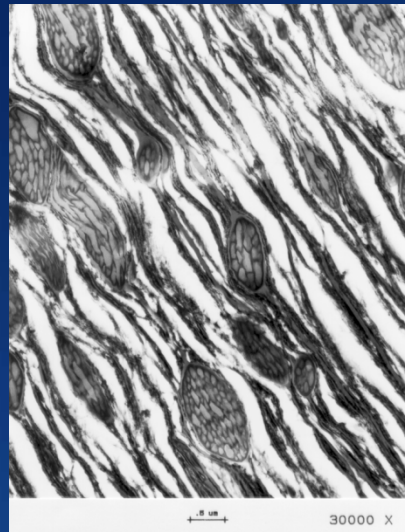


ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

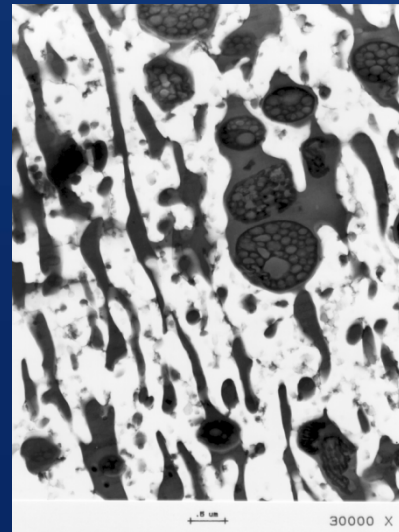


Onde recolher a amostra?

Exemplo de amostra injectada de PC/ABS



Casca



Núcleo

Bob Vastenhou
Dow Chemicals Terneuzen

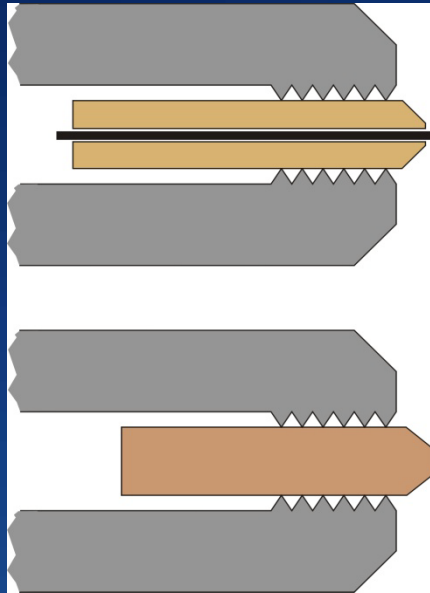
Amostra tratada com OsO_4

A zona de recolha das secções é muito importante quando se pretende estudar a morfologia ao longo da espessura em misturas de materiais, materiais com cargas ou aditivos, etc.

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



A fixação da amostra é essencial para obter bons resultados



Fixação directa ou embeber a amostra em resina.



Utilização de gel que solidifica a baixas temperaturas , ex: *tissue freezing medium* (catalogo EMS nº 72592).

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Desbaste à temperatura ambiente

- desbastar a amostra no ultramicrotomo com faca de diamante específica para desbaste ou efectuar o desbaste num equipamento auxiliar (*Leica EM-TRIM machine*).
- importante obter uma face de corte lisa e com os lados paralelos.
- acessório antiestático, *Static Line II*, pode facilitar o trabalho (potência máxima).

Desbaste a temperatura sub-ambiente

- desbastar a amostra no ultramicrotomo com faca de diamante específica para desbaste.
- importante obter uma face de corte lisa e com os lados paralelos.
- utilizar o acessório antiestático, *Static Line II*, (potência máxima).
- iniciar o desbaste a uma temperatura de -120 °C (temperatura média) ou ligeiramente inferior a T_g .

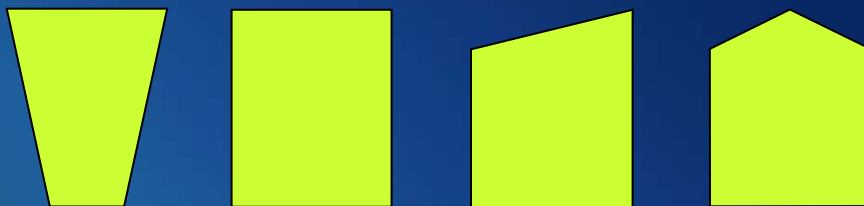
ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Desbaste:



Só um desbaste perfeito conduz a boas secções



Clássica/Fáceis

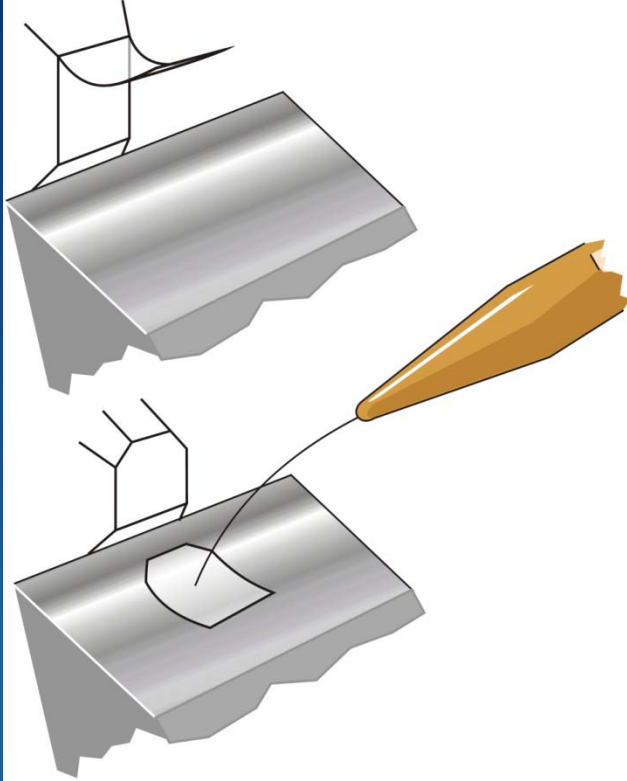
Difíceis

Exemplos de faces de corte

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Seccionamento:



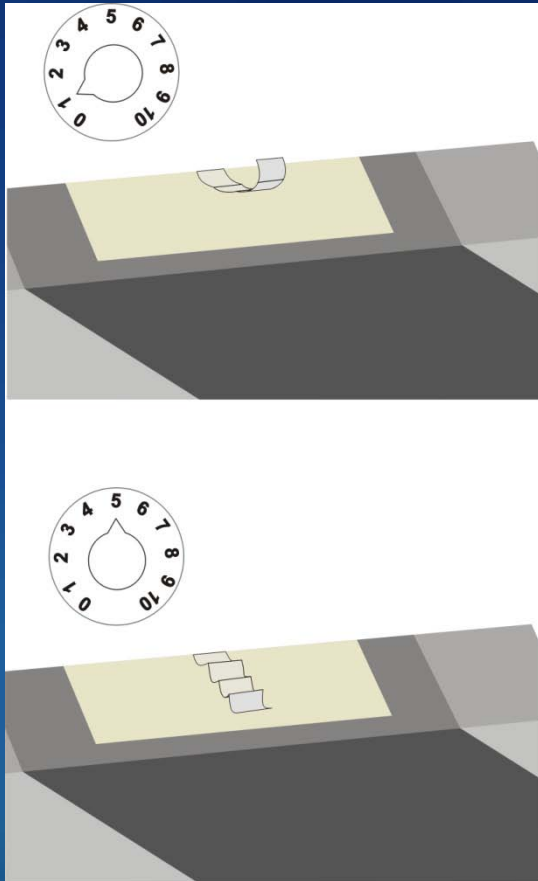
Velocidades de corte lentas permitem guiar as secções com uma pestana.

Se as secções ficarem presas na parte superior da face de corte alterar essa parte desbastando-a em forma de telhado ou aresta.

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Seccionamento:



Utilização do acessório antiestático

Se as secções tenderem a levantar:

- Reduzir a voltagem.

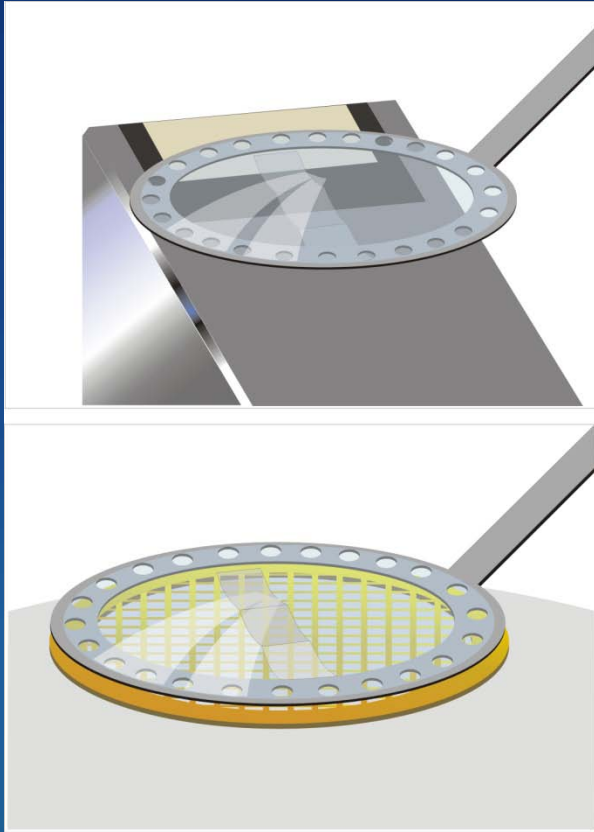
Se as secções tenderem a colar na superfície da faca:

- Aumentar a voltagem,
- Reduzir a largura da secção,
- Reduzir a distância eléctrodo-faca.

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Recolha das Secções:



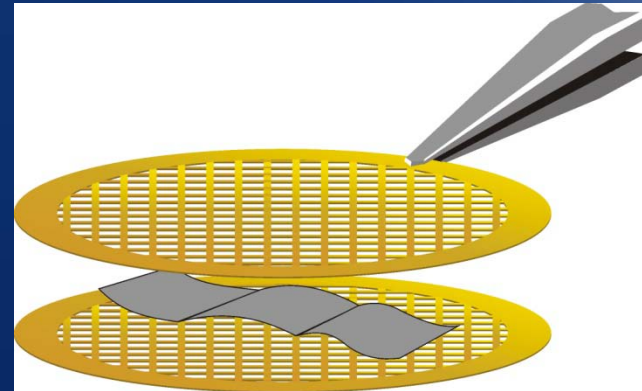
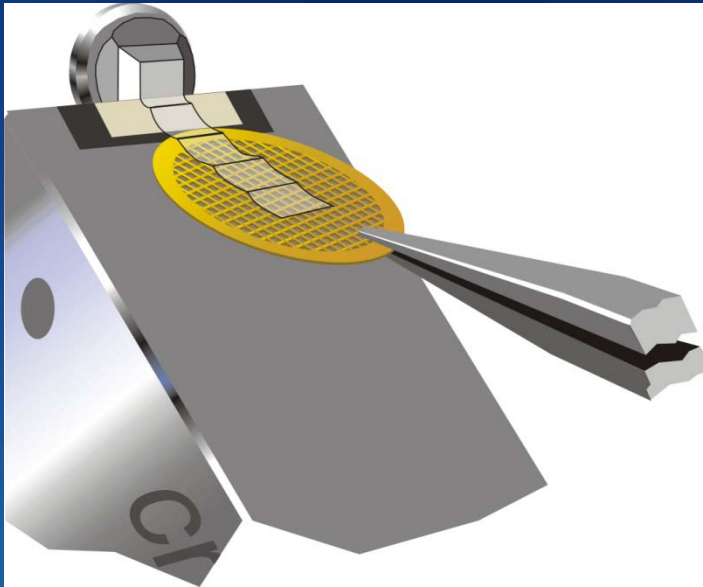
Seccionamento seco:

Recolher as secções com um *Perfect Loop* previamente mergulhado numa solução de sacarose (2.5 M) ou água destilada.

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



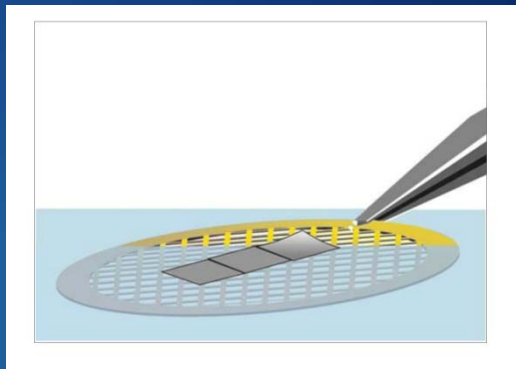
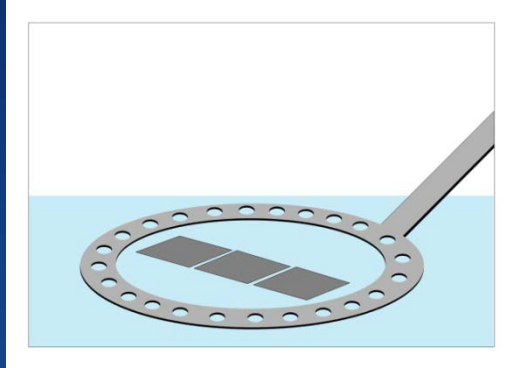
Recolha das Secções:



ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Recolha das Secções:



Seccionamento húmido:

Recolher as secções com um *Perfect Loop* ou com o *Grid* directamente no líquido (geralmente solução de Dimetilsulfóxido, DMSO).



Imagens obtidas através de TEM

Características das amostras que podem afectar a Ultramicrotomia

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Defeitos causados pelo processamento

**Estrutura heterogênea
(má distribuição de
pigmentos ou cargas)**



Bob Vastenhou
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

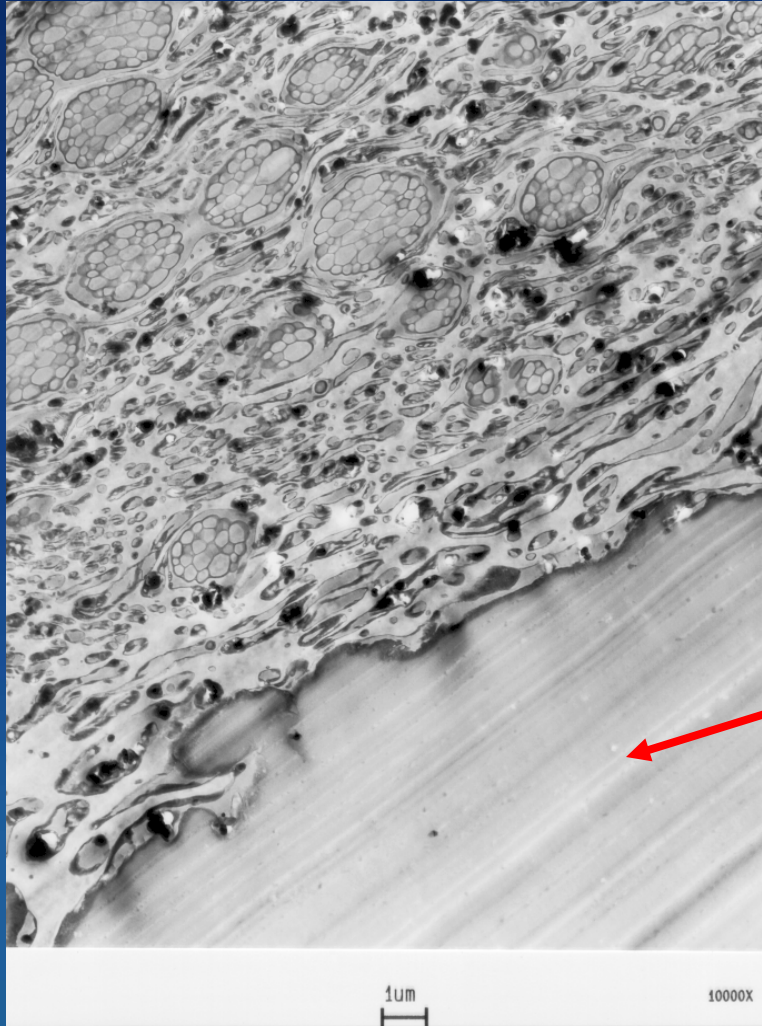


Defeitos causados pelo processamento

Aglomerados de partículas

Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Defeitos causados pelo processamento

Contaminações com outros polímeros

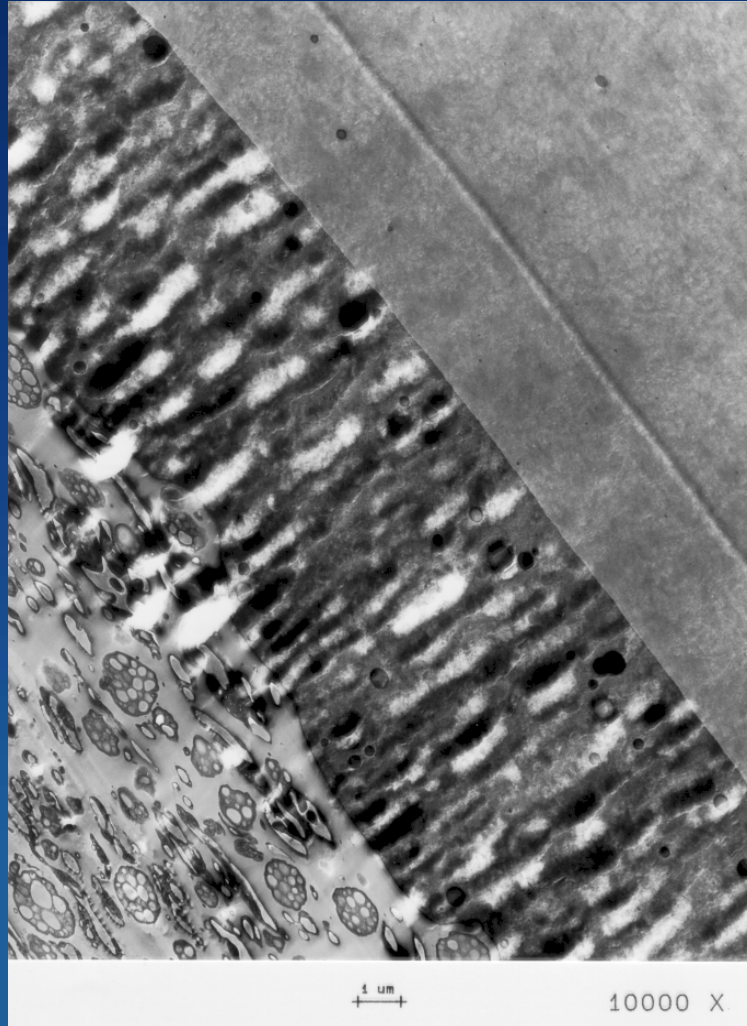
Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Co-extrusão

Materiais com propriedades diferentes



Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen



Imagens obtidas através de TEM

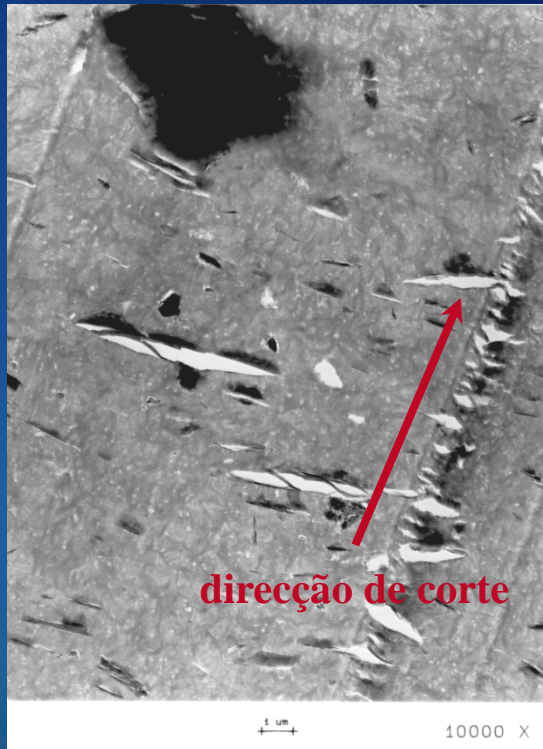
Defeitos causados pela Ultramicrotomia

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Problema: Defeitos da faca causados por partículas originam riscos na amostra.

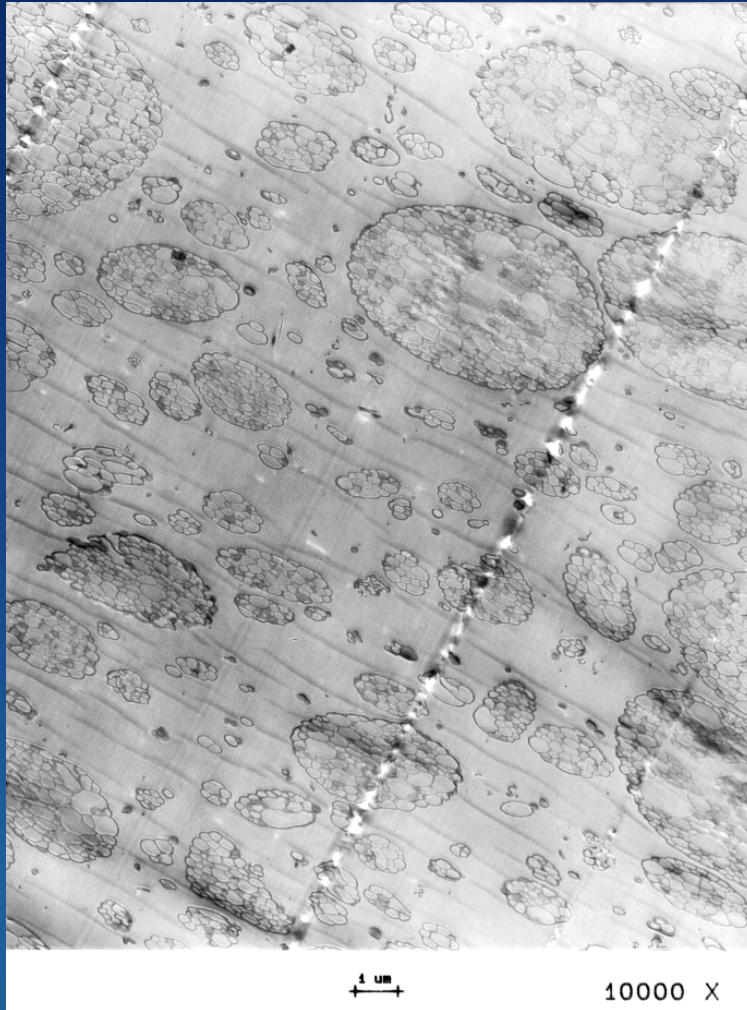
Solução: Alteração da direcção de corte não causa danos na faca e origina uma amostra sem riscos e com as partículas bem preservadas.



Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen



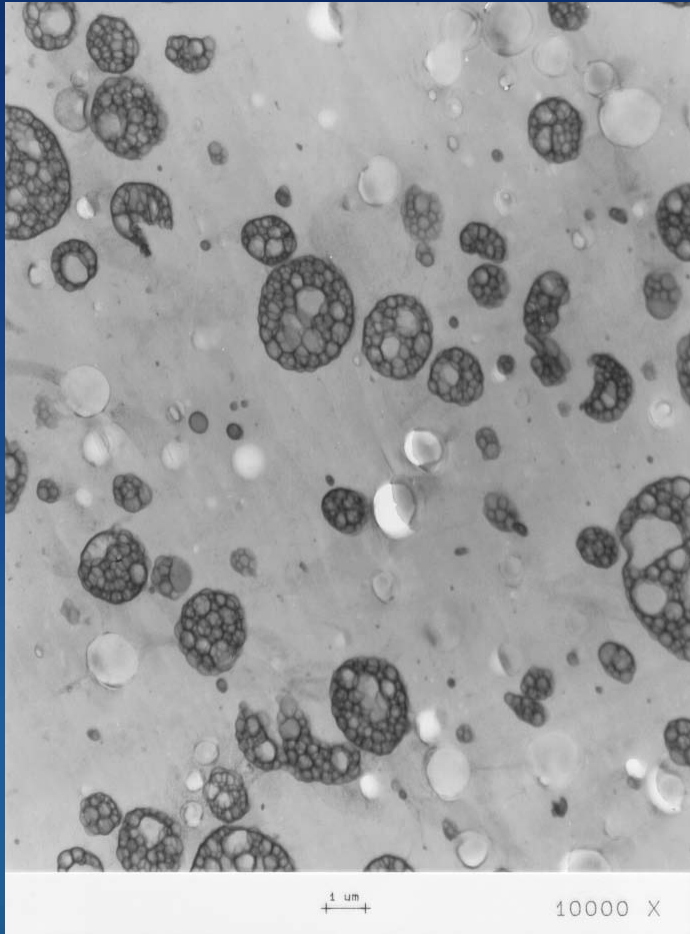
ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



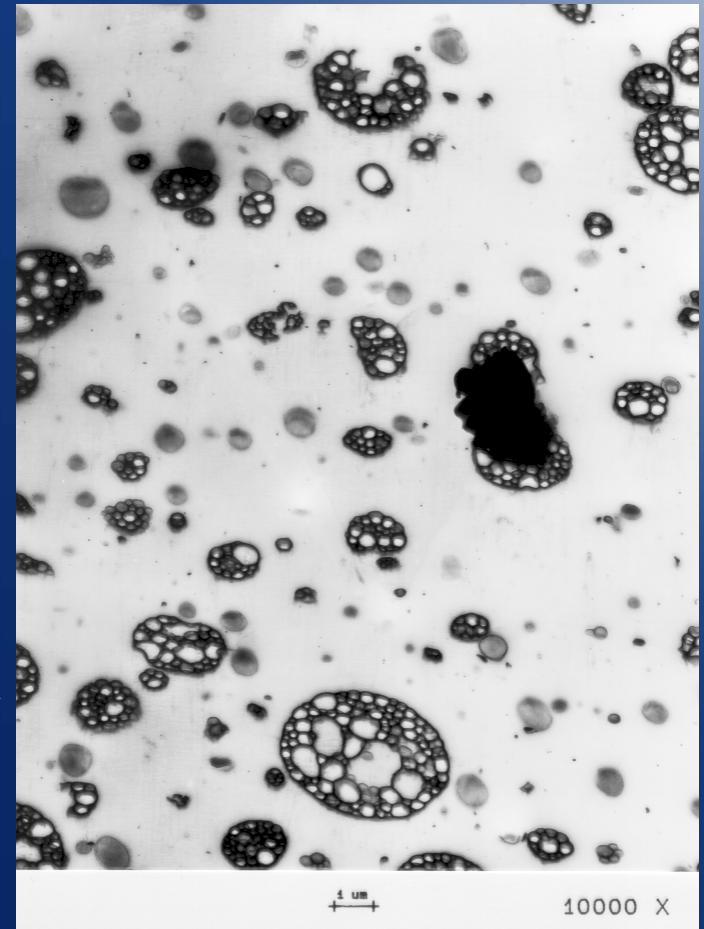
Compressão das secções. Rugas e ondulações paralelas aos riscos.

Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

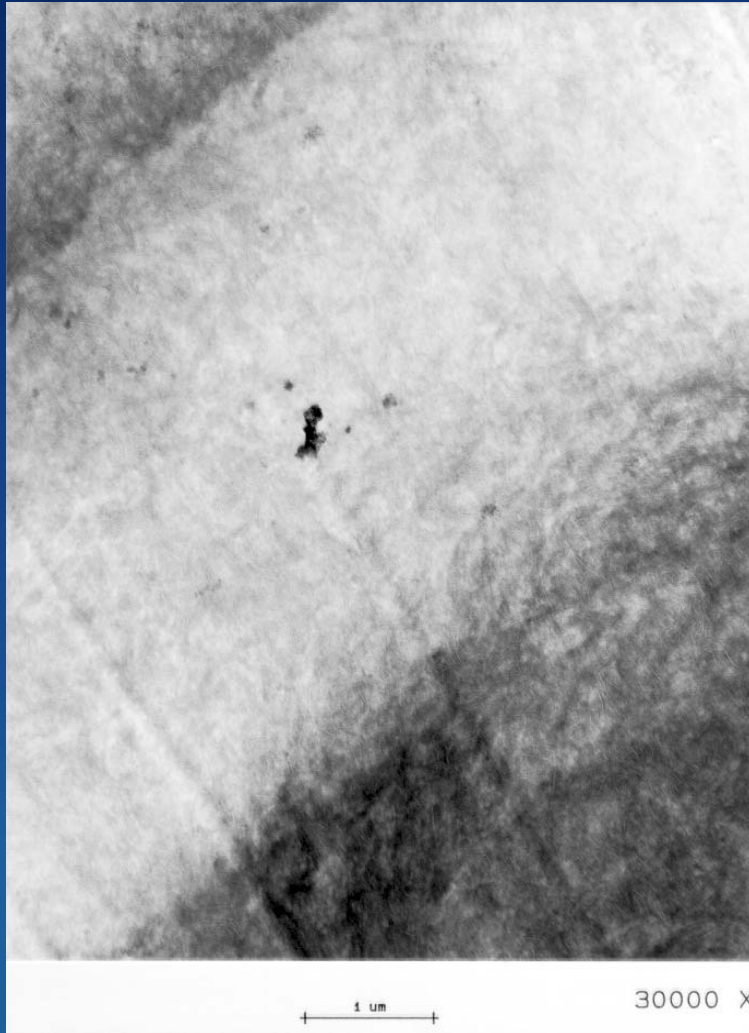


Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen



Mudança de contraste devido à diferença de espessura

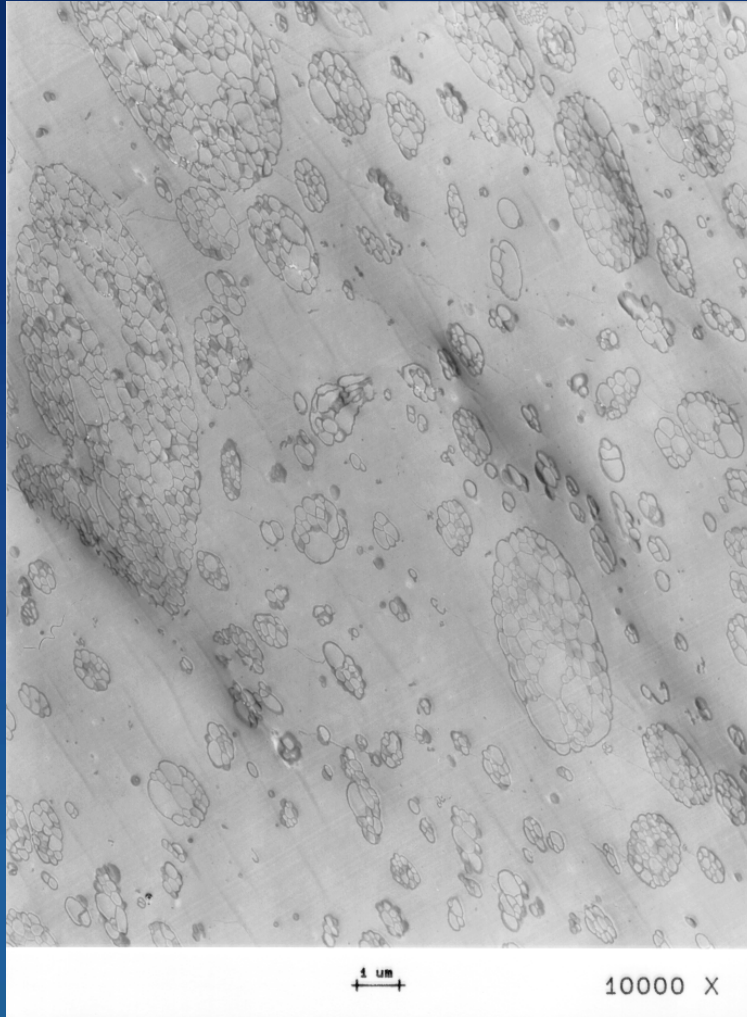
ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Compressão , originando diferenças de espessura na mesma secção.

Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



**Ondulação provocada por má
recolha da secção.**

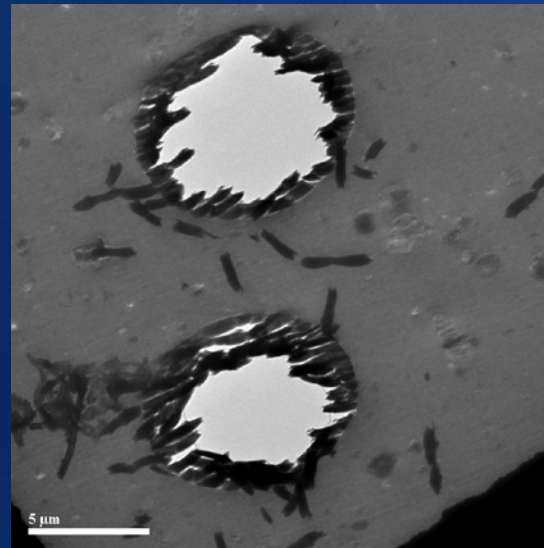
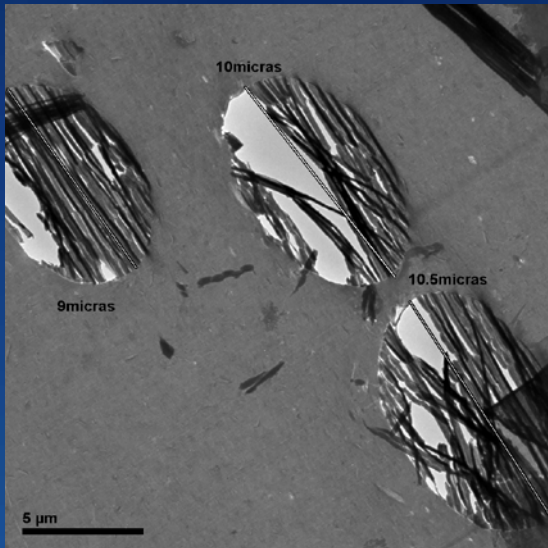
Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen



Imagens obtidas através de TEM

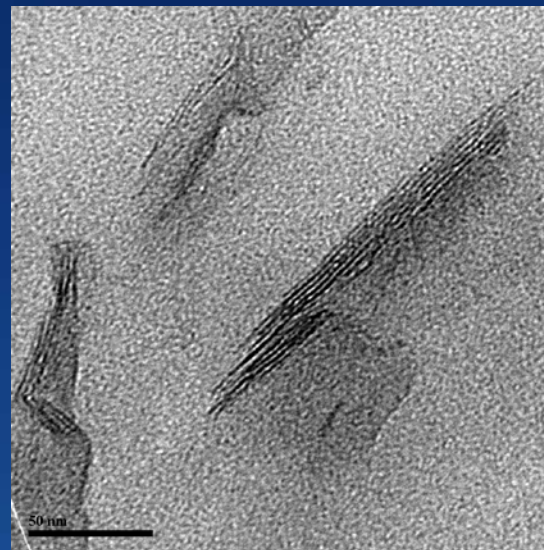
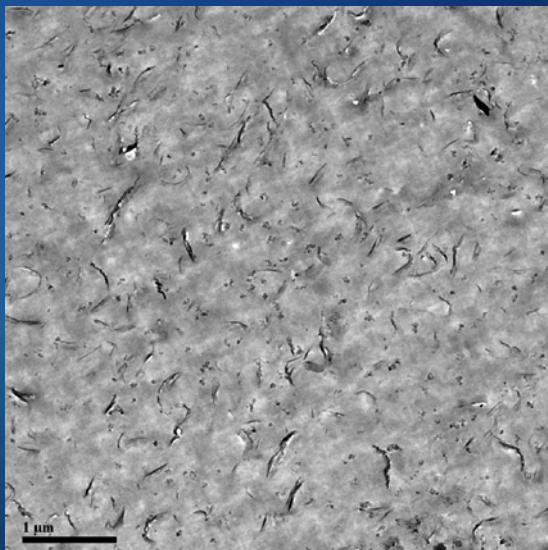
Exemplos e condições de preparação

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



PET + 10% de Nanoargila C15A

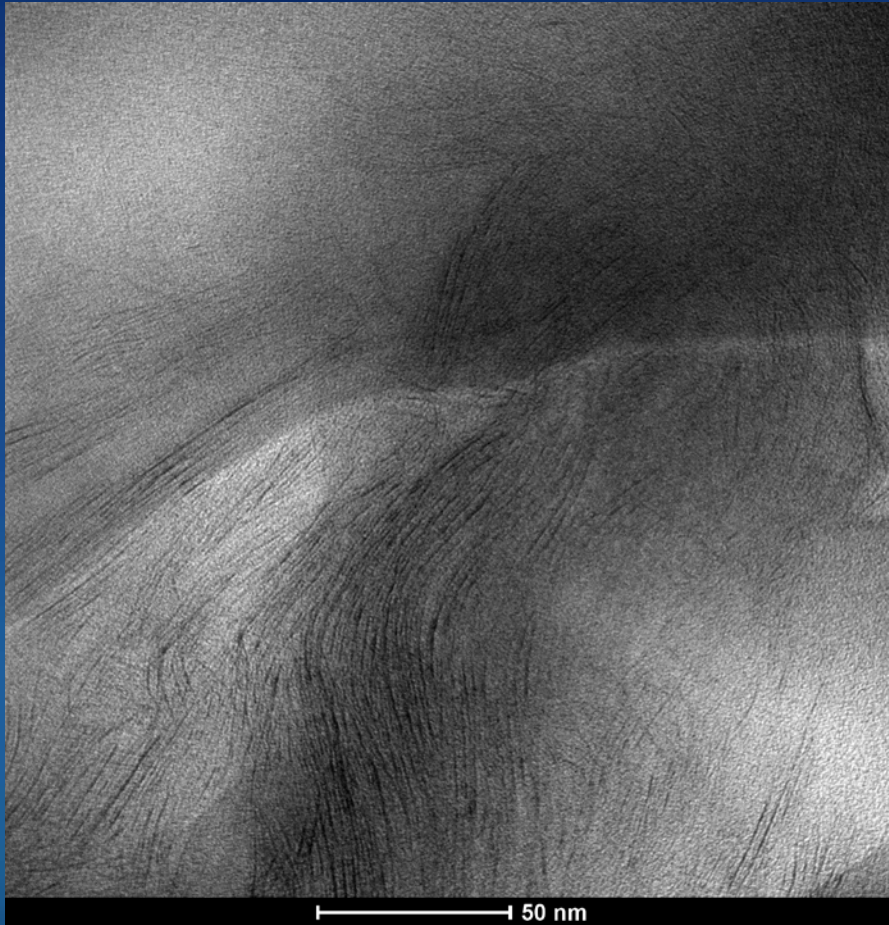
- Seccionamento húmido
- Espessura da secção – 70 nm
- Temperatura de corte → -80 °C
- Velocidade de corte → 0.2 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °



INA – UZ (Instituto de Nanociencia de Aragon da Universidade de Zaragoza)
/DEP – Universidade do Minho
Projecto TECNA: INTERREG IV-B SOE1/P1/E184)

Resultados não publicados

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



PET + 10% de Nanoargila C15A

INA – UZ (Instituto de Nanociencia de Aragon da Universidade de Zaragoza) /
Projecto TECNA: INTERREG IV-B
SOE1/P1/E184)

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



PA + PP + Nanoargila Cloisite (C30B)

- Seccionamento húmido
- Espessura da secção – 70 nm
- Temperatura de corte → -100 °C
- Velocidade de corte → 0.2 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °

M. F. Almeida, PhD

IPC/I3N – Instituto de Polímeros e Compósitos

DEP – Universidade do Minho

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

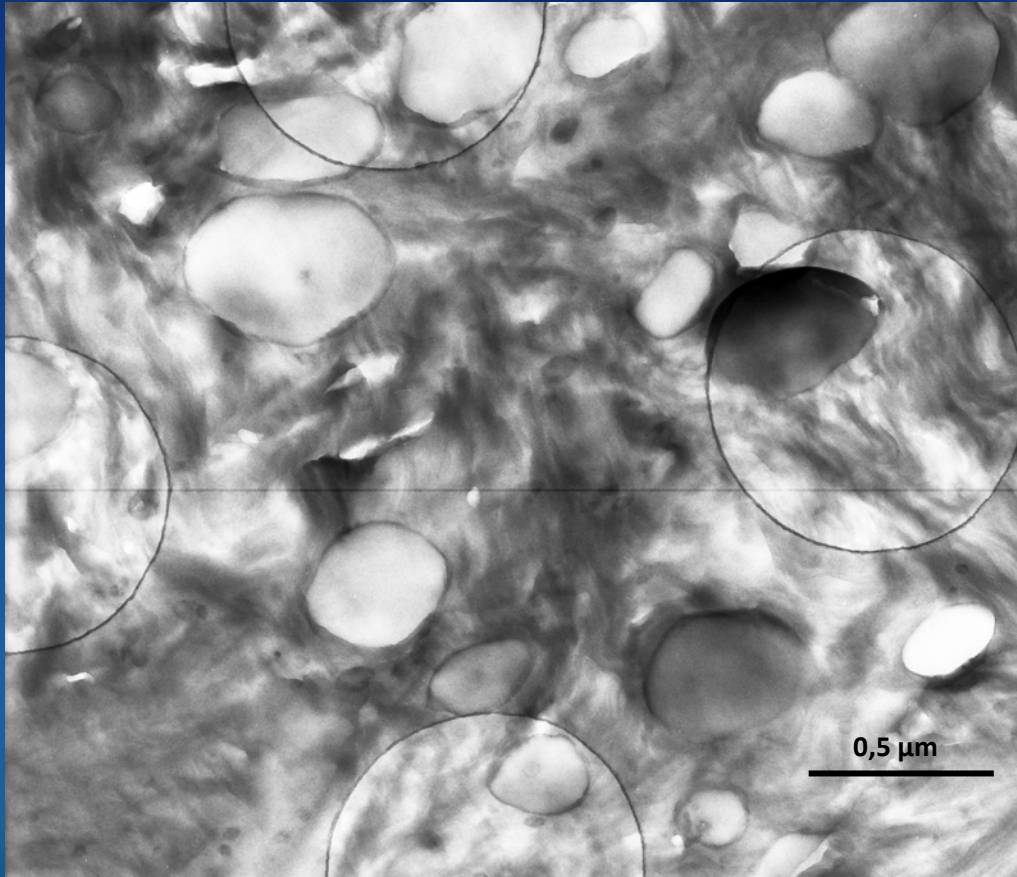


PA 6 + 5% de Nanoargila Cloisite (C15A)

- Seccionamento húmido
- Espessura da secção → 70 nm
- Temperatura de corte → -120°C
- Velocidade de corte → 0.2 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °

Mladen Motovilin –PhD
DEP – Universidade do Minho

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



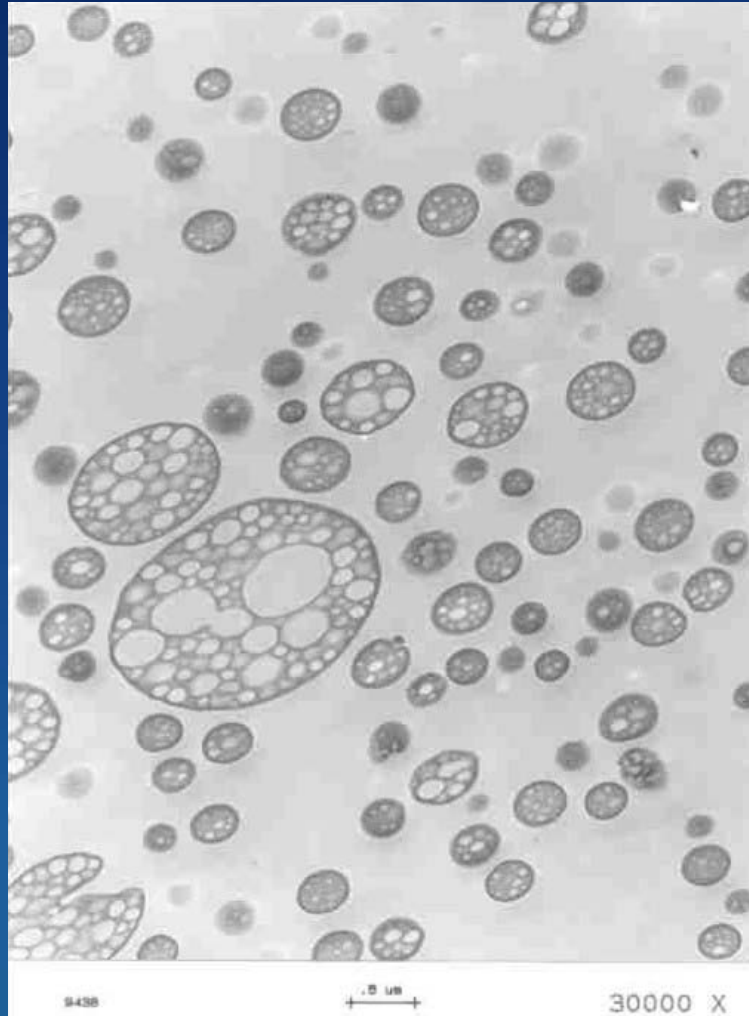
MFC HDPE/PA6 80/20

- Seccionamento húmido
- Espessura da secção → 70 nm
- Temperatura de corte → -120°C
- Velocidade de corte → 0.2 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °

Zlatan Denchev - Professor Auxiliar
IPC/DEP - Universidade do Minho

Resultados não publicados

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

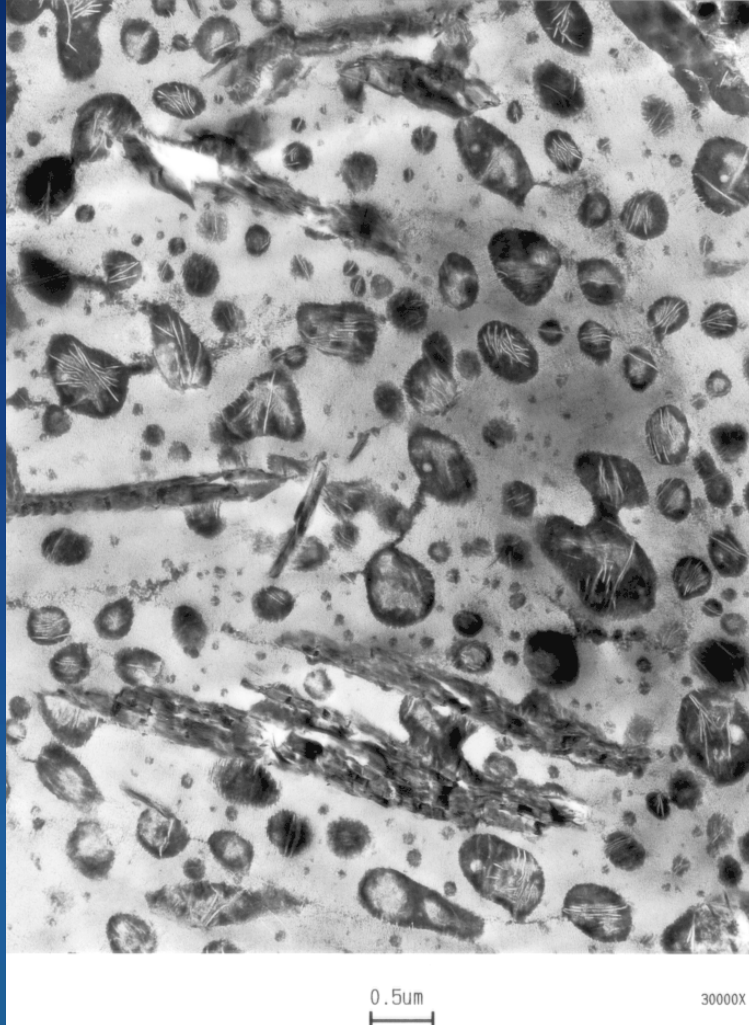


ABS (tratado com OsO_4)

- Seccionamento seco
- Espessura da secção → 70 nm
- Temperatura de corte → ambiente
- Velocidade de corte → < 1 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35°

Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



PP resistente ao impacto (tratado com RuO_4)

- Seccionamento seco
- Espessura da secção → 70 nm
- Temperatura de corte → $-100\text{ }^\circ\text{C}$
- Velocidade de corte → 0.2 – 0.6 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °

Bob Vastenhout
Dow Chemicals Terneuzen



Preparação de amostras para Análise Morfológica através Microscopia Óptica

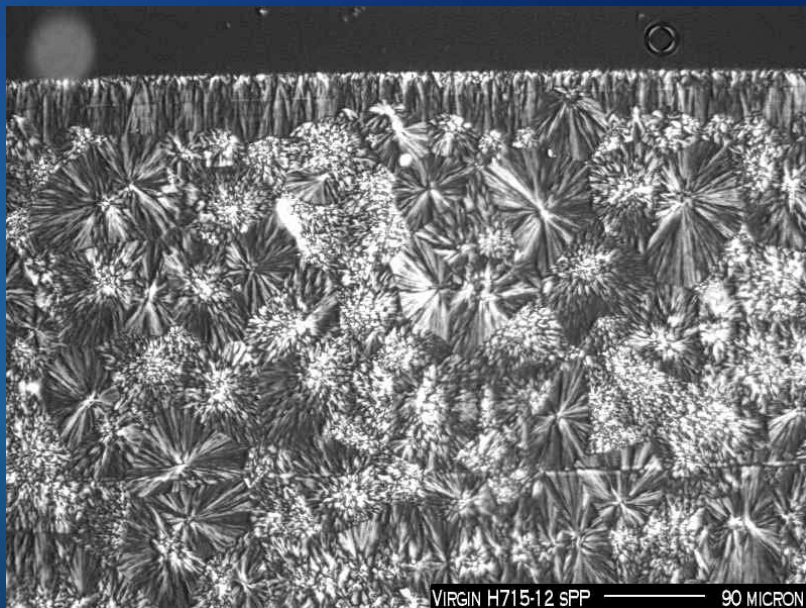
ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



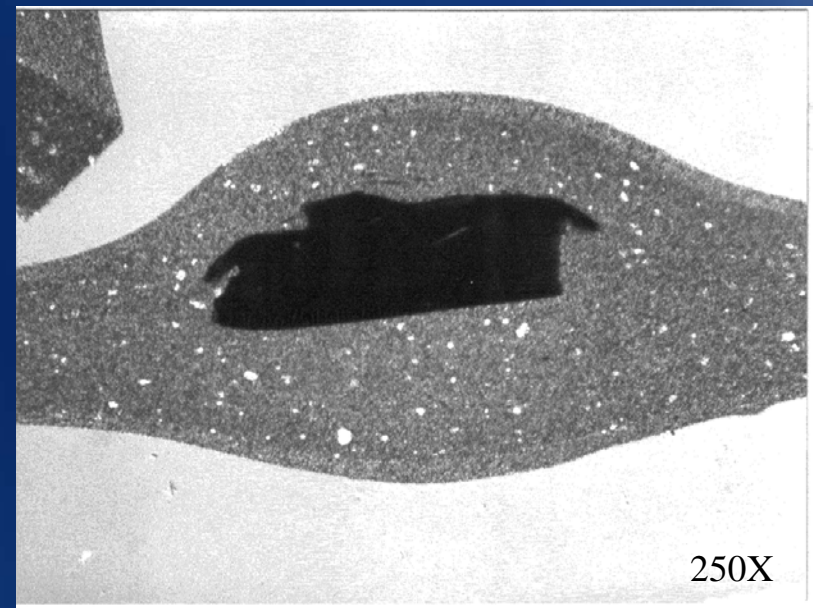
Ultramicrotomia de Polímeros e Microscopia Óptica

- Útil para análise de amostras durante a otimização do processamento.
- Melhor técnica para estudar a morfologia de polímeros.
- Identificação de contaminações e problemas de processamento em amostras poliméricas.

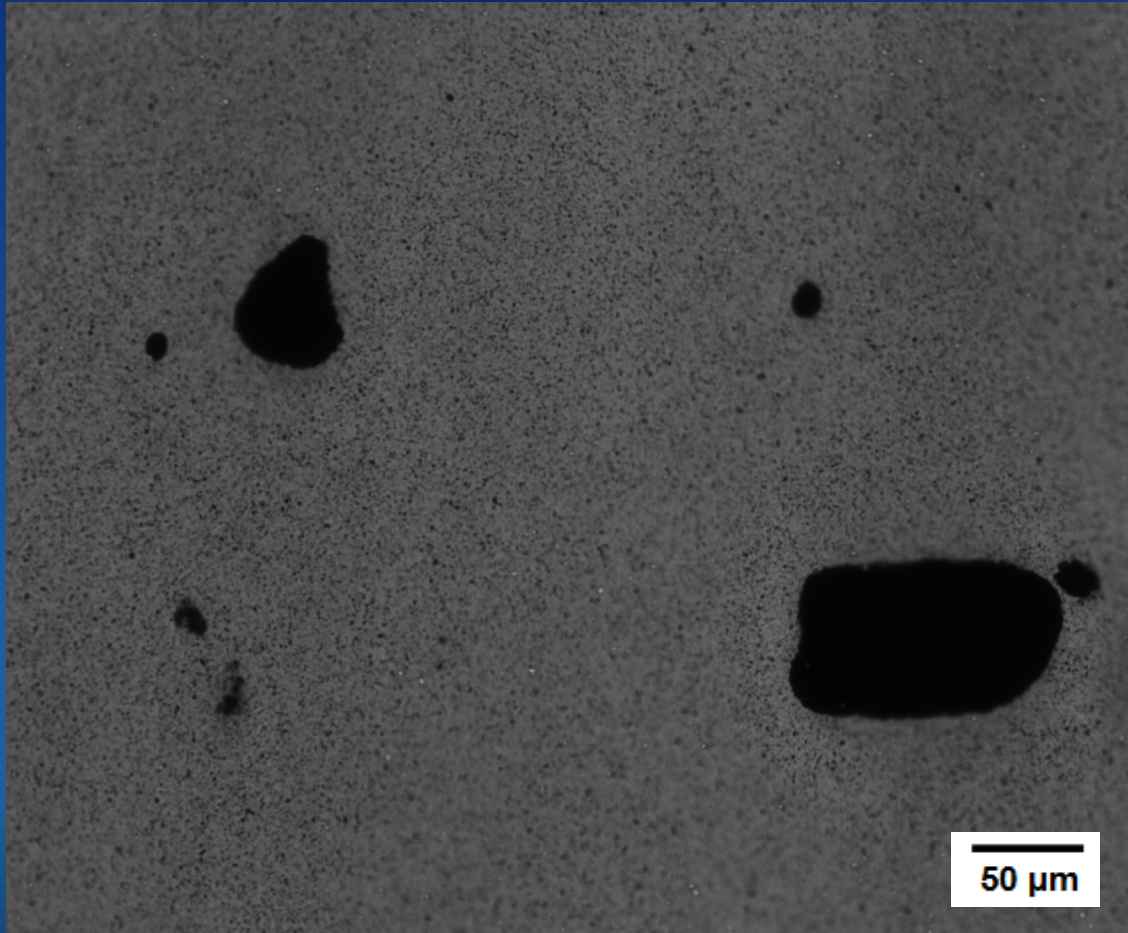
Luz Polarizada (estrutura cristalina)



Campo Claro (contaminação inorgânica)



ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



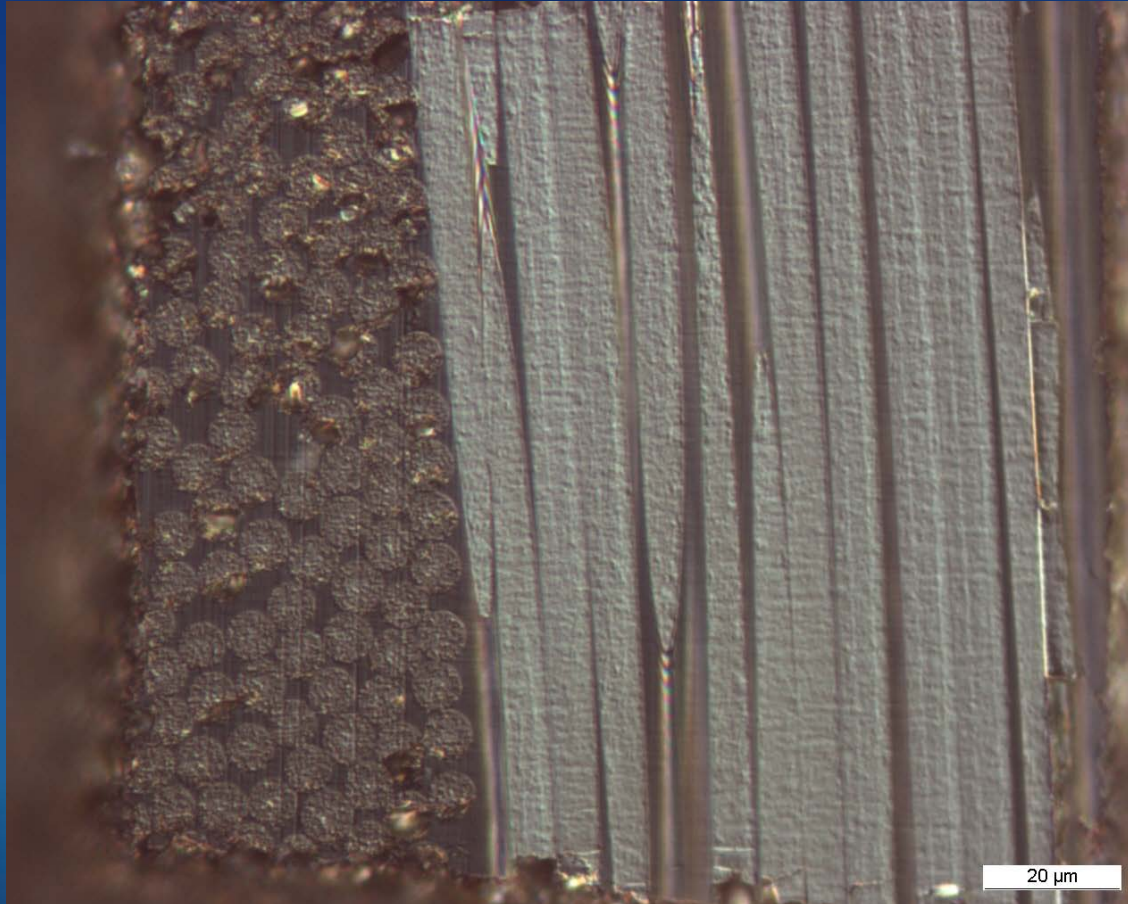
Campo Claro

PCL+4% de Nanotubos de carbono (CNT)

- Seccionamento seco
- Espessura da secção → 3 μm
- Temperatura de corte → -80 °C
- Velocidade de corte → manual
- Faca de vidro, ângulo de 35 °

Isabel Lopes, estudante MIEP
DEP- Universidade do Minho

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Reflexão

Resina Époxida com fibras de carbono

- Temperatura de corte → ambiente
- Velocidade de corte → manual
- Faca de diamante, ângulo de 35 °

Helmut Gnaegi
Diatome

ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Agradecimentos:

- Mr Bob Vastenhout, Dow Chemicals
- Mr. Helmut Gnaegi, Diatome

Referências:

- J.C. Jésior: Use of low-angle diamond knives leads to improved ultrastructural preservation of ultrathin section. *Scanning Microscopy Supplement* 3, 1989, pages 147-153.
- C. Quintana: Ultramicrotomy for Cross-sections of Nanostructure. *Micron* Vol. 28, No. 3, 1997, pages 217-219.
- G. McMahon and T. Malis: Ultramicrotomy of Nanocrystalline Materials. *Microscopy Research and Technique*, Vol. 31, 1995, pages 267-274.
- P. Schubert-Bischoff and T. Krist: Fast cross-sectioning technique for thin films by Ultramicrotomy. *Microscopy and Microanalysis*, proceedings 1997, page 359.