



# 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



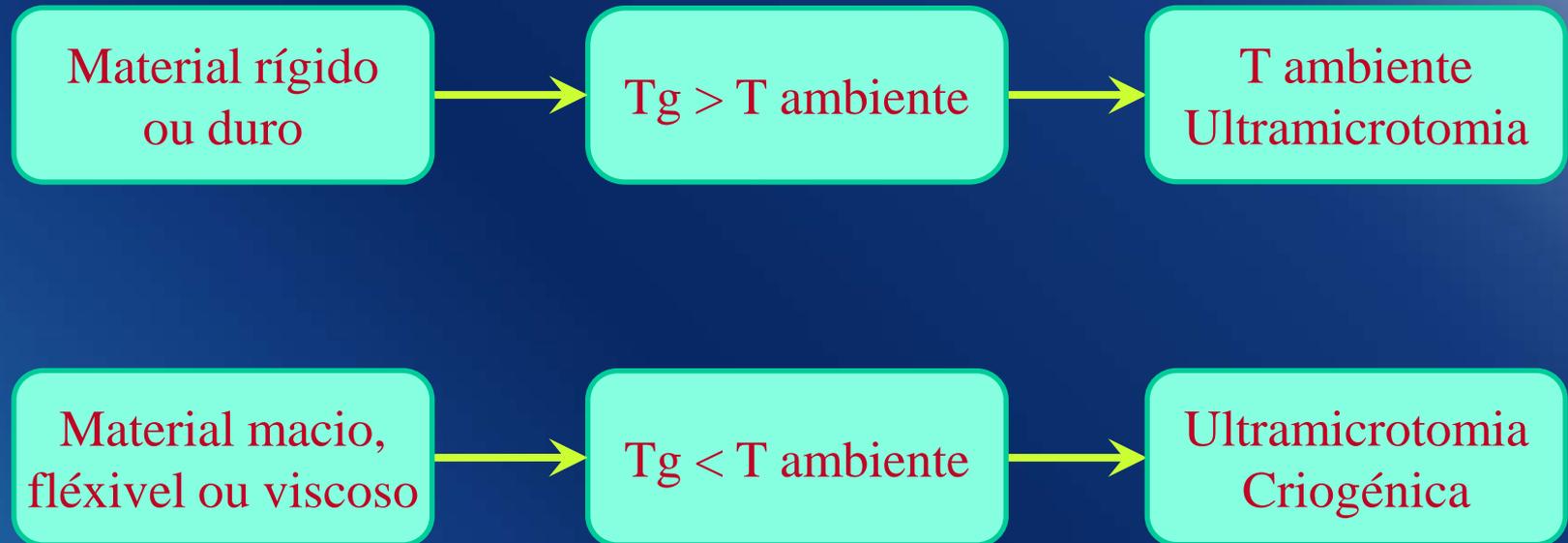
- **Antes de preparar uma amostra polimérica é necessário reunir o máximo de informação possível acerca do material.**
- **Para isso é necessário responder a uma série de questões:**
  - ✓ Tipo de material?
  - ✓ Propriedades: Tg, fases pequenas, fases grandes, amorfo-cristalino, duro-frágil, macio-rígido, 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) <sup>(1)</sup>
- Polietileno de Alta Densidade (HDPE) <sup>(1)</sup>
- Resina Epóxida
- Poliestireno de Alto Impacto (HIPS) <sup>(2)</sup>
- Acrilonitrilo Butadieno Estireno (ABS) <sup>(2)</sup>
- 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.

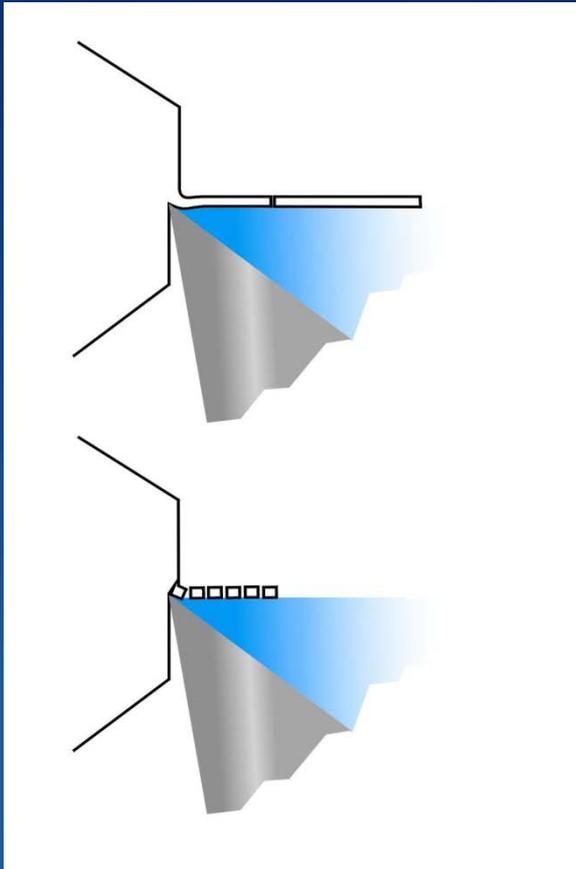
(1) Tratamento com Tetróxido de Ruténio ( $\text{RuO}_4$ )

(2) Tratamento com Tetróxido de Ósmio ( $\text{OsO}_4$ )



## Processo de corte de secções

**Materiais dúcteis e materiais frágeis (dificuldades de seccionamento)**



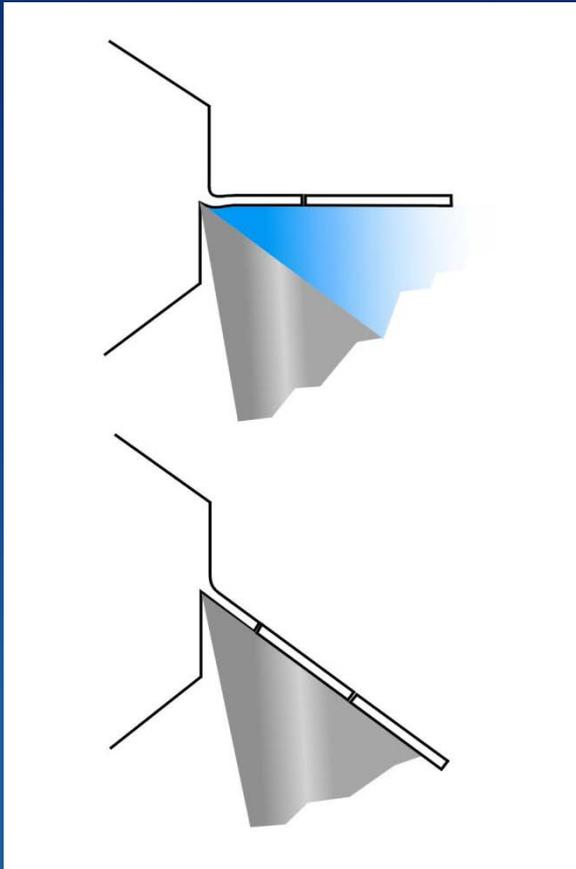
Materiais dúcteis: a força de corte necessária para separar as secções da amostra provoca deformação (compressão, deslocamento de partículas, etc.)

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.



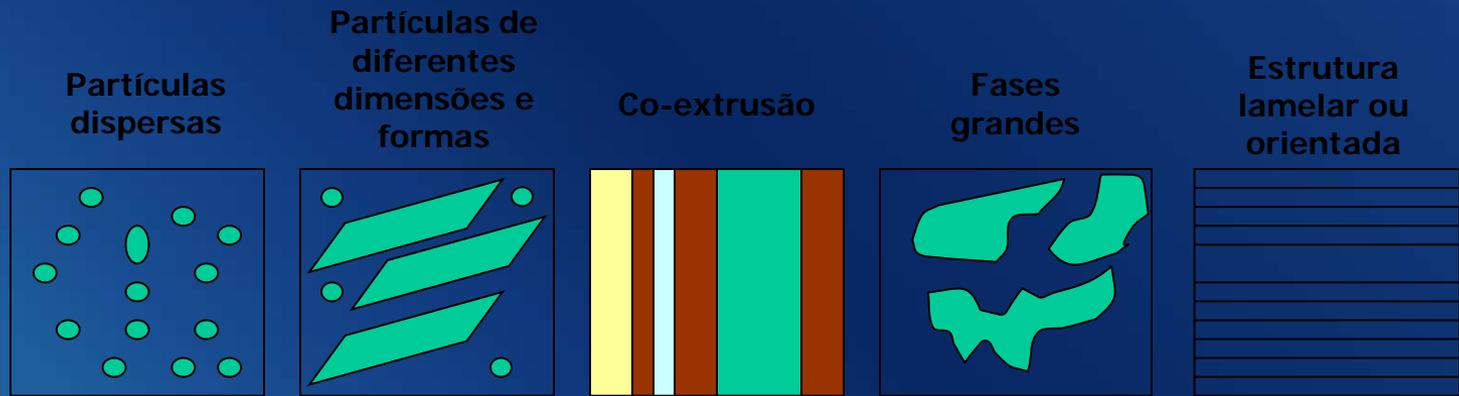
## Preparação de amostras para Análise Morfológica através de TEM:

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.

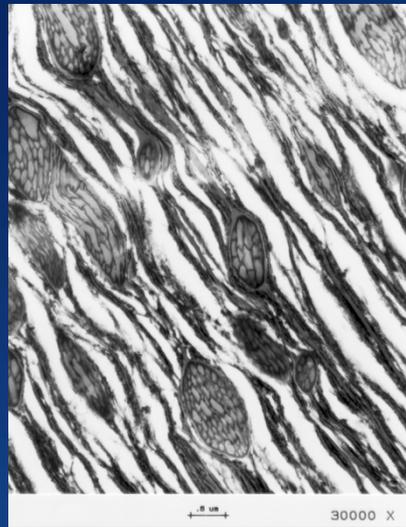


# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

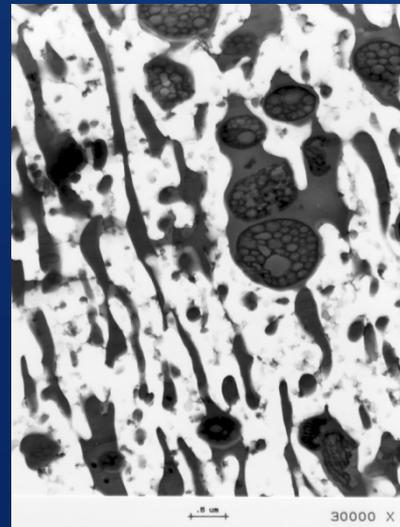


## Onde recolher a amostra?

Exemplo de amostra injectada de PC/ABS



Casca



Núcleo

Bob Vastenhou  
Dow Chemicals Terneuzen

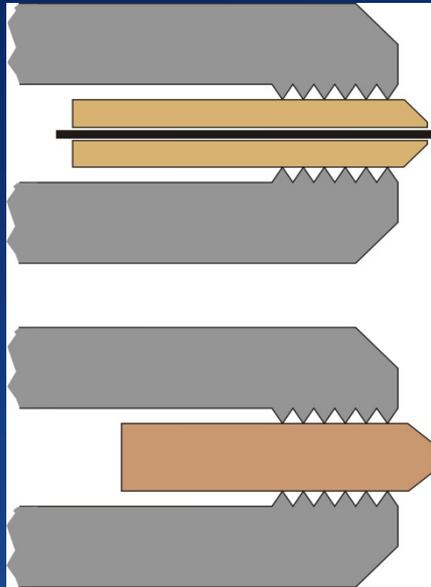
Amostra tratada com  $\text{OsO}_4$

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  $-120\text{ °C}$  (temperatura média) ou ligeiramente inferior a  $T_g$ .

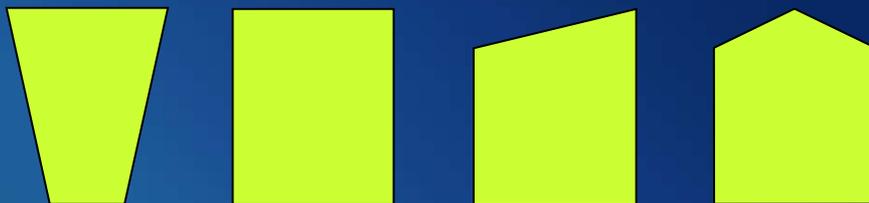
# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



## Desbaste:



Só um desbaste perfeito conduz a boas secções



Clássica/Fáceis

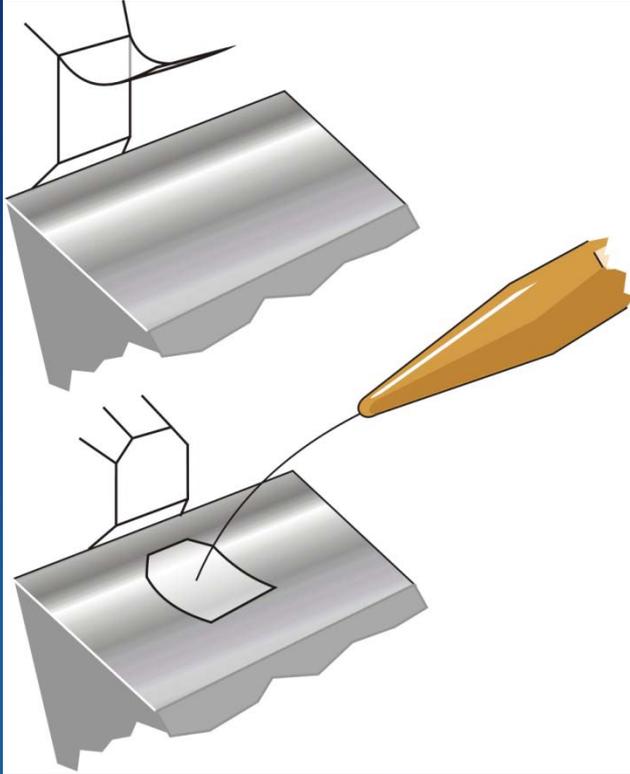
Difíceis

Exemplos de faces de corte

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



## Seccionamento:



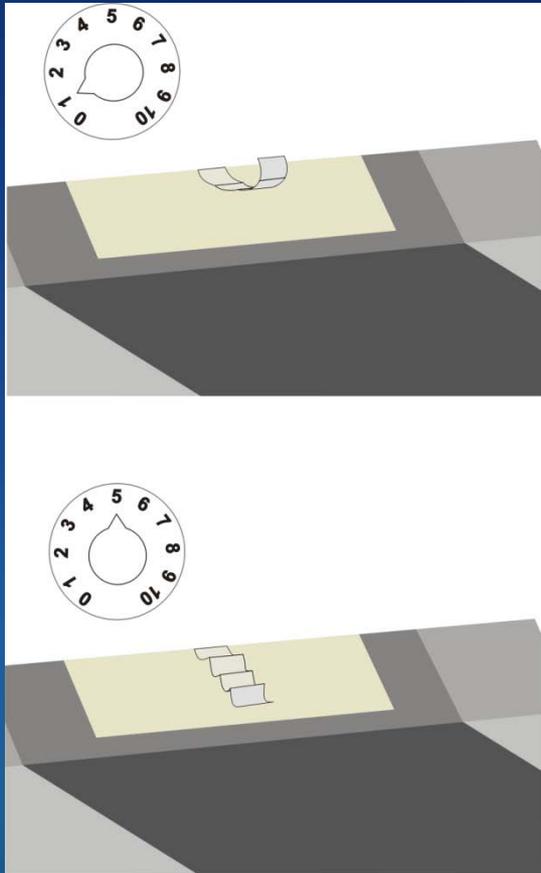
Velocidades de corte lentas permitem guiar as secções com uma pestana.

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



## Secionamento:



### Utilização do acessório antiestático

Se as secções tenderem a levantar:

- Reduzir a voltagem.

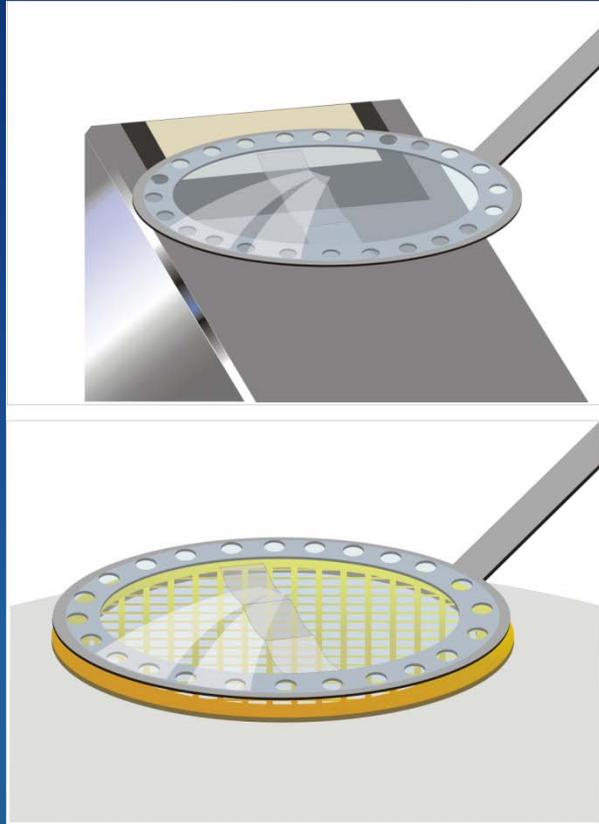
Se as secções tenderem a colar na superfície da faca:

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

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



## Recolha das Secções:



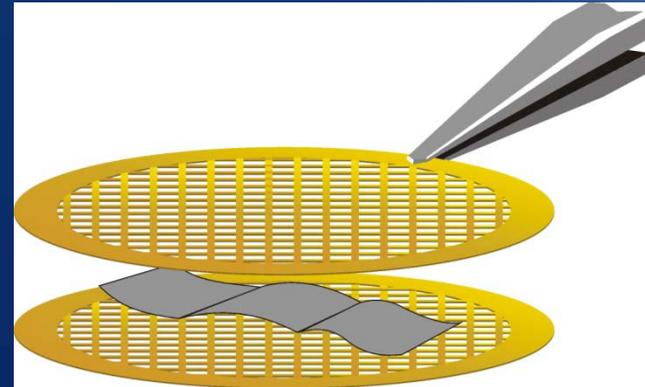
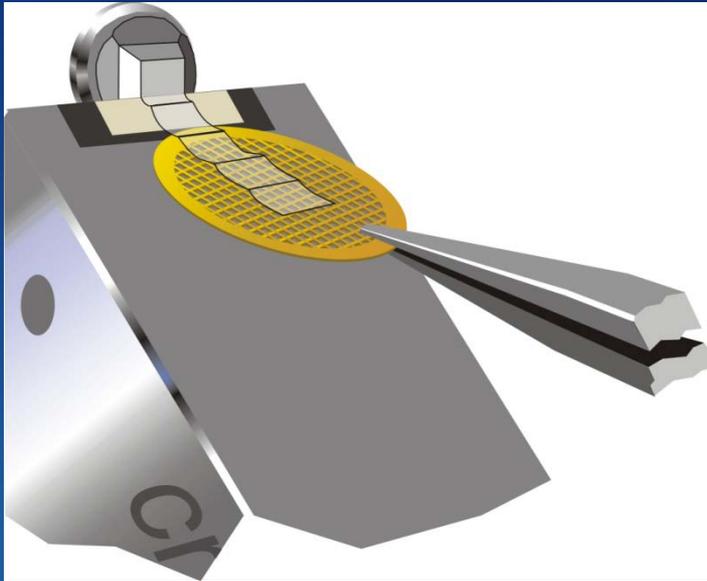
### Seccionamento seco:

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

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



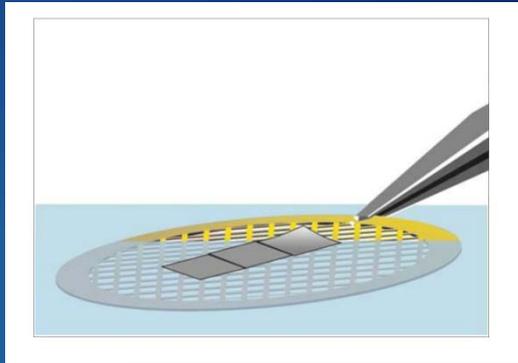
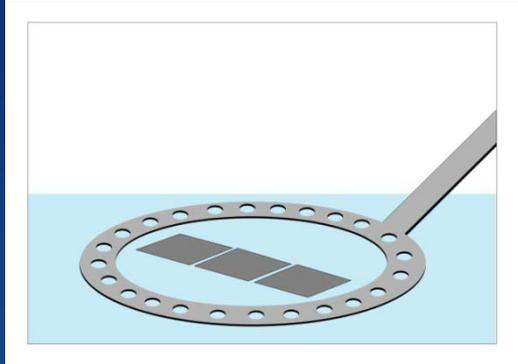
## Recolha das Secções:



# 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 Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

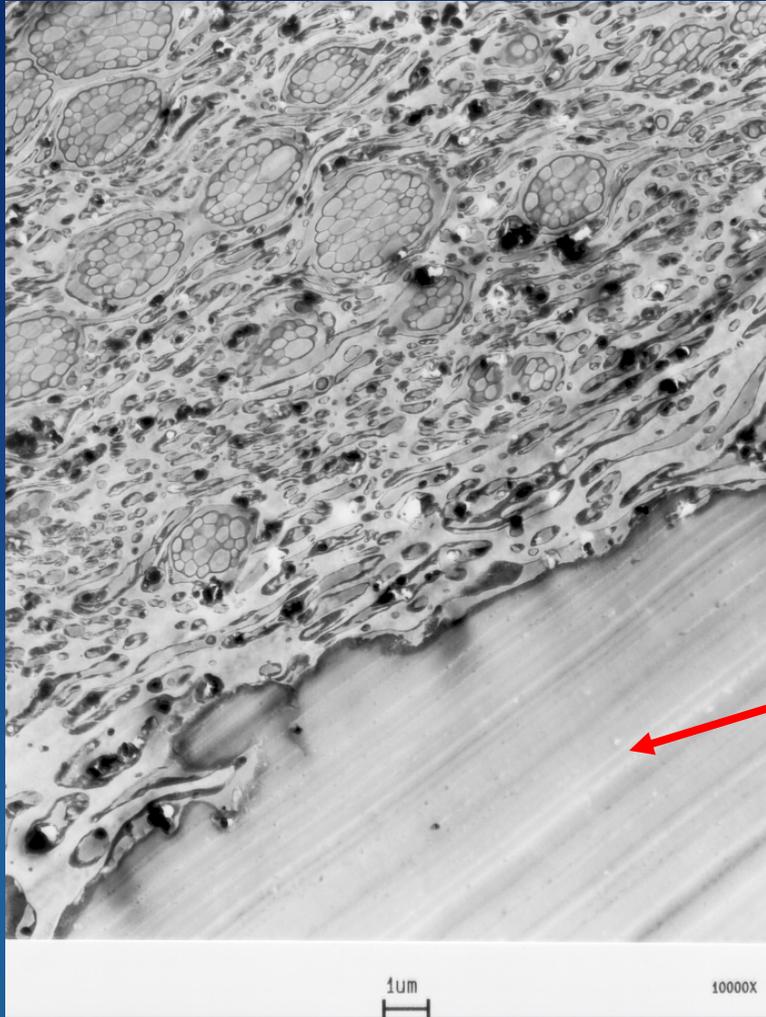


Defeitos causados pelo processamento

Aglomerados de partículas

Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



**Defeitos causados pelo processamento**

**Contaminações com outros polímeros**

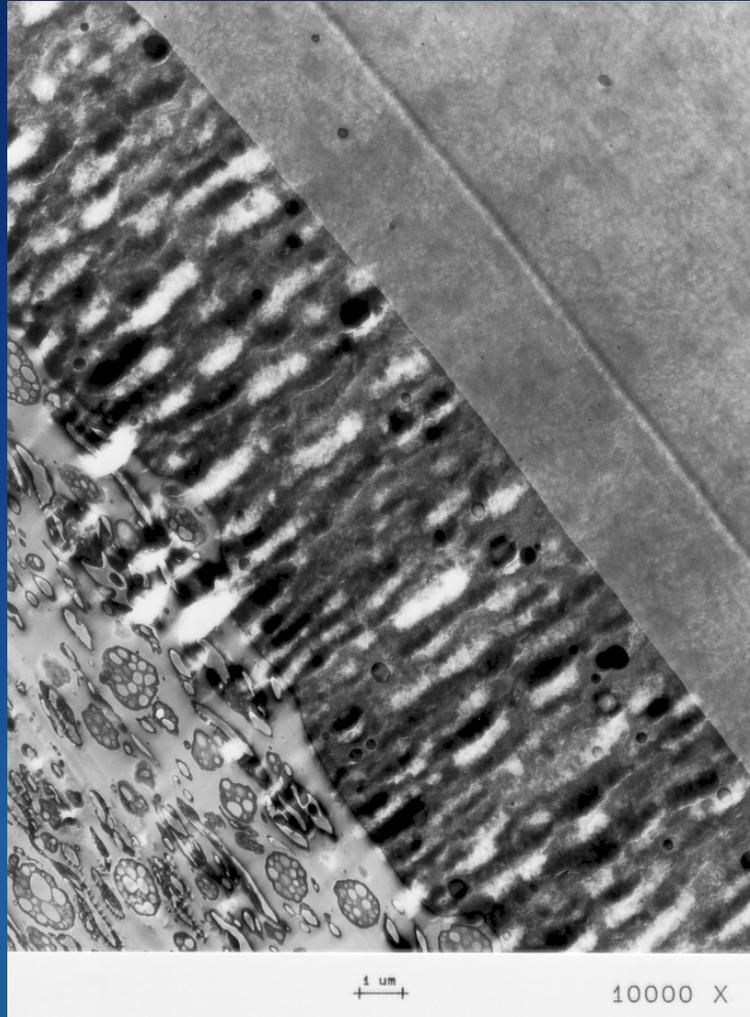
Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Co-extrusão

Materiais com propriedades diferentes



Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen



## Imagens obtidas através de TEM

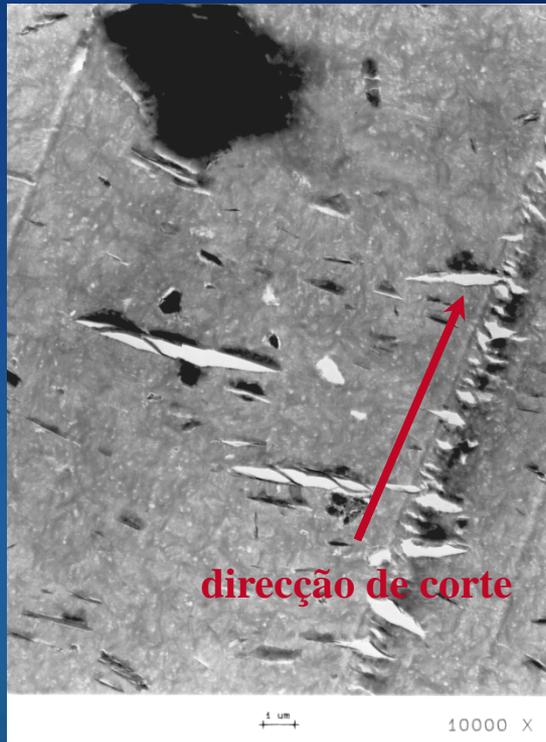
Defeitos causados pela Ultramicrotomia

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

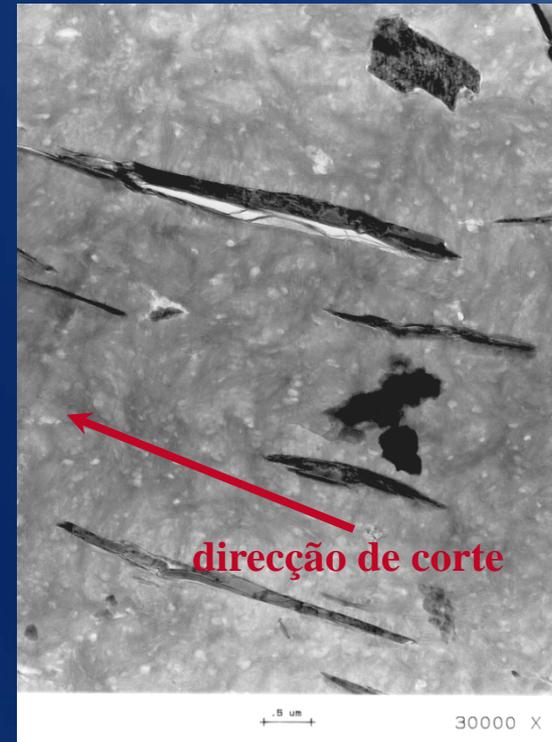


**Problema:** Defeitos da faca causados por partículas originam riscos na amostra.

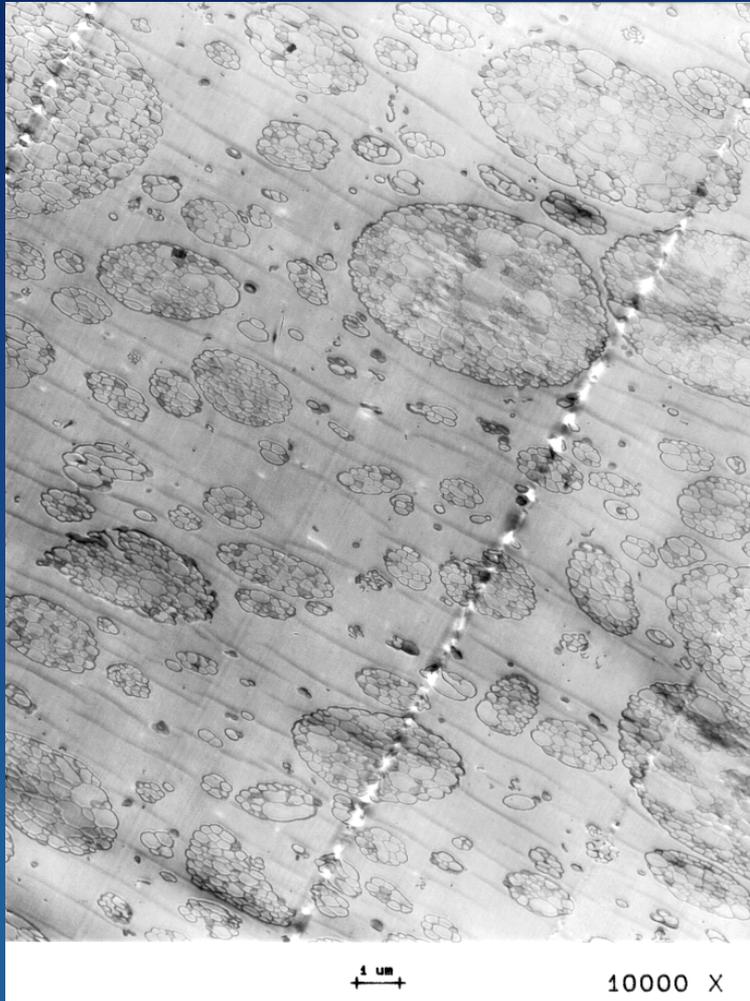
**Solução:** Alteração da direcção de corte não causa danos na faca e origina uma amostra sem riscos e com as partículas bem preservadas.



Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen



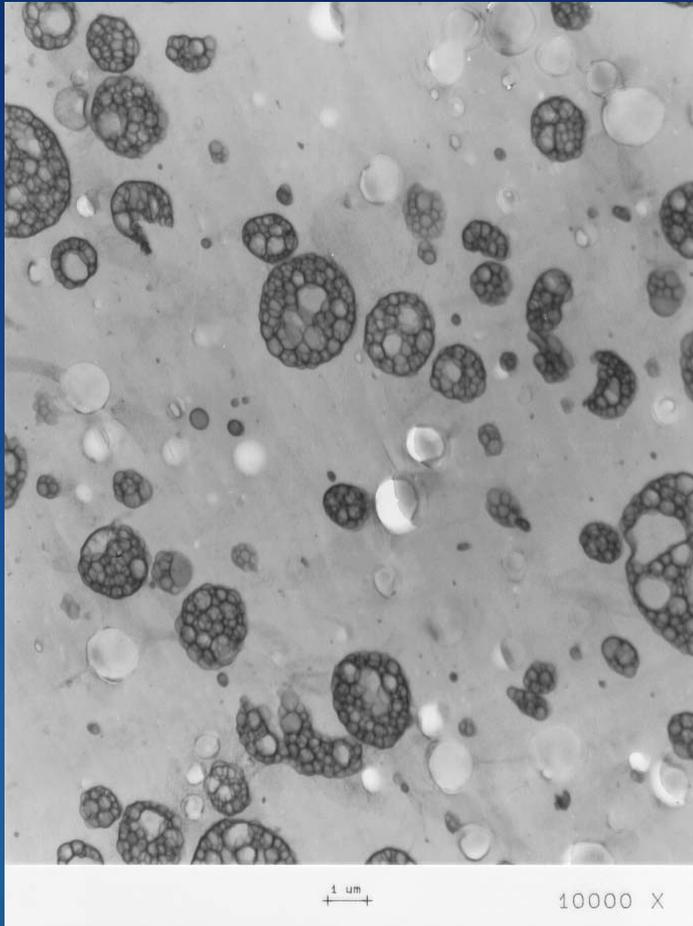
# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



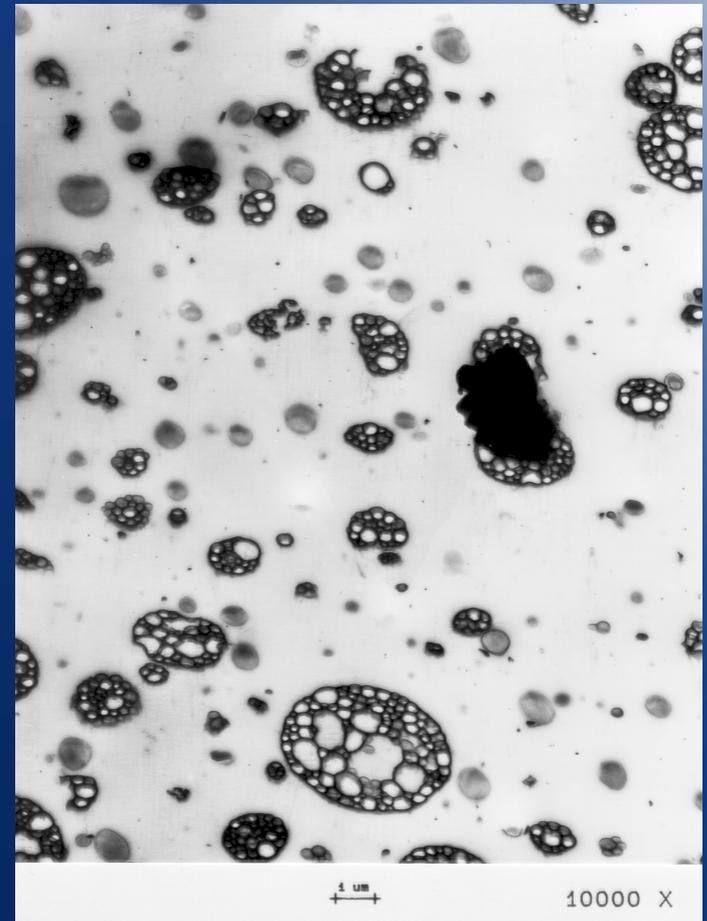
**Compressão das secções. Rugas e ondulações paralelas aos riscos.**

Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

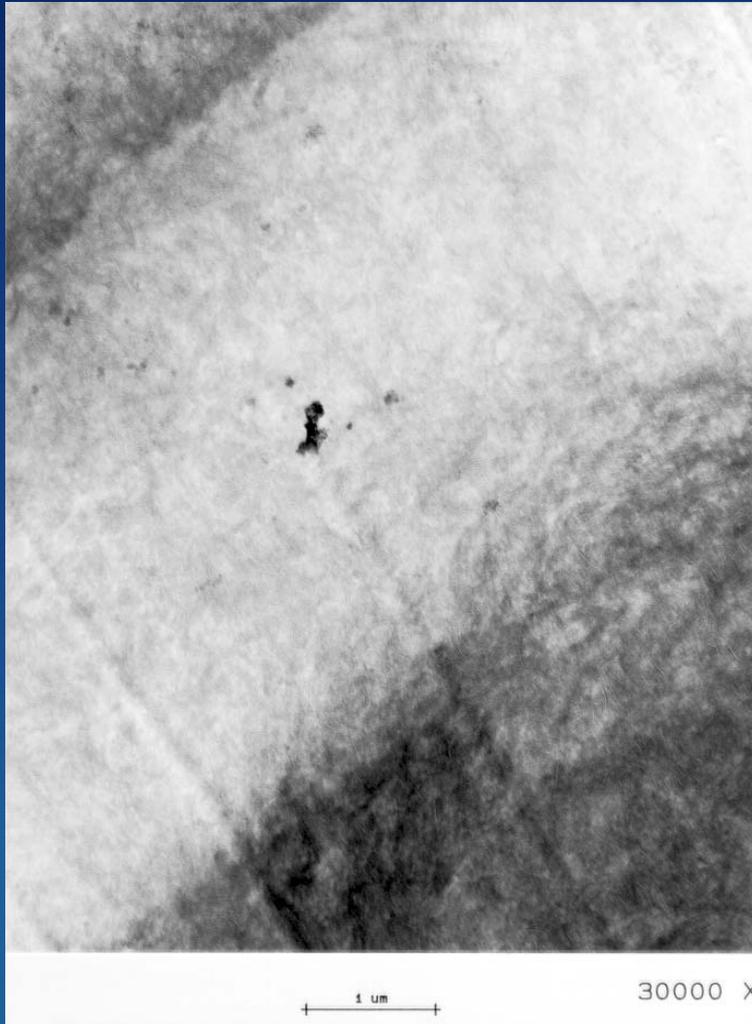


Mudança de contraste devido à diferença de espessura

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

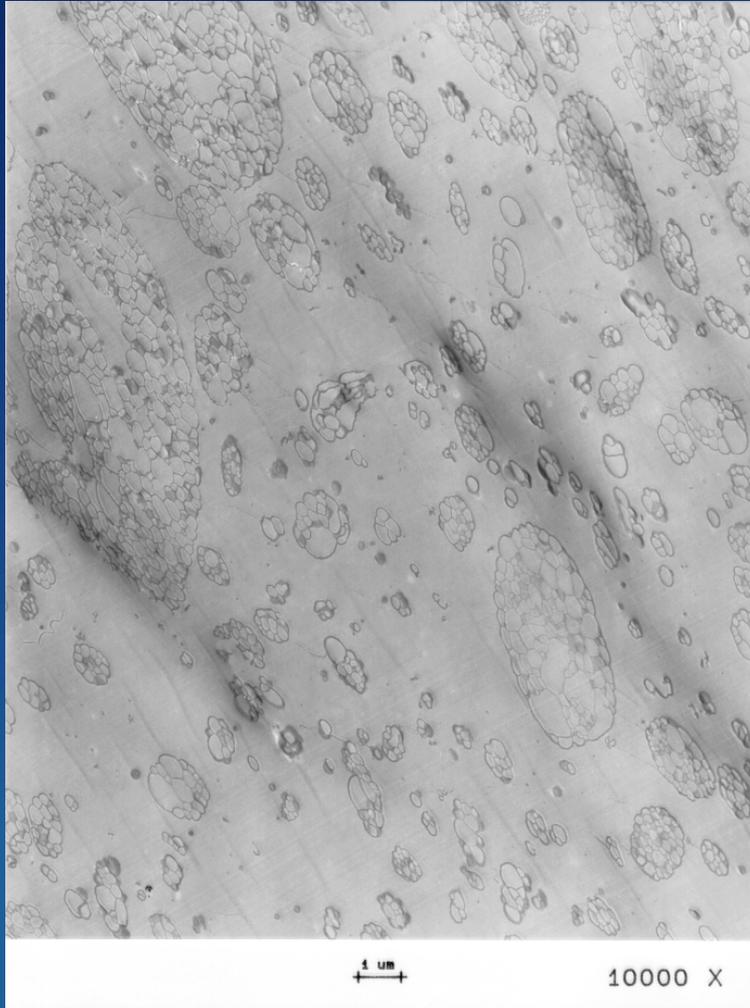


**Compressão , originando diferenças de espessura na mesma secção.**



Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



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

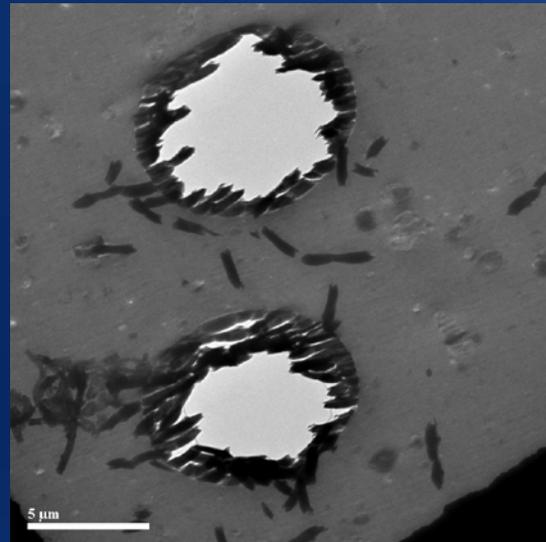
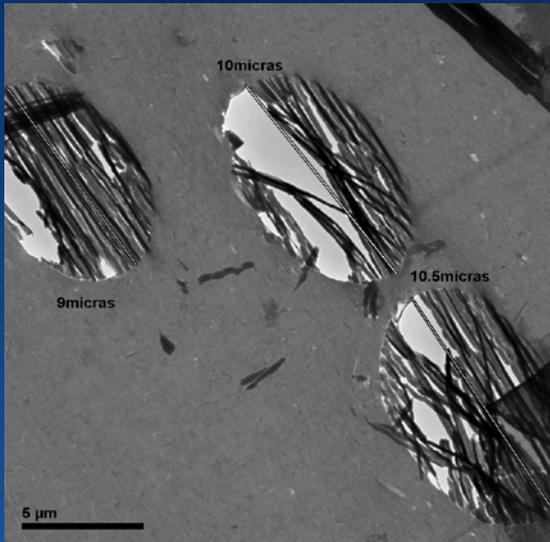
Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen



## Imagens obtidas através de TEM

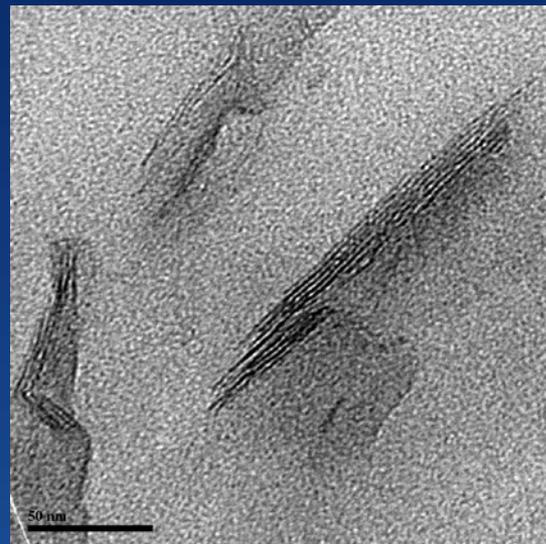
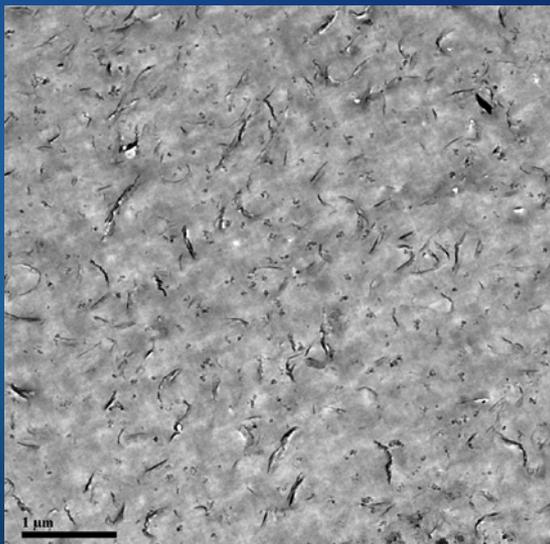
Exemplos e condições de preparação

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



PET + 10% de Nanoargila C15A

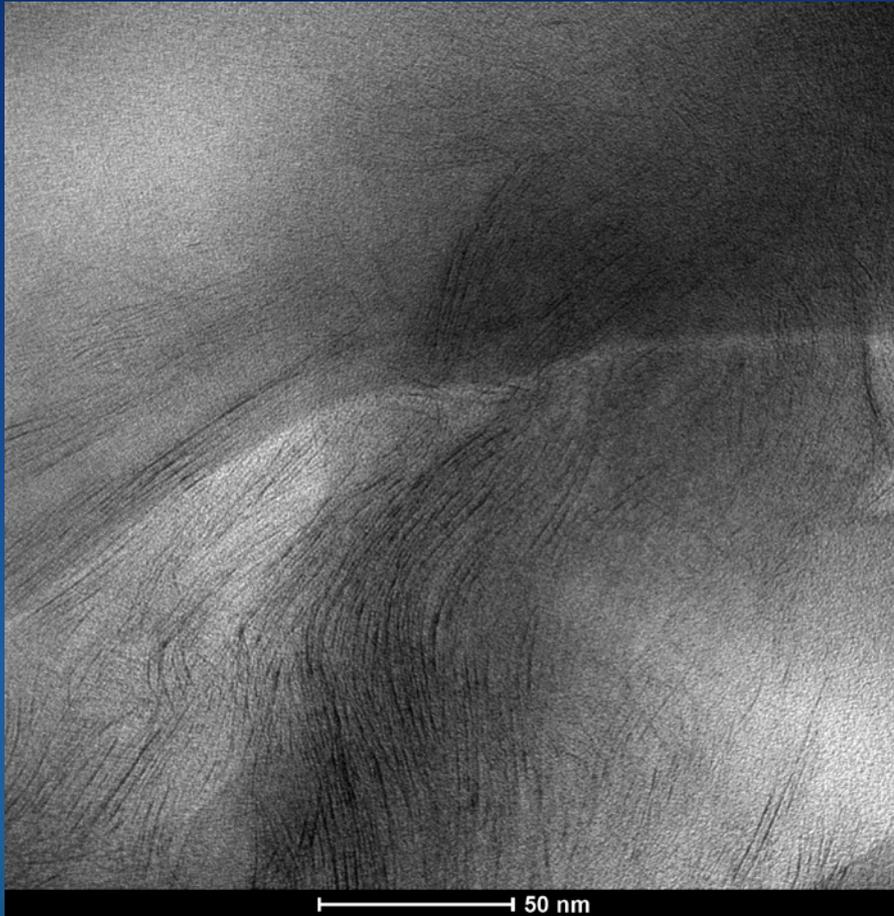
- Seccionamento húmido
- Espessura da secção – 70 nm
- Temperatura de corte → -80 °C
- Velocidade de corte → 0.2 mm/s
- Faca de diamante, ângulo de 35 °



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

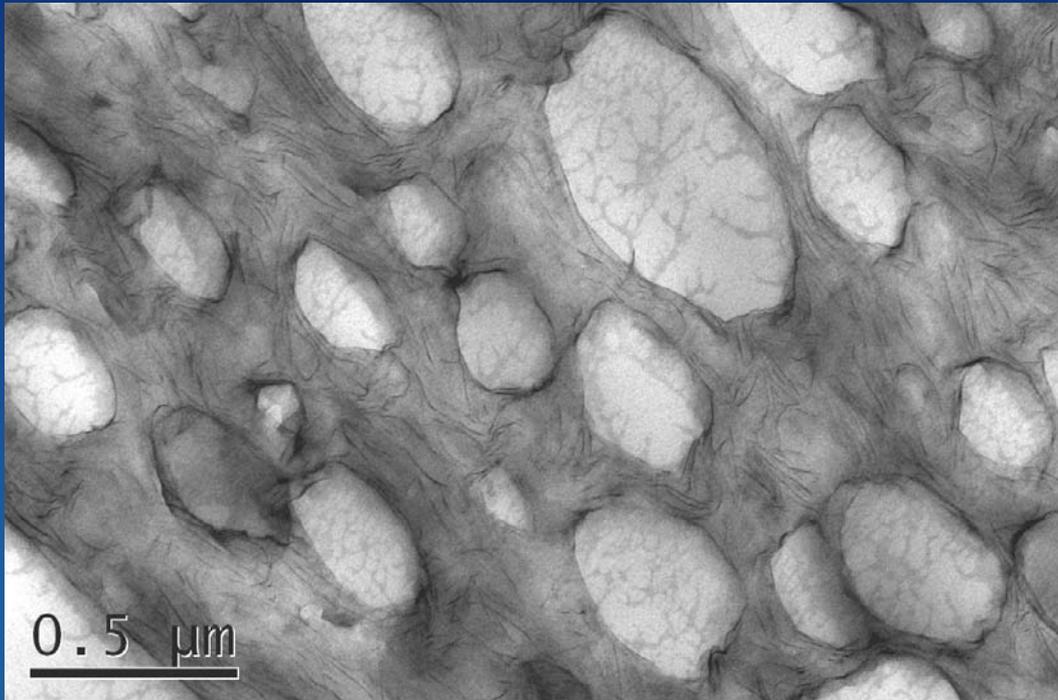
# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



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

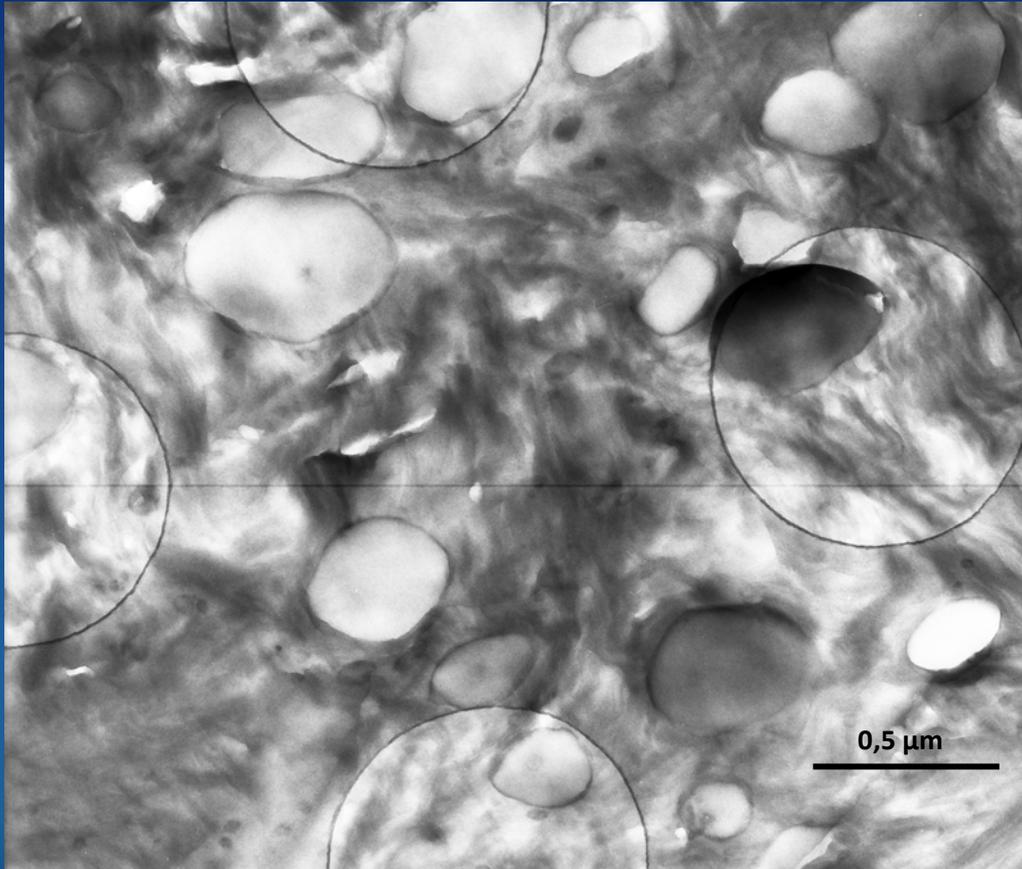


## MFC HDPE/PA6 80/20

- 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 °

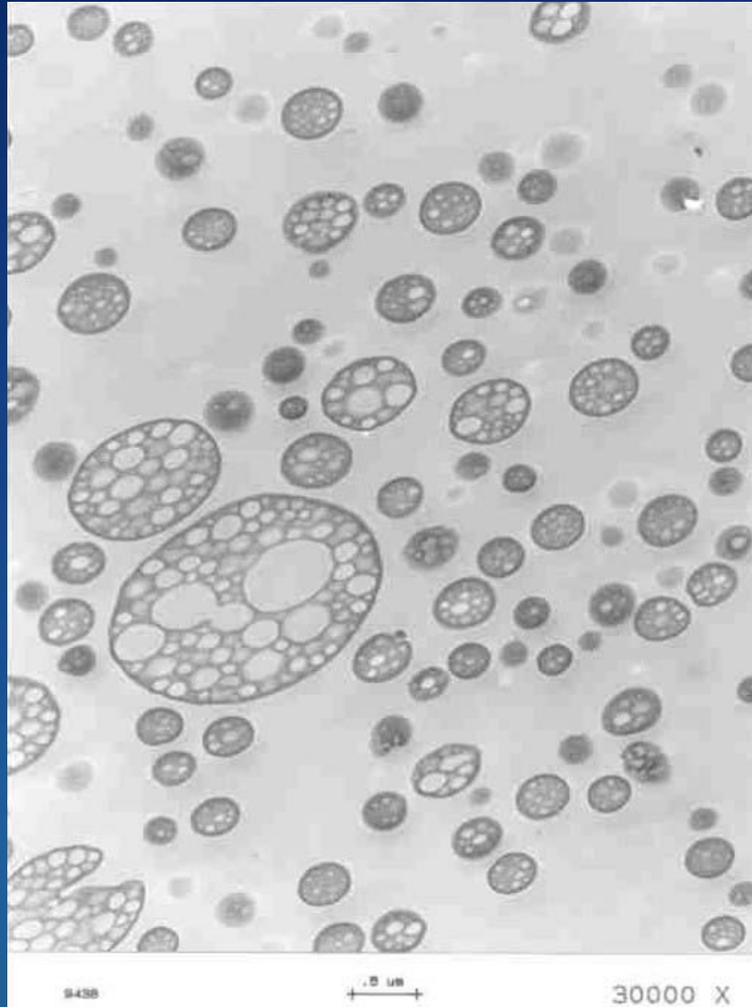
Zlatan Denchev - Professor Auxiliar  
IPC/DEP - Universidade do Minho

Resultados não publicados



0,5 μm

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS

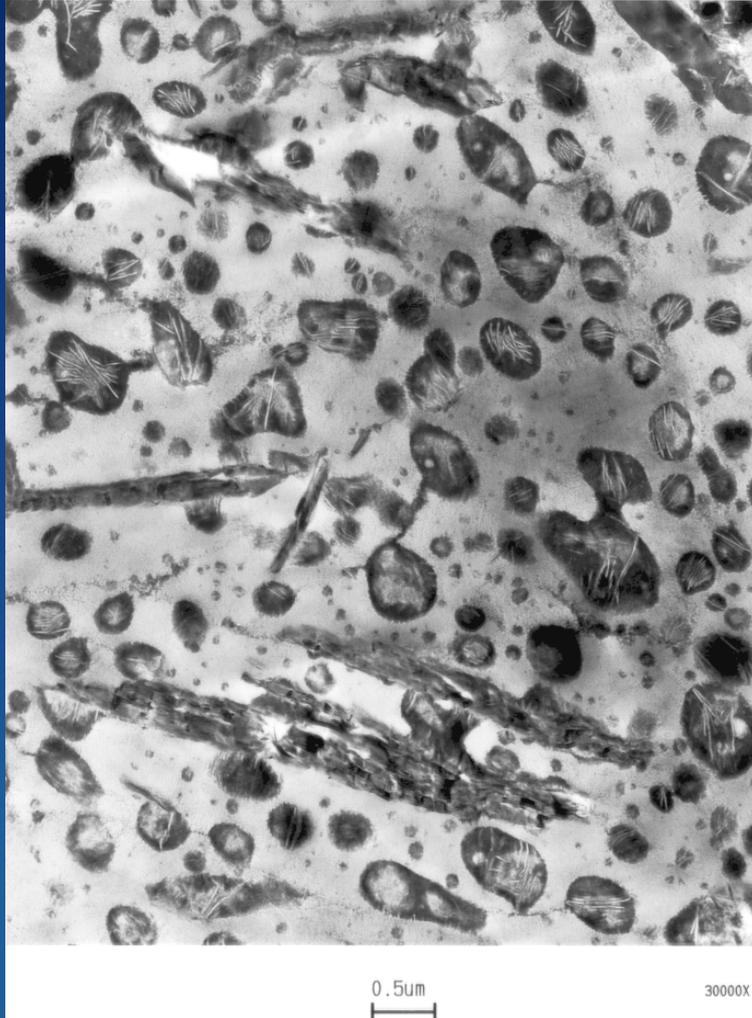


## ABS (tratado com $\text{OsO}_4$ )

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

Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen

# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



## PP resistente ao impacto (tratado com $\text{RuO}_4$ )

- 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  $35\text{ }^\circ$

Bob Vastenhout  
Dow Chemicals Terneuzen



## Preparação de amostras para Análise Morfológica através Microscopia Óptica

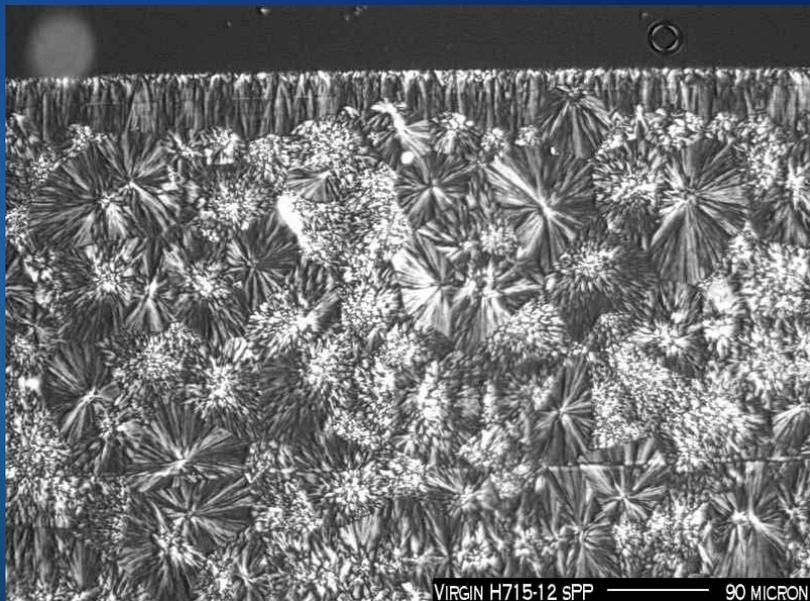
# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



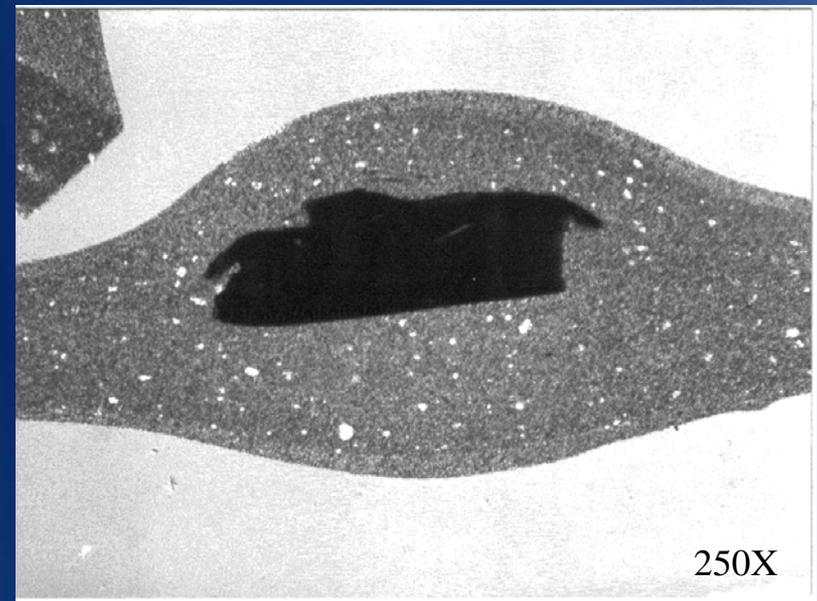
## Ultramicrotomia de Polímeros e Microscopia Óptica

- 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.

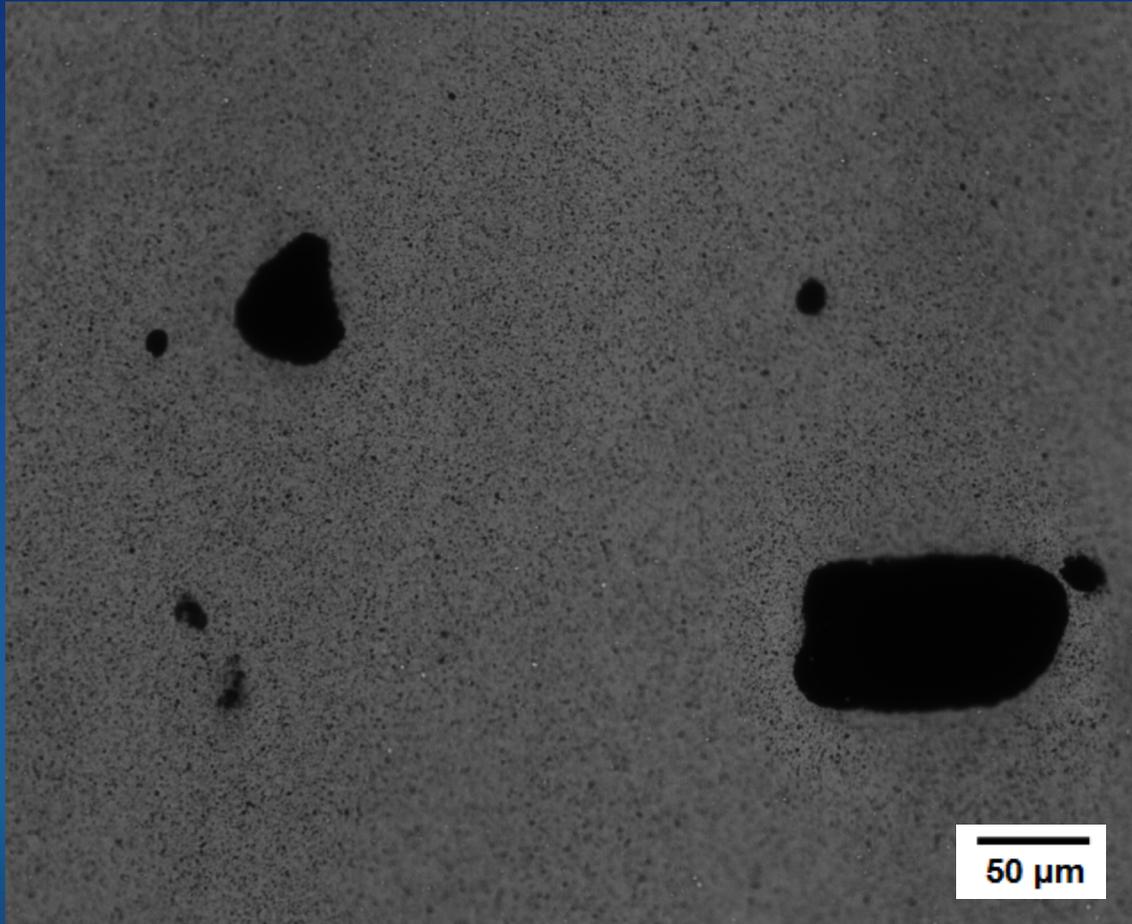
### Luz Polarizada (estrutura cristalina)



### Campo Claro (contaminação inorgânica)



# ULTRAMICROTOMIA DE MATERIAIS POLIMÉRICOS



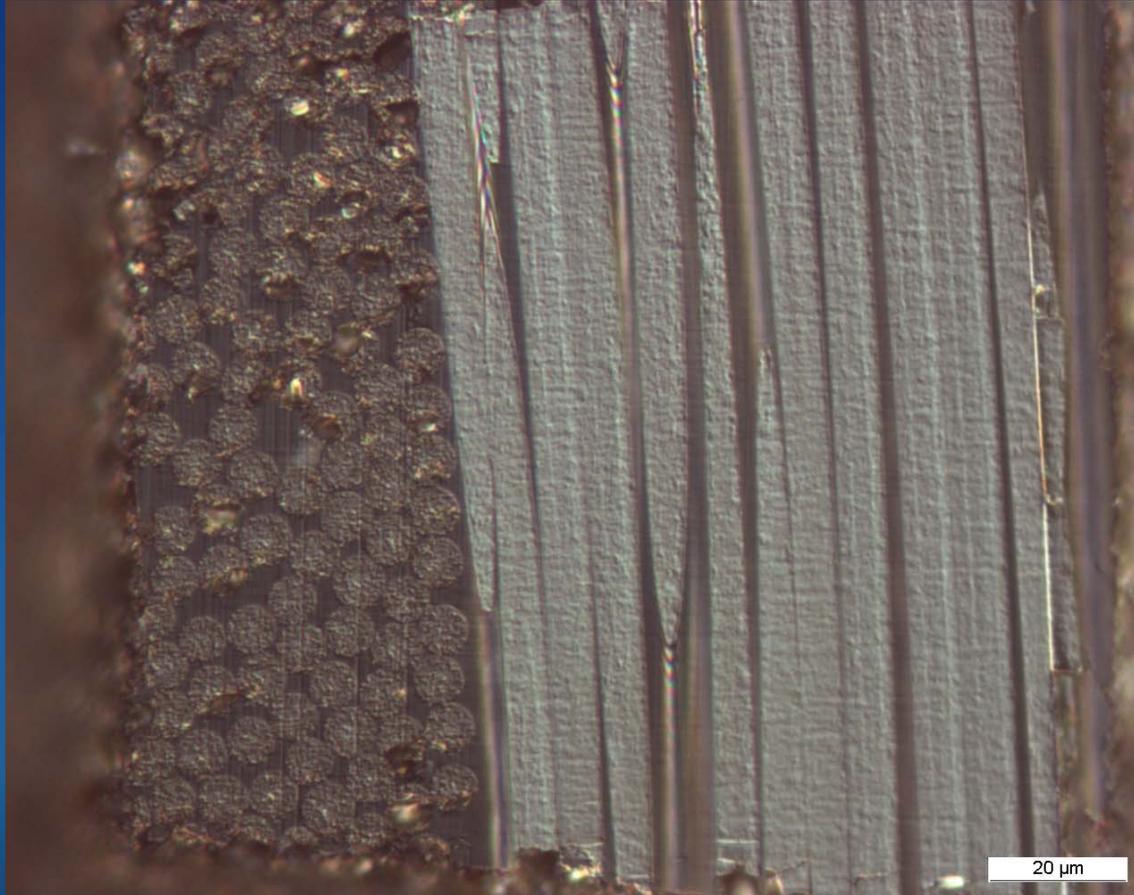
## Campo Claro

**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.