

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB  
QUÍMICA TECNOLÓGICA E INDUSTRIAL

GABRIELA DA COSTA CARVALHO

**PROSPECÇÃO DO USO E REAPROVEITAMENTO DE GRIDS PARA A  
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)**

Maceió

2021

GABRIELA DA COSTA CARVALHO

**PROSPECÇÃO DO USO E REAPROVEITAMENTO DE GRIDS PARA A  
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação,  
apresentado ao curso de Química Tecnológica e  
Industrial no Instituto de Química e Biotecnologia -  
IQB da Universidade Federal de Alagoas - UFAL.  
Orientador: Prof. Dr. Pedro Pablo Florez Rodriguez

Maceió

2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecário: Cláudio César Temóteo Galvino – CRB4/1459

- C331p Carvalho, Gabriela da Costa.  
Prospecção do uso e reaproveitamento de grids para a microscopia eletrônica de transmissão (MET) / Gabriela da Costa Carvalho. – 2021.  
85 f.: il.
- Orientador: Pedro Pablo Florez Rodriguez.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Química Tecnológica e Industrial) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2021.
- Bibliografia: f. 74-84.  
Anexos: f. 85.
1. Microscopia eletrônica de transmissão. 2. Grid. 3. Limpeza. 4. Reutilização.  
I. Título.

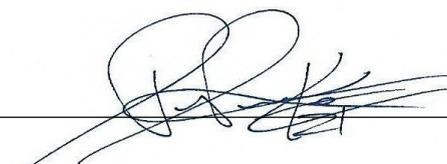
CDU: 621.385.833

Folha de Aprovação

AUTORA: GABRIELA DA COSTA CARVALHO

**PROSPECÇÃO DO USO E REAPROVEITAMENTO DE GRIDS PARA A  
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao corpo docente do curso de Química Tecnológica e Industrial da Universidade Federal de Alagoas, em 12 de novembro de 2021.



---

Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL

Banca Examinadora:



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniela Santos Anunciação  
Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL



---

Prof. Dr. Júlio Cosme Santos da Silva  
Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL

Dedico este trabalho às mulheres mais importantes da minha vida, minha mãe Sheila Costa e minha tia Gleide Cerqueira, obrigada por toda a paciência e amor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por me proporcionar a perseverança durante a minha vida e por me permitir estar cercada de irmãs e irmãos iluminados que sempre estiveram ao meu lado nos momentos difíceis.

Agradeço a minha família, meus pais, Esmeraldo Carvalho (in memoriam) e Sheila Costa, por todo o amor. A minha mãe e minha tia, Gleide Cerqueira, que tenho como segunda mãe, sou grata ao incentivo, apoio e sobretudo à crença nos meus sonhos. Meus irmãos, Diogo Carvalho e Gleiciele Cerqueira, minha irmã do coração, sou grata aos ombros amigos e palavras de conforto nos piores momentos.

Agradeço aos meus amigos que trilharam esse percurso comigo, os de curso que compartilharam os amores e as dores da graduação, sempre levando um sorriso no rosto pelo conforto de estarmos passando por tudo isso juntos, principalmente ao amigo e meio irmão Jorge, por me guiar através dos seus passos já trilhados, e aos amigos da vida, pela paciência de lidar com a minha ausência em momentos que a graduação pediu mais de mim, pelo amor, palavras de carinho e principalmente a Nathália e Peixoto pelas lágrimas compartilhadas.

Agradeço a meu orientador, Pedro Pablo, que antes de ser professor é um ser humano iluminado e me orientou para além desse trabalho me ensinando coisas que levarei comigo para a vida. Obrigada pela confiança, incentivo e dedicação contínua para que tudo desse certo.

Agradeço a banca examinadora, professora Daniela Anunciação e professor Júlio Cosme, por suas considerações, contribuições, além do interesse e a disponibilização de seu tempo para este momento tão importante para mim.

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Alagoas, ao Instituto de Química e Biotecnologia e a todos os professores e professoras que marcaram a minha trajetória, pelo ensino de alto nível e pela vivência científica a qual me orgulho de ter feito parte.

Quando confrontado com uma escolha,  
Independentemente do caminho que você escolher,  
Não desça na metade.  
Seja paciente, seja persistente,  
Seja corajoso e criativo.  
A recompensa está no final.

*Jeanne Ayache*

## RESUMO

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é explorada nas mais diversas áreas da ciência, dado o seu grande poder de resolução quando comparado a outros microscópios. Estas análises só são realizadas devido a uma peça de extrema importância que serve como o suporte dos espécimes estudados, os *grids*. Contudo, esta peça diminuta apresenta custos relativamente altos. Ainda assim, os *grids* MET são costumeiramente utilizados uma única vez e então descartados, ao menos é o que se espera ao consultar as bibliografias disponíveis. Entretanto, sabe-se no meio acadêmico que existem possibilidades de reutilização destes *grids*, após uma previa limpeza e reposição dos filmes de revestimento. Assim, propõe-se uma revisão da literatura procurando mapear as aplicações da microscopia eletrônica de transmissão na reutilização de *grids* e em paralelo analisar o uso dos principais tipos destes aplicados na observação de amostras inorgânicas, biológicas, orgânicas e áreas onde são empregadas a microscopia eletrônica de transmissão. Desse modo, empregando grandes bases de dados Scopus e Web of Science foram levantados artigos da área de interesse a partir de estratégias de buscas muito bem definidas. Estes resultados foram catalogados, lidos, fichados e posteriormente organizados em tabelas e gráficos para análise e discussão destes. A argumentação deste trabalho se dividiu em dois momentos, o primeiro acerca da aplicabilidade dos *grids* e suas características mais relevantes para cada área e a segunda focando completamente no conhecimento sobre o reaproveitamento dos *grids*.

**Palavras-chave:** Microscopia Eletrônica De Transmissão; *Grid*; Limpeza; Reuso; Reutilização.

## ABSTRACT

Transmission electron microscopy (TEM) is explored in the most diverse areas, given its great resolving power when compared to other microscopes. These analyzes are only performed due to an extremely important piece that serves as the support of the studied specimens, the *grids*. However, this tiny part has relatively high costs. Still, TEM *grids* are usually used once and then discarded, at least that's what you'd expect when consulting available bibliographies. However, it is known in the academic world that there are possibilities of reusing these *grids*, after a previous cleaning and replacement of the coating films. Thus, it is proposed a literature review seeking to map the applications of transmission electron microscopy in the reuse of *grids* and, in parallel, analyze the use of the main types of *grids* used in the observation of inorganic, biological, organic samples and areas related to TEM techniques. Thus, using databases Scopus and Web of Science databases, articles in the area of interest are collected using very well-defined search strategies. These results were catalogued, read, filed and later organized into tables and graphs for their analysis and discussion. The argumentation of this work was divided into two moments, the first about the applicability of *grids* and their most relevant characteristics for each area and the second focusing completely on knowledge about the reuse of *grids*.

**Key-word:** Transmission Electron Microscopy; *Grid*; Cleaning; Reuse; Reusability.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Esquema geral do microscópio eletrônico de transmissão.....	19
<b>Figura 2</b> – Esquema fontes de elétrons, onde <b>a</b> - fonte de emissão termiônica e <b>b</b> – fonte de emissão e campo frio. ....	20
<b>Figura 3</b> – Esquema sistema de manipulação.....	21
<b>Figura 4</b> – Representação de um grid de Microscopia Eletrônica de Transmissão. ....	22
<b>Figura 5</b> – Diferentes tipos de malhas de grid, sendo elas: a - quadriculada; b - malha paralela e retangular; c - hexagonal; d - grades de abertura; e - slot grids; f - fine hex mesh grids. ....	23
<b>Figura 6</b> – Grid de malha quadriculada em diferentes tamanhos. ....	24
<b>Figura 7</b> – estruturas químicas de: <b>A, B e C</b> - monômeros polivinil formais (formvar); <b>D</b> - nitrocelulose (parlódio/colódio). ....	25
<b>Figura 8</b> – Esquema da formação do filme formvar e revestimento do grid, onde a: representação do método dip-float; b: formvar aderido ao bastão de vidro; c: recuperação do filme; d: revestimento do grid. ....	29
<b>Figura 9</b> – Divisão de artigos por área.....	45
<b>Figura 10</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos grids para amostras inorgânicas.....	46
<b>Figura 11</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos grids para amostras inorgânicas.....	48
<b>Figura 12</b> – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para amostras inorgânicas.....	49
<b>Figura 13</b> – Partículas de pós metálicos encaixadas nas fissuras do grid de ouro 200 mesh. ....	50
<b>Figura 14</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos grids para amostras biológicas.....	51
<b>Figura 15</b> – Imagens MET do polímero obtido na melhor concentração e pH encontrados, em três escalas: A) 4 µm; B)0,4 µm; C)0,10 µm. ....	54
<b>Figura 16</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados nos revestimentos dos grids para amostras biológicas.....	54
<b>Figura 17</b> – Esquematização grid de cobre revestido com filme ultrafino de Carbono .....	55
<b>Figura 18</b> – Resultados positivos de cada variação, onde c: descarga luminescente; e: concentração (0,1 g/mL); g: lado opaco; i: sem secagem com papel filtro; j: lavagem 3x. ....	56
<b>Figura 19</b> – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para amostras biológicas. ....	57
<b>Figura 20</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos grids para amostras orgânicas.....	58
<b>Figura 21</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos grids para amostras orgânicas.....	59
<b>Figura 22</b> – Imagem MET da amostra de grafeno.....	60
<b>Figura 23</b> – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para amostras orgânicas. ....	60
<b>Figura 24</b> – Imagem MET grafeno aplicado com polímero de sacrifício. ....	61
<b>Figura 25</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos grids para seção técnica.....	62

<b>Figura 26</b> – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos grids para seção técnica.....	63
<b>Figura 27</b> – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para seção técnica.....	63
<b>Figura 28</b> – Estruturas químicas em ordem de polaridade, sendo (a) diclorometano; (b) isopropanol, (c) etanol e (d) metanol.....	66
<b>Figura 29</b> – Esquematização processo de limpeza de plasma por pulverização catódica utilizando atmosfera de argônio. ....	69
<b>Figura 30</b> – Esquematização processo de limpeza de plasma por corrosão utilizando atmosfera de oxigênio. ....	70

## TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Cotação (em dólar e real) grid de Cobre sem revestimento em diferentes tamanhos e empresas.....	26
<b>Tabela 2</b> – Cotação (em dólar e real) grid de Cobre com revestimento Formvar em diferentes tamanhos e empresas. ....	27
<b>Tabela 3</b> – Cotação (em dólar e real) grid de Cobre com revestimento Carbono Amorfo em diferentes tamanhos e empresas.....	27
<b>Tabela 4</b> – Cotação (em dólar e real) grid de Cobre com revestimento de Formvar suportado em Carbono amorfo em diferentes tamanhos e empresas. ....	28
<b>Tabela 5</b> – Solubilidade dos filmes de revestimento mais comum.....	32
<b>Tabela 6</b> – Estratégias de busca em inglês utilizando palavras-chaves e operadores de buscas. ....	37
<b>Tabela 7</b> – Cédulas de classificação. ....	38
<b>Tabela 8</b> – Levantamento condensado – Base Scopus. ....	39
<b>Tabela 9</b> – Levantamento condensado – Base de dados Web of Science.....	40
<b>Tabela 10</b> – Artigos selecionados para discussão.....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**GPC** – Grafeno de Poucas Camadas

**GM** – Grafeno multicamadas

**FIB** – Feixe de íons focalizados (*Focused Ion Beam*)

**FLG** – *Few-Layer graphene*

**HRTEM** – Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução

**MEMS** – *Micro-Electro-Mechanical Systems*

**C-MEMS** – *Carbon-MEMS*

**MET** – Microscopia Eletrônica de Transmissão

**MEV** – Microscopia Eletrônica de Varredura

**MLG** – *multi-layer graphene*

**PDCs** – *Piezo Dispense Capillary*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	16
<b>2.1. Microscopia</b> .....	16
2.1.1. Microscopia eletrônica de transmissão .....	17
<b>2.2. Grid</b> .....	22
2.2.1. Classificação .....	22
2.2.1.1. Quanto ao material .....	22
2.2.1.2. Quanto a forma da malha .....	23
2.2.1.3. Quanto ao tamanho – mesh .....	23
2.2.2. Revestimento .....	24
2.2.3. Cotação .....	25
2.2.4. Preparação usual do grid .....	28
<b>3. ESTADO DA ARTE</b> .....	31
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	34
<b>4.2. Pesquisa bibliográfica</b> .....	34
4.2.1. Seleção dos termos de busca .....	35
4.2.2. Operadores lógicos .....	36
4.2.3. Desenvolvimento da pesquisa: .....	36
4.2.4. Organização da pesquisa .....	37
4.2.5. Resumo dos materiais selecionados .....	40
4.2.6. Seleção de artigos .....	42
4.2.7. Gráficos .....	44
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	45
<b>5.1. Amostras inorgânicas</b> .....	45
<b>5.2. Amostras biológicas</b> .....	50
<b>5.3. Amostras orgânicas</b> .....	57
<b>5.4. Técnica</b> .....	61
<b>5.5. Reaproveitamento dos grids</b> .....	64
5.5.1. Literatura formal .....	64
5.5.2. Literatura informal – internet .....	65
5.5.3. Tratamento químico – solventes e soluções .....	65
5.5.4. Tratamento térmico .....	67
5.5.5. Limpeza de plasma .....	68
5.5.6. Limpeza aquosa x Limpeza plasmática x Limpeza térmica .....	70

<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>72</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>74</b>
<b>8. ANEXO A – pergunta de Kramer (2014) na rede social Research Gate .....</b>	<b>85</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O microscópio eletrônico de transmissão – MET, vem há décadas sendo amplamente utilizado com um instrumento de pesquisa nas mais diversas áreas da ciência, visto que esse tem um alto poder de resolução ( $0,2 \mu\text{m}$ ), não somente ficando preso a análises superficiais, mas também sendo capaz de obter imagens microestruturais, fornecendo informações sobre composições químicas, morfologia, informações cristalográficas e possibilitando a elucidação e o desenvolvimento de correlações entre essas características e propriedades macroscópicas destes materiais analisados (CANEVAROLO JR, 2017). Um equipamento bastante robusto, o MET possui diversos componentes de extrema importância para a prática das análises. Segundo Padilha (p. 3, 2008)

Um microscópio moderno de transmissão possui cinco ou seis lentes magnéticas, além de várias bobinas eletromagnéticas de deflexão e aberturas localizadas ao longo do caminho do feixe eletrônico.

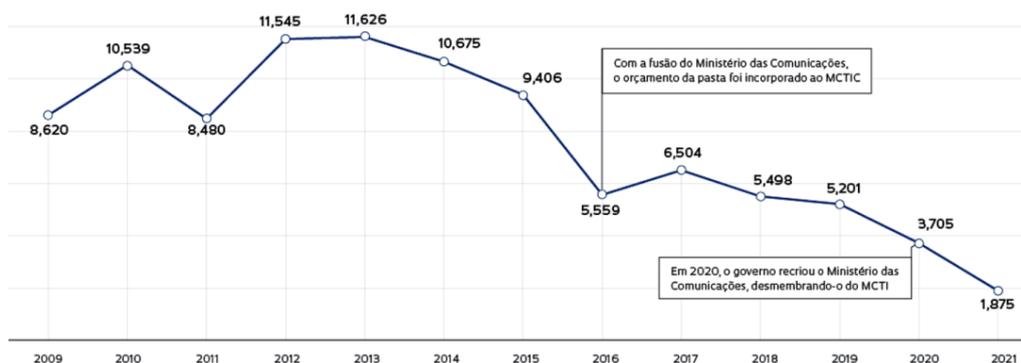
Além das lentes e bobinas responsáveis pela focalização e geração do fluxo de elétrons, tem-se uma peça fundamental para a análise, o *grid* (grade), uma tela de cerca de 3,05 mm com malhas que serve de suporte para amostra. Geralmente, os *grids* são funcionalizados, manualmente ou já são comprados dessa forma, recebendo uma ou mais camadas de filmes de revestimentos, sendo os mais comuns filmes de carbono amorfo ou formvar (polímero derivado do monômero polivinil formal), comumente utilizados juntos (LEAL, 2000).

Após essa preparação, o espécime é depositado na malha que é inserida no porta amostra que então é posto no microscópio. Normalmente, nos laboratórios os *grids* são descartados após o uso, uma vez que após a análise, este contém além dos filmes que o compõe a amostra recém analisada, visto que para algumas realidades este tem um custo consideravelmente aceito. Todavia, no Brasil não existe fabricante destes *grids*, o que implica na necessidade de importação destas.

Sabe-se que o fomento a ciência nacional é um assunto delicado desde a sua origem no Brasil (FAZZIO, 2017), de forma que ao passar dos anos o orçamento para este variou consideravelmente. Ao observar o gráfico (imagem 1) da evolução dos recursos para o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI) tem-se após um breve período de crescimento em 2012 e leve estabilidade em 2013, uma queda acentuada entre 2014 e 2016

– ano em que houve a fusão MCTI com o Ministério das Comunicações. Visualizando a questão econômica atual, existe a estimativa que o investimento total em atividades de pesquisa científica e desenvolvimento tecnológico (P&D) no País esteja hoje em torno de 1%, significativamente inferior a países desenvolvidos (ESCOBAR, 2021).

**Figura 1** – evolução dos recursos para o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI).



**Fonte:** Pesquisa Fapesp 06/2021.

Diante deste cenário um tanto desanimador a ciência continua a se reinventar. E justamente com esse pensamento que esse trabalho é desenvolvido, objetivando explorar e reunir informações sob as técnicas de uso e reaproveitamento do *grid* na execução de análises em Microscopia Eletrônica de Transmissão. Para isto, categorizou-se, classificando, os tipos de *grids*, bem como suas aplicabilidades, monitoraram-se através de grandes bases de dados as metodologias de uso habitual e de reaproveitamento destes.

O seguinte trabalho se divide cinco partes: fundamentação teórica, onde os conceitos indispensáveis para o entendimento dos assuntos aqui explorados são apresentados; estado da arte, no qual é exposto e discutido um mapeamento sobre o cenário atual do reaproveitamento de *grids* MET; na metodologia, são abordados todos os passos realizados no levantamento bibliográfico, bem como a seleção dos artigos discutidos.

Nos resultados e discussões, são expressos os resultados em dois momentos, no primeiro a exposição e discussão dos usos dos *grids*, suas características e aplicação em diversos tipos de amostra. Em seguida, são apresentadas metodologias de tratamento dos *grids* encontrados na literatura e discutidas as fundamentações teóricas dessas. Por fim, tem-se a conclusão, onde se encontra o fechamento do trabalho, bem como os próximos passos a serem seguidos.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Microscopia

Segundo Moreira (p. 1, 2013) “o microscópio é um instrumento utilizado para ampliar e observar estruturas pequenas dificilmente visíveis ou invisíveis a olho nu”. Dentro dessa definição é possível englobar os microscópios ópticos, que possui como princípio o uso da luz visível ou ultravioleta para a ampliação da imagem diferente do princípio do microscópio eletrônico que faz o uso de elétrons, abrindo um vasto leque de possibilidades da visualização de pequenas partículas.

Os microscópios ópticos fazem uso de uma lâmpada, que emite luz visível ou em alguns casos luz ultravioleta, possibilitando a ampliação da imagem pelo princípio da difração da onda, de modo que o comprimento da luz incidente junto a combinação de lentes leva a formação da imagem ampliada, entretanto este tem uma limitação na resolução (inferior a  $0,2 \mu\text{m}$ ), a distância mínima de dois pontos (ou objetos) para que esses sejam observados de forma distinta –, ou seja, detalhes menores passam a ser despercebidos (da COSTA, 2016).

Este limite foi estabelecido e permanece válido até os dias atuais, de acordo com Regalin (p. 21, 2019):

[...] tal limite pode ser deduzido a partir da óptica geométrica, mas também pode ser derivado diretamente do princípio da incerteza de Heisenberg e estabelece que é o comprimento de onda usado na observação quem limita a diferenciação de dois pontos de um objeto.

A partir dessa dedução é apresentada a seguinte equação:

$$r = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \mu} \quad \text{ou ainda} \quad r = \frac{\lambda}{NA} \quad (1)$$

Onde:

- **r** refere-se à resolução;
- **$\lambda$**  é o comprimento de onda
- **n** é o índice de refração do material que fica entre a luz e o objeto, ou seja, a lente;
- **$\mu$**  é o semiângulo formado pela luz que passa pela lente do microscópio;
- **NA** é o número de abertura lente.

Dessa forma para haver uma maior resolução se faz necessária uma maior abertura da lente, todavia sabe-se, matematicamente, que o valor máximo para o seno é igual a 1 e

para isso o ângulo  $\mu$  deve ser igual a  $90^\circ$ , pois  $\sin 90^\circ = 1$ , no entanto este valor se torna impossível de ser atingido, uma vez que para tal seria necessária uma lente de tamanho infinito. Sendo assim, a resolução fica inteiramente relacionada ao comprimento da onda, de forma que para esta ser satisfatória o  $\lambda$  deve ser inferior a  $0,2 \mu\text{m}$ , saindo completamente do espectro da luz visível.

Diante do apresentado, a limitação dos microscópios ópticos abre espaço para novos equipamentos. Dessa forma, surgem, com os avanços da física e da óptica quântica, os microscópios eletrônicos, que abandonam de vez o uso da luz e aderem ao uso de elétrons possibilitando o aumento da resolução de  $0,2 \mu\text{m}$  para  $10 \text{ nm}$  ao se tratar dos microscópios eletrônicos de varredura (MEV), até  $0,2 \text{ nm}$  utilizando os microscópios eletrônicos de transmissão (MET) ou até  $0,050 \text{ nm}$  ao se empregar a microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução – HRTEM, onde as imagens são formadas pela rede atômica das amostras (MILLAN, 2006).

#### 2.1.1. Microscopia eletrônica de transmissão

Na microscopia eletrônica de transmissão o feixe de elétrons atravessa a amostra, assim a imagem é gerada pela passagem dos elétrons pelo material, esse feixe resultante contém elétrons originais, que não interagiram com a amostra, e elétrons que tiveram sua velocidade e direções alteradas após interação. Esta técnica tem um alto poder de resolução, atualmente atingindo valores de cerca de  $0,2 \text{ nm}$ , o que possibilita a observação do interior de amostras inorgânicas, orgânicas e biológicas, bem como facilitar a observação das microestruturas destas (LEAL, 2000; RAMOS, 2013).

No MET uma amostra fina, na ordem de  $5 \text{ nm}$  – a depender da intensidade eletrônica do microscópio, bem como da densidade da mesma –, é irradiada por uma corrente uniforme de elétrons, estes interagem fortemente com os átomos do espécime por espalhamentos elásticos e inelásticos (REIMER, 1989). A imagem é formada, segundo Pergo, (p. 177, 2019) pela distribuição de intensidade e direção controladas pelas leis de difração impostas pelo arranjo cristalino dos átomos na amostra.

O feixe de elétrons formado sob alta tensão gera uma onda de curto comprimento, o que possibilita uma maior resolução. Essa operação deve ser realizada no vácuo, uma vez que em atmosfera comum os elétrons chocam-se contra as partículas do ambiente e perdem

velocidade, impossibilitando a formação do feixe de elétrons que irá incidir na amostra (SAWYER; GRUBB, 1996).

Visto que o que passa pela amostra são os elétrons, a imagem formada pelo MET não pode ser vista diretamente a olho nu, desse modo os elétrons são captados por uma tela fluorescente que é fotografada por uma câmera e então é possível ver a fotografia do espécime (ROCHOW; ROCHOW, 1979).

A imagem formada no microscópio eletrônico de transmissão é dada em tons de preto e branco, isso se dá por conta do seu princípio de concepção a interação ou não com o feixe de elétrons. De acordo com CANEVAROLO JR (p. 186, 2017):

Na tela fosforescente, as partes escuras da imagem correspondem a regiões em que poucos elétrons foram transmitidos através da amostra (isto é, regiões mais espessas, ou mais densas ou que difrataram o feixe incidente). As áreas mais claras representam as regiões da amostra transparentes aos elétrons (são mais finas, menos densas ou não difrataram o feixe incidente); [...]

Assim, é possível esclarecer o conceito de transparência eletrônica, extremamente relevante para o MET, esta consiste na passagem do feixe de elétrons sem interação com o material. De modo que na microscopia eletrônica tem-se o interesse por filmes de revestimento com grande transparência, pois assim só a imagem da amostra será gerada. A transparência da amostra também é importante, visto que um espécime denso absorveria todo ou grande parte dos elétrons impossibilitando a formação da imagem.

A transparência eletrônica está diretamente ligada ao tamanho do núcleo dos átomos, uma vez que a interação é dada também pelos elétrons do feixe e os prótons do núcleo. Dessa forma, amostras/filmes de revestimentos formados por elementos de grande número atômico são menos transparentes que materiais formados por constituintes de menor número atômico.

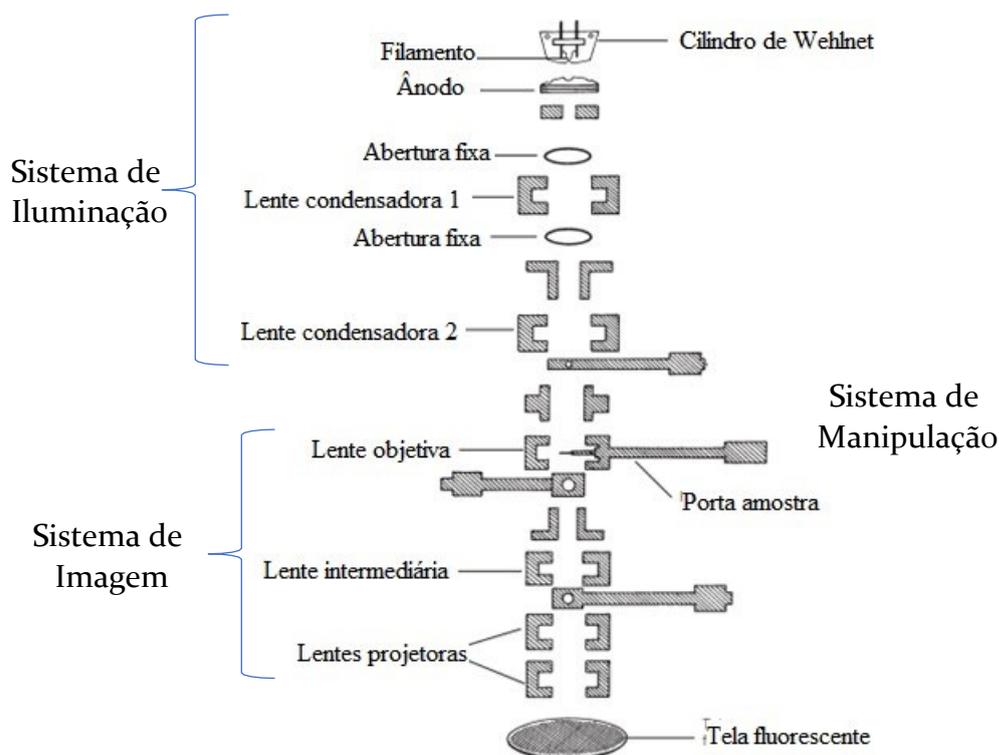
Visto essa necessidade de menor espessura das amostras o MET pode ser visto, em alguns casos, como uma técnica destrutível. Dado que para diminuir a densidade da amostra várias metodologias de redução são empregadas, como desbastes químicos e físicos; bombeamento iônico, polimento, feixe de íons focalizados (FIB) dentre outros (OLEA, 2002).

Além das técnicas de preparação da amostra, esta precisa ainda suportar as condições de operação do microscópio eletrônico de transmissão, de forma que a energia emitida no espécime para a obtenção da imagem não degrade o mesmo. Dessa forma, deve-se atentar para amostras que ainda contenham água, visto que a temperatura dentro do equipamento é suficiente para a evaporação desta, bem como a temperatura máxima que alguns materiais suportam para que esta não seja atingida durante a análise.

### 2.2.1.1. O microscópio

O microscópio eletrônico de transmissão pode ser dividido em: sistema de iluminação, sistema de manipulação, sistema de imagem e sistema de vácuo, um esquema deste aparelho pode ser visualizado na figura 2 (LEAL, 2000).

**Figura 2** – Esquema geral do microscópio eletrônico de transmissão.



**Fonte:** Luiz Henrique Monteiro Leal, 2000 (**adaptado**).

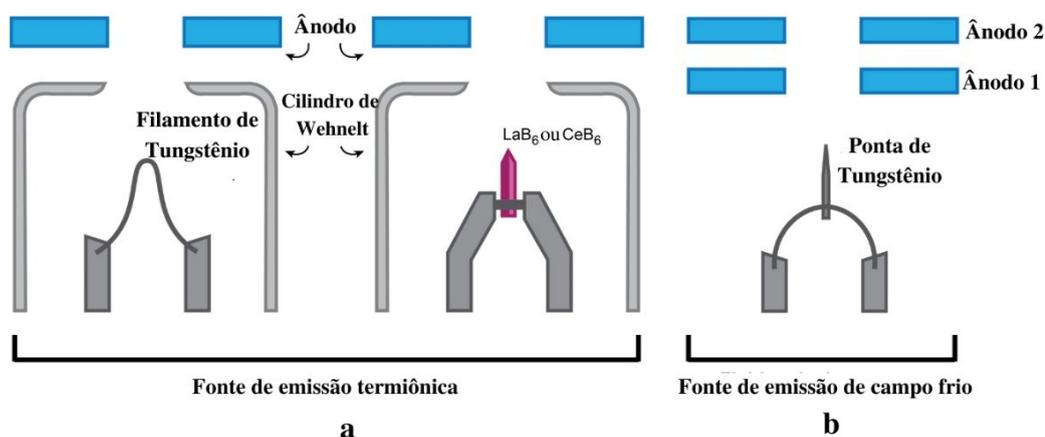
O sistema de iluminação tem a função de gerar e transmitir os elétrons até a amostra analisada, este é formado basicamente pelo canhão de elétrons (elétron guns) e as lentes condensadoras, que permitem um maior controle da quantidade de radiação que chega na amostra. O canhão de elétrons é formado por uma fonte de elétrons que pode funcionar de duas formas: por emissão termiônica ou por emissão de campo frio (GAHLOT, 2020).

A fonte por emissão termiônica (figura 3 – a) é formada, geralmente, por uma haste em formato de V de tungstênio (ou um cristal de ponta fina de  $\text{LaB}_6$  utilizada quando se necessita de alto brilho da arma), o cilindro de Wehnelt – que é um eletrodo – e o ânodo. Nessa fonte, aplica-se uma voltagem na haste que aquece o filamento por incandescência, emitindo os elétrons.

Porém, os elétrons gerados são de baixa energia portanto precisam ser acelerados antes de entrar na coluna de elétrons. A velocidade ideal é atingida ao polarizar o cilindro de Wehnelt negativamente através de uma resistência variável, em relação ao filamento. O eletrodo repele os elétrons pela abertura (de 2 a 3 mm) central deste, enquanto que o ânodo abaixo do sistema os atrai, assim o conjunto cilindro de Wehnelt – ânodo agem como lentes condensadoras.

Já na fonte de emissão de campo frio (figura 3-b), um forte campo eletrostático é aplicado a uma ponta fina de tungstênio, o que permite que os elétrons escapem do sólido e sejam atraídos pelos ânodos que se localizam abaixo da fonte (HITACHI, 2016).

**Figura 3** – Esquema fontes de elétrons, onde **a** - fonte de emissão termiônica e **b** – fonte de emissão e campo frio.

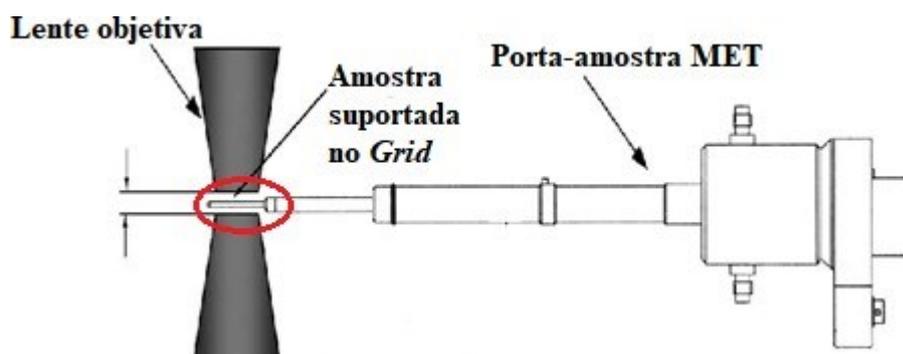


**Fonte:** Alex Ilitchev, 2019 (adaptado).

As lentes condensadoras (C1 e C2), são lentes eletromagnéticas que possuem a função principal de focalizar o feixe de elétrons, formando o feixe paralelo que irá incidir na amostra. Esta é formada por bobinas eletromagnéticas, onde a partir da passagem de corrente elétrica gerasse o campo magnético, que possibilita a colimação dos elétrons através das mudanças nas aberturas (TELES, 2017).

O sistema de manipulação (figura 4) se encontra após o sistema de iluminação e antes do sistema de imagem, é formado por: porta amostra, acessórios ligados à movimentação da amostra e o *grid*. O *grid* suporta o espécime e é inserido no porta amostra – que permite a manipulação do mesmo nos eixos X, Y, Z – o qual é introduzido no microscópio através de uma trava de vácuo que possibilita a manutenção do alto vácuo a qual o equipamento é submetido.

**Figura 4** – Esquema sistema de manipulação.



**Fonte:** Nafari et al, 2008 (adaptado).

Em seguida encontram-se o sistema de imagem, formado pelas lentes objetivas, intermediárias e projetoras, estas são responsáveis pela geração, aumento e projeção da imagem. As lentes objetivas são tidas por Williams e Carter (p. 150, 2009) “o coração do MET”, uma vez que são elas que formam a imagem. Estas têm aberturas auxiliares no aumento do contraste da imagem, bem como interferem na profundidade do foco. De acordo com Ramos (p. 14, 2013):

A lente objetiva forma uma imagem intermediária do objeto e a lente de projeção forma a imagem real final [...]. A imagem final é projetada em uma tela fluorescente (ou placa fotográfica).

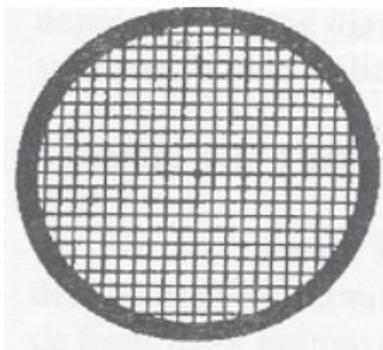
Como já citado, o elétron só se comporta como luz no vácuo, uma vez que não há partículas no ar com o qual esse possa se chocar. Dessa forma, todo o microscópio – dos sistemas de iluminação até a câmera – está sob vácuo, todavia esse varia pela coluna, sendo o mais alto ao redor da fonte e da amostra, enquanto que vácuos menores são encontrados na base do microscópio. O vácuo atingido no MET é em torno de  $10^{-4}$  e  $10^{-7}$  Pa e, geralmente, é gerado por duas bombas, uma rotatória e uma difusora (COMPANY, FEI 2016).

## 2.2. Grid

Os *grids* MET (figura 5) devem ser escolhidas com bastante atenção, levando sempre em consideração o espécime que será analisado. Segundo Sawyer e Grubb (p. 84, 1996):

As grades vêm em uma variedade de tamanhos e formas de malha. Tamanhos em faixa de uso geral de 50 a 400 *mesh* [...]. A malha de grade usada é tipicamente quadrada; mas para alguns materiais, pode se optar por tela com fenda, retângulos, hexágonos ou orifícios simples. As grades são feitas de cobre, na maior parte, mas berílio, ouro, polímero e grades de níquel são usados para várias aplicações, por sua resistência química [...].

**Figura 5** – Representação de um *grid* de Microscopia Eletrônica de Transmissão.



**Fonte:** Vieira (2021).

### 2.2.1. Classificação

#### 2.2.1.1. Quanto ao material

Segundo ECHLIN (p. 34, 2009):

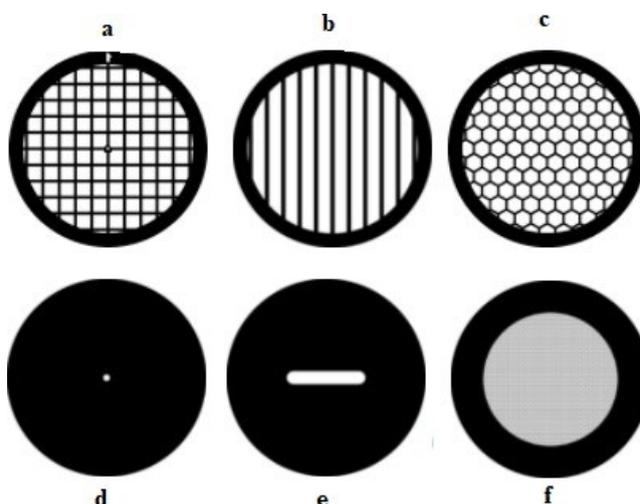
Essas grades [...] são feitas de metais condutores, como cobre, ouro e platina; de metais baixos ou não magnéticos, como níquel, ródio e aço inoxidável; de elementos de metal leve como berílio e alumínio e materiais não metálicos, como carbono e alguns polímeros.

Em geral, *grids* de cobre são utilizados amplamente nas mais diversas análises, uma vez que este material é um condutor estável ao feixe de elétrons e barato, todavia existem situações que envolvem o uso de ácidos, bases e alguns sais que impedem o uso desta. De modo que outros materiais, mais caros, mas com maior resistência são utilizados, como: ouro, níquel, molibdênio.

### 2.2.1.2. Quanto a forma da malha

Junto ao tamanho da abertura, a forma da malha é de extrema importância para que a amostra seja suportada, de modo que a seleção da malha correta influencia diretamente os resultados obtidos e a eficácia da preparação da amostra. No mercado, é possível encontrar as mais diversas geometrias de malhas, bem como malhas formadas por ranhuras (figura 6), todavia a que apresenta melhor robustez frente aos espécimes estudados e é largamente utilizada são os *grids* de malha quadrada, estas têm uma maior robustez frente aos rigores da preparação da amostra (Inc., SiMPore 2011).

**Figura 6** – Diferentes tipos de malhas de *grid*, sendo elas: a - quadriculada; b - malha paralela e retangular; c - hexagonal; d - grades de abertura; e - *slot grids*; f - *fine hex mesh grids*.



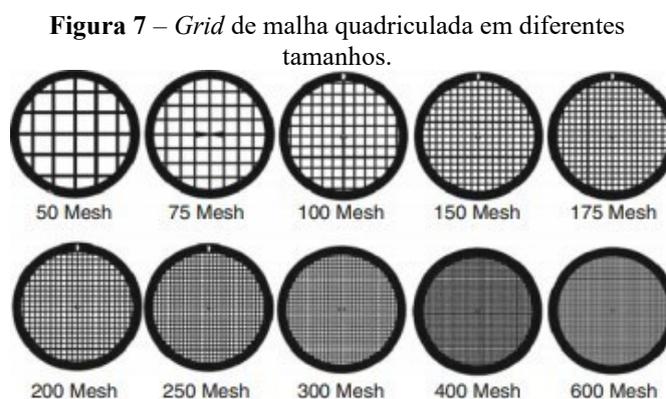
Fonte: Special Pattern *Grids*, 2020 (adaptado).

Entretanto, existem situações características que pedem por *grids* específicos, como as geométricas: de malha paralela e retangular – utilizada para obter informações de faixas sequências de seções; malha hexagonal – que fornecem maior robustez que as malhas quadriculadas. Quanto aos *grids* com ranhuras é possível citar: abertura, *Slot Grids*, *Fine Hex Mesh Grids* (Special Pattern *Grids*, 2020).

### 2.2.1.3. Quanto ao tamanho – mesh

Ao escolher a quantidade de aberturas por polegada dentro dos 3,05 mm de um *grid*, ou seja, o *mesh* deve-se levar em consideração do tamanho do conglomerado do espécime, de forma que a amostra se mantenha suportada na grade sem passar pelas aberturas. É possível encontrar diversos tamanhos de *grid* (figura 7) que se encaixe nas

mais diversas situações, sendo os de maiores *mesh* aqueles que contém uma malha mais reduzida.



**Fonte:** Echlin (2009).

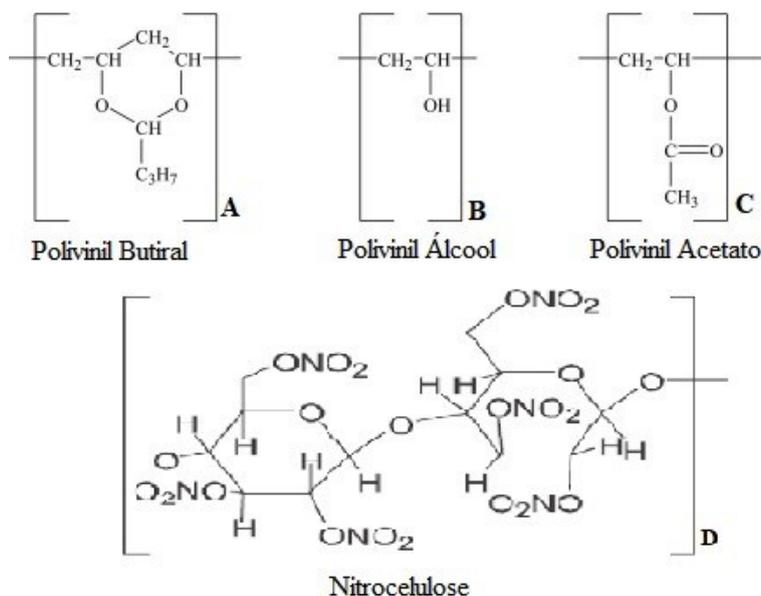
### 2.2.2. Revestimento

Uma vez que para executar análises no MET é fundamental que as amostras sejam seccionadas em dimensões ínfimas e os *grids*, geralmente, apresentam-se em formas de malhas, além de existirem amostras com características quebradiças e/ou dispersas, assim se faz necessário que os *grids* sejam revestidos por filmes ultrafinos contínuos para que a amostra seja suportada nas mesmas, estes devem ter espessura máxima de 300 Å, para evitar que este absorva os elétrons exacerbadamente.

Ao se escolher o material para a formação do filme devesse atentar a alguns critérios básicos, como a transparência do revestimento a elétrons; a alta resistência ao aquecimento e a irradiação provocados pelo feixe de elétrons; ter a capacidade de suportar mecanicamente o peso da amostra sem o filme se romper e não interferir na imagem introduzindo artefatos ou padrões de difração, no caso de filmes amorfos (AYACHE, 2010).

Os filmes de Formvar e Parlódio (Parlodion ou colódio) são amplamente utilizados nas metodologias de análise MET, sendo, o primeiro um polímero polivinílico (figura 8 A – C) e o outro um polímero de nitrocelulose (figura 9 D), ambos são de fácil preparação e grande homogeneidade, além de apresentarem baixa absorção eletrônica. Todavia, a grande desvantagem dos filmes desses polímeros está na sua reduzida resistência a calor, de maneira que análises mais longas e/ou em microscópios de baixa voltagem – onde há maior tempo de permanência dos elétrons no interior da película – impossibilitam o uso do formvar e parlódio (PENNA-FRANCA, 1952).

**Figura 8** – estruturas químicas de: **A, B e C** - monômeros polivinílicos formais (formvar); **D** - nitrocelulose (parlódio/colódio).



**Fonte:** McKeen (2017); Iha (2007), adaptado.

Os filmes de carbono são usados devido à alta resolução fornecida à imagem formada, uma vez que não transmite nenhum elétron no contraste. Todavia, sua preparação é delicada, uma vez que a haste de carbono frequentemente se move ou quebra. Dessa forma quando não se faz necessária uma resolução muito alta, tem-se a mistura desse com os polímeros já apresentados, aliando assim os benefícios dos dois; o revestimento de carbono (de cerca de 1-3 nm) promove estabilidade ao feixe das secções ultrafinas, limitando o carregamento e protegendo a amostra do feixe de instabilidade (SAWYER; GRUBB, 1996).

É possível a utilização de filmes de compostos inorgânicos, como o óxido de alumínio ( $Al_2O_3$ ) e os óxido e dióxido de silício (respectivamente, SiO e  $SiO_2$ ), uma vez que estes apresentam elevada transparência e resistência ao calor, todavia a faixa de amostras que podem ser utilizadas junto a esses filmes sem que se tenha interferência destes na imagem, formação de artefatos, é pequena (PENNA; PACI, 1952).

### 2.2.3. Cotação

No período de 13/07/2021 a 22/07/2021 foi solicitada e catalogada a cotação de diferentes tipos de *grids* (material e tamanho) revestidos ou não a três empresas, sendo uma delas Estadunidense, a TedPella; e outras duas brasileiras que realizam a importação desse material, a Start Bioscience e a Sigma Aldrich – Merck.

Para fins comparativos, escolheu-se uma importadora que vendesse os mesmos *grids* vendidos pela TedPella, PELCO®, esta foi a Sigma Aldrich – Merck; enquanto que os fornecidos pela Start Bioscience são da marca Electron Microscopy Sciences. Devido ao vasto mercado e diversas possibilidades de combinação de entre material do *grid*, tamanho e revestimento, decidiu-se delimitar a cotação aos mais utilizados nos laboratórios, ou seja, os de cobre, entretanto se variou o *mesh* e os revestimentos.

Inicialmente, tem-se a cotação dos *grids* de cobre sem revestimento (tabela 1). Como se é de esperar, por ser um material diminuto e produzido de um único material, estes se apresentam em valores unitários internacionais baixos, inferior a 1 dólar e mesmo após uma simples conversão para o valor do dólar vigente (no dia 26 de agosto de 2021) se encontra em valores abaixo de R\$ 2,00, entretanto ao se adicionar os encargos de importação e serviço das empresas brasileiras o valor cresce em até 64,7% sob o valor dos *grids* da PELCO importados e vendidos pela TedPella.

Uma vez que os *grids* da Start Bioscience são de uma marca diferente, fica-se impossibilitado o comparativo direto, contudo, fazendo a relação das peças disponíveis no mercado brasileiro é possível traçar uma faixa de valores encontrados nacionalmente. De modo que um *grid* com as mesmas características, mas de marcas diferentes pode ser encontrado com cerca do dobro do valor, a depender da marca escolhida.

**Tabela 1** – Cotação (em dólar e real) *grid* de Cobre sem revestimento em diferentes tamanhos e empresas.

Empresa	Mesh	Quantidade bruta	Valor (\$)	Valor unitário	
				\$	R\$
TedPella	100	100	\$27,00	\$0,27	R\$ 1,39
	150	100	\$26,00	\$0,26	R\$ 1,34
	200	100	\$28,00	\$0,28	R\$ 1,44
	300	100	\$29,00	\$0,29	R\$ 1,49
	400	100	\$32,00	\$0,32	R\$ 1,65
Sigma Aldrich – Merck	100	100	R\$ 229,00	-	R\$ 2,29
	150	100	R\$ 295,00	-	R\$ 2,95
	200	100	R\$ 315,00	-	R\$ 3,15
	300	100	R\$ 315,00	-	R\$ 3,15
	400	100	R\$ 287,00	-	R\$ 2,87
Start Bioscience	100	100	\$668,00	-	R\$ 6,68
	150	100	\$725,00	-	R\$ 7,25
	200	100	\$725,00	-	R\$ 7,25
	300	100	\$744,00	-	R\$ 7,44
	400	100	\$763,00	-	R\$ 7,63

Fonte: TedPella; Sigma Aldrich – Merck; Start Bioscience, 2021 (adaptado).

Entretanto, a partir do momento em que incrementos são adicionados aos *grids* os valores destes começam a aumentar consideravelmente. Em *grids* de cobre revestidos somente com formvar (tabela 2) tem-se um aumento de cerca de 380% nos *grids* simples da TedPella e quando calculado o preço da importação o valor aumenta entre 470 a 990%.

**Tabela 2** – Cotação (em dólar e real) *grid* de Cobre com revestimento Formvar em diferentes tamanhos e empresas.

Empresa	Mesh	Quantidade bruta	Valor (\$)	Valor unitário	
				\$	R\$
TedPella	200	50	\$65,80	\$1,32	R\$ 6,92
	300	50	\$65,80	\$1,32	R\$ 6,92
	400	50	\$65,80	\$1,32	R\$ 6,92
Sigma Aldrich – Merck	200	25	R\$624,00	-	R\$ 24,96
	300	25	R\$624,00	-	R\$ 24,96
	400	25	R\$624,00	-	R\$ 24,96
Start Bioscience	200	25	\$1.048,00	-	R\$ 41,92
	300	25	\$1.048,00	-	R\$ 41,92
	400	25	\$1.048,00	-	R\$ 41,92

Fonte: TedPella; Sigma Aldrich – Merck; Start Bioscience, 2021 (adaptado).

Em *grids* de cobre revestidos somente com carbono (tabela 3) é possível verificar mais uma vez um aumento quando se comparado aos *grids* simples, entretanto este é um pouco elevado quando comparado ao revestimento de formvar, uma vez que os filmes de carbono são melhores revestimentos dado sua elevada resistência a altas temperaturas, transparência e dificuldade de preparo.

**Tabela 3** – Cotação (em dólar e real) *grid* de Cobre com revestimento Carbono Amorfo em diferentes tamanhos e empresas.

Empresa	Mesh	Quantidade bruta	Valor (\$)	Valor unitário	
				\$	R\$
TedPella	200	50	\$119,50	\$2,39	R\$ 12,56
	300	50	\$119,50	\$2,39	R\$ 12,56
	400	50	\$119,50	\$2,39	R\$ 12,56
Sigma Aldrich – Merck	150	50	\$815,00	-	R\$ 16,30
	200	50	\$815,00	-	R\$ 16,30
	300	50	\$815,00	-	R\$ 16,30
	400	50	\$815,00	-	R\$ 16,30
Start Bioscience	150	25	\$1.174,00	-	R\$ 46,96
	200	25	\$1.174,00	-	R\$ 46,96
	300	25	\$1.174,00	-	R\$ 46,96
	400	25	\$1.174,00	-	R\$ 46,96

Fonte: TedPella; Sigma Aldrich – Merck; Start Bioscience, 2021 (adaptado).

Uma forma de aproveitar as melhores propriedades dos filmes de formvar e carbono, além de diminuir as deficiências desses é preparar um sob o outro. Dessa forma, tem-se os *grids* de cobre revestido com formvar suportado em carbono (tabela 4). Estes apresentam um valor intermediário – entre os *grids* revestidos em formvar e os revestidos) por carbono – uma vez que sua preparação é facilitada.

**Tabela 4** – Cotação (em dólar e real) *grid* de Cobre com revestimento de Formvar suportado em Carbono amorfo em diferentes tamanhos e empresas.

Empresa	Mesh	Quantidade bruta	Valor (\$)	Valor unitário	
				\$	R\$
TedPella	75	50	\$69,50	\$1,39	R\$ 7,30
	200	25	\$40,00	\$1,60	R\$ 8,41
	200	50	\$69,50	\$1,39	R\$ 7,30
Sigma Aldrich – Merck	100	25	R\$ 345,00	-	R\$ 13,80
	150	25	R\$ 380,00	-	R\$ 15,20
	200	25	R\$ 345,00	-	R\$ 13,80
Start Bioscience	100	25	\$1.048,00	-	R\$ 41,92
	150	25	\$1.048,00	-	R\$ 41,92
	200	25	\$1.029,00	-	R\$ 41,16

Fonte: TedPella; Sigma Aldrich – Merck; Start Bioscience, 2021 (**adaptado**).

Normalmente, utiliza-se para cada análise no MET um *grid* e apenas uma vez, dado que este ao entrar em contato com o espécime se contamina. Todavia, diante das cotações dispostas percebe-se que o uso único dos *grids* quando levado em conta a quantidade de experimentos realizados e ainda erros na preparação da amostra que também leva ao descarte do mesmo, vê-se a necessidade de se ampliar o olhar para o aproveitamento destes.

### 2.2.3.1. Preparação usual do *grid*

Existem no mercado diversas opções de *grid*, inclusive destes revestidos com um ou mais combinações de polímeros, todavia devido a seu alto custo por vezes a preparação *grid* simples é realizada em laboratório antes que qualquer análise seja realizada. Para isso é indispensável a etapa de pré-limpeza do *grid* para que seja removida toda e qualquer contaminação que possa ter vindo de fábrica ou advinda do armazenamento e então em seguida, são realizadas metodologias específicas para cada tipo de filme.

#### 2.2.3.1.1. Limpeza dos *grids*

Os *grids* são pré-limpas através de um procedimento simples de sonificação por 10 segundos no solvente Propanona (acetona), seguido por mais 10 segundos de sonificação em Etanol, por fim os *grids* são deixados para secar no papel de filtro em temperatura

ambiente e em região livre de poeira, podendo posteriormente ser utilizado ou armazenado (SOM, 2014).

#### 2.2.3.1.2. Formação do filme de revestimento

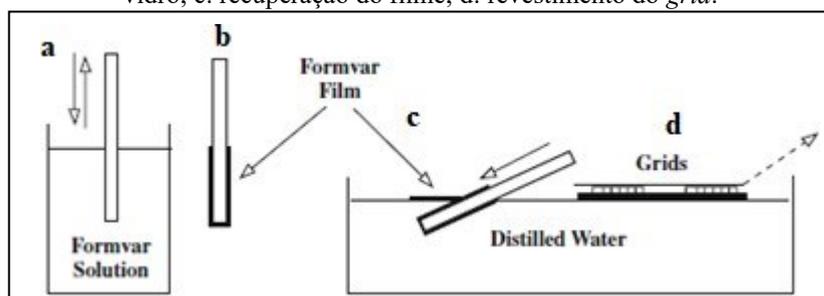
A seguir são apresentadas as metodologias de formação e aplicação dos revestimentos dos *grids* baseada na obra de Ayache, et al. (2010):

##### a) Formvar

O ativo responsável pela formação do revestimento formvar é o próprio polímero Formvar (Poly (vinyl formal)) ou Triafol (acetato de butiril celulose). Uma solução de 0,3-1% do polímero em solvente orgânico (1,2-dicloroetano ou acetato de etila) é preparada.

O filme é formado pelo método dip-float (figura 9), no qual uma lâmina de vidro é rapidamente mergulhada na solução preparada previamente (figura 9 – a), após a evaporação do solvente (t: 30 s durante 2 min) o bastão de vidro com o formvar aderido (figura 9 – b) é mergulhado lentamente, em um ângulo de cerca de 30° - 45 °, em um prato de cristalização com água destilada (figura 9 – c). Por capilaridade, devido à tensão superficial da água, o filme se desloca para o prato, por fim se coloca o *grid* pré-limpo (figura 9 – d) diretamente acima do filme recém formado, sendo recuperadas com filme plástico.

**Figura 9** – Esquema da formação do filme formvar e revestimento do *grid*, onde a: representação do método dip-float; b: formvar aderido ao bastão de vidro; c: recuperação do filme; d: revestimento do *grid*.



Fonte: Ayache et al., 2010 (adaptado).

##### b) Parlódio/Colódio

Os filmes de Parlódio e colódio são obtidos a partir de uma solução de 1-3% de Nitrocelulose em um solvente orgânico (isoamil ou acetato de butil). Os *grids* são

colocados em uma peneira de metal no fundo de um prato de cristalização com água destilada.

Uma gota da solução é pingada sobre a água e após a rápida evaporação do solvente altamente volátil o filme se forma imediatamente, este primeiro filme é removido com o auxílio de uma pinça removendo poeiras e outras sujidades que possam conter na água, em seguida o procedimento é repetido. A água é escoada lentamente, pois pequenas turbulências podem deformar o colóidio, por uma válvula lateral ou por sifonagem, com isso o filme se instala nos *grids* no fundo do prato.

### **c) Carbono**

O filme de carbono obtido por meio de deposição por pulverização catódica ou evaporação sob alto vácuo, pode ser aplicado sob o *grid* de duas formas: deposição em lâmina ou deposição direta do filme de carbono.

Na primeira, o filme de carbono amorfo é evaporado em uma lâmina de vidro limpa, este filme é pré-cortado com o auxílio de um bisturi em quadrados de 3 mm, esses fragmentos são colocados em água e semelhante ao método dip-float há a recuperação do filme, em seguida os filmes são recuperados com os *grids*, que após secas podem ser utilizadas.

Por fim, o método de deposição direta do filme de carbono comumente utilizado na deposição sobre *grids* já cobertos com um filme polimérico já citado, a fim de aliar as propriedades dos filmes. Esse método consiste na deposição direta do carbono evaporado nos *grids*, o método mais reproduzível é a evaporação em alto vácuo.

## 2. ESTADO DA ARTE

Reuso refere-se à ação de reutilizar empregando técnicas e/ou práticas de tratamento que permitam o uso novamente de determinado material a qual não há mais utilidade de forma que estas não alterem as propriedades físico-químicas do mesmo. Este conceito abordado amplamente pela química verde, tem como o principal objetivo a redução de impacto negativos dos resíduos gerados (WWVERDE, 2014).

Como apresentando anteriormente, os *grids* MET além de por si só apresentarem um custo elevado para a utilização única, em geral, estes são fabricados a partir de metais que por vezes são contaminados pelos espécimes estudados e reagentes utilizados nos procedimentos para então serem descartados.

Durante todo o desenvolvimento do trabalho foram buscadas metodologias formais para a reutilização dos *grids*, consultou-se livros de referência, um grande acervo de artigos que explorassem a técnica de microscopia eletrônica de transmissão e por fim, fórum de discussão científica na internet, o ResearchGate.

Ainda assim, não foi possível encontrar informações consistentes e tão pouco comprovadas e validadas analiticamente; os livros se quer citaram qualquer referência a possibilidade de reutilização de *grids*, concentrando-se basicamente nos tipos de revestimento, suas propriedades e metodologias de preparação; enquanto que os artigos, em sua grande maioria, apenas utilizaram a técnica MET se valendo de *grids* novos; a busca em fórum científicos retornou citações de metodologias usadas de maneira empírica por cada pesquisador.

O pouco encontrado sobre reutilização de *grids*, foram artigos que propuseram técnicas de limpeza, uma etapa crucial para o reuso dos *grids* MET. Estes se concentraram em apenas duas áreas: inorgânica e orgânica, sendo que em apenas um, dentre os artigos disponíveis, houve uma avaliação real do potencial de limpeza da metodologia aplicada.

Na discussão que Ayache, J., et al. (2010) faz sobre os filmes de revestimentos utilizados, encontram-se informações acerca da solubilidade (tabela 5) destes em diversos solventes, com o objetivo de informar a incompatibilidade dos filmes com certos reagentes, todavia estas informações podem e são utilizadas (corroboradas nos fóruns aqui já citados)

para realizar a limpeza dos *grids*, visto que a remoção do filme leva eliminação também da amostra.

**Tabela 5** – Solubilidade dos filmes de revestimento mais comum.

<b>Tipo de revestimento</b>	<b>Inércia Química</b>
<b>Filme de Formvar</b>	Solúvel em solventes como acetona, polares.
<b>Filme de Colódio/Parlódio</b>	Solúvel em álcool, éter e na maioria dos solventes orgânicos
<b>Filme de Carbono</b>	Inerte.

**Fonte:** dados - Ayache, J., et al. (2010); tabela - autora (2021).

Desta forma, tem-se que os filmes de formvar e colódio/parlódio podem ser facilmente destruídos na escolha do solvente, segundo a própria literatura. Entretanto, aqueles que são suportados em carbono necessitam de uma maior atenção no desenvolvimento da metodologia de limpeza dos *grids* MET.

Durante o levantamento das cotações, teve-se acesso a diferentes tipos de *grids* para as mais diversas aplicações e nestes, foram encontradas uma classe específica de *grids* de diversos materiais e tamanhos com revestimento de carbono/formvar removível, onde a própria empresa disponibiliza um material do procedimento para remoção de parte desde filme, todavia ao contrário dos filmes de formvar suportado em carbono, estes *grids* apresentam uma película de carbono na parte fosca e uma de formvar na parte brilhante, de forma que ao remover o formvar, o revestimento de carbono permanece intacto (TED PELLA, 2007).

Os pontos positivos do reuso dos *grids* MET foram ostensivamente apresentados, tanto do ponto de vista econômico, como do ponto de vista ecologicamente correto. Entretanto, visto a não formalização de uma metodologia de reutilização não é possível, no momento, determinar o custo econômico – reagentes e aparelhos utilizados –, bem como a viabilidade desta – tempo de procedimento, condições etc. –, o que até então determina os pontos negativos na reutilização dos *grids*.

Diante das leituras realizadas e das informações recolhidas é possível perceber que a metodologia para reutilização dos *grids* seria constituída de duas etapas simples, a

primeira se concentraria na limpeza destes, removendo a amostra e o filme, que seria seguida por uma nova preparação do filme de revestimento, o que viabiliza um aumento no leque de possibilidades do uso de filmes diferentes utilizando um mesmo *grid*.

Visto o caráter teórico do trabalho é possível propor as etapas necessárias para o desenvolvimento da parte da limpeza. Sendo inicialmente necessário a caracterização dos espécimes e do filme de revestimento pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a partir destes investigar os melhores solventes e/ou técnicas mais eficientes para remoção dos contaminantes. Em seguida, utilizando a vasta bibliografia sobre MET preparar e aplicar o novo filme de revestimento de escolha e por fim realizar uma nova caracterização MEV para visualizar a eficácia do método.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.2. Pesquisa bibliográfica

O levantamento teórico teve como objetivo compreender o campo da pesquisa das metodologias de preparação dos *grids* empregado nas áreas afins que manuseiam o microscópio eletrônico de transmissão (MET), dessa forma as bases de dados foram selecionadas de acordo com sua relevância na comunidade científica. O acesso dessas fontes foi realizado através da Comunidade Acadêmica Federada (CAFe) no Portal de Periódicos CAPES, onde é possível acessar conteúdos pagos através da instituição acadêmica.

Segundo o Portal de Periódicos CAPES [s.d.] a CAFe é uma comunidade provida pela Rede Nacional de Ensino e Pesquisa (RNP), que usuários utilizem login e senha institucionais para diversos serviços – entre eles, é o possível acesso de forma remota o conteúdo assinado do Portal de Periódicos.

A Scopus é um banco de dados multidisciplinar de grande referência produzido pela empresa global Elsevier desde 2004, este ocupa a categoria de maior do mundo em sua área devido à sua abrangência internacional e o controle da qualidade dos materiais enviados, uma vez que são revisados por pares. Essa base tem um peso significativo no levantamento bibliográfico, uma vez que, segundo a própria, reúne em seu acervo mais de 5000 editoras

A estratégia de busca no Scopus seguiu uma linearidade de forma a não ignorar nenhum resultado útil, assim as buscas foram iniciadas dentro da categoria ALL, onde as palavras-chave foram rastreadas por todo o documento (título, resumo, palavras-chaves, corpo do texto, nome dos autores, colaboradores e editores, instituições, referências, volume, ano de publicação, edição idioma, afiliação, DOI, ISBN, ISSN, CODEN, número de registro CAS, fabricante e campos de conferência).

Uma vez que o volume de resultados encontrados nesta categoria era extremamente grande e inviável de ser revisado um a um, empenhou-se a busca nas categorias TITLE-ABS e TITLE, entretanto após uma primeira pesquisa, percebeu-se que a categoria TITLE-ABS-KEY, onde os termos chaves foram buscados restritamente no título, resumo e palavras-chaves, cumpria melhor o objetivo esperado.

A Web of Science (WoS) é uma base referencial mundial criada em 1997 com mais de 166 milhões de registros até fevereiro de 2020 (Clarivate, 2020). Antes de ser conhecida por WoS esta teve como antecessora a empresa Institute for Scientific Information (ISI, atual ISI-Thonson-Scientific) fundada por Eugene Garfield e posteriormente sendo passada ao grupo Clarivate Analytics.

Já no WoS a pesquisa foi realizada de forma diferente, inicialmente foi exercida uma busca no banco de dados selecionando somente a base SciELO Citation Index, todavia os resultados obtidos foram insatisfatórios, todas as estratégias de busca não retornaram resultados, assim a revisão passou a ser em todas as bases do banco de dados disponíveis. Quanto ao campo de busca, iniciou-se pela subdivisão mais generalista, a fim de obter a maior quantidade de respostas uteis, a categoria o Tópico (TS), a qual tem ligação direta com a classe TITLE-ABS-KEY na base Scopus, de modo que a análise ficou restrita no título, resumo e palavras-chave de autor.

O levantamento dos artigos foi realizado no período de novembro de 2020 à março de 2021. Os bancos de dados Scopus, da editora Elsevier e o Web Of Science (WoS), da editora Clarivate Analytics foram acessados através da CAFe no Portal de Periódicos CAPES.

### 3.2.1. Seleção dos termos de busca

As palavras-chaves para a realização da pesquisa foram selecionadas em um brainstorm<sup>1</sup> onde se buscou associar às palavras presentes no título do estudo termos que restringisse a preparação dos *grids* para o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). Além disso, foi identificada a necessidade de termos que remetessem à reutilização dos *grids*.

Os termos de busca foram, inicialmente, pensados em português e posteriormente traduzidos. Assim, partiu-se das seguintes palavras-chaves: *porta amostra*, *microscopia eletrônica de transmissão*, *MET*, *preparação*, *reuso*, *remoção e recuperação* e *grid* (termo utilizado, mesmo em inglês, para as grades de MET). De posse destes e fazendo uso dos

---

<sup>1</sup> técnica de ideação que tem como objetivo gerar um grande volume de novas ideias

operadores lógicos foram desenvolvidas as estratégias de buscas que posteriormente foram aplicadas nas bases selecionadas.

### 3.2.2. Operadores lógicos

A estratégia de busca foi realizada valendo-se de operadores lógicos, associando a busca booleana à por truncamento e proximidade. Uma vez que a busca avançada das bases selecionadas trabalhava da mesma forma, foi possível desenvolver uma única estratégia que foi utilizada nas pesquisas em português em inglês, só foi necessária a tradução dos termos preservando os operadores.

A busca booleana foi utilizada com os termos previamente selecionados, relacionando-os por operadores lógicos, que tornaram a busca mais restrita e detalhada. Estes operadores foram: AND (e) e NOT (não), evitou-se o operador OR (ou) uma vez que as palavras-chaves foram determinadas com precisão para a obtenção de resultados refinados e concisos, visto que o volume destes já tinham um volume expressivo.

Aliado a isso, utilizou-se a busca por truncamento, a fim de otimizar o tempo de busca, como exemplo tem-se o termo *grid*, que poderia ser mostrado nos documentos como *grids* (no plural), obtendo assim os resultados de duas buscas em uma única. O símbolo de truncamento utilizado foi o cifrão (\$), com o objetivo de mostrar os resultados 0 (*grid*) ou 1 (*grids*).

Termos longos que precisaram ser encontrados da forma exata a qual foram escritos como *microscópio eletrônico de transmissão*, foram recuperados utilizando o operador de proximidade aspas duplas (“”).

### 3.2.3. Desenvolvimento da pesquisa:

Após a definição e tradução das palavras chaves, as estratégias de buscar foram desenvolvidas levando em consideração os operadores lógicos e booleanos, de modo traçar um roteiro de busca, partindo de termos gerais até palavras chaves mais restritivas. Assim, foi possível a construção da tabela 6.

**Tabela 6** – Estratégias de busca em inglês utilizando palavras-chaves e operadores de buscas.

<b>Classificação</b>	<b>Estratégia de busca</b>
<b>1</b>	<i>Grid</i> \$
<b>2</b>	<i>grid</i> \$ AND reuse
<b>3</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy"
<b>4</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy" AND preparation
<b>5</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy" AND reuse
<b>6</b>	<i>grid</i> \$ AND "TEM" AND preparation
<b>7</b>	<i>grids</i> AND preparation AND reuse AND TEM
<b>8</b>	<i>grid</i> \$ AND retrieved
<b>9</b>	<i>grid</i> \$ AND recovery
<b>10</b>	"sample holder" AND preparation AND "transmission electron microscopy"
<b>11</b>	"sample holder" AND "TEM" AND reuse
<b>12</b>	"sample holder" AND "TEM" AND preparation
<b>13</b>	"sample holder" AND "TEM" AND reuse AND preparation
<b>14</b>	"sample holder" AND "TEM" AND preparation AND retrieved

Fonte: autora, 2021.

Esses termos foram pesquisados nas categorias já citadas das bases escolhidas, os resultados obtidos foram organizados em tabelas do software Excel e Mendeley.

Após a pesquisa nas bases de dados científicos, foi realizada uma extensiva investigação no buscador Google com as estratégias 5 e de 7 – 14, utilizando aspas duplas, estas que concentraram temas referentes a reutilização dos *grids*, visto a pouca exploração desta área obteve-se uma quantidade de resultados que permitiu a leitura completa destes, essas foram também catalogadas e organizadas em uma tabela no Excel.

#### 3.2.4. Organização da pesquisa

Dado o grande volume de informação obtida, foi necessária a elaboração de um método de controle e armazenagem de informações. De forma a utilizar dois softwares com

funções distintas, mas complementares. Foram eles o Excel, que faz parte de um conjunto de ferramentas da Microsoft Office® e o Mendeley, desenvolvido pela empresa Elsevier.

A propriedade de criar tabelas do Excel foi explorada ao máximo, criando classificações as quais auxiliaram no andamento da pesquisa, estas podem ser consultadas na tabela 7. Cada campo desempenhou uma importante função na organização e fluidez da pesquisa que durou meses. As buscas foram catalogadas através das cédulas denominadas *pesquisa* a qual recebeu números referentes a combinação das palavras-chaves pesquisadas.

**Tabela 7 – Cédulas de classificação.**

<b>Pesqui- sa</b>	<b>Data</b>	<b>Base</b>	<b>Estraté- gia de busca</b>	<b>Lugar das pala- vras chaves</b>	<b>Docume- ntos</b>	<b>Avalia- dos</b>	<b>Selecio- nados</b>	<b>OBS</b>
-----------------------	-------------	-------------	--------------------------------------	--	-------------------------	------------------------	---------------------------	------------

**Fonte:** autora, 2021.

A cédula “data” foi utilizada para catalogar os dias quais as pesquisas foram executadas e aqueles resultados em específicos foram coletados. O campo mais importante, já comentado em tópicos anteriores, “estratégias de busca” foi onde a pesquisa foi realizada, sendo essa a base para todo o trabalho desenvolvido.

Os mecanismos de buscas nos permitiram ampliar ou restringir as procuras pelas palavras da nossa estratégia de busca, de forma que utilizamos três possibilidades, a fim de selecionar a que se fornece melhor resultados, como já citado, dessa forma o campo “lugar das palavras chaves” foi preenchido com as possibilidades de pesquisa fornecida por cada buscador (Scopus – ALL, TITLE-ABS-KEY, TITLE-ABS e TITLE; e Web Of Science – TS).

As células “documentos”, “avaliados” e “selecionados” foram preenchidas numericamente de forma sequencial representando, respectivamente, o número geral de documentos identificados nas buscas, o número de documentos investigados naquela data e por fim o número de documentos elegidos para posterior análise detalhada. O campo “OBS” teve a finalidade de comportar comentários pertinentes para facilitar a catalogação dos materiais selecionados.

Conforme cada busca foi realizada os trabalhos selecionados foram baixados junto a suas referências e exportados para a biblioteca de referências Mendeley organizados pelo número da pesquisa, no total foram realizadas 21 buscas no período de 18 de novembro de 2020 á 04 de março de 2021, onde essa consistia na abertura do artigo, leitura de resumo e breve avaliação sobre o tema discutido, ao fim do levantamento de obteve-se 291 documentos para leitura aprofundada.

Haja vista que a busca foi realizada nos dois maiores motores de busca científica e a primeira fase do levantamento foi executada de maneira geral, um levantamento condensado de cada base foi realizado, gerando as tabelas 8 e 9. A finalidade desse refinamento foi a remoção de arquivos duplicados e separação de dados úteis, que retornaram resultados, dos não úteis, resultados iguais a zero, resumindo 69 linhas do levantamento principal a duas tabelas de 6 linhas cada, em todas excluindo o cabeçalho.

Dessa forma tem-se, na tabela 8 o levantamento condensado realizado na base de dados Scopus, resumindo 20 linhas, onde constam as estratégias de busca e o local de busca das palavras-chaves que obtiveram êxito procura.

**Tabela 8** – Levantamento condensado – Base Scopus.

<b>Pesquisa</b>	<b>Estratégia de Busca</b>	<b>Lugar da palavra-chave*</b>	<b>Documentos</b>	<b>Após remoção de duplicados</b>
<b>1</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy" AND preparation	TITLE-ABS-KEY	83	80
<b>2</b>	"sample holder" AND preparation AND {transmission electron microscopy}	TITLE-ABS-KEY	5	5
<b>3</b>	<i>grid</i> \$ AND "TEM" AND preparation	TITLE-ABS-KEY	152	77
<b>4</b>	{sample holder} AND "TEM" AND preparation	TITLE-ABS-KEY	15	15
<b>5</b>	{sample holder} AND "TEM" AND recovery AND preparation	TITLE-ABS-KEY	1	0
<b>Total</b>			256	177

\* TITLE = título, ABS= resumo, KEY= palavra-chave.

**Fonte:** Autora, 2021.

Já a tabela 9, refere-se aos resultados condensados obtidos no Web Of Science, resumindo 21 cédulas, no qual constam apenas dados válidos.

**Tabela 9** – Levantamento condensado – Base de dados Web of Science.

<b>Pesquisa</b>	<b>Estratégia de Busca</b>	<b>Lugar da palavra-chave*</b>	<b>Documentos</b>	<b>Após remoção de duplicados</b>
<b>1</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy"	TS	1	0
<b>2</b>	<i>grid</i> \$ AND "transmission electron microscopy" AND preparation	TS	48	12
<b>3</b>	<i>grid</i> \$ AND recovery AND "transmission electron microscopy"	TS	5	3
<b>4</b>	<i>grid</i> \$ AND "TEM" AND preparation	TS	61	15
<b>5</b>	"sample holder" AND "TEM" AND preparation	TS	7	6
<b>Total</b>			122	36

\* TS= título, resumo e palavras-chave.

**Fonte:** Autora, 2021.

Utilizando o software Mendeley foi possível executar uma simples ação e remover os documentos selecionados em duplicata, uma vez que o trabalho de levantamento foi realizado por um operador humano, sendo passível da seleção de documentos repetidos. De modo que os resultados obtidos foram atualizados, conforme pode ser visto na coluna cinco de ambas as tabelas.

### 3.2.5. Resumo dos materiais selecionados

Posteriormente a separação dos dados pertinentes, começou-se a leitura de todos os artigos selecionados para a realização do fichamento. Esta foi realizada de forma dando ênfase nas seguintes aplicações, quando disponíveis:

- I. Dados do artigo:
  - a. Ano – neste campo consta ano de publicação do material;
  - b. Autor – neste há a listagem dos autores do material.
- II. Técnica de reuso? – guia para seleção dos artigos mais relevantes para o tema proposto, neste campo há somente duas opções possíveis respostas sim (s) ou não (n).

- III. Aplicação – para que tipo de amostra foi usado o *grid* na análise da Microscopia Eletrônica de Transmissão.
- IV. Características do *Grid*:
  - a. Tipo – material o qual o *grid* é formado;
  - b. *Mesh* – unidade de medida referente ao tamanho das aberturas do *grid*;
  - c. Transparência – valor em porcentagem do quanto o *grid* permite a passagem de elétrons sem retê-los;
  - d. Revestimento/filme – tipo de material que reveste o *grid* e a presença ou não de filmes funcionalizados.
- V. Metodologia para uso – esta categoria teve como finalidade resumir a técnica de preparação para o uso do *grid* (aplicação do filme, funcionalização...):
  - a. Solvente;
  - b. Tratamento térmico;
  - c. Outros.
- VI. Metodologia para reuso – nos casos em que a resposta do campo III foram “s” esta área foi preenchida com a metodologia aplicada na remoção do filme e revestimento anteriores, bem como a nova aplicação destes.
  - a. Solvente;
  - b. Tratamento térmico;
  - c. Outros.
- VII. Comentários – este campo foi preenchido basicamente por informações importantes sobre o uso do *grid* ou da preparação contidas no documento.
- VIII. Link/ DOI – aqui constaram as formas mais rápidas de encontrar o documento, caso esse fosse selecionado para discussão.
- IX. Observações – anotações importantes que facilitaram o encontro de informações importantes contidas no trabalho.

Estes documentos foram organizados, em planilhas do Excel onde esses campos foram classificados de duas formas: pesquisa, na qual a distribuição foi realizada seguindo a numeração do levantamento geral (de 1 a 21) e pesquisa condensada, enumerados de 1 a 5 com a sigla referente ao seu buscador (– S para Scopus e – WoS para Web of Science).

### 3.2.6. Seleção de artigos

A partir dos artigos resumidos, foram selecionados e separados em duas categorias os materiais (verificar tabela 10) que compõe a parte de discussão deste trabalho, foram elas: os que continham procedimentos de recuperação de *grid*, sejam eles completos ou não e os artigos que apresentaram resultados singulares.

Tabela 10 – Artigos selecionados para discussão.

Pesquisa	Pesquisa condensada	Ano	Autor
1	1 – S*	2020	da Silva, Laura C.E.; Cassago, Alexandre; Battirola, Liliane C.; Gonçalves, Maria do Carmo; Portugal, Rodrigo V.
1	1 – S	2008	McMahon, D J.; Oommen, B S.
1	1 – S	2016	Pramanick, Bidhan; Salazar, Arnoldo; Martinez-Chapa, Sergio O.; Madou, Marc J.
1	1 – S	2015	Mulligan, S K; Speir, J A; Razinkov, I; Cheng, A; Crum, J; Jain, T; Duggan, E; Liu, E; Nolan, J P; Carragher, B; Potter, C S
1	1 – S	2015	Karl Dawson, Gordon J. Tatlock Centre
3	1 – S	2006	Connal, L A; Qiao, G G
3	1 – S	1995	Marks, M R; Wei, Q; Jiayi, W; Yi, C
14	2 – WoS**	2019	MacHado, Craig A.; Bentz, Kyle C.; Tran, Roger; Jenkins, Taylor A.; Barnes, Brooke E.; Diodati, Lily E.; Savin, Daniel A.
14	2 – WoS	2018	Schmidli, Claudio; Rima, Luca; Arnold, Stefan A.; Stohler, Thomas; Syntychaki, Anastasia; Bieri, Andrej; Albiez, Stefan; Goldie, Kenneth N.; Chami, Mohamed; Stahlberg, Henning; Braun, Thomas
14	2 – WoS	2017	Auchter, Eric; Marquez, Justin; Yarbrow, Stephen L.; Dervishi, Enkeleda
15	2 – WoS	2013	Yoo, S J.; Kim, C Y.; Shin, J W.; Lee, S G.; Jeong, J M.; Kim, Y J.; Lee, S H.; Kim, J G.
16	3 – WoS	2019	Varodi, Codruta; Pogacean, Florina; Coros, Maria; Rosu, Marcela Corina; Staden, Raluca Ioana Stefan Van; Gal, Emese; Tudoran, Lucian Barbu; Pruneanu, Stela; Mirel, Simona

\* S – Refere-se a base de dados Scopus;

\*\* WoS – Refere-se a base de dados Web of Science.

Fonte: Autora, 2021.

### 3.2.7. Gráficos

#### 3.2.7.1. Organização de dados

Os dados foram organizados de maneira a gerar gráficos que pudessem permitir a comparação do uso dos *grids* nas quatro maiores áreas identificadas quanto a aplicação do uso da técnica de Microscopia eletrônica de transmissão e por consequência o emprego dos *grids*. Estas áreas foram nomeadas da seguinte forma: amostras biológicas, amostras inorgânicas, amostrar orgânicas e técnica.

Dentro de cada área mencionada, foram contabilizadas as aparições das características dos *grids* utilizados, sendo estas: o diferente tipo do material que constitui o *grid*, onde encontrou-se uma certa semelhança entre os materiais utilizados nas áreas abordadas; de revestimento/filmes e tamanho (*mesh*).

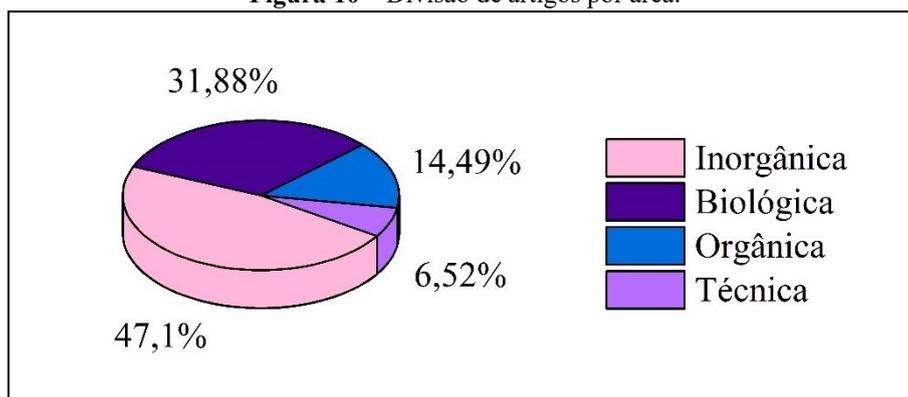
#### 3.2.7.2. Elaboração de gráficos

De posse dos dados explorados anteriormente foi possível plotar gráficos no software Origin Data Analysis and Graphing 8.5 com o objetivo de facilitar a visualização e comparação dos materiais levantados. Para isto se utilizou a função Coluna/Parra/Pizza para plotar os gráficos em formato pizza.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Conforme o avançar do levantamento os artigos foram catalogados por áreas de acordo com o tipo de amostra utilizado na análise de microscopia eletrônica de transmissão. Assim, obtive-se quatro grandes áreas de aplicação (gráfico 1), sendo elas: amostras biológicas, amostras inorgânicas, amostras orgânicas e técnica.

**Figura 10** – Divisão de artigos por área.



**Fonte:** autora, 2021

Ao se avaliar a disposição do gráfico é possível destacar o maior uso do MET em amostras de origem inorgânica (47,10%), principalmente na elucidação das estruturas de nanopartículas e/ou novos materiais. Já se tratando da segunda maior área, biológica (31,88%), tem-se o emprego da técnica na avaliação de diversos tipos de células (humanas e vegetais), bem como proteínas.

Os resultados obtidos na categoria amostras orgânicas (14,49%) são escassas quando comparados as duas áreas já citadas, uma vez que grande parte dos polímeros orgânicos encontrados foram categorizados como proteínas e, portanto, não fazem parte deste grupo, entretanto nessa posição são estudadas, principalmente, espécimes carbonáceos com diferentes estruturas cristalinas.

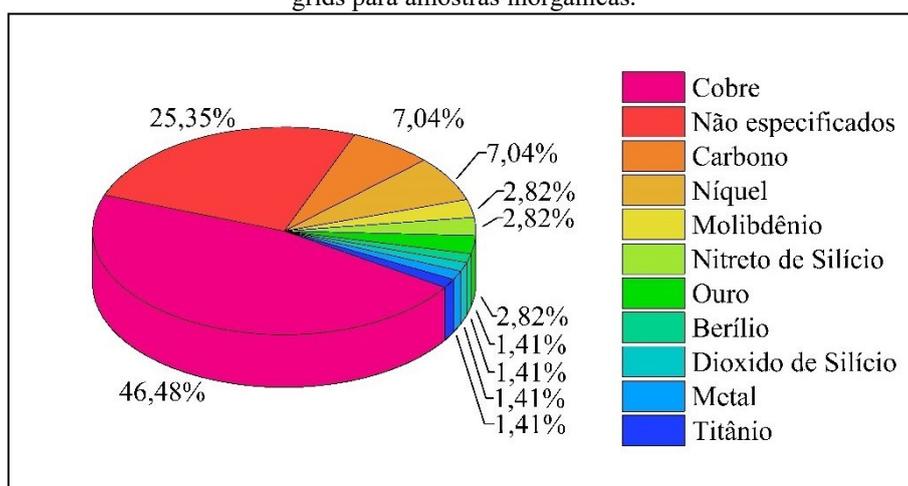
Também foram encontrados artigos os quais não utilizaram nenhum tipo de espécime, mas sim os *grids* como forma de adaptação, ou criação, de novas técnicas, formando assim a seção técnica (6,52%), a principal técnica compreendida nessa categoria está a preparação de amostras.

##### 5.1. Amostras inorgânicas

Como citado anteriormente, a maior área identificada no levantamento de aplicabilidade dos *grids* MET é a que se refere a utilização de amostras inorgânicas. Nesta

foram catalogados 65 artigos, dos quais 47 apresentaram uma ou mais especificações do material de *grid* usado, formando 72,30% do total que se dividiu nas categorias apresentadas no Gráfico 2, todavia se tem um percentual de 25,35% de dados indisponíveis, que não foram apresentados pelos autores nos materiais formais e/ou suplementares, formado por 17 artigos.

**Figura 11** – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos *grids* para amostras inorgânicas.



**Fonte:** autora, 2021.

Os *grids* de cobre (46,48%) se destacam, uma vez que estas apresentam uma excelente condutividade e resistência ao calor, além da sua grande disponibilidade a baixos valores. Porém em situações específicas, onde são necessários solventes ou temperaturas incompatíveis com cobre, aparece uma diversificada distribuição de materiais possíveis no emprego do MET, todavia estes apresentam menores percentagens quando comparado ao primeiro material.

Dessa forma em segundo lugar, encontram-se os *grids* de carbono e níquel, ambos com 7,04%, o carbono apresenta menor interferência na imagem obtida, dado seu baixo contraste, enquanto que o níquel é preferível dada a sua maior passividade a ataques químicos, a depender da metodologia da preparação da amostra.

Em seguida, tem-se os *grids* de molibdênio, nitreto de silício e ouro, com 2,82% cada, onde os dois primeiros apresentam elevada resistência térmica e o último favorece o contraste na imagem da amostra (FOURIE, 1982). Por fim, tem-se com 1,41% cada, os *grids* de dióxido de silício as quais apresentam grande robustez estrutural; metal, referindo-

se a um metal qualquer na formulação do *grid* e titânio, um material de tamanha resistência a altas temperaturas.

Pramanick, B. (2016), empregou a tecnologia MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems<sup>2</sup>) para a fabricação de *grids* de carbono pelo processo de Carbon-MEMS (C-MEMS) utilizando o fotorresistente negativo SU8. Martinez-Duarte (p. 1, 2015) define o método C-MEMS como “um processo usado para fabricar estruturas miniaturizadas de carbono semelhantes a vidro por meio da carbonização de precursores orgânicos previamente moldados.”

Levando em consideração as condições que os *grids* são submetidos nas etapas de preparação dos espécimes, como moagem de íons, perfuração ultrassônica, micro usinagem química, Feixe de íons focalizado (FIB) e outros, sabe-se que os *grids* de microscopia eletrônica de transmissão devem ter grande resistência a altas temperaturas, a agentes químicos e físicos; partindo deste ponto os autores justificam a criação do *grid* C-MEMS.

Os pesquisadores conseguiram obter, através da pirolise do fotorresistor a base de epóxi suportado em *waffles* de Si/SiO<sub>2</sub> e *waffles* de Si descoberto, um material de carbono com estrutura vítrea. Esta forma do C é rica em grafeno, de modo que as características ópticas deste *grid* são equivalentes as dos revestimentos a base de carbono, ou seja, este oferece grande resolução as imagens MET devido ao seu baixo contraste, além de apresentar, de acordo com Nossol (p. 15, 2009):

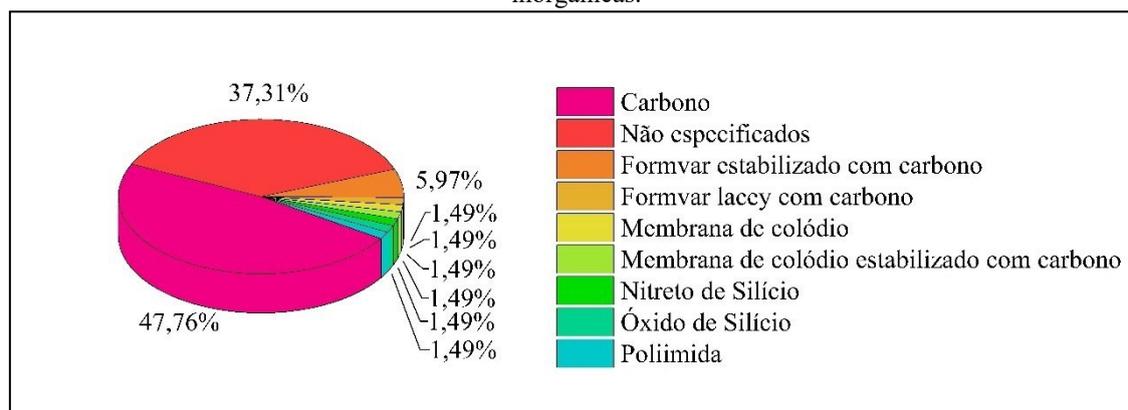
alta estabilidade térmica, alta resistência a ataques químicos, bem como poros de pequenas dimensões, e ainda se caracteriza como um material praticamente impermeável a gases e líquidos.

Após a análise dos materiais dos *grids*, a investigação se concentrou nos tipos de revestimentos (gráfico 3) mais comuns – e os utilizados em situações específicas – para as amostras inorgânicas. Desse modo tem-se um volume de 52,24% de material com a seguinte informação, restando 47,76% de dados indisponíveis por parte dos autores.

---

<sup>2</sup> Sistemas Microeletromecânicos

**Figura 12** – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos grids para amostras inorgânicas.



Fonte: autora, 2021.

O revestimento de carbono é o mais comum não só se tratando de amostras inorgânicas (37,31%), como também nas outras áreas, como será mostrado mais para frente. Isso se dá pelo seu custo-benefício, uma vez que este tem um valor mediano quando comparado a outros revestimentos e um melhor desempenho na formação da imagem MET.

Os filmes de formvar estabilizado com carbono (5,97%) são muito recomendados para o uso em microscopia de baixa ampliação, baixa temperatura e para secções finas, uma vez que a presença do formvar diminui a resistência do revestimento total quanto a temperatura, entretanto o filme de carbono confere maior resistência ao formvar. Dessa forma tem-se um revestimento com excelente transparência a um custo menor quando comparado aos outros.

Por fim, encontram-se filmes específicos, cada um com 1,49%, sendo eles: formvar *lacey* com carbono, a forma “*lacey*” (rendada) do formvar possibilita a formação de filmes ainda mais finos nas aberturas do *grids*; as membrana de colódio e membrana de colódio estabilizado com carbono vem caindo em desuso, dado a sua pequena resistência calorífica; os filmes de óxidos e nitretos de silício, bem como a poliimida, tem uma grande vantagem dada a sua transparência eletrônica e resistência ao calor, entretanto os óxidos e nitritos devem ser utilizados de forma cuidadosa com amostras inorgânicas, de forma a evitar artefatos<sup>3</sup>.

Mulligan, (2015), descreve um sistema de rastreamento para centenas de amostras de nanopartículas, utilizando um robô de manuseio de líquidos. Para isso, eles utilizaram

<sup>3</sup> É um dano que pode ser causado na preparação da amostra, bem como na contaminação desta, este pode ser facilmente confundido com a microestrutura da amostra.

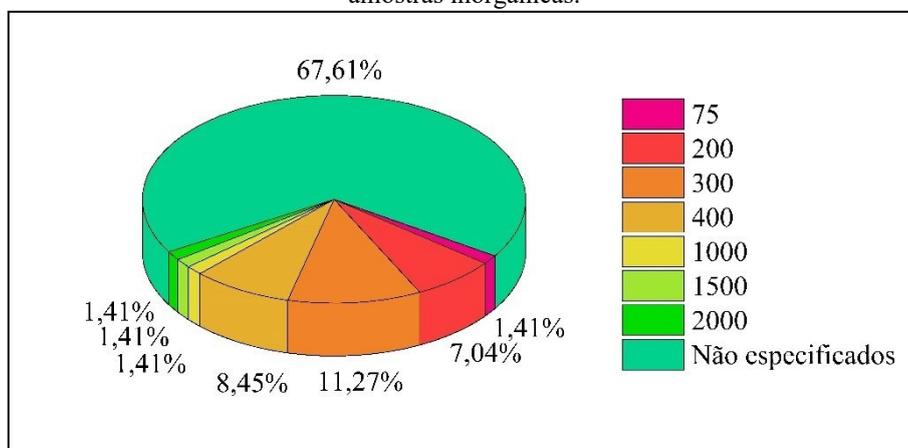
*grids* de nitreto de silício, onde uma pastilha de silício de 100  $\mu\text{m}$  de espessura serviu de suporte para um filme de 50 nm de espessura de SiN.

Os autores afirmam que poderiam ser utilizados *grids* de cobre, todavia se optou pelos de SiN, devido ao mecanismo de aplicação de amostra que utiliza o método dispense piezo capilares (Piezo Dispense Capillary [PDCs]), onde microlitros do espécime preparado foram aplicados, simultaneamente, em 96 *grids* ao mesmo tempo. Assim os *grids* escolhidos por possuir maior robustez mecânica, não apresentaram modificações em sua estrutura, de maneira a permitir flexibilização nos volumes e densidades das amostras estudadas.

Os estudos na área inorgânica abordaram pouco o tamanho dos *grids* utilizadas (gráfico 4), de maneira que se obteve uma percentagem considerável de dados não informados (67,61%), entretanto observou-se uma maior preferência para *grids* de 300 e 400 *mesh*, respectivamente, 11,27% e 8,45%, uma vez que o tamanho das amostras se apresentou na escala de nanômetros. O uso de *grids* de 200 *mesh* (7,04%) ficou restrito a aplicação de amostras relativamente grandes, como: coloides, catalisadores e pós metálicos.

As menores aplicações foram encontradas nos *grids* de 75, 1000, 1500 e 2000 *mesh*, cada um com uma percentagem de 1,41%, isso é observado devido à sua aplicabilidade, onde os de 75 *mesh* foram utilizadas nas análises de copolímeros, que apresentam um tamanho de partículas significadamente grande; já os *grids* superiores a 1000 *mesh* foram utilizados em técnicas específicas de filtração, exigindo uma maior robustez destas.

**Figura 13** – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para amostras inorgânicas.

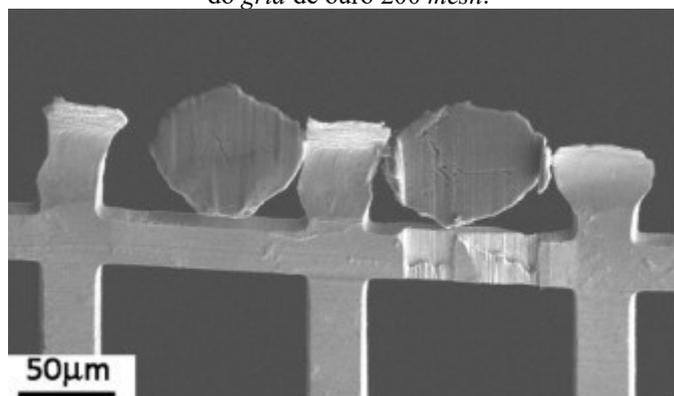


Fonte: autora, 2021.

Dawson; Tatlock (2015), desenvolveram uma metodologia para a preparação de amostras MET a partir da usinagem de pós metálicos, para tal os pesquisadores colocaram os pós após prévio tratamento junto a *grids* de ouro de 200 *mesh*, partidos ao meio, em um equipamento FIB. Partículas de pó foram selecionadas, usando um micro manipulador, e inseridas nos *grids*.

Nos *grids* MET de 200 *mesh*, o tamanho das aberturas é de cerca de 90  $\mu\text{m}$ , de maneira que ao se depositar as partículas dos pós metálicos, que foram fixadas com platina, estas se encaixaram perfeitamente nas fissuras do *gris* (figura 8), ou seja, a seleção deste tamanho, apresentou-se ideal, visto o não uso de filmes de revestimento, por parte dos autores.

**Figura 14** – Partículas de pós metálicos encaixadas nas fissuras do *grid* de ouro 200 *mesh*.



Fonte: autora, 2021.

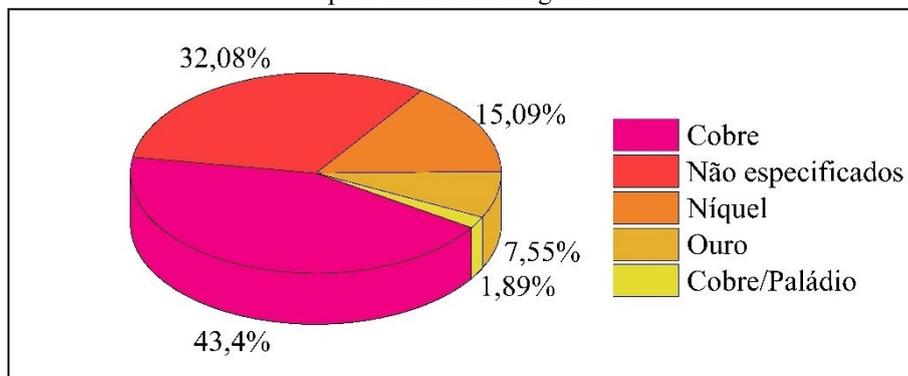
## 5.2. Amostras biológicas

Dentro das amostras de caráter biológico tem-se uma maior clareza quanto aos materiais de *grids* utilizados nas análises (gráfico 5), uma vez que do total de 44 artigos levantados 67,92% apresentaram informações claras sobre essas aplicações. Visto que os *grids* de cobres são as que tem o melhor custo-benefício frente as outras e esta pode ser aplicada a uma enorme gama de análises, essa aparece com 43,44% do total.

Todavia, o uso de *grid* de cobre são desaconselháveis em circunstâncias específicas e estes são facilmente substituídos pelos de níquel, os quais se apresentam em seguida, 14,81%, com maior passividade que a outra. *Grids* de ouro (7,55%) aparecem posteriormente, sendo amplamente em dada sua elevada biocompatibilidade. Por fim, tem-

se um material bastante específico, os *grids* feitos a partir da liga de Cobre/Paládio (1,89%), que é um excelente condutor eletrônico (POIZOT, 2008).

**Figura 15** – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos *grids* para amostras biológicas.



Fonte: autora, 2021.

Machado, (2019)., emprega a técnica de microscopia eletrônica de transmissão na observação dos conjuntos de estruturas fractais – estruturas onde uma pequena parte do objeto se assemelha a estrutura do todo – nos polímeros Poly (óxido de etileno<sub>43</sub>-b-lisina<sub>62</sub>-b-lisina<sub>72</sub>) utilizando *grids* de níquel de 400 *mesh* com revestimento em formvar.

Os pesquisadores sintetizam o polímero, a partir da reação entre a (Z)-lisina, clorofórmio seco, poly (óxido de etileno) e, posterior, adição da solução de leucina em tolueno, clorofórmio e dimetilformamida secos; após a recuperação do polímero, os blocos polimerizados com empregado o ácido trifluoroacético (TFA) e HBr em ácido acético glacial foram desprotegidos. Uma vez que o polímero precipita em pH superior a 7, os autores trabalharam na faixa de pH inferior a este, utilizando soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) diretamente no *grid* após a secagem da amostra.

Devido ao uso de NaOH, o manuseio de *grids* de cobre é desaconselhável, visto que álcalis corroem este metal rapidamente nas condições em que o microscópio eletrônico opera, gerando incompatibilidade com o material. Dessa forma, os autores optaram pelo uso de *grids* de níquel (da Electron Microscopy Sciences) que apresenta maior passividade frente aos de cobre, principalmente devido a sua resistência a oxidação (AYACHE, 2010).

A maior passividade dos *grids* níquel frente aos de cobre pode ser justificada ao analisar as reações entre esses metais e a base forte. A partir destas obtêm-se a variação do potencial de cada reação (eq. 2), possibilitando o cálculo do  $\Delta G$  pela equação 3. Tendo em vista a energia potencial de Gibbs ( $\Delta G$ ), onde é possível prever com maior exatidão a

espontaneidade de uma reação, uma vez que esta relaciona os dois fatores essenciais para prever esse atributo, a entalpia (S) e a entropia (H) (SILVA, 2019).

$$\Delta E = E_{\text{red}}^0 + E_{\text{oxi}}^0 \quad (2)$$

$$\Delta G = -nF\Delta E \quad (3)$$

onde:

- n = número de mols de elétrons da reação balanceada;
- F = Constante de Faraday = 96485 C

Observando a reação global (4) entre o cobre (Cu) e o álcali, é possível decompô-la em suas respectivas semirreações, onde a partir do potencial de redução, tem-se que o cobre reduz (eq. 5), enquanto que o sódio (Na) do hidróxido oxida (6).



O mesmo é constatado na reação entre o *grid* de níquel (Ni) e o hidróxido de sódio após a fragmentação da reação global (eq. 7) nas semirreações de redução (eq. 8), que acontece com o Ni, e oxidação (eq. 9), que ocorre com o Na.



Assim, de posse destas informações pode-se calcular a variação do potencial da reação entre cobre – hidróxido de sódio (2.a) e níquel – hidróxido de sódio (2.b):

$$\Delta E_{\text{Cu|Na}} = -2,71 - 0,34 \quad (2.a)$$

$$\Delta E_{\text{Cu|Na}} = -3,05\text{V}$$

$$\Delta E_{\text{Ni|Na}} = -2,71 + 0,24 \quad (2.b)$$

$$\Delta E_{\text{Ni|Na}} = -2,47\text{V}$$

Para então obter a variação da energia livre de Gibbs das reações: cobre e sódio (3.a) e níquel e sódio (3.b):

$$\Delta G_{\text{Cu|Na}} = -2 \cdot 96485 \cdot (-3,05) \quad (3.a)$$

$$\Delta G_{\text{Cu|Na}} = +588,59 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta G_{\text{Ni|Na}} = -2 \cdot 96485 \cdot (-2,47) \quad (3.b)$$

$$\Delta G_{\text{Ni|Na}} = +476,63 \text{ kJ/mol}$$

Como já comentado, a energia livre de Gibbs é dada pela relação entre a variação da entalpia, variação da entropia e temperatura. De ante dos valores calculados, tem-se que a energia livre de Gibbs de ambas as reações de oxirredução entre os metais e o hidróxido de sódio é positiva, de modo que nenhuma das reações são espontâneas.

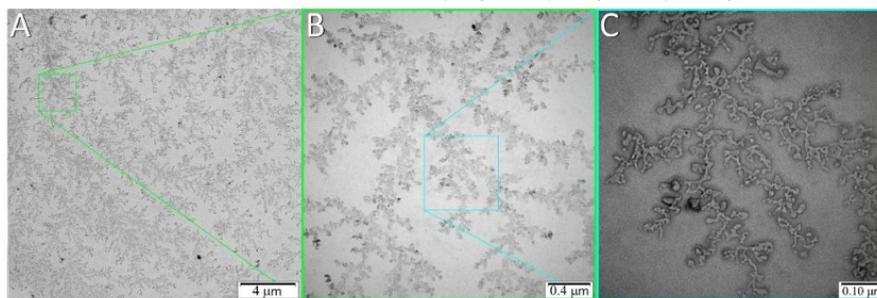
Todavia é possível inferir sob esses valores positivos que para compensar o aumento da entropia do sistema, visto a crescente da temperatura dentro do equipamento, a variação da entalpia (eq. 10) deve ser maior, ou seja, esta deve ser positiva, de modo que a entalpia final é maior que a inicial, levando a formular que esta reação absorve energia, ou seja, é endotérmica.

$$\Delta H = H_f - H_i \quad (10)$$

Levando-se em conta que no sistema fechado do porta-amostra, os *grids* (de cobre e níquel) estão servindo de suporte para as amostras biológicas, ou seja, esta é vizinhança que fornece o calor necessário para o aumento da entropia. Assim, o uso de *grids* de Ni, que tem menor  $\Delta G$  (+476,63 kJ/mol) que as de cobre ( $\Delta G = +588,59 \text{ kJ/mol}$ ) necessitam de menos calor de modo a degradar menos a amostra em questão.

Por fim, com a microscopia eletrônica de transmissão os autores verificaram a formação de fractais (figura 9) em diferentes escalas, onde é possível observar as estruturas encontradas nas melhores condições propostas.

**Figura 16** – Imagens MET do polímero obtido na melhor concentração e pH encontrados, em três escalas: A) 4  $\mu\text{m}$ ; B) 0,4  $\mu\text{m}$ ; C) 0,10  $\mu\text{m}$ .

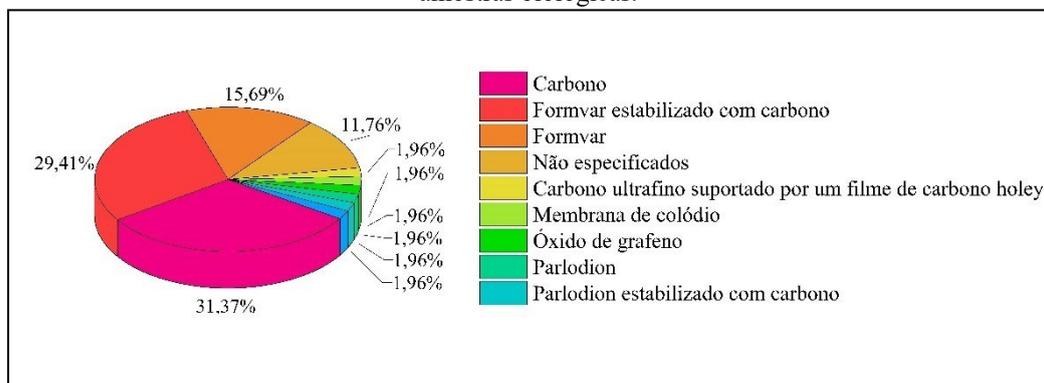


**Fonte:** Machado, C. A et al, 2019.

Dentre as áreas categorizadas, a que apresentou maior diversidade nos tipos de revestimento aplicados aos *grids*, foi a área biológica (gráfico 6). O revestimento de carbono, aparece novamente como o mais utilizado (31,37%) pelos motivos já extensivamente citados. Seguido pelos filmes de formvar estabilizado com carbono (29,41%) e somente formvar (15,69%). A membrana de colódio e parlódio, como visto são filmes de um mesmo material, com nomes diferentes, de forma que estes totalizam juntos 3,92%; os filmes de parlódio estabilizado com carbono (1,96%) são poucos usados dadas as desvantagens do parlódio.

Posteriormente, tem-se uma série de revestimentos menos utilizados, pois suas aplicações se dão no uso de amostras ou nas buscas de resultados específicos, dessa forma com 1,96% cada, apresentam-se os revestimentos de filmes de: carbono ultrafino suportado por um filme carbono *holey*, utilizado para aumentar ainda mais a resolução das amostras na imagem MET; o filme de óxido de grafeno é mais fácil de fazer do que os filmes de carbono, além de apresentarem melhor contraste que o grafeno puro, todavia este não pode ser utilizado em processos que envolvam limpeza de plasma e/ou descarga brilhante.

**Figura 17** – Distribuição percentual de materiais utilizados nos revestimentos dos grids para amostras biológicas.

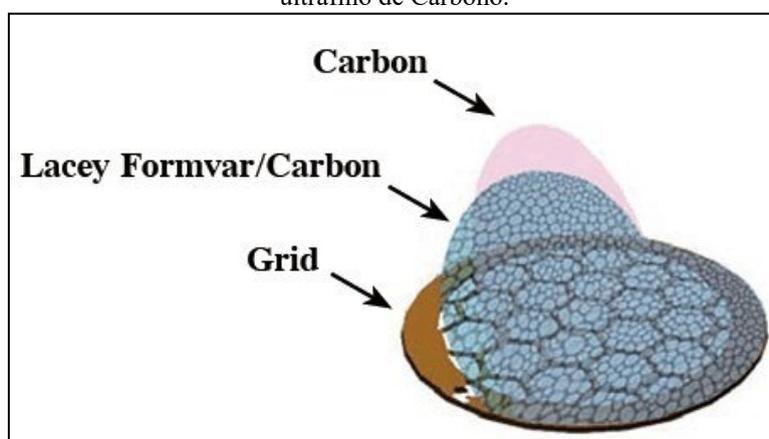


**Fonte:** autora, 2021.

Da Silva (2020) propõe um procedimento de preparação de amostra, bem como as condições ideais para a visualização da nanocelulose em imagens MET com o contraste ideal, visto que este é um fator que impede a caracterização morfológica adequada e a determinação do tamanho dessa amostra. Para isto, os autores utilizaram *grids* de cobre de 400 *mesh* e revestidos com filme de carbono contínuo ultrafino suportado por um filme de carbono *lacey* (Pelco®).

Se tratando de filmes contínuos ultrafinos suportados por um filme de carbono *lacey* (figura 10), tem-se duas camadas sobrepostas no *grid*, a primeira que fica em contato direto com o este, é o filme ultrafino de carbono *lacey*, este possui uma estrutura física rendada, o que confere ao filme aberturas que ficam na faixa de  $\frac{1}{4} \mu\text{m}$  a  $5 \mu\text{m}$ , este filme descontínuo apresenta elevada resistência a ações mecânicas e, portanto, é indicado para uso em que a preparação da amostra é mais rigorosa. Já a segunda camada, que se situa sob o carbono *lacey*, é formada por um filme contínuo ultrafino (inferior a 3 nm) de carbono (TED PELLA INC. 20?).

**Figura 18** – Esquemática *grid* de cobre revestido com filme ultrafino de Carbono.

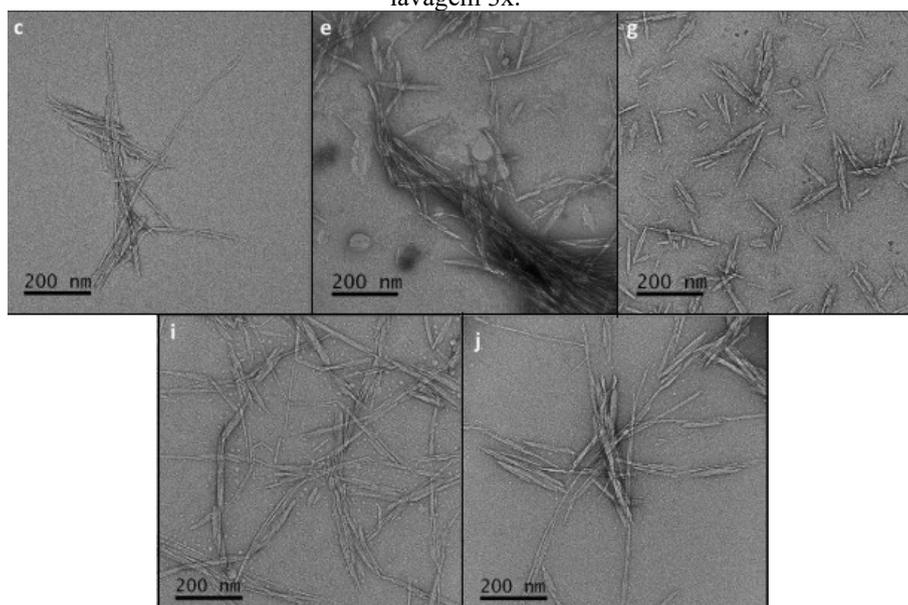


**Fonte:** Electron Microscopy China – EMCN (2021).

Uma vez que o objetivo do estudo foi diminuir as interferências no fundo do contraste e realizar a avaliação de cinco parâmetros – descarga luminescente na grade; a concentração da suspensão do espécime; o lado do *grid*, brilhante ou fosco (onde se localiza o revestimento); secagem ou não do corpo de prova após a aplicação da amostra e antes do corante e por último a lavagem ou não dos *grids* antes da etapa de secagem – dos quais quatro envolviam diretamente o manuseio do *grid*, os revestimentos de carbono suportado por um filme de carbono *lacey* são amplamente recomendados, dado a sua mínima interferência na formação da imagem e resistência.

Os pesquisadores fizeram uma série de imagens para cada parâmetro alterado dos quais somente os resultados positivos foram extraídos (figura 11). Assim, eles concluíram que melhores imagens foram obtidas com: a descarga luminescente; menor concentração; uso do lado opaco; não secagem e lavagem 3 vezes com água.

**Figura 19** – Resultados positivos de cada variação, onde c: descarga luminescente; e: concentração (0,1 g/mL); g: lado opaco; i: sem secagem com papel filtro; j: lavagem 3x.



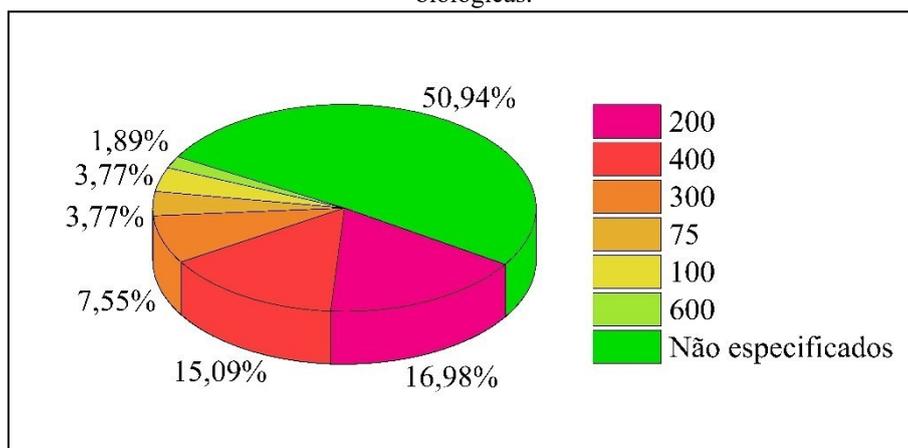
**Fonte:** Da Silva, L.; et al., 2020 (adaptado).

De maneira oposta as outras categorias dentro das amostras biológicas, mas ainda assim seguindo um padrão iniciado nas amostras inorgânicas, tem-se poucas informações sobre o tamanho dos *grids* utilizados (gráfico 7) apresentando uma porcentagem maior que 50%, referindo-se a 27 artigos do total.

Todavia, entre os poucos artigos com esses dados, observa-se que os *grids* de 200 *mesh* são utilizadas mais amplamente, 16,98%, seguido dos de 400 *mesh* (15,09%) e 300 *mesh* (7,55%), visto que as amostras biológicas se concentram em células e polímeros, e estes se mostram na escala de  $\mu\text{m}$ , estes *grids* se apresentam suficientemente grandes para deter os espécimes em suas malhas.

Já os *grids* de malha muito maiores, 75 e 100 *meshs*, ambos com 3,77%, são menos explorados, visto que estes têm uma menor probabilidade de reter as amostras pequenas sobre as fissuras, onde estão os filmes. Os *grids* de 600 *mesh* (1,89%), são ainda menos utilizados, dado seu custo de fabricação que associado à sua aplicabilidade, o que diminui o custo-benefício deste.

**Figura 20** – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para amostras biológicas.



**Fonte:** autora, 2021.

McMahon (2008) utilizou *grids* de cobre de 600 *mesh* revestidos com poli-L-lisina e parlódio (nitrocelulose) para capturar as estruturas supramoleculares internas das micelas da caseína do leite. A caseína tem um tamanho coloidal, onde a distribuição do tamanho desta varia de 20 a 600 nm em diâmetro, tendo um tamanho médio 100-200 nm.

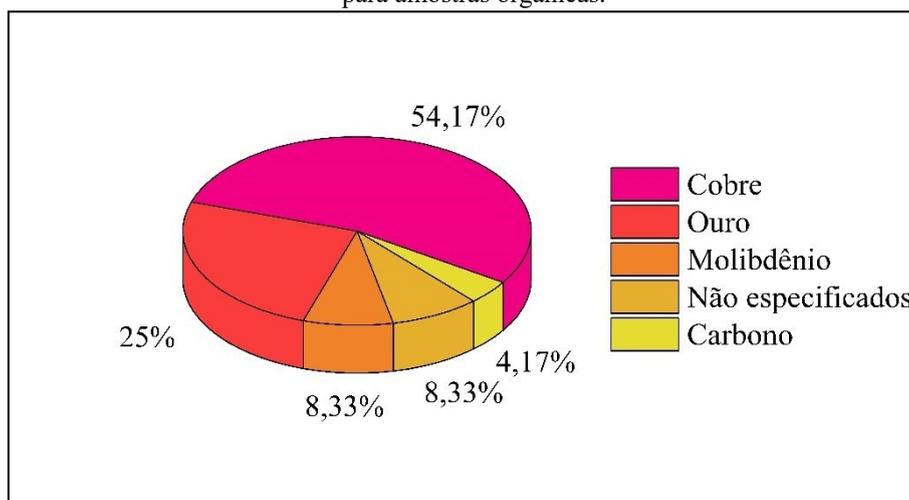
Uma vez elevado o tamanho do *mesh* dos *grids* MET ocorre também o aumento nos números de aberturas por polegada consequentemente a área útil para a captação da amostra é ampliada, ou seja, a probabilidade de que o espécime seja superposto nos espaços abertos onde há o revestimento é maior.

### 5.3. Amostras orgânicas

A área de amostras orgânicas foi a mostrou os menores resultados quando comparadas as áreas que levaram o tipo de amostra em conta, isto foi observado dado que a maioria das amostras orgânicas pesquisadas se tratavam de proteínas, assim sendo categorizadas na área de amostras biológicas.

Desse modo, foram levantados 20 artigos nesta categoria, dos quais 91,67% apresentaram dados referentes aos materiais utilizados na composição dos *grids* (gráfico 8). O mais utilizado, seguindo o padrão esperado, foram os *grids* de cobre (54,17%), em segundo lugar tem-se as *grids* de ouro (25%); os de molibdênio (8,33%) aparecem em estudos que necessitam temperaturas elevadas e por fim, em menor quantidade, se apresentam os *grids* de carbono (4,17%), aspecto justificado pelo volume elevado de amostras de formas isotópicas de carbono.

**Figura 21** – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos grids para amostras orgânicas.



**Fonte:** autora, 2021.

Yoo (2013) realizou a caracterização de filmes de carbono amorfo sobre *grids* de molibdênio (Mo), sob a justificativa da observação de certa instabilidade nestes filmes a altas temperaturas sendo constatado pela formação de nanopartículas. O procedimento experimental consistiu em aquecer um *grid* comercial de Mo recoberto por um filme (espessura >10 nm) de carbono amorfo da temperatura ambiente (28°C, segundo os pesquisadores) a 700°C em um forno de tântalo.

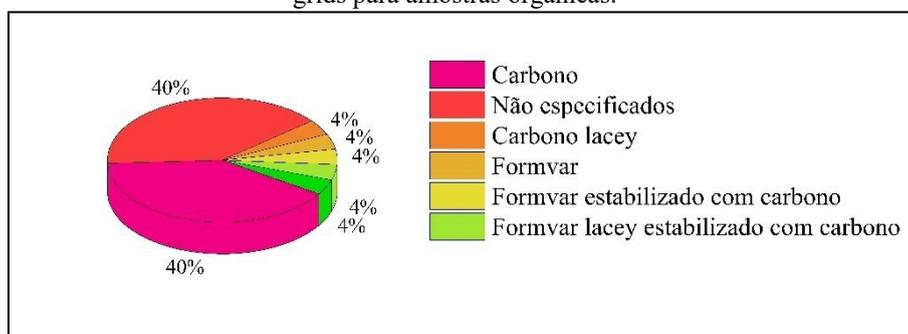
Os *grids* de molibdênio, segundo dados da literatura, suportam 850°C, sendo amplamente recomendada para metodologias que utilizem altas temperaturas, ou seja, na aplicação de microscópios de altas voltagens. O Mo apresenta temperatura de fusão, em condições de pressão ambiente de 2163°C (da SILVA, 2013), o que possibilita a alta resistência dos *grids* deste material. Além disso, este apresenta uma boa condutividade térmica e alta resistência química. Todavia este é um material caro, o que confere valores altos para *grids* destes.

Neste estudo, os pesquisadores observaram que nas condições em que o MET opera, sob alto vácuo, os *grids* molibdênio apresentaram ponto de evaporação muito mais baixo que o esperado. Eles observaram que inicialmente, os átomos de Mo na superfície do *grid* são evaporados e no estado de vapor, o molibdênio sobre nucleação e crescimento na superfície do filme amorfo, formando partículas nanométricas de Mo<sub>2</sub>C. Além disso, eles também observaram que carbono amorfo do filme passou por uma transformação para a fase cristalina.

Por fim, os autores sugerem o estudo de outros *grids* de diversos materiais e revestimentos e alerta para o uso de filmes de carbono amorfo para análises em alta voltagem de nanoestruturas e materiais relacionados ao carbono.

Quando analisados, os filmes de revestimento dos *grids* para amostras orgânicas (gráfico 9), tem-se uma distribuição percentual dos tipos de revestimentos mais comuns, observa-se uma propensão maior a escolha de revestimento de carbono (40%) aplicados a análise de nanoestruturas poliméricas, seguido pela distribuição igualitária, 4% cada, de outros filmes, sendo eles: carbono *lacey*, formvar, formvar estabilizada com carbono e formvar *lacey* estabilizado com carbono.

**Figura 22** – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos *grids* para amostras orgânicas.



**Fonte:** autora, 2021.

Varodi, C. et al. (2019) utilizou um eletrodo impresso em uma tela modificada com grafeno para a detecção do biomarcador de 8-hydroxy-2'- desoxiguanosina. No estudo, há a preparação e a caracterização do carbono amorfo utilizado na tela, para a caracterização, os pesquisadores utilizaram *grids* de carbono revestidos com filme de formvar *lacey* suportado em carbono.

O revestimento de formvar *lacey* suportado em carbono, apresenta as características dos filmes de formvar e carbono aliados. Nessa montagem, o carbono serve de estabilizador do formvar, melhorando as propriedades de condução eletrônica e de calor, possibilitando uma maior exposição do formvar ao feixe de elétrons. A forma *lacey* do formvar confere maior robustez ao filme, uma vez que as fissuras (*lacey*) são extremamente fortes.

Os autores obtiveram imagens dos flocos de grafeno (figura 12), onde foi possível observar regiões finas e transparentes, referida ao grafeno de poucas camadas (GPC – tradução de FLG - *few-layer graphene*) ideal para filmes de revestimento; e a visualização

de regiões escuras e mais espessas atribuídas ao grafeno multicamadas (GM – tradução de MLG - *multi-layer graphene*), este que é formado pelo empilhamento de folhas de grafeno.

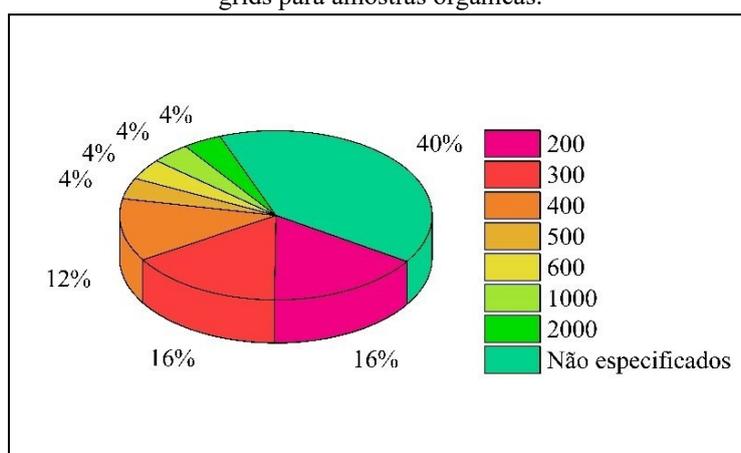
**Figura 23** – Imagem MET da amostra de grafeno



**Fonte:** Varodi, C. et al., 2019

Ao voltar a atenção aos tamanhos de *grids* utilizados em análises de amostras orgânicas (gráfico 10), encontrou-se uma variedade de *mesh* utilizados, apesar da grande ausência de dados (40%). Os *grids* de 200 e 300 *mesh* apareceram em 16%, cada um, dos artigos levantados, seguido pelos *grids* 400 *mesh* (12%) demonstrando uma maior tendência a utilização de malhas de tamanho mediano. Os *grids* com *mesh* maiores, 500, 600, 1000 e 2000 (4% cada) foram utilizadas em um estudo específico de modelagem de superfícies hierárquicas.

**Figura 24** – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de *grids* para amostras orgânicas.



**Fonte:** autora, 2021.

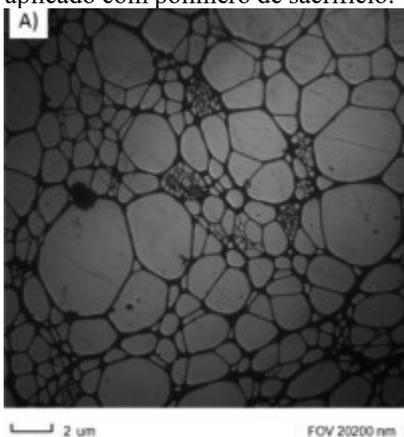
Auchter (2017) descrevem uma alternativa fácil para a transferências de filmes de grafeno para uma variedade de materiais, incluindo MET comerciais, utilizando um

polímero de sacrifício (formvar). Para isto, os autores utilizaram, *grids* de ouro de 300 *mesh* com suporte de carbono *lacey*.

Os *grids* de malha de 300 *mesh* apresentam aberturas de cerca de 63  $\mu\text{m}$  (Ted Pella), de maneira que podem ser utilizados facilmente na análise de filmes de grafeno, uma vez que estimasse que estes apresentam espessuras nanométricas e largura/comprimento de micrometros (FONSECA CAMARGOS, 2017).

Encontram-se na literatura diversos métodos de transferência de filmes de carbono, visando a facilidade e rapidez da aplicação deste sem o rompimento do mesmo. Todavia, este estudo propõe o uso do formvar, uma vez que este é facilmente dissolvido em clorofórmio. Os autores caracterizaram o grafeno depositado no *grid* por MET, obtendo a figura 13, onde é possível perceber a formação de uma monocamada contínua folha de grafeno, além de não se observar a formação de qualquer artefato.

**Figura 25** – Imagem MET grafeno aplicado com polímero de sacrifício.



**Fonte:** Auchter, E. et al., 2017.

#### 5.4. Técnica

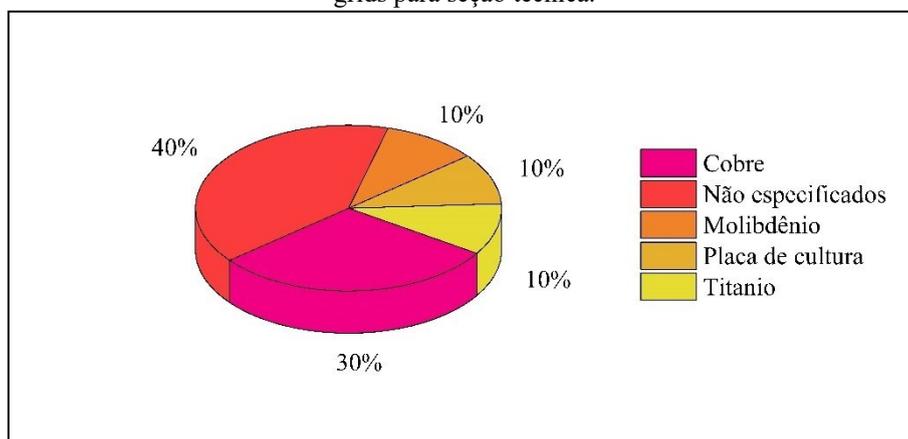
A área categorizada como técnica, levou em consideração os estudos que utilizaram a microscopia eletrônica de transmissão e o os *grids*, mas que não empregava os tipos de amostras já apresentadas. Nesta se concentram principalmente o desenvolvimento de técnicas de preparação de amostra e metodologias de uso do feixe de íons focalizados (FIB).

Deste modo, encontrou-se poucos trabalhos que se encaixavam em todos os requisitos empregados sendo eles, apenas nove, dos quais a maioria (60%) apresentou ao

menos o tipo de material (gráfico 11) empregado na análise. Mesmo nestas condições, os *grids* de cobre (30%) permaneceram sendo os mais utilizados, corroborando tudo que foi apresentado sobre o seu melhor custo-benefício e condições de trabalho.

*Grids* de molibdênio, titânio e até mesmo a substituição destes por placa de cultura, foram encontrados em menor percentagem, 10% cada, visto que estas foram aplicadas em casos que, respectivamente, poderia ser uma substituta aos *grids* de cobre (SENZ, 1997); *grid* adequado para a moagem iônica de baixo ângulo (MARKS, 1995); e substituição de *grids* de ouro (biocompatíveis) por placas de cultura para a semeadura de células (MA; XUE, 1994).

**Figura 26** – Distribuição percentual de materiais utilizados na composição dos *grids* para seção técnica.



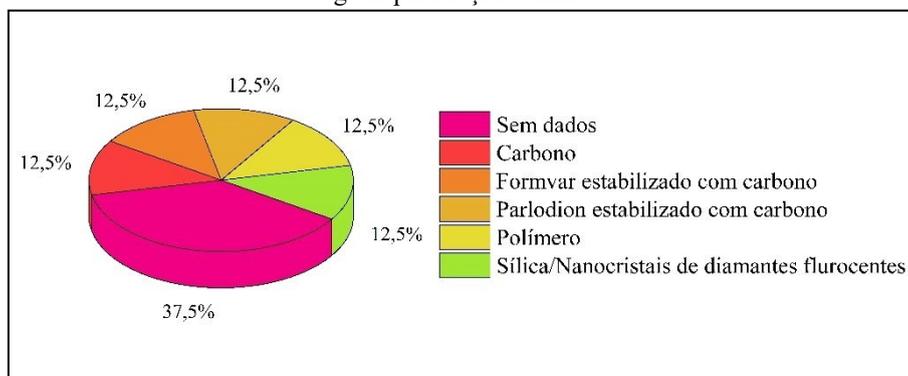
**Fonte:** autora, 2021.

Partindo para os revestimentos (gráfico 12), percebeu-se uma tendência na maior distribuição de possibilidades, visto que esta área concentra os testes e desenvolvimentos de metodologia. Todavia, ainda se encontram *grids* que não passaram pelo processo de revestimento (37,5%) isso se dá pois estes foram utilizados para além de sua função, como por exemplo no estudo de Park (2017) onde um termopar foi montado em um *grid* para acompanhar a temperatura durante o processo de FIB.

Se concentrado nos dados fornecidos pelos autores, tem-se uma aparição constante, 12,5% cada, dos filmes de revestimento de carbono aplicado em uma nova metodologia de preparação de amostra FIB por Li, C. et al. (2018); formvar estabilizado com carbono; parlodion estabilizado com carbono; polímero, usado para a apresentação de um novo método e aparelho para conversão mecânica na preparação de amostras Kendrick (2006);

e sílica/nanocristais de diamantes fluorescentes, utilizado por Prabhakar (2018) na microscopia correlativa STED/TEM.

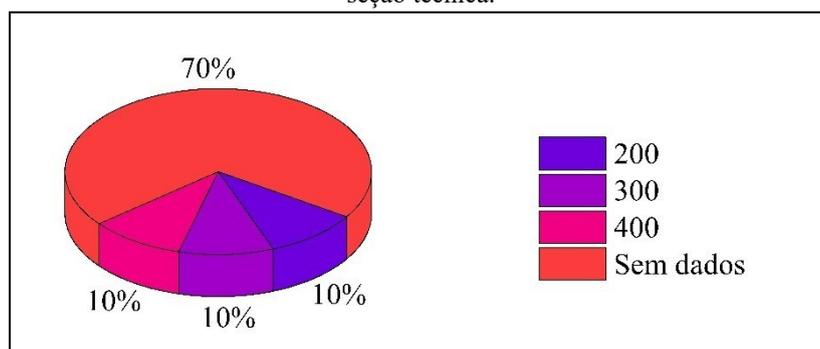
**Figura 27** – Distribuição percentual de materiais utilizados no revestimento dos grids para seção técnica.



**Fonte:** autora, 2021.

Por fim, tem-se os dados referentes aos tamanhos dos *grids* (gráfico 13), que em 70% dos casos foi completamente ignorado pelos autores, seja pelo não uso de *grids* convencionais ou pela pouca importância dos *meshs* das grades para as técnicas desenvolvidas. As três vezes que esta propriedade é citada – 200, 300 e 400, cada uma com 10% – é em um mesmo trabalho, onde há a metodologia de preparação de grades de coloração negativa é proposta (Schmidli 2018).

**Figura 28** – Distribuição percentual dos tamanhos utilizados de grids para seção técnica.



**Fonte:** autora, 2021.

## 5.5. Reaproveitamento dos *grids*

O reuso de *grids* de microscopia eletrônica de transmissão, apesar de não ter uma metodologia padrão publicada é realizado por diversos pesquisadores. Em alguns casos, na maioria das publicações formais, não se encontram referências diretas ao termo “reaproveitamento”, contudo há menção a limpeza de *grids* MET, seja antes – garantido a esterilidade do mesmo – ou após o uso no microscópio.

### 5.5.1. Literatura formal

Durante o levantamento bibliográfico, encontrou-se apenas três artigos que utilizaram uma metodologia de limpeza dos *grids*, dois na subdivisão de amostras orgânica e mais uma nas amostras inorgânicas.

Omer; Park (2014), utilizaram *grids* MET de cobre e 75 *mesh* como porta amostra de um biossensor de detecção de proteínas, para isto era preciso a certificação que os *grids* estavam completamente descontaminadas de modo que estas foram submetidas a uma sucessão de limpeza com os seguintes solventes: diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) e metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), consecutivamente.

Já Pantelic (2010) descreveram uma metodologia para a transferência de grafeno puro em camada única e contínua para *grids* quantifoil de ouro de 200 *mesh*. Neste trabalho, antes da disposição das folha de grafeno, os autores utilizaram o método de limpeza de plasma (*plasma cleaning*) por 30 segundos nos *grids*, com o argumento de que esta tornaria a adesão do filme mais fácil. Esta melhor adesão é justificável, visto o processo de limpeza e portanto remoção de impurezas dos *grids*, conferindo este superfície maior pureza.

Assim como no trabalho anterior o artigo de McGilvery (2012) utiliza o limpador de plasma (30 segundos e 3 tempos de 20 segundos) em diferentes *grids* de três empresas mais conhecidas e utilizadas, os pesquisadores assumiram que todos os revestimentos de carbono *holey* e *lacey* nos *grids* de cobre de tamanhos entre 300 – 500 *mesh* estavam contaminados e aplicaram o mesmo tratamento a todos.

Além da metodologia com o limpador de plasma, os autores propõem três outros procedimentos paralelos. No primeiro, cada lado do *grid* é colocado em contado direto, durante 5 minutos, com os respectivos solventes: etanol, isopropanol e etanol novamente.

Por fim, os *grids* são levados a placas de aquecimento (T: 100°C) durante 10 min para a secagem.

O segundo e terceiro método envolvem tratamento térmico, sendo respectivamente, utilizado um forno tubular (T: 220°C) sob fluxo de ar por 90 minutos e o último um forno à vácuo (T: 120°C) dedicado à preparação de amostras MET por 15 horas.

#### 5.5.2. Literatura informal – internet

Além do levantamento de livros e artigos, as pesquisas no buscador Google retornou um tópico de pergunta relacionado ao reuso de *grids* de cobre e níquel com revestimento formvar na rede social ResearchGate (anexo A). Neste o autor da pergunta, o pesquisador Kramer (2013), relata a sua preocupação com o custo do *grid* e em seguida comenta sua experiência utilizando clorofórmio concluindo que esta não foi satisfatória.

Como respostas obtém-se sugestões utilizadas por outros pesquisadores ao redor do mundo, como por exemplo dissolução completa do filme formvar em clorofórmio PA (2-3 mudanças) auxiliado pelo banho ultrassônico (5 – 10 minutos cada seção), seguido por uma lavagem com acetona PA e posterior mistura de HCl 3% e etanol 95% por alguns poucos minutos segundo, este mesmo pesquisador sugere, para os *grids* revestidos em carbono, o uso de limpadores de plasma (MUSS W.H., 2013).

Já outros pesquisadores citam suas metodologias que formam partes desta posteriormente citada, como a limpeza dos *grids* com 0,1 M de HCl, seguido de lavagem com água e etanol 70% (MIKESH, 2013); ou a imersão dos *grids* em clorofórmio em um sonicador, t: 10 – 15 minutos, com 3 repetições, seguida de uma lavagem com acetona e secagem no forno por algumas horas (INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA, 2014); já Kimler (2014) utiliza apenas clorofórmio e sonicação de pulso suave em *grids* de ouro.

#### 5.5.3. Tratamento químico – solventes e soluções

O tratamento químico consiste na imersão do material em um líquido, podendo ser um solvente ou uma solução desde que esse seja inerte em relação ao objeto da limpeza, reagindo somente com os contaminantes a serem removidos (DURKEE, 2013).

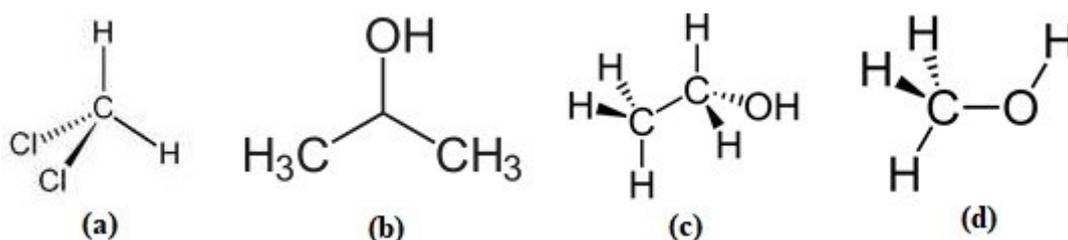
Para a escolha do agente do tratamento de contaminantes de caráter covalente, geralmente, generaliza-se pela expressão da química orgânica em que “semelhante dissolve semelhante”, Waldman (p. 15, 20?) explica essa afirmação da seguinte forma:

Na verdade, o semelhante a que ela se refere seriam as classificações de polar e apolar. Substâncias polares dissolvem substâncias polares e substâncias apolares dissolvem substâncias apolares.

Analisando as estruturas químicas dos solventes utilizados nas metodologias apresentadas (figura 14), tem-se que conforme a mudança de solvente a aumento na polaridade. Assim, tem-se que o diclorometano (fig. 13.a), o menos polar da seleção, solubiliza as moléculas de polaridade parecida; em seguida tem-se os álcoois que possuem uma parte apolar (C e H) e uma parte polar (hidroxila) e sabe-se que quanto menor a cadeia do hidrocarboneto, maior sua polaridade.

Portanto os autores, que desconhecem o caráter das impurezas utilizam os solventes, de forma crescente de polaridade para a eliminação das impurezas de forma que garante o sucesso da limpeza aplicando três tipos de solvente como Omer; Park (2014), ou como McGilvery (2012) que faz o uso de um solvente polar, em seguida um menos polar e finaliza a limpeza com o primeiro garantido a eliminação de compostos de diferentes polaridades.

**Figura 29** – Estruturas químicas em ordem de polaridade, sendo (a) diclorometano; (b) isopropanol, (c) etanol e (d) metanol.



**Fonte:** Pngwing (2021).

Já o uso de soluções parte do princípio das interações iônicas destas com as impurezas de caráter iônico, assim a solubilização desses agentes na solução é ocasionada pela solvatação dos íons das impurezas, ou seja, estes íons são envolvidos pelos íons do líquido em questão. Este procedimento é visualizado, tanto como na primeira etapa da lavagem de *grids*, antes do uso de etanol, quanto após a lavagem dos *grids* com solvente orgânico, também etanol, nas proposições do fórum de discussão.

Segundo Saunders (1973) os polivinílicos, material que compõe o formvar, é solúvel em uma série de solventes orgânicos, como hidrocarbonetos aromáticos (benzeno, tolueno), hidrocarbonetos clorados (clorofórmio e tetracloreto de carbono), álcoois inferiores (metanol e etanol), ésteres e cetonas, além de hidrolisar facilmente ao ser imerso em ácidos e álcalis.

Desde modo, justificando os tratamentos químicos aplicados aos *grids* com revestimento formvar, uma vez que não há estudos mais aprofundados que possam apontar qual solvente ou solução, ou combinações desses, tem o melhor desempenho na total solubilização deste filme.

#### 5.5.4. Tratamento térmico

O tratamento térmico visa a descontaminação a partir da decomposição das impurezas pelo calor, geralmente realizado em um processo de recozimento que pode ser executado em diferentes atmosferas.

Os filmes utilizados por McGilvery (2012) são constituídos de carbono amorfo, com as estruturas *holey* e *lacey*, que tem por característica principal não possuir estruturas ordenadas a longo alcance, além de que existe pouco conhecimento sobre a evolução dessas estruturas em filmes ultrafinos durante o recozimento térmico (WANG; KOMVOPOULOS, 2020).

Os autores utilizaram duas alternativas no tratamento térmico das grades MET, uma em atmosfera de ar e a outra sob vácuo, de maneira que as temperaturas dos dois procedimentos divergem consideravelmente, assim, visto que no forno à vácuo a umidade é retirada do ambiente constantemente pelas bombas de vácuo, esse consegue operar em menor temperatura (120°C), o que não é possível no forno tubular, onde há constante presença de gases, necessitando uma temperatura elevada (220°C).

No entanto, deve-se atentar ao uso excessivo de calor sob os *grids* recobertos filmes de carbono, pois mesmo estas apresentando boa desenvoltura em suas propriedades mecânicas e de resistência a temperaturas, em tratamentos longos e com temperaturas elevadas, estes filmes se tornam mecanicamente instáveis, quebrando no vácuo e/ou queimando no ar durante o aquecimento (LAN, 2010).

Outro fato que se deve levar em conta ao utilizar o recozimento como método de limpeza dos *grids* é o fato de que o processo realizado sob vácuo introduz menos defeitos sob condições semelhantes em comparação com outros processos de tratamento (ZHUANG, 2020).

Os pesquisadores concluem informando que as técnicas de tratamento térmico não apresentaram resultados esperados quanto a limpeza. O procedimento realizado em ar apresentou contaminação dos *grids* dado o uso do forno para outras atividades e no vácuo percebe-se certa diferença na estrutura, possibilitando a inferência de que houve remoção das impurezas, entretanto nada muito significativa. Isso é justificado por Lin (2011), quando ele afirma que superfícies de grafeno, que possuem estruturas mais ordenadas, não são limpas até que o aquecimento chegue a 700°C.

#### 5.5.5. Limpeza de plasma

O limpador de plasma é amplamente utilizado na indústria, uma vez que este é eficiente na eliminação de oxidação de superfícies, bem como resíduos minerais, podendo ser utilizada em diversos tipos de superfícies como plásticos, cerâmicas e metais. A depender do seu mecanismo de funcionamento, o limpador de plasma pode remover todos os contaminantes, ser seletivo ou ainda remover apenas compostos ligados fracamente a superfície.

De acordo com Hao; Ming (p. 329, 2013):

O plasma é uma mistura eletricamente neutra de elétrons, íons, radicais, fótons, produtos de recombinação e neutros criado pela aplicação de energia. Contaminantes podem ser removidos por íons ou radicais e formar compostos voláteis, então bombeado para fora do sistema.

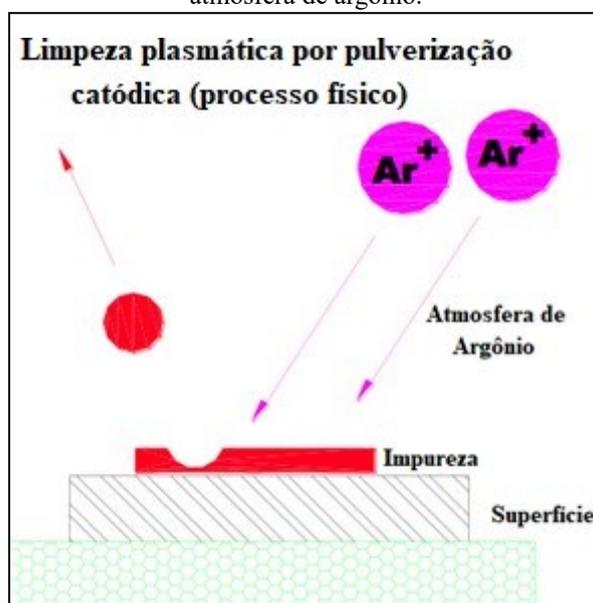
A limpeza plasmática ocorre por três tipos de mecanismo: aquecimento; pulverização catódica ou corrosão, onde cada tem suas particularidades quanto ao tipo de contaminante a ser removido. Ainda é possível a combinação destes para a obtenção de melhores resultados na limpeza.

A limpeza plasmática por aquecimento segue os preceitos do tratamento térmico, entretanto esse mecanismo necessita de uma quantidade inferior calor que os fornos utilizados no recozimento comum, visto que o objeto a ser limpo é submerso no plasma o aquecimento ocorre de maneira uniforme por toda a superfície de maneira que grandes temperaturas não são necessárias, além de que também não são permitidas, afim de evitar a formação de substâncias indesejadas. Desse modo, este mecanismo age de maneira

seletiva, removendo somente impurezas adsorvidas fisicamente ou ligadas fracamente a superfície (BELKIND; GERSHMAN, 2008).

A pulverização catódica, consiste na aplicação de uma voltagem externa entre o plasma e a superfície a ser limpa, este é um processo físico (figura 15), dado que os íons são acelerados e se chocam com as impurezas, as removendo pelo impacto. Dado esse princípio este mecanismo não é seletivo, além disso conforme a espessura das impurezas diminui o risco de eliminações de parte da superfície é eminente, possibilitando a criação de defeitos na mesma (BELKIND; GERSHMAN, 2008; SOUSA; SOARES, 1990).

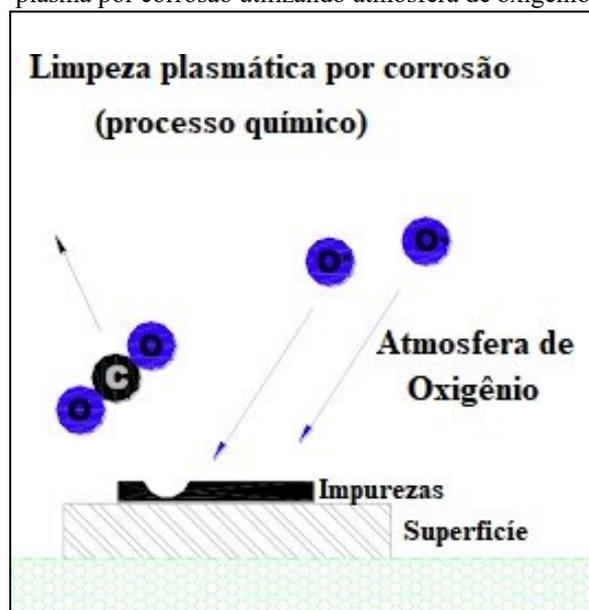
**Figura 30** – Esquematização processo de limpeza de plasma por pulverização catódica utilizando atmosfera de argônio.



Fonte: Integrated hybrid assembly, 2021 (adaptado).

Na limpeza de plasma por corrosão, o princípio é químico, assim as partículas do plasma reagem com a impurezas as removendo da superfície (figura 16). Este método se torna seletivo dado que as impurezas são adsorvidas nas moléculas gás do plasma – que podem ser: argônio/ar; oxigênio/argônio; nitrogênio/dióxido de carbono; nitrogênio/argônio; dentre outros – e posteriormente são retiradas da superfície pelo processo de dessorção (BELKIND; GERSHMAN, 2008; HYPERTHERM, 2016).

**Figura 31** – Esquematização processo de limpeza de plasma por corrosão utilizando atmosfera de oxigênio.



Fonte: Integrated hybrid assembly, 2021 (adaptado).

#### 5.5.6. Limpeza aquosa x Limpeza plasmática x Limpeza térmica

Cada tipo de tratamento abordado tem suas próprias especificações, vantagens e desvantagens a depender do tipo de superfície e impurezas as quais são submetidas. Diante dos resultados obtidos e explorados neste trabalho, tem-se que os *grids* mais utilizadas em todos os tipos de amostras classificados (inorgânicas, biológicas, orgânicas) e a área técnica são as de cobre revestidas em carbono.

No caso da limpeza de *grids* MET é possível encarar a esta de dois pontos, a limpeza antes da análise de microscopia, ou seja, na remoção de possíveis impurezas sob o filme do *grid*, como alguns autores discutidos nessa seção o fizeram; ou ainda, como proposto inicialmente, visualizando o filme e as amostras, já analisadas no MET, presentes nos *grids* como contaminação.

Dessa forma, a limpeza antes da disposição da amostra sob o *grid* leva em conta somente os possíveis contaminantes vindos da fabricação da mesma. Sobre estas impurezas pouco se sabe, a menos que sejam realizadas análises no MEV, por exemplo, o que encareceria a microscopia de transmissão e aumentaria ainda mais o tempo da mesma. Portanto, sem a ciência dos agentes ali presentes a aplicação de tratamentos térmicos e plasmáticos por aquecimento seriam preferidos em vista do tratamento químico.

O mecanismo de limpeza do limpador por plasma por aquecimento, é semelhante ao processo do tratamento térmico. Comparando os diretamente, tem-se uma maior vantagem do tratamento plasmático quanto as temperaturas necessárias para o procedimento, haja vista que este necessita de uma temperatura menor que o tratamento térmico convencional, bem como uma menor chance de contaminação do filme. Entretanto, a primeira precisa de um equipamento específico de alto custo de investimento, enquanto o outro pode ser desenvolvido em fornos tubulares, uma vez tomando todos os cuidados contra novas contaminações.

Os outros mecanismos do limpador plasmático não teriam uma boa aplicação, uma vez que as impurezas sob *grids* nunca utilizados são quase imperceptíveis, ou seja, tem espessuras muito próximas ou estão incrustadas no filme, a limpeza por pulverização catódica poderia remover parte do filme de carbono. Já a limpeza por corrosão fica impossibilitada pelo mesmo motivo da limpeza química.

Já para a primeira etapa da recuperação dos *grids* após a análise, a limpeza, visa-se a obtenção do *grid* de metal sem cobertura. Uma vez que se tem conhecimento das amostras analisadas, sabendo sua estrutura, é possível aplicar além dos métodos anteriormente citados, a limpeza química, valendo-se de solventes e soluções, como também o uso tanto da limpeza de plasma por pulverização catódica como a por corrosão.

A limpeza por pulverização catódica pode ser utilizada facilmente, visto o objetivo de eliminar mais de uma camada dos componentes nos *grids*, todavia, a profundidade de penetração do plasma pode ser um empecilho, bem como não é possível garantir que partes do metal do *grid* não vai ser removida também.

A limpeza química e o limpador de plasma por corrosão também podem ser utilizados, visto que se sabe a natureza das espécies depositadas sob o filme e por tanto se pode escolher os agentes de limpeza necessários. O tratamento químico fica em desvantagem comparado ao tratamento plasmático dada a sua sensibilidade na concentração e tempo de reação, além do uso de solventes potencialmente tóxicos, bem com a geração de resíduos que também necessitaram de tratamento. O que não é visto no tratamento com o plasma já que os produtos residuais, geralmente, estão em forma gasosa e são liberados pela bomba de vácuo.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão bibliográfica iniciou-se como um mecanismo para basear o trabalho experimental do desenvolvimento da metodologia de reaproveitamento de *grids* MET, entretanto diante do volume de informação a ser catalogada este trabalho tornou-se puramente teórico.

O levantamento da literatura se dividiu em dois momentos, no primeiro objetivou-se catalogar informações referentes ao uso do *grid*, uma peça que tem pouca atenção na bibliografia, em cada uma das grandes áreas que utilizam a técnica de microscopia eletrônica de transmissão.

Assim, foi possível, inferir que entre todas as áreas subdivididas em tipos de amostras – inorgânicas, biológicas, orgânicas – os *grids* de cobre são as mais utilizadas, o que faz sentido, visto o custo benefício desta quanto a aplicabilidade. Entretanto, o segundo material mais utilizado em cada área, reflete os *grids* mais específicos para cada tipo de amostra.

Deste modo temos que as amostras inorgânicas são bem analisadas em *grids* de carbono, enquanto que as biológicas são examinadas utilizando *grids* de níquel. Já as amostras orgânicas, utilizam *grids* de um material mais nobre, o ouro. Quando se concentrando em tipos de revestimento, novamente se encontra uma convergência nos mais utilizados, o filme fino de carbono amorfo, seguido pelo filme de formvar suportado em carbono, isto para as três subáreas discutidas. Já tamanho dos *grids* priorizados ficaram restringidos aos médios, 200 e 300 *mesh*, dado as dimensões das amostras analisadas, todas em escalas nanométricas.

A categoria técnica como já comentada anteriormente é uma exceção à regra quanto a aplicabilidade dos *grids*, visto que nem sempre este é utilizado para sua função original, priorizando desenvolvimento de metodologias e/ou técnicas de análise.

Após essa investigação, a pesquisa se concentrou em dados da literatura acerca da limpeza destes *grids*, todavia o assunto é pouco explorado formalmente, de forma que a discussão do assunto em uma plataforma informal retornou os melhores resultados.

Esta constatação justifica a necessidade deste trabalho, na catalogação dessas metodologias, bem como análise teórica dos princípios físicos e químicos, a essas

aplicadas. Entretanto, isto por si só não é suficiente, agora, com os parâmetros teóricos bem estabelecidos, fica em aberto a execução das metodologias, afim de determinar as condições ótimas para uma boa limpeza dos *grids*, visto que o método de criação e aplicação de filmes de revestimento são bem definidos.

Após esse estabelecimento, tem-se a última etapa necessária para a formalização de uma técnica de reaproveitamento de *grids* em microscopia eletrônica, análise da viabilidade econômica e do procedimento em si. Por tanto, o trabalho ainda está no começo.

Contudo, este vem com a importante tarefa de ser apresentado como um guia para as mais diversas áreas que necessitem o uso do MET, uma vez que concentra e explica detalhadamente a aplicação de diversos tipos de *grids*, quanto ao material, tipo de revestimento e tamanho do *grid*. O que, no momento, não é alcançável de maneira simples na literatura.

## 7. REFERÊNCIAS

AYACHE, Jeanne et al. **Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy: techniques**. Nova York: Springer, 2010. 338 p.

ARODI, C.; et al. Detection of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Biomarker with a Screen-Printed Electrode Modified with Graphene. **Sensors**, [S.L.], v. 19, n. 19, p. 4297, 4 out. 2019. DOI: 10.3390/s19194297. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/19/19/4297>. Acesso em: 13 jun. 2021.

ASSEMBLY, Integrated Hybrid. Plasma Cleaning. Disponível em: <http://www.integratedhybridassembly.com/plasma-cleaning/>. Acesso em: 20 out. 2021.

AUCHTER, E. et al. A facile alternative technique for large-area graphene transfer via sacrificial polymer. **Aip Advances**. [S.I.], p. 125306. dez. 2017. DOI: 10.1063/1.4986780.

Disponível em: <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4986780>. Acesso em: 14 set. 2020.

Belkind, A. & Gershman, S. Plasma cleaning of surfaces. (2008) **Vac. Technol. Coat.** 1-11. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/284486745\\_Plasma\\_cleaning\\_of\\_surfaces](https://www.researchgate.net/publication/284486745_Plasma_cleaning_of_surfaces). Acesso em: 03 dez. 2020.

BIOSCIENCE, Start. **Grade para Microscopia Eletrônica com filme de Carbono, grid quadrado (Cobre, Níquel, Ouro)**. Disponível em: <https://startbioscience.com.br/produto/grade-para-microscopia-eletronica-com-filme-de-carbono-grid-quadrado-cobre-niquel-ouro/>. Acesso em: 13 jun. 2021.

CANEVAROLO JR., S.V. (org.). **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Carlos: Artliber, 2017. 448 p.

CAPES. **CAFe e acesso remoto ao Portal de Periódicos CAPES**. [s.d.]. Disponível em: <http://mailer.periodicos.capes.gov.br/?m=138&p=view&pi=ViewBrowserPlugin&uid=2f8fa7c8723efa19b1958db739494389>. Acesso em: 02 set. 2020.

CHINA, Electron Microscopy. **TEM Grids**. Disponível em: <http://en.emcn.com.cn/en/product.php?fid=2>. Acesso em: 25 jun. 2020.

CLARIVATE (org.). **WEB OF SCIENCE CORE COLLECTION**: Guia de Referência. Disponível em: [https://www.periodicos.capes.gov.br/images/documents/Web%20of%20Science%20Core%20Collection%20\(guia\).pdf](https://www.periodicos.capes.gov.br/images/documents/Web%20of%20Science%20Core%20Collection%20(guia).pdf). Acesso em: 02 nov. 2020.

COMPANY, Fei. **Introduction to Electron Microscopy**. Nova York: Thermofisher Scientific, 2006. Disponível em: <https://cupdf.com/document/introduction-to-electron-microscopy.html>. Acesso em: 25 out. 2021.

COUTRIM, M. X. QUI201 (QUI145) – **QUÍMICA ANALÍTICA B (Química Industrial)**. Ouro Preto: Ufop, 2017. 26 slides. Disponível em: [http://professor.ufop.br/sites/default/files/mcoutrim/files/qui201\\_10a\\_e\\_11a\\_aula\\_oxireducao\\_2017-1.pdf](http://professor.ufop.br/sites/default/files/mcoutrim/files/qui201_10a_e_11a_aula_oxireducao_2017-1.pdf). Acesso em: 25 nov. 2020.

da COSTA, F. R. T. **Microscopia Eletrônica de Varredura: potencialidades e aplicações**. 2016. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Química Industrial, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016. Disponível em: <https://monografias.ufma.br/jspui/bitstream/123456789/1506/1/FernandaCosta.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2020.

da SILVA, L. C. E. et. al. Specimen preparation optimization for size and morphology characterization of nanocellulose by TEM. **Cellulose**. [S.L.], p. 5435-5444. abr. 2020. DOI: 10.1007/s10570-020-03116-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10570-020-03116-7>. Acesso em: 22 jun. 2021.

da SILVA, R. C. B. **Físico-química**. Fortaleza: Ed Uece, 2019. 112 p.

da Silva, T. H. C. et al. **MOLIBDÊNIO**. Brasília: DNPM, 2013. 2 p. Disponível em: [https://sistemas.anm.gov.br/publicacao/mostra\\_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=8995](https://sistemas.anm.gov.br/publicacao/mostra_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=8995). Acesso em: 25 nov. 2020.

DASARI, A. *et al.* **Polymer Nanocomposites**: towards multi-functionality. London: Springer, 2016. 305 p.

DURKEE, J. **Cleaning with Solvents: Science and Technology**. Texas: Elsevier, 2013. 780 p.

ECHLIN, P. **Handbook of Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis**. Cambridge: Springer Science, 2009. 330 p. DOI: 10.1007/978-0-387-85731-2. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-85731-2>. Acesso em: 28 jun. 2020.

ED PELLA INC.. PELCO® **Grids**: for transmission electron microscopy. or transmission electron microscopy. Disponível em: [https://www.tedpella.com/grids\\_html/Pelco-TEM-Grids.htm](https://www.tedpella.com/grids_html/Pelco-TEM-Grids.htm). Acesso em: 13 jul. 2021.

ESCOBAR, H. **Dados mostram que ciência brasileira é resiliente, mas está no limite**. 2021. Disponível em: <https://jornal.usp.br/?p=425214>. Acesso em: 13 abr. 2021.

FONSECA CAMARGOS, J. S.; et al. CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES DO GRAFENO E DO ÓXIDO DE GRAFENO E AS PRINCIPAIS ROTAS PARA SÍNTESE. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, Viçosa, v. 3, n. 8, p. 1118-1130, 2017. DOI: 10.18540/jcecvl3iss8pp1118-1130. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/jcec/article/view/2437>. Acesso em: 17 out. 2021.

FOURIE, J. T. Gold in electron microscopy. **Gold Bulletin**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 2-6, mar. 1982. Springer Science and Business Media LLC. DOI: 10.1007/bf03216564. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03216564#citeas>. Acesso em: 25 jun. 2021.

GAHLOT. **MODULE IV TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY (TEM)**. 2020. Disponível em: [https://www.deshbandhucollege.ac.in/pdf/resources/1585214437\\_PHY\(H\)-VI-NANO\\_MATERIAL-11-AJAYPRATAP.pdf](https://www.deshbandhucollege.ac.in/pdf/resources/1585214437_PHY(H)-VI-NANO_MATERIAL-11-AJAYPRATAP.pdf). Acesso em: 08 dez. 2020.

HAO, W. J.; MING, L. Y. A comparative analysis on physical and chemical plasma cleaning effects on surfaces. In: **2013 IEEE 15TH ELECTRONICS PACKAGING TECHNOLOGY CONFERENCE (EPTC 2013)**, 15., 2013, Singapore. 2013 IEEE 15TH ELECTRONICS PACKAGING TECHNOLOGY CONFERENCE (EPTC 2013),. [S.L.]: IEEE, 2013. p. 329-334. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/6745737>. Acesso em: 01 dez. 2020.

HITACHI. **Hitachi's Coherent Cold-Field-Emission Source**. Disponível em: [https://www.hitachi-hightech.com/file/us/pdf/library/technical/hitachi\\_coherent\\_cold\\_field\\_emission\\_source.pdf](https://www.hitachi-hightech.com/file/us/pdf/library/technical/hitachi_coherent_cold_field_emission_source.pdf). Acesso em: 20 out. 2021.

ILITCHEV, A. et al. **How Do You Make an Electron Beam?** 2019. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/blog/microscopy/electron-source-fundamentals/>. Acesso em: 13 jun. 2021.

INC, Simpure. **Factors For Consideration When Selecting TEM Windows**. 2011. Disponível em: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=2799>. Acesso em: 14 ago. 2021.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria **How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?** 2014. ResearchGate: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Disponível em: <https://www.researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse>. Acesso em: 04 dez. 2020.

KENDRICK, A. B. et al. Mechanical Conversion for High-Throughput TEM Sample Preparation. Conference **Series**. [S.L.], p. 227-230. fev. 2006. DOI: 10.1088/1742-6596/26/1/054. Disponível em: <https://portal.issn.org/resource/ISSN/1742-6596>. Acesso em: 02 nov. 2020.

Kimler, V. A. **How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?** 2014 ResearchGate: Kimler, V. A. Disponível em: <https://www.researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse>. Acesso em: 04 dez. 2020.

KRAMER, D. **How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?** 11 dez. 2013. ResearchGate: Duco Kramer. Disponível em: <https://www.researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse>. Acesso em: 04 dez. 2020.

LAN, Y. et al. *Grids for Applications in High-Temperature High-Resolution Transmission Electron Microscopy*. **Journal Of Nanotechnology**, [S.L.], v. 2010, , p. 1-6, jun. 2010. DOI: 10.1155/2010/279608. Disponível em: <https://dspace.mit.edu/bitstream/handle/1721.1/61384/Lan-2010->

*Grids%20for%20Applications%20in%20High-Temperature%20High-Resolution.pdf?sequence=2&isAllowed=y*. Acesso em: 20 out. 2021.

LEAL, Luiz Henrique Monteiro. **Fundamentos da Microscopia**. Rio de Janeiro: Eduerj, 2000. 128 p.

LI, C.; et. al. An improved FIB sample preparation technique for site-specific plan-view specimens: a new cutting geometry. **Ultramicroscopy**, [S.L.], v. 184, p. 310-317, jan. 2018. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ultramic.2017.09.011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29096249/>. Acesso em: 03 nov. 2020.

LIN, Y.-C. et al. Graphene Annealing: how clean can it be. **Nano Letters**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 414-419, 15 dez. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/nl203733r>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22149394/>. Acesso em: 20 out. 2021.

Ma W.; Xue S. [A practical method of whole mount TEM sample preparation and the study of nuclear matrix-intermediate filament scaffolds in K562 cells]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 1994 Apr;16(2):104-8. Chinese. PMID: 7987935

MACHADO, Craig A. et al. Hierarchical Fractal Assemblies from Poly(ethylene oxide-b-lysine-b-leucine). **Biomacromolecules**, [S.L.], v. 20, n. 7, p. 2557-2566, 20 jun. 2019. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/acs.biomac.9b00337. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.9b00337>. Acesso em: 13 jun. 2021.

MARKS, M.R. et al. A high-quality cross-sectional transmission electron microscope specimen preparation technique for structural and interfacial property studies in microelectronic packaging. **Microelectronics Reliability**. [S.L.], p. 807-815. jan. 2018. DOI: 10.1016/0026-2714(94)E0018-I. Disponível em: <https://ur.booksc.eu/book/2352751/7adf3d>. Acesso em: 14 nov. 2021.

MARTINEZ-DUARTE, Rodrigo et al. Carbon MEMS. **Encyclopedia Of Nanotechnology**, Dordrecht, p. 1-8, 10/2015. Springer Netherlands. DOI 10.1007/978-94-007-6178-0\_101022-1. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/304196536\\_Carbon\\_MEMS](https://www.researchgate.net/publication/304196536_Carbon_MEMS). Acesso em: 13 jun. 2021.

MCGILVERY, C. M. et al. Contamination of *holey/lacey* carbon films in STEM. **Micron**. [S.L.], p. 450-455. fev. 2012. DOI: 10.1016/j.micron.2011.10.026. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22192979/>. Acesso em: 25 jun. 2021.

MCMAHON, D.J. et al. Supramolecular Structure of the Casein Micelle. **Journal Of Dairy Science**. [S.L.], p. 1709-1721. maio 2008. DOI: 10.3168/jds.2007-0819. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030208712074>. Acesso em: 14 set. 2021.

MERCK, Sigma Aldrich -. **Grid**. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/search/grid?focus=products&page=1&perPage=30&sort=relevance&term=grid&type=product>. Acesso em: 13 jul. 2021.

Mikesh, M. **How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?** 2013. ResearchGate: Mikesh, M.. Disponível em: <https://www.researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse>. Acesso em: 04 dez. 2020.

**MOLÉCULAS**. Disponível em: <https://www.pngwing.com/pt>. Acesso em: 25 out. 2021.

MOREIRA, C. Microscópio ótico. **Revista de Ciência Elementar**, [s. l], v. 1, n. 1, p. 1-3, out. 2013. Disponível em: [https://www.fc.up.pt/pessoas/jfgomes/pdf/vol\\_1\\_num\\_1\\_05\\_art\\_microscopioOtico.pdf](https://www.fc.up.pt/pessoas/jfgomes/pdf/vol_1_num_1_05_art_microscopioOtico.pdf). Acesso em: 13 jun. 2021

MULLIGAN, S. K. et al. Multiplexed TEM Specimen Preparation and Analysis of Plasmonic Nanoparticles. **Microscopy And Microanalysis**. [S.L.], p. 1017-1025. jul. 2015. DOI: 10.1017/S1431927615014324. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26223550/>. Acesso em: 22 nov. 2020.

Muss W.H. **How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?** 2013. ResearchGate: Muss W.H. Disponível em: <https://www.researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse>. Acesso em: 04 dez. 2020.

NAFARI, A. et al. MEMS Sensor for In Situ TEM Atomic Force Microscopy. **Journal Of Microelectromechanical Systems**, Pittsburgh, v. 17, n. 2, p. 328-333, abr. 2008. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). DOI 10.1109/jmems.2007.912714. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/4446608>. Acesso em: 13 jun. 2021.

NOSSOL, E. **Novos eletrodos construídos a partir de diferentes nanoestruturas de carbono**. 2009. 153 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/19683/Dissertacao%20Edson%20Nos%20sol%20Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 14 abr. 2021.

OLEA, C. A. W. **Caracterização por Microscopia Eletrônica do Aço SAE 1141 microligado ao Nb**. 2002. 90 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2002.

OMER, M. et al. Preparation of QP4VP-b-LCP liquid crystal block copolymer and its application as a biosensor. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**. [S.L.], p. 5369-5378. jul. 2014. DOI: 10.1007/s00216-014-7900-y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-014-7900-y>. Acesso em: 03 jan. 2021.

PADILHA, A. F. **Microscopia Eletrônica de Transmissão para Iniciantes**. São Paulo: Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de S. Paulo, 2021. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/348663258\\_Microscopia\\_Eletronica\\_de\\_Transmissao\\_para\\_Iniciantes](https://www.researchgate.net/publication/348663258_Microscopia_Eletronica_de_Transmissao_para_Iniciantes). Acesso em: 14 jun. 2020.

PANTELIC, Radosav S. et al. Graphene: substrate preparation and introduction. **Journal Of Structural Biology**. [S.L.], p. 234-238. abr. 2011. DOI: 10.1016/j.jsb.2010.10.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20937392/>. Acesso em: 05 jan. 2021.

PARK, Y. M., et al Measurement and estimation of temperature rise in TEM sample during ion milling. **Ultramicroscopy**, [S.L.], v. 107, n. 8, p. 663-668, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultramic.2007.01.002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17307292/>. Acesso em: 03 jan. 2021.

PENNA-FRANCA, E. et al. Preparo de filmes-suporte para microscópio eletrônico. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 26, p. 35, mar. 1952. DOI: 10.1590/s0074-02761952000100002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/r3SfXYvFffxWYk88c6BrFqn/?lang=pt>. Acesso em: 13 jun. 2021.

PERGO, E. M.; et al. Metodologia de microscopia eletrônica de transmissão aplicada ao estudo de raízes de plântulas. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 175-186, 2019. DOI: 10.25061/2527-2675/ReBraM/2019.v22i1.505. Disponível em: <https://revistarebram.com/index.php/revistauniara/article/view/505>. Acesso em: 17 out. 2021

POIZOT, P. et al. A Disordered Copper-Palladium Alloy Used as a Cathode Material. **Platinum Metals Review**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 84-95, 1 abr. 2008. Johnson Matthey. <http://dx.doi.org/10.1595/147106708x292517>. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/664e/a28fa510f3200afc71d9494f7395a7b0995c.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2021.

PRABHAKAR, Neeraj et al. STED-TEM Correlative Microscopy Leveraging Nanodiamonds as Intracellular Dual-Contrast Markers. **Small**. [S.I.], p. 1701807-1701810. dez. 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/sml.201701807>. Acesso em: 03 jan.2021.

PRAMANICK, B. et al. Carbon TEM *grids* fabricated using C-MEMS as the platform for suspended carbon nanowire characterization. **Carbon**, [S.L.], v. 113, p. 252-259, mar. 2017. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.carbon.2016.11.048. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008622316310223>. Acesso em: 14 nov. 2020.

RAMOS, T. M. **Potencialidades da microscopia eletrônica (transmissão e varredura) e microscopia confocal como ferramentas para análises de amostras biológicas**. 2013. 49 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/96777>. Acesso em: 28 jun. 2020.

REIMER, L. **Transmission Electron Microscopy: physics of image formation and microanalysis**. 2. ed. Nova York: Springer, 1989. 547 p.

ROCHOW, T. G.; ROCHOW, E. G. **An Introduction to Microscopy by Means of Light, Electrons, X-Rays, or Ultrasound**. 2. ed. Nova York: Plenum Press, 1979. 367 p.

SAUNDERS, K. J.. **Organic Polymer Chemistry**. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Incorporated, 1973. 473 p.

SAWYER, L. C.; GRUBB, D. T. **Polymer Microscopy**. Dordrecht: Springer, 1996. 399 p.

SCHMIDLI, C. et al. Miniaturized Sample Preparation for Transmission Electron Microscopy. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], n. 137, 27 jul. 2018. DOI: 10.3791/57310. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30102271/>. Acesso em: 25 mar. 2021.

SENZ, S; KOPPERSCHMIDT, P; LANGER, E; SIEBER, H; HESSE, D. Optimisation of the wire-shadow TEM cross-section preparation technique. **Ultramicroscopy**, [S.L.], v. 70, n. 1-2, p. 23-28, dez. 1997. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0304-3991(97)00082-x. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030439919700082X>. Acesso em: 13 jun. 2021.

SOM, A. **Electron Microscopy (EM) Grid**. [S. L.]: Pradeep Research Group, 2014. 13 slides. Disponível em: [https://tue.iitm.ac.in/Teaching\\_and\\_Presentation/grouppresentations/instrumental\\_presentation2014/25-01-14.pdf](https://tue.iitm.ac.in/Teaching_and_Presentation/grouppresentations/instrumental_presentation2014/25-01-14.pdf). Acesso em: 28 nov. 2020.

SOUSA, M.; SOARES, O. Pulverização catódica — Notas introdutórias. **Gaz. Fís**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 123-128, mar. 1990. Disponível em: <https://www.spf.pt/magazines/GFIS/431/article/1404/pdf>. Acesso em: 03 nov. 2020.

SPECIAL PATTERN *GRIDS* (org.). **TYPES OF GRIDS**. Disponível em: <https://www.scienceservices.eu/tools-supplies/tem-grids/info-tem-grids/types-of-grids>. Acesso em: 14 jun. 2020.

TED PELLA INC. **ULTRATHIN CARBON FILM SUPPORTED BY A LACEY CARBON FILM ON A 400 MESH COPPER GRID** Product No. 01824. Califórnia, 2006. 1 p. Disponível em: [https://www.tedpella.com/technote\\_html/01824TN.pdf](https://www.tedpella.com/technote_html/01824TN.pdf). Acesso em: 25 ago. 2021.

TELES, V. C. et al. **Circular Técnica 15: uso de microscopia de luz e eletrônica como técnicas de análise morfológica**. Brasília: Embrapa, 2017. 9 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1085307/1/CIT15CNPAE.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2020.

VIEIRA, F. S. **Introdução à Microscopia: introdução à microscopia**. 2008. 68 f. Universidade Federal de Sergipe / Cesad, São Cristovão, 2008. Cap. 4. Disponível em: [https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/09072020092012Introducao\\_a\\_Microscopia\\_Aula\\_5.pdf](https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/09072020092012Introducao_a_Microscopia_Aula_5.pdf). Acesso em: 25 nov. 2020.

WALDMAN, W. R. **Interações Intermoleculares e suas relações com solubilidade**. 20? 19 f. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: [http://www.propg.unirio.br/ccbs/ibio/dcn/disciplinas/quimica-geral/textos-complementares\\_teorias/Texto%207\\_interacoes\\_intermoleculares.pdf](http://www.propg.unirio.br/ccbs/ibio/dcn/disciplinas/quimica-geral/textos-complementares_teorias/Texto%207_interacoes_intermoleculares.pdf) Acesso em: 14 abr. 2021.

WANG, S.; KOMVOPOULOS, K. Structure evolution during deposition and thermal annealing of amorphous carbon ultrathin films investigated by molecular dynamics simulations. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, maio 2020. Springer Science and Business Media LLC. DOI: 10.1038/s41598-020-64625-w. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-64625-w#citeas>. Acesso em: 13 jun. 2021

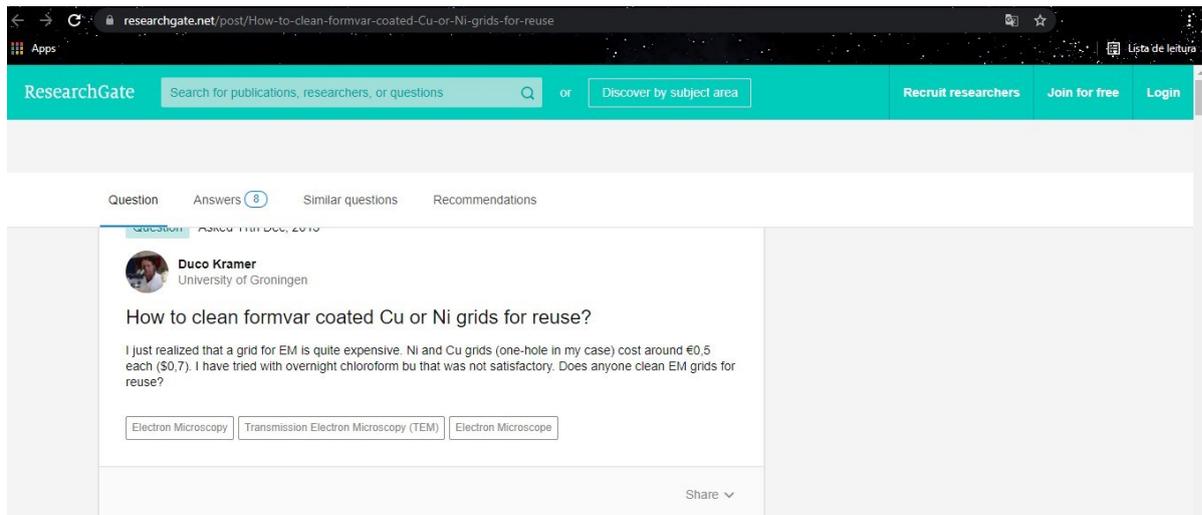
WILLIAMS, D. B.; CARTER, C. B. **Transmission Electron Microscopy: a textbook for materials science**. 2. ed. Nova York: Springer, 2009. 760 p.

WWWVERDE (Pelotas). Ufpel (org.). **A QUÍMICA VERDE NO BRASIL**. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/wwverde/a-quimica-verde-no-brasil/>. Acesso em: 25 jun. 2021.

YOO, S.J.; et al. Characterization of an amorphous carbon film covering a Mo *grid* during in situ heating TEM study. **Materials Characterization**, [S.L.], v. 78, p. 31-36, abr. 2013. DOI: 10.1016/j.matchar.2013.01.011. Disponível em: <https://www.sciencegate.app/document/10.1016/j.matchar.2013.01.011>. Acesso em: 14 jun. 2021.

ZHUANG, B. et al. Ways to eliminate PMMA residues on graphene — superclean graphene. **Carbon**, [S.L.], v. 173, n. 1, p. 609-636, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.carbon.2020.11.047. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000862232031126X#!>. Acesso em: 03 dez. 2020.

## 8. ANEXO A – pergunta de Kramer (2014) na rede social Research Gate.



The screenshot shows a web browser window displaying a post on the ResearchGate platform. The browser's address bar shows the URL: `researchgate.net/post/How-to-clean-formvar-coated-Cu-or-Ni-grids-for-reuse`. The ResearchGate header includes a search bar with the text "Search for publications, researchers, or questions" and a "Discover by subject area" button. Navigation links for "Recruit researchers", "Join for free", and "Login" are also visible.

The post content is as follows:

Question    Answers (8)    Similar questions    Recommendations

**Duco Kramer**  
University of Groningen

### How to clean formvar coated Cu or Ni grids for reuse?

I just realized that a grid for EM is quite expensive. Ni and Cu grids (one-hole in my case) cost around €0.5 each (\$0.7). I have tried with overnight chloroform bu that was not satisfactory. Does anyone clean EM grids for reuse?

Electron Microscopy    Transmission Electron Microscopy (TEM)    Electron Microscope

Share ▾