

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION Y DIFRACCION DE ELECTRONES DE POLIMEROS

per

S. MUÑOZ GUERRA

ETSIIB. Universidad Politécnica de Catalunya

INTRODUCCIÓN

La interacción de los electrones con la materia es un fenómeno complejo de múltiples efectos, los cuales son controlados mediante las técnicas apropiadas y así aprovechados para conocer la estructura interna de los materiales. La técnica de microscopía electrónica de transmisión se ocupa de la información contenida en aquellos electrones que traspasan una muestra sólida sobre la que se ha hecho incidir un haz electrónico coherente y a gran velocidad. La heterogénea distribución de densidad electrónica presente en la muestra provoca en la radiación transmitida la formación de imágenes de interferencia, que adecuadamente interpretadas, revelan sus características morfológicas y estructurales. Este es asimismo el fundamento de la microscopía óptica y el avance que supone la microscopía electrónica respecto a ella es en última instancia una consecuencia de la distinta naturaleza de la radiación que se emplea en cada caso. Debido al fenómeno de difracción inherente a toda interacción onda-materia, la resolución que se consigue en el análisis microscópico viene limitada por la longitud de onda de la radiación empleada. Para el fotón esta cota se encuentra alrededor de los 200 nm mientras que para el electrón, con una longitud de onda del orden de 10^4 - 10^5 veces más pequeña, llega a ser inferior a los 0.2 nm. El desarrollo de instrumentos precisos y provistos de eficaces dispositivos correctores ha conseguido establecer este nivel de resolución como especificación típica de los microscopios electrónicos que se comercializan en la actualidad. La microscopía electrónica se configura así como una técnica capaz de resolver estructuras a nivel atómico y de hecho ya comienzan a ser clásicas las observaciones llevadas a cabo estos últimos

años, en las que ha sido posible discernir los átomos e iones integrantes de ciertas redes cristalinas.¹

Aunque la microscopía electrónica de transmisión ha encontrado su máxima expresión en la observación de materiales biológicos, su papel en el estudio de la estructura de materiales tecnológicos es sin duda alguna sobresaliente y hoy en día se le considera indispensable en este sentido. Metales, cerámicos y polímeros vienen siendo explorados con el microscopio electrónico como único medio para conocer la relación entre la morfología y la estructura a nivel atómico o molecular. La difracción de electrones se erige por otra parte como técnica insustituible en el análisis estructural de muestras microscópicas de estos materiales.

LA FORMACION DE LA IMAGEN

El mecanismo de formación de la imagen en el microscopio electrónico es un proceso complicado cuya descripción detallada queda fuera del alcance de este trabajo. Aquí nos referiremos solo de una manera cualitativa a los fenómenos básicos implicados, los cuales determinan en gran parte las posibilidades y modos de operar de la técnica.

Los electrones que se transmiten a través de una muestra sobre la que se ha hecho incidir un haz electrónico coherente se catalogan en tres tipos:

- a) *Electrones no desviados* con cinética idéntica a la de los incidentes.
- b) *Electrones desviados elásticamente*.
- c) *Electrones inelásticos*, que son desviados cediendo parte de su energía a la muestra.

Los electrones no desviados y los elásticos son los únicos que contribuyen constructivamente a la formación de la imagen. La fracción inelástica es por otra parte la responsable del ruido de fondo presente en toda imagen de microscopía electrónica.

Según la teoría de Abbe (Fig. 1), las interferencias que se producen en un frente de onda transmitido por una muestra y que a continuación se ha hecho refractar por una lente, originan en el plano focal posterior una imagen de difracción y a continuación una segunda imagen (imagen secundaria) que representa al objeto y que define el plano de imagen de la citada lente.² El microscopio electrónico permite visualizar alternativamente cualquiera de estas dos imágenes con lo que es posible llevar a cabo de manera simultánea el análisis de difracción de electrones y la observación morfológica de una misma muestra.

El modo común de operar en el microscopio electrónico consiste en visualizar la imagen secundaria, la cual se registra como una proyección bidimensional de la densidad electrónica presente en la muestra. Solo en aquellos casos en que la fluctuación de densidad electrónica sea significati-

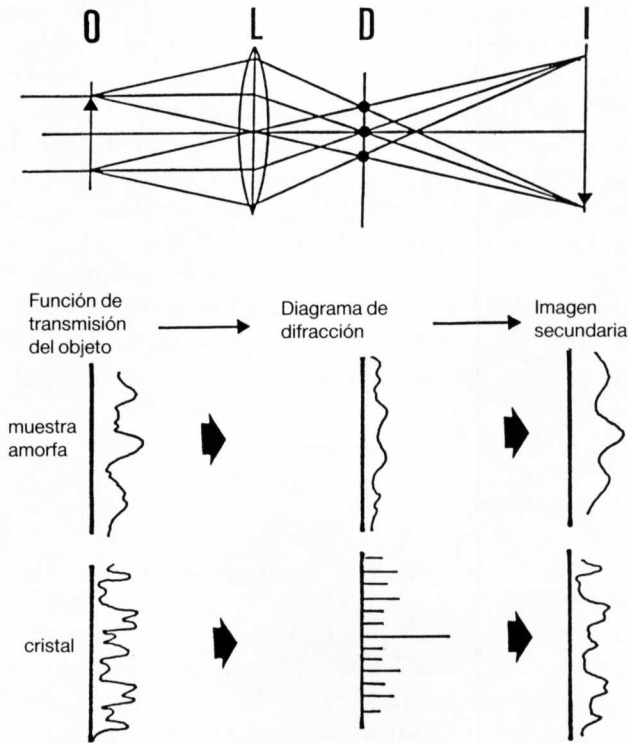


Figura 1. Geometría de la formación de la imagen de un objeto según la teoría de Abbe. O: objeto, L: lente objetivo, F: plano focal posterior, I: plano de imagen

va se obtendrá una representación lo suficientemente contrastada como para extraer información sobre la naturaleza de la muestra. Las sustancias orgánicas se caracterizan por poseer una distribución de densidad electrónica bastante homogénea, por lo que sus imágenes son por lo general inexpresivas. La solución técnica consiste en aplicar un agente de tinción, constituido por átomos pesados (uranio, plomo, volframio, etc.) que de manera selectiva se fija sobre ciertas partes de la muestra reflejando las diferencias composicionales o estructurales presentes.

Junto con el contraste, es la resolución el otro parámetro que define la calidad de una imagen de microscopía. Son muy diversas las causas que hacen que la resolución de una micrografía electrónica suela estar muy por debajo del valor que teóricamente cabría esperar, unas debidas a imperfecciones instrumentales y otras generadas por la propia naturaleza de la muestra. Para una sustancia estable y con un instrumento operando correctamente, la resolución práctica viene determinada por la aberración cromática debida a la presencia de electrones inelásticos. Dado que la pro-

porción de este tipo de electrones aumenta exponencialmente con la cantidad de materia colisionada, el espesor de la muestra resulta ser un factor decisivo de la calidad de la imagen que se obtiene. Así resulta que para una muestra de 100 nm de grosor, la resolución límite es de 6 nm, un valor casi 40 veces mayor que el alcanzable por un instrumento convencional. La utilización de muestras ultrafinas (<80 nm) es pues una exigencia básica en la microscopía electrónica y representa sin duda alguna, el principal factor limitante en la aplicación de esta técnica.

En conclusión, muestras delgadas y adecuadamente contrastadas resultan ser imprescindibles para la obtención de buenas imágenes. Por ello la preparación de muestras constituye una etapa esencial en la metodología de la microscopía electrónica, la cual es necesario conocer y dominar para conseguir una correcta aplicación de la técnica.

MORFOLOGIA DE POLIMEROS

Está claramente establecido que las propiedades físicas de los polímeros están influenciadas por su micromorfología y de aquí el interés de su estudio para llegar a comprender el comportamiento de estos materiales. Entre las diversas técnicas aplicables al análisis morfológico están la microscopía óptica, la difracción de rayos X, la espectroscopía Raman y la microscopía electrónica tanto de barrido como de transmisión. La microscopía electrónica de transmisión ocupa dentro de este espectro un lugar destacado que se justifica por el carácter directo y alta resolución que tienen sus observaciones, a lo que hay que añadir la posibilidad de correlacionarlas con la estructura molecular que se deriva del análisis por difracción de electrones y al que nos referiremos con detalle más adelante. Entre sus limitaciones más severas están, el deterioro del polímero por efecto de la radiación y las propias de la preparación de muestra a las que antes hemos aludido con carácter general. A continuación se comentan algunos de los estudios morfológicos más característicos que sobre polímeros pueden realizarse con esta técnica.

a) Réplicas

Aunque los métodos de replicación de superficies han cedido terreno ante el avance de la microscopía electrónica de barrido su utilización sigue teniendo interés en estudios que requieren alta resolución. La superficie a estudiar puede ser exterior siempre que su estructura no haya sido afectada por el procesado seguido para el conformado del polímero, o por simple manipulación. En caso contrario se procede a la generación de superficies

internas mediante fractura controlada del material a temperaturas lo suficientemente bajas como para evitar deformaciones o desgarros. La combinación de ambas observaciones suele ser suficiente para reflejar con fiabilidad la micromorfología genuina del material.

La preparación de una réplica puede efectuarse con métodos en una o dos etapas, dependiendo del comportamiento del material que se estudia. En el método directo, la superficie a observar se sombrea con un metal, usualmente platino, y a continuación se cubre con una película de carbón de alrededor de 10 nm de gruesa que tendrá la función de soporte. La película, una vez separada de la muestra, constituye una réplica exacta de la superficie que refleja su micromorfología con todo detalle. La replicación en dos etapas es sólo aconsejable en el caso de materiales que se resisten a ser separados de la película metálica que se deposita sobre ellos. El método consiste en fabricar en primer lugar una réplica del material por evaporación sobre su superficie de una solución acuosa de un polímero apropiado (alcohol polivinílico, ácido poliacrílico, etc.). La película formada puede ser fácilmente separada de la muestra y a continuación replicada según el método anterior.

Los métodos de replicación han sido extensivamente empleados en el estudio de las estructuras esferulíticas de los polímeros y también en el análisis detallado de las organizaciones lamelares y de las modificaciones que en ellas se producen por efecto de las condiciones de solidificación o de deformación mecánica.³

b) Secciones

La preparación de secciones ultrafinas con espesor por debajo de los 100 nm se realiza en un aparato especialmente diseñado para este fin que se denomina ultramicrotomo. El corte se efectúa con cuchillas de vidrio o diamante sobre muestras que previamente han sido talladas a un tamaño de décimas de milímetro. Aunque el proceso es muy laborioso, la técnica está bien dominada y su éxito depende casi exclusivamente de las características físicas de la muestra. El polímero no debe ser ni elástico ni resiliente, lo que impone en la práctica llevar a cabo el seccionado a una temperatura claramente inferior a su temperatura vítrea. Ello implica en numerosos casos el empleo de criotécnicas incómodas de aplicar y no siempre con resultados satisfactorios. El proceso también se dificulta por la presencia de heterogeneidades o aditivos dentro del material hasta el punto de que suele ser inaplicable en la mayoría de las formulaciones plásticas comerciales. El resultado es que sólo un escaso número de polímeros (resinas epoxi, acrilatos, poliésteres) puede ser cortado en el ultramicrotomo en las condiciones que se consideran de rutina.

El desarrollo de métodos químicos, aunque de manera discreta, ha permitido ampliar las posibilidades de la técnica de secciones. En estos métodos la muestra es tratada con un agente químico apropiado que hace al polímero susceptible de ser cortado a temperatura ambiente al mismo tiempo que lo contrasta adecuadamente. En la bibliografía puede encontrarse un considerable número de variantes que han ido apareciendo ininterrumpidamente a lo largo de estos años. Entre ellas cabe destacar la técnica desarrollada por Kato⁴ consistente en tratar las muestras con tetróxido de osmio (Fig. 2). La osmificación ocurre sobre los polímeros que contienen insaturaciones y la reacción permite una tinción específica en copolímeros y mezclas al mismo tiempo que conlleva la vitrificación del material. La observación de secciones de ABS, poliestirenos de impacto y aleaciones de polibutadieno constituyen ejemplos típicos de aplicación de esta metodología.

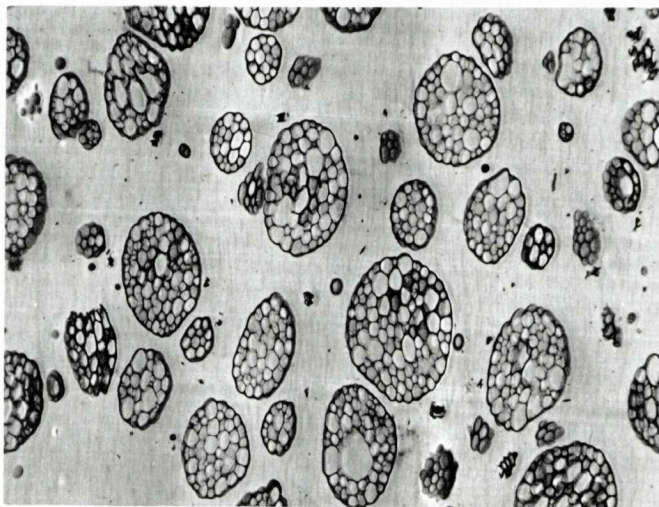


Figura 2. Estructura de panal de poliestireno de alto impacto. La muestra se trata con vapores de tetróxido de osmio para endurecerla y teñir la fase elastomérica, constituida por polibutadieno. Aumentos: 7.000.

Los polímeros semicristalinos por otra parte pueden ser igualmente visualizados en secciones aprovechando la reactividad preferente que muestra la fase amorfa frente a ciertos reactivos químicos. Las poliolefinas se tratan con ácido clorosulfónico (Fig. 3) y posteriormente con acetato de uranilo⁵ y ciertas poliamidas con alcohol bencílico.⁶ Las estructuras lamelares inatacadas destacan como fases transparentes a los electrones, que pueden ser examinadas con gran detalle. En todos estos casos se hace necesario un control preciso de la reacción química que permita asegurar que ésta sólo tiene lugar en las zonas amorfas del material.

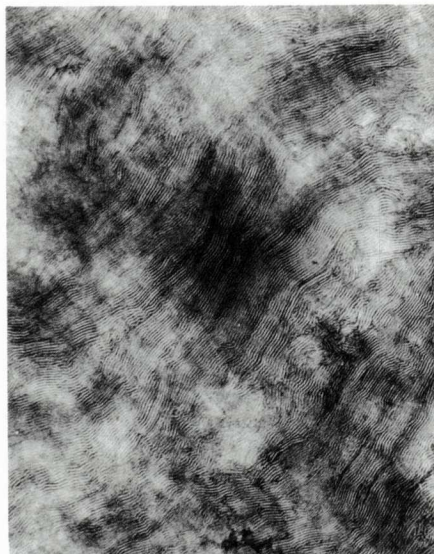


Figura 3. Sección de una muestra de polietileno mostrando el apilamiento de las lamelas de alrededor de 145 Å de grosor. La muestra se trató previamente con ácido clorosulfónico y luego con disolución de acetato de uranilo al 1%. Aumentos: 30.000.

c) *Partículas*

La existencia de polímeros en forma de partículas de dimensiones tales como las exigidas para las muestras de microscopía electrónica no es un hecho frecuente pero que presenta un interés excepcional por la simplificación que supone su visualización. Un ejemplo típico lo constituyen los látex obtenidos por polimerización en emulsión. La suspensión diluida se deposita como aerosol sobre una película soporte plástica de formvar o parlodión (fig. 4). La deformación que ocurre en la partícula como consecuencia de su deposición puede estimarse mediante sombreado con un metal a un ángulo conocido. Existen procedimientos sofisticados para minimizar la deformación así como para evitar la agregación de las partículas. Aplicando algún método estadístico apropiado se puede determinar la función de distribución para el tamaño de partícula que compone el látex que se estudia. La técnica también es aplicable para seguir las modificaciones que se producen en la morfología de las partículas con la variación en las condiciones de la polimerización. Es posible llegar a visualizar partículas de tamaño hasta de 3-4 nm y el método se ha utilizado incluso para estimar el peso molecular de ciertos polímeros observados en forma de partículas monomoleculares.⁷

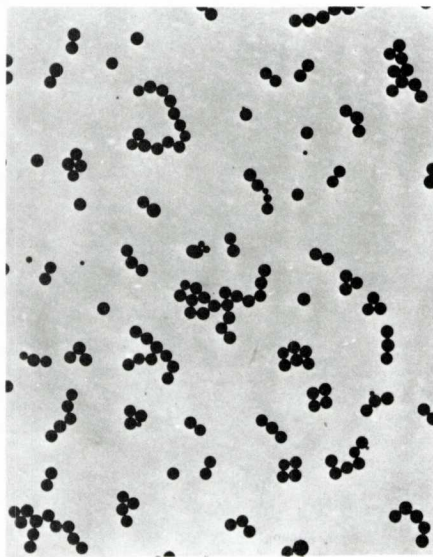


Figura 4. Microesferas de un látex de PVC preparado por polimerización en emulsión. Las partículas están depositadas sobre una película plástica (formvar) y su diámetro es alrededor de 0.5 micras. Aumentos: 4.000.

Otro caso de interés de muestras de este tipo lo constituyen los monocristales y microfibrillas que se obtienen de los polímeros semicristalinos y que serán comentados en el siguiente apartado.

DIFRACCION DE ELECTRONES

El microscopio electrónico se puede emplear como cámara de difracción de electrones bastando para ello el modificar las condiciones instrumentales para visualizar la imagen de difracción en lugar de la imagen secundaria. Entre los diversos procedimientos de que se dispone destaca el método SA (área seleccionada) en el cual, la zona de la muestra que se elige para difractar es controlada con precisión y puede llegar a ser sólo de 1 nm de diámetro. En este método la imagen de difracción que se forma en el plano focal posterior de la lente objetivo es aumentada M veces mediante el sistema de proyección del microscopio de modo que la longitud de cámara efectiva puede ser convenientemente variada siendo su valor $L = f_o \cdot M$ donde f_o es la distancia focal de la citada lente. La manipulación que se requiere es extremadamente simple y cómoda y la observación de una muestra llega a ser una operación de rutina que en la práctica suele simultanearse con la observación de la imagen en campo claro.

El diagrama de difracción de una muestra es un reflejo de su organización estructural a nivel atómico y molecular (Fig. 1). Para una sustancia amorfa, el diagrama consiste en un halo difuso que rodea a una mancha central interna correspondiente a la radiación no desviada. Este es el caso de la mayor parte de las muestras biológicas, los materiales vítreos y las películas metálicas que se obtienen por evaporación. La información que suministra esta clase de diagramas es escasa y de difícil interpretación. Las sustancias cristalinas por el contrario originan diagramas constituidos por máximos y mínimos discretos cuya localización viene definida por el tipo de estructura presente. Es sólo en este segundo caso cuando la técnica de difracción de electrones presenta interés de aplicación práctica.

El modelo de diagrama que se obtiene de una muestra cristalina viene determinado por el tipo y grado de orientación molecular que en ella existe. Cuando se trata de un monocristal, el diagrama consiste en un retículo puntual que refleja la red del mismo en el plano perpendicular al haz electrónico. Inclinando el cristal a diferentes ángulos mediante un goniómetro se obtienen diagramas que corresponden a otros planos reticulares y es posible recabar la información necesaria como para determinar todos los parámetros de la estructura cristalina. Las muestras policristalinas en cambio dan diagramas consistentes en anillos, los cuales están integrados por las reflexiones que corresponden a las ilimitadas orientaciones que adoptan los múltiples dominios monocristalinos. Un caso particularmente favorable es el que se conoce como diagrama de fibra, el cual se obtiene a partir de muestras con orientación molecular en una dirección única como son las propias fibras o las películas que han sido estiradas en una dirección. Este diagrama se interpreta como el correspondiente a la superposición de los distintos diagramas que se originarían por rotación de un monocristal de la muestra alrededor del eje de orientación. Dado que el diagrama de fibra responde a la estructura tridimensional de la muestra y la localización de las reflexiones está bien definida, la información que suministra suele ser de excepcional valor en el análisis estructural.

La información básica presente en el diagrama de difracción viene dada por la posición y la intensidad relativa de las reflexiones. En la difracción de rayos X ambos tipos de datos son frecuentemente utilizados en la determinación de la estructura. En la difracción de electrones la interpretación de la intensidad es más complicada dada la fuerte interacción con la materia que ocurre en este caso, ello hace que los datos de intensidad se suelen valorar sólo de manera cualitativa y aproximada. Hay no obstante algunos ejemplos en los que mediante un tratamiento corrector ha sido posible utilizar las intensidades de los diagramas de difracción de electrones aunque no hay unánime connivencia acerca de la rigurosidad del método.⁸

La posición de las reflexiones por otra parte define las distancias interplanares presentes en la red cristalina y su determinación se realiza en base

a la ley de Bragg. Dado el bajo ángulo de refracción para los electrones el fenómeno se simplifica geoméricamente de forma que la expresión práctica es $R \cdot d_{hkl} = L\lambda$. El producto $L\lambda$ (L , longitud de cámara; λ , longitud de onda del electrón) viene definido por las condiciones de operación del instrumento y se conoce como constante de cámara, la cual es previamente calibrada con ayuda de una muestra de estructura cristalina conocida. La distancia entre planos hkl se determina midiendo en el diagrama la distancia R a que su reflexión correspondiente se encuentre del origen. El indexado del diagrama se lleva a cabo por tanteo y el grado de fiabilidad que se alcanza depende del número y definición de las reflexiones que contiene.

El estudio estructural de un polímero por difracción de electrones requiere por tanto el disponer de una muestra del material en forma de película, a ser posible orientada, microfibrillas o en último caso como polvo microcristalino. Un caso particularmente significativo lo constituyen los monocristales que se preparan a partir de disoluciones diluidas de la mayoría de los polímeros semicristalinos (Fig. 5a). Estos cristales tienen morfología laminar con una dimensión del orden de mil veces menor que las otras dos, y las cadenas de polímeros se encuentran en ellos alineadas con sus ejes aproximadamente perpendiculares a la base de la lámina. La difrac-

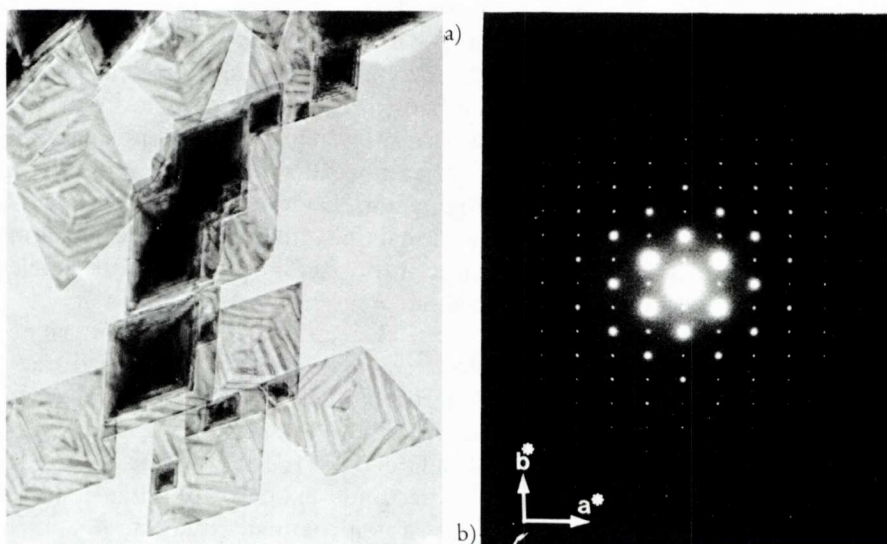


Figura 5. a) Lamelas de polietileno cristalizadas a partir de una disolución al 0.1% del polímero en tetracloroetileno a 65°C y sombreadas con platino a un ángulo de 15°. Aumentos: 12.000. b) Difracción de electrones de una lamela de polietileno. El retículo rectangular que se observa corresponde a la estructura del cristal proyectada a lo largo de su eje c a lo largo del cual se alinean las cadenas.

ción de electrones de estas lamelas depositadas sobre una película soporte se indexan como $hk0$ y permiten establecer sin ambigüedad el modelo de empaquetamiento molecular adoptado por el polímero (Fig. 5b). Si se inclinan respecto al haz o se preparan secciones de sus sedimentos, se puede obtener la información complementaria acerca de su tercera dimensión. Aunque carentes por el momento de aplicaciones técnicas, estos monocristales constituyen la unidad básica estructural de todo polímero semicristalino en el estado sólido y de aquí que su estudio sea relevante para el conocimiento de estos materiales.

La difracción de electrones por otra parte es una técnica apropiada para seguir las transformaciones que acontecen en los polímeros como consecuencia de efectos mecánicos o térmicos. Para inducir efectos térmicos el microscopio se habilita con un termostato que genera gradientes en la muestra desde temperaturas subambiente hasta 200-300°C. Las deformaciones mecánicas se efectúan sobre la misma preparación una vez depositada la muestra sobre la película plástica soporte, que es sobre la que realmente se ejerce la tensión actuando así como transmisora de la misma. En cualquiera de los dos casos no sólo se observan los cambios morfológicos sino que es posible detectar las transiciones estructurales que ocasionalmente le acompañan.

DE versus Rayos-X

Dado que tanto la difracción de rayos X como de electrones tienen como objetivo común el análisis estructural es conveniente señalar las competencias de una y otra y poner así de relieve su carácter complementario.

La difracción de rayos X es sin duda alguna el método por excelencia con que se cuenta para el estudio de la estructura de los materiales cristalinos y ello es consecuencia de la precisión y capacidad de la técnica junto con el profundo entendimiento que se ha llegado a alcanzar del fenómeno en este caso. No obstante la difracción de electrones presenta ciertas peculiaridades que la configuran como técnica complementaria e incluso insustituible en ciertas aplicaciones.

Dado que el factor de dispersión atómica para el electrón es del orden de mil veces superior que para los rayos-X, el volumen mínimo de muestra necesaria para su análisis es del orden de 10^9 veces menor. Esto permite registrar diagramas de difracción de electrones de micromuestras de tamaño insuficiente como para ser examinadas por rayos X. Así por ejemplo sólo mediante difracción de electrones es posible conocer la organización molecular en los monocristales de polímeros o identificar la naturaleza de inclusiones microcristalinas. Por otra parte este es el único método para deter-

minar la estructura de polímeros que sólo son orientables en forma de películas conteniendo algunas capas moleculares.

En segundo lugar el microscopio electrónico es único en poder combinar el análisis estructural con el morfológico permitiendo definir cuál es la disposición molecular dentro de una determinada morfología. Se puede así determinar la orientación de un dominio cristalino incluido en una matriz amorfa o cristalina y también la orientación relativa que presentan entre sí dominios cristalinos adyacentes.

Otras características que añaden atractivo a la difracción de electrones son la rapidez de registro de los diagramas, del orden de segundos, la flexibilidad en la longitud de cámara que emplea, permitiendo estudios a alto y bajo ángulo de manera inmediata, y el mayor número de reflexiones que se registra para una orientación dada del cristal como consecuencia de la pequenísima longitud de onda que se emplea.

Pero sin lugar a duda, el problema más grave y que constituye la principal limitación que presenta esta técnica, es el efecto destructivo que ejerce el haz de electrones sobre las muestras orgánicas. No sólo las interacciones moleculares de tipo secundario sino también los propios enlaces covalentes llegan a ser destruidos a dosis de radiación que suelen estar muy por debajo de las que usualmente se aplican en la observación rutinaria de muestras por el método de campo claro. Aunque la morfología de la muestra suele permanecer aparentemente inalterada, ocurre inevitablemente un deterioro de la estructura cristalina que se manifiesta en la extinción progresiva del diagrama de difracción. Una enorme cantidad de esfuerzos se ha dedicado a minimizar este problema que aún está por resolver del todo. Sólo mediante un riguroso control de la dosis de radiación que se hace incidir y con el uso de sistemas de registro excepcionalmente sensibles, es posible obtener buenos diagramas de difracción de electrones de polímeros. Todas estas medidas son estériles en determinadas ocasiones y la destrucción del material se suele producir a niveles de radiación por debajo del mínimo requerido para el registro. En estos casos otros métodos alternativos de estudio han de ser forzosamente considerados.

REFERENCIAS

1. J. M. COWLEY and S. IJIMA, *Physics Today*, March 1977.
2. "Electron Microscopy in Materials Science" Ed. V. Valdré and E. Ruedl, 3rd Course of the International Centre for Scientific Culture, Commission of the European communities, 1976.
3. D. C. BASSET, "Principles of Polymer Morphology", Cambridge Solid State Science Series, Cambridge University Press, 1981.
4. K. KATO, *Polymer Engineering and Science*, January 1967.
5. G. KANIG, *Kolloid Z. Z. Polymer*, 251, 782, 1973.
6. J. MARTÍNEZ-SALAZAR and C. G. CANNON, *J. Mat. Science Letters*, 3, 693, 1984.
7. M. FURUTA, *J. Polym. Science*, 14, 479, 1976.
8. B. MOSS and D. L. DORSET, *J. Polym. Science*, 20, 1789, 1982.