



Apontamentos PL's

Biologia Vegetal



BETTER MINDS
De estudantes para estudantes



Cellular
Procarist

- Trois paires composent
extrémités des
côtes de la plante

→ tendus imah
→ tendus pad

pleno e de forma
os prob plantos

As células dividem-se em dois grandes grupos: as células eucarióticas e as células procarióticas. As células eucarióticas são organismos complexos que podem ser agrupadas em células animais ou células

[illegible]

Figura 1 – Representação esquemática de uma célula vegetal.

As paredes celulares dos **tecidos parenquimatosos** e dos **tecidos imaturos** são os principais componentes estruturais das células das plantas, as quais envolvem e dão forma aos protoplastos. São compostos por polisacarídeos, pequenas quantidades de proteínas e compostos lipídicos que vão sofrendo alterações ao longo da vida das células. São estruturas muito complexas que possuem uma grande diversidade de funções durante a vida da planta, entre elas destacam-se as seguintes: proporcionam às células robustez e resistência mecânica, mantêm a sua morfologia, controlam a expansão celular e o transporte intercelular, protegem a célula contra a maioria dos organismos potencialmente patogênicos e predadores, participam na comunicação intercelular e contribuem em alguns casos como reserva alimentar.

BETTER MINDS



As várias camadas que compõem a parede celular das células vegetais típicas são basicamente constituídas por hidratos de carbono, principalmente celulose. A malha formada pelas fibras de celulose está embelhada por uma matriz de moléculas não celulósicas (hemiceluloses, pectinas e glicoproteínas).

A **lenhã** (ou **madeira**) resiste à compressão e rigidez. Encontra-se na parede de células que desempenham uma função mecânica, possuindo propriedades hidrofóbicas.

A **suberina**, **cutilina** e as **ceras** são substâncias gordas normalmente encontradas nas paredes de tecidos externos protetores e a sua função é **reduzir as perdas de água**.

- Celulose $\rightarrow$ (+) energética (hidratação de C)
- Pectinas
- Hemiceluloses $\rightarrow$ matéria de celulose no colágeno
- Lenhina $\rightarrow$ resistência
- Substância pectínica
- Cúcuta $\rightarrow$ reduzem a perda de H_2O .

Fungi

Procedimento Experimental

Parte 1: Detecção dos vários constituintes da parede celular. Distingão entre paredes celulósico-pécticas e paredes lenhificadas ou suberificadas.

Técnica de Mirande (Mirandês)

Acetato de
(Aceto)

1 - Colocar os cortes em água durante 5 minutos.

(A) 2 - Colocar os cortes em água de javel durante 5-10 minutos (este reagente dissolve todo o protoplasma e substâncias de reserva).

Neutraliza o hipoclorito de sódio.

5 - Colocar os cortes numa solução de carmin-verde-lodo durante 5-10 minutos.
6 - Lavar o exsso de corante em água e passar o corte por álcool absoluto.

(2) - Montar em água, água glicerinada ou glicerina entre lâmina e lâmeia e observar.

Parte 2: Detecção dos vários constituintes da parede celular

- 1 - Obter alguns cotas transversais de raiz de cebola, milho ou lírio.
- 2 - Colocar uma gota de água entre lâmina e observá-los ao microscópio.
- 3 - Comparar com as observações anteriores e identificar os vários tecidos tendo em conta a forma das células, o seu tamanho, a natureza, a espessura das suas paredes e a sua localização/organização dentro da planta (p. ex. parênquima cortical, tecido de reserva que ocupa a maior área da estrutura da raiz).

Parte 3: Detecção de lesões em cortes transversais de folha de milho ~~do~~ caule de *Tridacantha* (monocotiledneas).

1 - Execute um corte longitudinal na medula de sabugueiro até 1 cm.

7 - Com uma lâmina execute cortes transversais, o mais fino possível, da folha de *Tradescantia*, colocando-os num vidro de relógio. Repita o procedimento com fragmentos de *Tradescantia*.

4 - Adicione umas gotas de solução alcoólica de tiotroglicinol a 1%, aguarde 2 a 3

6 - Monte entre lâmina e lamela. $\rightarrow$ col. H_2O

7 - Observe e registre.

O **floroglucinol** permite a detecção de lenhina, a qual cora de vermelho acastanhado na presença deste reagente (teste específico para a lenhina).

Que tipo de células vegetais são evidenciadas pelo floroglucinol? Quais as funções destas células nas plantas?

• **Plasmodesmos** → tipo de junção entre membranas de células vizinhas que foram por os cloroplastos incorporados pelo conteúdo da seiva elaborada (seiva orgânica), formado mais tarde do que a seiva bruta.

• **Seiva bruta**: soluções aquosa, composta principalmente por aminoácidos e carboidratos.

• **Plastos** - organelos

delimitados por uma dupla membrana, que estão relacionados com a fotossíntese e o armazenamento de substâncias.

↓
cloroplastos - tipo de plastos.

Is valores de pH com pH entre 5 e 9, os até obter uma cor

as gotas de HCl 7M, umas gotas de NaOH

Protocolo 2b: Isolamento de cloroplastos de folhas de espinafre.

Plastos

As células eucaríóticas vegetais possuem organelos similares aos das células eucaríóticas animais, no entanto têm organelos únicos como a parede celular, os plasmodesmos os plastos (plastídeos) e possuem vacúolos que embora em número inferior aos das células animais possuem maiores dimensões.

Existem diversos tipos de plastos:

- Cloroplastos,
- Cromoplastos,
- Leucoplastos.

Cloroplastos - plastos que apresentam coloração verde (Fig. 1), devido à presença de pigmentos clorofílicos, particularmente clorofilas a e b. Estão focalizados nos órgãos clorofilinos da planta (folhas e caule). Não existem na epiderme, a exceção das células estomáticas.

Estes organelos apresentam uma dupla membrana, que constitui o envólucro cloroplastidial, constituído por duas membranas (externa e interna) (Fig. 2). Entre estas duas membranas existe um compartimento denominado espaco intermembranar.

A membrana interna envolve um grande espaço chamado de estroma. No estroma é evidente a presença de membranas que constituem sacos achatados - os tilacóides - os quais estão frequentemente agrupados e empilhados formando os grana (singular granum). Os tilacóides estão ligados entre si por uma rede de membranas - as lamelas estromáticas - as quais se estendem de um granum ao próximo. Além dos dois compartimentos anteriormente referidos, existe um terceiro que corresponde à cavidade limitada pelas membranas tilacoidais. Este compartimento tem a designação de espaco intratilacoidal.

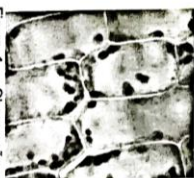


Figura 1 - Observação de Cloroplastos de *Eidorea canadensis* ao microscópio óptico.

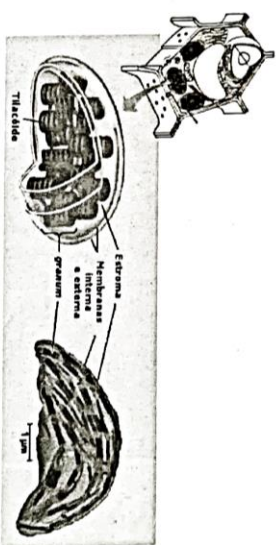


Figura 2 - Representação esquemática da estrutura de um Cloroplasto.

Procedimento Experimental

- 1 - Seleccionar várias folhas de espinafres, de preferência folhas verdes frescas. Retirar cuidadosamente as nervuras das folhas sem danificar o parênquima da folha.
- 2 - Peser aproximadamente 4 g do parênquima das folhas sem nervuras. Cortar o tecido em quadrados pequenos de aproximadamente 5x5 mm.
- 3 - Colocar esta amostra de tecido vegetal num alimofant e adicionar 15 ml da solução de homogeneização. Reduzir o parênquima da folha até obter uma pasta fina.
- 4 - Filtrar esta pasta através de um papel de filtro ou uma porção de gaze e recuperar o filtrado.
- 5 - Centrifugar o filtrado a 200g durante 1 min, para precipitar os restos celulares.
- 6 - Recuperar o sobrenadante da centrifugação e transferir para um tubo de centrifuga limpo. Centrifugar de novo a 1000g durante 2 min. O precipitado resultante desta centrifugação contém os cloroplastos das folhas de espinafre.
- 7 - Decantar cuidadosamente o sobrenadante e resuspende o precipitado em 2.5ml de solução de suspensão. Observar ao microscópio.

Material

- Folhas de espinafre
- Papel de filtro ou gaze
- Balança
- Alimofant
- Tesoura
- Bisturi
- Pinças
- Pipetas
- Provetas
- Centrífuga
- Tubos para centrifuga
- Lâminas e lamelas
- Microscópio

Solução de homogeneização	Solução de suspensão
Sorbital 0,33 M Protossol de sódio 10 mM MgCl ₂ 4 mM Ácido Ascórbico 2 mM pH 6,5	Sorbital 0,33 M EDTA 2 mM MgCl ₂ 1 mM HEPES 50 mM pH 7,6

2ª centrifugação → 15 ml

BETTER MINDS



Universidade da Beira Interior
Aulas Práticas de Biologia Vegetal
1º Ano do Curso de Bioquímica/Biotecnologia

Protocolo 3a: Estudo de cromoplastos: xantoplastos nas pétalas de Gerbera L., carotenoplastos na cenoura (*Daucus carota*) e licopenos no tomate (*Lycopersicon esculentum*).

Plastos

Cromoplastos (do grego, *chromos* - cor) - são plastos que contêm pigmentos corados - carotenóides (hidrocarbonetos - $C_{40}H_{76}$) os quais conferem coloração variada às flores, frutos, grãos, raízes e certos caules de plantas. Apresentam cor amarela ou alaranjada e avermelhados. Os carotenóides (carotenos e xantofilas) estão associados em gotículas lipídicas (ou) em estruturas cristalinas. Apresentam desorganização total ou parcial do sistema tilacoide.

Os principais carotenóides são:

- Xantofila (de cor amarela)
- Caroteno (alaranjado)
- Licopeno (vermelho)

Por exemplo, no tomate os cromoplastos contêm grânulos ou agulhas de uma substância vermelha - licopeno (Fig. 1).



Figura 1 - Observação de Cromoplastos de *Lycopersicon esculentum* ao microscópio óptico.

Procedimento experimental

1. Observação de xantoplastos em células de Gerbera L.
 - a) Com o auxílio de um bisturi, corte no sentido longitudinal finamente a epiderme superior da pétala de Gerbera L.
 - b) Monte uma preparação utilizando como meio de montagem - água. Para observar a plastólise basta colocar no bordo da lamela uma gota de NaCl 8% e do outro lado da lamela colocar papel de filtro.

Plasmólise - redução do volume das células vegetais e aumento por reabsorção de água; ocorre a redução do volume da célula.

Esto fenómeno dá-se quando a célula é colocada em meio hipertónico, isto é, quando o meio exterior é mais concentrado que o citoplasma e a célula perde H₂O (aorta através da membrana).



alunos

2.

Observação de carotenoplastos em células de Daucus carota (cenoura).

a) Com o auxílio de um bisturi, corte no sentido longitudinal do parênquima cortical da raiz de Daucus carota.

b) Monte uma preparação utilizando como meio de montagem - água.

c) Para observar a plasmólise basta colocar no bordo da lamela uma gota de NaCl 8% e do outro lado da lamela colocar papel de filtro.

3. Observação de licopenos em células de Lycopodium esculentum (tomate).

licopenos

a) Com o auxílio de um bisturi, retirei um pouco de polpa de tomate e espalhe na lamina.

b) Monte uma preparação utilizando como meio de montagem - água.

c) Para observar a plasmólise basta colocar no bordo da lamela uma gota de NaCl 8% e do outro lado da lamela colocar papel de filtro.

Material

- Água,
- Bisturi,
- Daucus carota,
- Gerbera,
- Lâminas e lamelas de microscopia,
- Lycopodium esculentum,
- Papel de filtro,
- Pipeta de Pasteur,
- Solução de NaCl 8%.



BETTER MINDS

AMILÓPLASTOS

→ Grão simples - w/1 grão de amido

→ Grão composto → w/ + 1 grão de amido

→ Grão semi-composto → grão de 2/3

grão simples formado 1 st grão, pois deposição de zona concêntrica

amido

Deposito amilífero - local onde em camadas concêntricas deposita-se em:

• A matéria amilífera deposita-se em:

→ Camada periferica - quando a substância (amido) e da

igual espessa e a volta do hilo

→ Hilo central (ex: feijão)

→ ao nível do hilo no maturado - quando a substância plastídica e (D) espessa num vos pelo do grão (ex: batata)

Amiloplasma - armazenam amido em torno de protoplasto que não está exposto

são leucoplastos de amido

localizam nos parênquimas de reserva dos órgãos subterrâneos das plantas superiores, onde acumulam amido, o qual se deposita no exterior do protoplasto

Protocolo 3b: Estudo morfológico de amiloplasmas em: amendoim (Arachis hypogaea), Batata (Solanum tuberosum), Feijão (Phaseolus vulgaris), Grão (Cicer arietinum).

Leucoplastos - são plastídeos desprovidos de pigmentos, que têm como função principal armazenar amido (amiloplasmas), armazenar proteínas (proteoplastos) e o depósito de óleo (oleoplastos) em tecidos de plantas que não estão expostos à luz. Assim, encontram-se por exemplo, nos parênquimas de reserva dos órgãos subterrâneos das plantas superiores, onde acumulam amido o qual se deposita no exterior do protoplasto (ou substância fundamental) sob a forma de grãos (por vezes bastante volumosos). Estes plastídeos são também característicos das porções branco-amareladas de folhas e talos de numerosas espécies.

Um amiloplasma (Fig. 2) com um só grão de amido é designado como grão simples. Quando contém vários é designado como composto.

Grãos semi-compostos são aqueles que resultam da junção de 2 ou por vezes 3 grãos vizinhos formando um só grão, pela deposição de zonas concêntricas comuns.

O depósito amilífero é realizado em camadas concêntricas a partir de um ponto inicial - hilo. Se a substância fundamental for de igual espessura à volta do hilo, a matéria amilífera deposita-se em camadas regulares, ficando portanto o hilo central (por exemplo, no feijão).

Pelo contrário se a substância plastídica é mais espessa num dos pólos do grão, o depósito da substância amilífera é mais abundante a este nível do hilo na maturidade, ficando assim excêntrico (por exemplo, na batata).

Cada estrato corresponde ao amido depositado em cada 24 horas, sendo a quantidade de substância formada decrescente, desde o início do depósito até ao final do processo.

A forma e dimensão dos grãos de amido são variáveis mas bastante constantes para uma espécie. Contudo, a constituição química é idêntica em todos os casos.

Em microscopia óptica, as camadas amilíferas que se depositam progressivamente à volta do hilo aparecem como zonas alternadamente claras e escuras.



Figura 2 - Observação de Amiloplasmas de Solanum tuberosum ao microscópio óptico.

Através da utilização do Microscópio de Luz Polarizada é possível observar um fenómeno óptico designado por "cruz negra" (Fig. 3 - H e I), produzido pelos grãos de amido, o que indica a sua natureza cristalina.



Figura 3 - Representação esquemática de grãos de amido.

"Cruz negra" - fenómeno produzido pelos grãos de amido, que indica a sua natureza cristalina



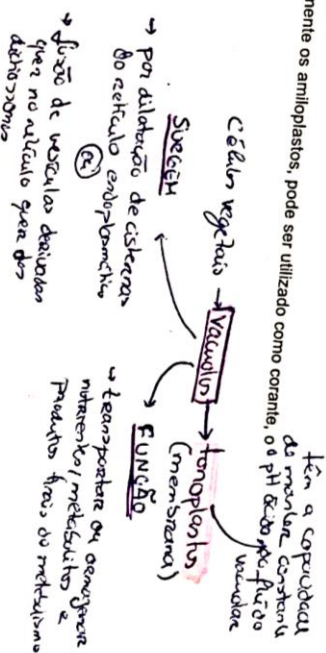
Procedimento experimental

1. Observação de amiloplastos em células de *Solanum tuberosum* (batata).
 - a) Com o auxílio de um bisturi, corte no sentido longitudinal finamente uma porção do tubérculo.
 - b) Monte uma preparação com água.
 - c) Para se observarem corretamente os amiloplastos, pode ser utilizado como corante, o pH ácido após fixação.

Solução de Lugol

Material

- Água
- Bisturi
- Lâminas e lamelas de microscopia
- Papel de filtro
- Pipeta de Pasteur
- *Solanum tuberosum*
- Solução de Lugol 2% aq



Pressão Osmótica

entre o meio interno e externo da célula

Pressão de Turgescência

pressão exercida pela parede celular

DEPENDE

Entrada de H₂O numa célula vegetal

Meio Hipertônico

- A célula perde H₂O e retrai-se, deslocando a membrana plasmática da parede celular
- P. Turgescência = 0 → não há contato da parede celular com a membrana plasmática

Meio Hipotônico

- P. Turgescência > 0
- A medida que a célula ganha H₂O, o seu volume aumenta e a parede celular passa a oferecer resistência à entrada de H₂O;

Meio Isotônico

- P. Turgescência = 0 → a parede celular não oferece resistência à entrada de H₂O.
- P. Osmótica = 0 → as concentrações da partícula dentro e fora da célula são iguais
- a entrada de H₂O dilui o conteúdo do vacúolo e a P. Osmótica;
- A H₂O continua a entrar até que a parede celular atinja o máximo máximo

Célula Plasmolisada

Célula Turgida



Universidade da Beira Interior
Aulas Práticas de Biologia Vegetal
1º Ano do Curso de Bioquímica/Biotecnologia

Protocolo 4a: Estudo de vacúolos em *Allium cepa* (cebola): coloração e observação de plasmólise e turgescência.

Vacúolos

Nas células vegetais observa-se um número variável de vacúolos cuja membrana, o tonoplasto, tem a capacidade de manter constante o pH ácido do fluido vacuolar. Os vacúolos surgem na célula jovem provavelmente por fusão de vesículas de cisternas do retículo endoplasmático ou por fusão de vesículas derivadas quer do retículo, quer dos mitocôndrios. Nas células vegetais os vacúolos têm como função transportar ou armazenar nutrientes, metabólitos e produtos finais do metabolismo.

A entrada de água numa célula vegetal (Fig. 1) não depende apenas da diferença de pressão osmótica entre as massas intra e extracelular (principalmente da pressão osmótica do líquido presente nos grandes vacúolos das células vegetais), mas também, da pressão turgescência exercida pela parede celular. Essa pressão é conhecida como **pressão de turgescência**.

Quando a célula está num meio isotônico em relação ao meio do vacúolo, a parede celular não oferece resistência à entrada de água, portanto, a pressão de turgescência é igual a zero. Por sua vez, como as concentrações de partículas dentro e fora da célula são iguais, a pressão osmótica também é igual a zero (Fig. 1).

Quando a célula está num meio hipotônico, a pressão osmótica entre os meios intra e extracelular é maior que zero. A medida que a célula absorve água, o seu volume aumenta e a membrana plasmática começa a distender a parede celular, que passa a oferecer resistência à entrada de água. Ao mesmo tempo, a entrada de água dilui o conteúdo do vacúolo, diminuindo a sua pressão osmótica. A água continua a entrar na célula até que a parede celular atinja a distância máxima impedindo que o volume aumente mais. Nessa situação, a célula fica **turgida** (Fig. 1).

Quando a célula é colocada numa solução hipertônica em relação ao conteúdo do vacúolo, esta perde água e retrai-se, deslocando a membrana plasmática da parede celular. Como não há contato da parede celular com a membrana plasmática, ela não exerce pressão de turgescência. Diz-se que a célula fica **plasmolisada** (Fig. 1).

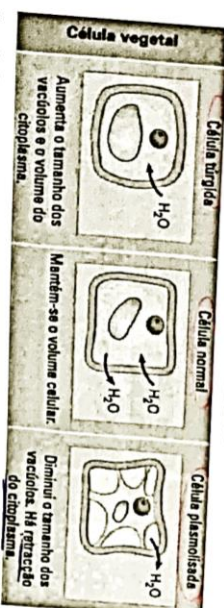


Figura 1 – Representação esquemática de uma célula num meio hipotônico, isotônico e hipertônico.

Protocolo 4b: Inclusões minerais: morfologia e caracterização química das formas intracelulares de carbonato e de oxalato de cálcio (*Allium*, *Ficus*, *Begonia*)

O conteúdo vacuolar é complexo, e a natureza dos compostos aí acumulados é variável em função da espécie, do tipo celular e do estágio fisiológico. Algumas substâncias acumulam-se exclusivamente no vacúolo (antocianinas, inulina, etc.), enquanto outras podem encontrar-se igualmente no hialoplasma (sacarose, malato, aminoácidos). As substâncias incorporadas no vacúolo podem ser agrupadas segundo a sua natureza em:

- sais minerais
- substâncias orgânicas
- oxalato de cálcio



BETTER MINDS
De criadores para criadores

Procedimento experimental

1. Observação de Cristais de Oxalato de Cálcio.

- a) Observação de Ráfides: faça um corte longitudinal na folha de Aloe Vera. Coloque entre a lâmina e a lamela uma gota de água e observe.
- b) Observação de Drusas: destaque a epiderme da sépala de *Pelargonium* (sardipheira). Pitaba roxa - Grãos (dêne) (e/ou petala vermelha). Utilize como meio de montagem da preparação, a água.
- c) Observação de Cristais Prismáticos: com o auxílio de uma pinça retire uma película de *Allium cepa* (cebola). → g. Coloque a película numa lâmina, adicione uma gota de água e observe.

2. Observação de Cristais de Inulina. (gotas de açúcar), dêne. Utilize um fragmento do tubérculo de *Dahlia* (dália). Conservado em álcool a 70%. Faça secções finas do fragmento de tubérculo de dália. Coloque entre a lâmina e lamela uma gota de solução de glicerina e observe.

3. Observação de Grãos de Aleurona.

Seccione uma semente de *Ricinus communis* (regateira, carrapateira).

Faça cortes muito finos e proceda à coloração com Azul Mercúrio de Bromofenol.

- Imersão em Azul de Bromofenol 10 min
- Lavagem em ácido acético 0,5% 5 min
- Lavagem rápida em H₂O
- Montagem e observação.

ATIVIDADES LABORATORIAIS - BIOVEG

Relatório:

- Nome e curso;
- Objetivo: podemos por um exemplo e uma frase
- Resultados: fotos e esquemas (assinale o que é)
- Há penalização se entregarmos o relatório depois de 1 semana

Grupo: Gui, Diana, Eu

Contacto: m6917@ubi.pt



— II —

Protocolo 2a - Manutenção biológica do pH

- a acidez do pH vai atuar no pH do antocianinas
 - betaninas mesmo com a variação do pH a sua conformação não se altera.
 - Caulentos assumem cores mais amareladas.
 - 10 ml de água destilada
 - 7 tubos de ensaio
- Diagrama de pH:
- ```

 graph LR
 A[5] --> B[2º pH]
 B --> C[1º pH]
 C --> D[12.7]
 D --> E[3.58]
 E --> F[3.32]
 F --> G[4.92]
 G --> H[13.06]

```
- 2 → detergente  
→ ácido (vinagre) → medir pH

|            | Beterraba                | Flores | Repolho |
|------------|--------------------------|--------|---------|
| Detergente | 13.06<br><del>4.92</del> | 12.67  | 12.7    |
| Vinagre    | 3.32                     | 3.52   | 3.58    |
| Ácido      |                          |        |         |

Medição de pH

— III —

## Protocolo 2b - Isolamento de cloroplastos de folhas de espinafre

→ colocar no relatório p.3, grupo 3

Centrifugação → tempo que equilibra o peso

→ coletamos o mesmo volume

→ Speed → 200

→ time → 1 min

→ centrífuga a 1000 → não agitar o precipitado ao sair da centrífuga

→ coletar a ampolha  $40 \times 10 = 400$

↓  
direto

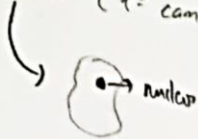
↑  
AT

→ fazer ligante do microscópio

→ óleo de imersão → estufa 100°C

3a

- Ametropia
- São as que procuramos
- cenoura (1ª camada, a mais (avessa))
- tomate (1ª camada)



→ folha = cenoura

### Protocolo 3b

- desprovidos de pigmentos

#### Saturno

→ parece uma concha, camadas concentricas

#### Feijão

→ grão de café (1)

lugar - corante que usamos para decolorir com o anido

1ª foto de montagem com água

2ª depois fazemos com lugar

### Protocolo 4a

→ o que são os vacuolos

• Hipotônico → célula turgida, ↑ volume dos vacuolos → absorve  $\oplus H_2O$

• Hipertônico → célula plasmolizada → a célula retrai-se

• célula → para crescer

• turgor → " " inchaço / inflar

→ observar a plasmólise e turgescência após adicionar NaCl 8%.

Camélia → rose (dura) → para os mais

Sandália → madeira (muito) → para os cinco

45

Rafidos →

~~Rafidos~~

Druidas

u → Alve Ven

①

Microdissecções

~~Microdissecções~~

Eu dissecções

raiz

identifica xilemas e floemas

Caulis

→ mono → feixes dispersos

→ euroto → " " dispersos num única arvil

folha

endi → os estomas só existem num dos pontos

semente

formas simétricas

assimétricas

- 1 -

Parte 1 - Técnica Minamida (raiz de lírio,

→ dizer zona subrefrigida, (em inglês)

Parte 2

saboreiro → "sandwich"

inferior

usam-se gaxetas de cobre para por a amostra

Microscopia de transmissão 300k x

eletrónica 300k x

↳ É um feixe de elétrons que ilumina a amostra  
feito um feixe de elétrons que penetra a amostra.

permite-nos analisar eletrões.

→ a luz está na zona dos elétrons, os elétrons não mais.

⇒ No TEM é luz que  
ilumina a amostra

as imagens são monocromáticas pois não trabalham na zona do visível

colocamos a amostra em suporte de alumínio no em lâmina de ouro...

detetor que nos dá a imagem; detetor que faz a análise dos elementos químicos da amostra permite-nos  
saber a composição dos elementos químicos a partir do elemento carbono. Também quantifica, sempre  
a percentagem que existe desses elementos.



BETTER MINDS

Desenvolvendo potenciais

Amostras não biológicas → coloca a amostra na superfície, mas às vezes fazemos um tratamento (revestimento com ouro)

Amostras biológicas

quando é boa condutora  
não tem revestimento com ouro

as amostras quando estão ~~bem~~ no microscópio é bombardeada por elétrons  
→ como é a condutividade fica com excesso de  $e^-$ , logo ficam sem imagem, temos que tornar a amostra boa condutora, usamos o OURO e assim temos boas imagens



- 1) escolhemos o que queremos ver → fixação  
colocamos a amostra num fixador → glutaraldeído 2,5%  
a amostra fica mais rígida → temos que preparar este solução
- 2) lavamos as amostras
- 3) desidratamos com etanol: preparamos várias soluções de etanol com  $\neq$  concentrações  
colocamos a amostra 1<sup>a</sup> no de [30] e esperamos 10/15 min até chegarmos à concentração de 100% → retiramos  $H_2O$  da amostra; a  $H_2O$  vai ser substituída por etanol ali não há  $H_2O$ .
- 4) Secagem da amostra para tirar o etanol que vai ser substituído por  $CO_2$  e vai evaporar o  $CO_2$ . Amostra está seca, desidratada
- 5) Revestimos com ouro e estamos prontos para por a amostra no microscópio eletrônico.

Os  $e^-$  bombardeiam a amostra e aquecem-a, a  $H_2O$  aquece e a estrutura fica toda danificada, daí a tiramos.

- desidratação → secagem da amostra, é outro procedimento
- Ouro → para amostras não condutoras, torna as amostras condutoras.

→ Podemos saber a distribuição dos elementos químicos na amostra: amostra homogênea, uniforme..

↑  
Microscopia de Varredura

Microscopia de Transmissão (600k)

- colocamos as amostras em gotchas, normalmente coladas
- a amostra é colocada no meio da colina, os feixes têm que atravessar a amostra, logo, a amostra tem que ser fina.
- passamos a gotcha por gotchas para passar os elétrons que entram em suspensão, adicionamos a gotcha.
- É possível ver amostra de 4nm !!
- Imagens sem dimensão

