

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COMO  
ANÁLISE DE MICROFÓSSEIS EM ROCHA SILICÁTICA**

**Artur Vicari Granato**

Diamantina  
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS

**UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COMO  
ANÁLISE DE MICROFÓSSEIS EM ROCHA SILICÁTICA**

**Nome do Autor: Artur Vicari Granato**

Orientador(a): Soraya de Carvalho Neves

Supervisor: Professor Dr<sup>o</sup> Rodrigo Verly.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Faculdade de Ciências Exatas, como parte  
dos requisitos exigidos para a conclusão do  
curso de Química.

Diamantina  
2012

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM

Bibliotecária Viviane Pedrosa

CRB6-2641

G748u	Granato, Artur Vicari
2012	Utilização da microscopia eletrônica de varredura como análise de microfósseis em rocha silicática. – Diamantina: UFVJM, 2012.  44p.  Orientadora: Soraya de Carvalho Neves  Monografia (Trabalho de conclusão de curso em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.  1. Microfósseis 2. <i>chert</i> 3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) I. Título.

**CDD 540**

UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA COMO  
ANÁLISE DE MICROFÓSSEIS EM ROCHA SILICÁTICA

Artur Vicari Granato

Orientador: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Soraya de Carvalho Neves

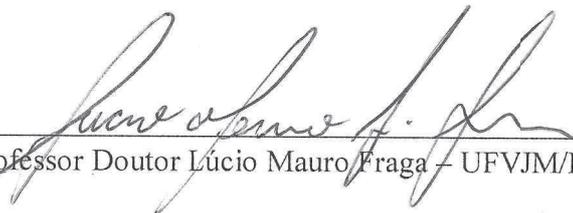
Supervisor: Prof<sup>º</sup> Dr<sup>º</sup> Rodrigo Verly

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de Ciências Exatas,  
como parte dos requisitos exigidos para a  
conclusão do curso de Química.

*APROVADO em 09/10 /2012.*



Professora Dr<sup>ª</sup> Débora Vilela Franco – UFVJM/Diamantina



Professor Doutor Lucio Mauro Fraga – UFVJM/Diamantina



Professora Dr<sup>ª</sup> Soraya de Carvalho Neves – UFVJM/Diamantina

*Dedico este trabalho a professora Soraya por me dar essa oportunidade de ampliar ainda mais meu conhecimento. Aqui vai o meu Obrigado*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela força depositada em mim e as pessoas que Ele colocou no meu caminho durante este árduo percurso. Agradeço a minha orientadora Soraya Neves, e o professor Lúcio que me deram a oportunidade de realizar este trabalho. Aos meus mestres durante a graduação, pois sem o conhecimento construído com ajuda deles ao longo dos anos não teria maturidade suficiente para escrever este material. A minha família que mesmo de longe me apoiou nos momentos mais difíceis. E a todas as pessoas que contribuíram diretamente a realização deste trabalho.

*“A persistência é o menor caminho do  
êxito”  
(Charles Chaplin)*

## RESUMO

Este trabalho tem como foco, fornecer informações teóricas e descritivas, para realizar o estudo de microfósseis utilizando a microscopia eletrônica de varredura, enfatizando as condições físico-químicas paleoceanográfica da formação do *chert* (rocha silicática conhecida pela ocorrência de microfósseis) até a sistematização no preparo da amostra. Desde então não encontra-se uma metodologia de fácil compreensão para utilização desta técnica no estudo paleontológico destes microfósseis em amostras de *chert*.

**Palavras Chave:** Microfósseis, *chert*, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

## ABSTRACT

This work is focused on, providing theoretical and descriptive information, to conduct the study of microfossils using scanning electron microscopy, emphasizing the physico-chemical conditions of formation of *chert* paleoceanográfica (rock silicática known for the occurrence of microfossils) to systematize the preparation sample. Since then there is a methodology easily understandable to use this technique in the study of microfossils in paleontological samples of *chert*.

**Key-words:** Microfossils, *chert*, Scanning Electron Microscopy (SEM)

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**A** – Ampère (Unidade de Corrente)

**Å** – angstrom (  $1 \times 10^{-10}$  m)

**EDS** - Energy Dispersive X-Ray Detector

**G.a** – Giga Anos atrás

**K<sub>PS</sub>** – Constante de Solubilidade

**kV** – kilo Volt

**M.a** – Milhões de Anos atrás

**MSE** – Microsonda Eletrônica

**MEV** – Microscópio Eletrônico de Varredura

**TEM** – Microscópio de Transmissão Eletrônica

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**Z** – Número Atômico

## LEGENDA DE FIGURAS

**Figura 1** - C. D Walcott – Site: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Charles\\_Doolittle\\_Walcott](http://pt.wikipedia.org/wiki/Charles_Doolittle_Walcott); Acessado em: 15/5/12 -2012 Hrs 18:10; 2003

**Figura 2** - Esquema de uma bacia sedimentar. As setas representam a ação do intemperismo ocasionado pela água e vento, transportando os íons para o oceano.

**Figura 3** - Estromatólitos Proterozóicos – Disponível em: [Http://www.dicionario.pro.br/dicionario/index.php/Imagem:Proterozoic\\_Stromatolites.jpg](Http://www.dicionario.pro.br/dicionario/index.php/Imagem:Proterozoic_Stromatolites.jpg) Acessado em: 15/5/12 -2012 Hrs 18:17; 2003

**Figura 4** - Estromatólitos no Lago Thetis, Western Australia. Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Lake\\_Thetis-Stromatolites-LaRuth.jpg](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Lake_Thetis-Stromatolites-LaRuth.jpg) Acessado em: 15/5/12 -2012 Hrs 18:45 ; 2003

**Figura 5** – *Estromatólitos recentes em Lagoa Salgada, RJ.* SRIVASTAVA, N.K. 2002. In: *Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. 1ª ed. Brasília: DNPM/CPRM - Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP), 2002. v. 01: 203-209.

**Figura 6** – Nanofósseis Calcários. Disponível em: GONÇALVES H. M. ; EHNHARDT B. A.; Revista Brasileira De Geociências 29(4):527-532 /, Dezembro De 1999

**Figura 7** – Esferas Biogênicas, possíveis microfósseis. Disponível em: MORRIS, P. A. ; WENTWORTH, S. J. ; ALLEN C.C. & MCKAY D. S., *Possible Microfossils (Warrawoona Group, Towers Formation, Australia)*. Workshop on The Issue of Martian Meteorites, Houston, USA; 2006

**Figura 8** – Amostra de Chert Disponível em: Site: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:ChertUSGOVjpg.jpg> Acessado em: 16/05/12 Hrs: 9:30

**Figura 9** - Amostra de Chert 2 Disponível: Site: <http://www.rc.unesp.br/museudpm/rochas/sedimentares/chert.html> Acessado em: 16/05/12 Hrs: 9:34

**Figura 10** – Em forma de bastonete, tanto isolado e, aparentemente, dispostas em um filamento ramificado. As setas indicam a material orgânico interpretado como bactérias vistas em secção transversal. Disponível em: SCHOPF J. W.; BARGHOORN E. S.; *Electron Microscopy of Fossil Bacteria Two Billion Years Old. Department of Biology and Botanical Museum, Harvard University; Cambridge; Massachusetts; USA, 1965 p. 1*

**Figura 11** – Microorganismos, contendo querogênio de Gunflint Chert contendo filamentos de 7µm de Diâmetro.

Disponível em: BARGHOORN E. S.; TYLER S. A.; *Microorganisms from the Gunflint Chert*. vol. 147, p. 563-577 Ontario, Canada; 1965

**Figura 12** – Diagrama das camadas eletrônicas interiores de um átomo. As transições eletrônicas das camadas mais internas ocasionam a emissão de raios X.

Disponível em: MOREIRA A. & J. W. BOTTA FILHO; *Introdução à Microscopia Eletrônica de Varredura e Microanálise*; LCE - DEMa – UFSCar, São Carlos, 2005 p. 5

**Figura 13** – Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura –

Disponível em: MOREIRA A. & J. W. BOTTA FILHO; 2005

**Figura 14** – Esquema Montagem do sistema de amostra para análise no MEV.

Disponível em: S. J. B. Reed; *Electron Microprobe Analysis And Scanning Electron Microscopy In Geology*; Published in the United States of America by Cambridge University Press, New York p. 3 University of Cambridge Cambridge, New York ; USA 2005;

**Figura 15** - Preparo de uma seção fina polida de Chert: (a) uma fatia de rocha com tamanho determinado é cortada com uma serra de diamante, (b) uma face da fatia é polida; (c) a fatia é colada a uma lâmina de vidro e esta colocada para baixo, (d) o material excedente é cortado por um diamante, e (e) a superfície é lixada e polida deixando-a com aproximadamente 30 µm de espessura. (REED 2005)

**Figura 16** - A evaporação do carbono para dar revestimento condutor na amostra, usando varetas de carbono pontiagudas e uma corrente elevada. (REED 2005)

**Figura 17** – A aplicação de uma elevada corrente ocasiona o aquecimento da folha de molibidênio em forma de barco, acarreta a evaporação do metal (por exemplo, Ag, Al) situado dentro da folha, atingindo assim a amostra. (REED 2005)

**Figura 18** - Revestimeto *sputter*: o ar é removido da câmara e substituído por argônio a baixa pressão; uma corrente de alta tensão (I), é aplicada ao eletrodo superior, e provoca uma descarga no gás de argônio; as amostras são revestidas com os átomos de metal (por exemplo, Au) disperso no gás, método conhecido por “sputtering”; (REED 2005)

**Figura 19** – Microfotografia: Estruturas filamentosas emersas na matriz silicosa. Quartzo microcristalino (opala ou sílex) na matriz do Chert (Aumento 40X, nicóis cruzados - luz polarizada).

Disponível em: TIBÃES A. L.; PIRES G. L. P. *Estudo paleontológico dos estromatólitos calcáreos do grupo macaúbas, serra do espinhaço meridional, Couto Magalhães de Minas (MG)*. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao departamento de Biologia; Diamantina; Brasil; 2010

**Figura 20** - A mesma lâmina com aumento de 10X e luz transmitida não polarizada, nicóis paralelos, observa-se a concentração de formas filamentosas em níveis determinados TIBÃES & PIRES(2010).

**Figura 21** - Localmente observa-se o crescimento de cristais globulares de guethita, com linhas concêntricas possivelmente produto de substituição de pirrita flamboidal original TIBÃES & PIRES(2010).

**Figura 22** - Microfotografia com aumento de 40X, luz transmitida, nicóis paralelos, nota-se claramente as estruturas filamentosas e cocofórmes TIBÃES & PIRES(2010).

**Figura 23** - Matriz de Quartzo contendo sílica e fluido querogênio dentro dessa uma inclusão em um cristal de quartzo. Esta inclusão hexagonal é completamente preenchida com carbono amorfo.

Disponível em: De GREGORIO B. T. & SHARP T. G.; *Determining The Biogenicity Of Microfossils In The Apex Chert, Western Australia, Using Transmission Electron Microscopy.*, Arizona State University; USA, 2003

**Figura 24** – Análise da Composição Química do Microfóssil em Matriz de Chert. Nota-se a abundância de carbono, oxigênio e ferro, em relação a sílica. A amostra foi resvestida/dopada com Ouro e Paládio por 30 segundos

Disponível em: . MORRIS, P. A. ; WENTWORTH, S. J. ; ALLEN C.C. & MCKAY D. S., *Possible Microfossils (Warrawoona Group, Towers Formation, Australia)*. Workshop on The Issue of Martian Meteorites, Houston, USA; 2006

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>2</b>
<b>3. UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NA ANÁLISE DE MICROFÓSSEIS EM <i>CHERT</i></b> .....	<b>3</b>
3.1 – Introdução a Paleontologia.....	<b>3</b>
3.1.1 - C. D. Walcott, Um pioneiro. ....	<b>4</b>
3.1.2 Rochas contendo material Biogênico.....	<b>5</b>
3.1.3 - Estromatólitos os primeiros fósseis .....	<b>8</b>
3.1.4 – Microfósseis.....	<b>10</b>
3.2 – <i>chert</i> e Microfósseis .....	<b>12</b>
3.2.1 Aspectos Gerais .....	<b>12</b>
3.2.2 Ocorrência .....	<b>13</b>
3.2.3 Aspectos Químicos dos Microfósseis.....	<b>15</b>
3.2.4 Eventos Paleo-oceanográficos associados a Diagênese .....	<b>17</b>
3.3 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) aplicada ao Estudo de Microfósseis ...	<b>19</b>
3.3.1 – Vantagens do MEV .....	<b>21</b>
3.3.2 – Princípios de Funcionamento .....	<b>22</b>
3.3.3 – Componentes do MEV.....	<b>23</b>
3.3.4– Interação dos Elétrons com a matéria .....	<b>24</b>
3.3.4.1 - Elétrons Retroespalhados .....	<b>24</b>
3.3.4.2- Elétrons Secundários .....	<b>25</b>
3.3.5 – Preparo de Amostras de <i>chert</i> .....	<b>26</b>
3.3.6 – Análise de Amostras de <i>chert</i> através da Microscopia Eletrônica de Varredura ....	<b>36</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>40</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>41</b>

# 1. INTRODUÇÃO

Difícilmente encontra-se na literatura um material metodológico e prático de fácil compreensão para o estudo de microfósseis.

Utilizado por geólogos, os microfósseis são excelentes marcadores bioestratigráficos ou seja, a partir deles podemos fazer datações de rochas. O estudo destes requer um conhecimento amplo acerca da sua ocorrência, e qual a técnica adequada de análise a ser utilizada.

Este trabalho em apreço, tem como fundamento realizar uma revisão bibliográfica, afim de saber quais fatores físicos ou químicos precedem a sedimentação de rochas carbonáticas, acarretando a compactação de possíveis microfósseis.

Além disso, o material desenvolvido aqui possui o intuito de organizar informações, sobre a ocorrência dos microfósseis, e como avaliar as condições físico-químicas em que se encontravam.

A Microscopia Eletrônica de Varredura é vista como uma técnica fundamental para análise destes micro-organismos do passado, devido a seu grande alcance de foco e por gerar análises qualitativas, da composição química.

Neste sentido, desenvolveu-se uma metodologia teórica e prática da técnica, para o estudo de microfósseis incrustados em matrizes silicosas.

Este estudo fornece informações químicas úteis, sobre a interação dos raios-X emitidos pelo MEV com a amostra e como não cometer erros na hora do preparo de amostras de *chert*.

## 2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho refere-se ao desenvolvimento de um material descritivo para o entendimento de microfósseis em *chert*, e sua análise.

A Microscopia Eletrônica de Varredura será proposta como técnica suporte no estudo da microsonda e morfológica dos microfósseis, suas potencialidades e limitações serão discutidas, assim como o modo de preparo de amostras. Existem outras técnicas de análises (Microscopia de Transmissão Eletrônica e Difratomia de Raios-X), no entanto a Microscopia Eletrônica de Varredura enquadra-se melhor para este estudo, devido a não destruir a amostra, durante a análise e sua resolução de imagem (na qual possibilita a Microsonda quando acoplado ao EDS).

### **3. UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NA ANÁLISE DE MICROFÓSSEIS EM *chert***

#### ***3.1 – Introdução a Paleontologia***

A história do aparecimento e evolução das primeiras formas de vida são um dos temas mais fascinantes e, controversos do pensamento científico atual. O Pré-Cambriano (4,5 G.A até 500 M.A) mostrou ser uma era mais longa do que se pensava, e os fósseis arrastam-nos para uma jornada cada vez mais perto da origem da Terra.

A origem da vida parece agora remontar às primeiras centenas de milhões de anos, período na história do planeta onde, ainda há pouco tempo pensava ser impossível à existência de matéria orgânica complexa. A Terra formou-se à 4600 milhões de anos, mas quando apareceu a vida na Terra?

A esta questão não será possível uma resposta inequívoca. Há três caminhos na procura de resposta a esta questão:

- Evidências químicas. (Proporção dos isótopos de carbono, moléculas que sirvam de marcadores biológicos.)
- Evidências morfológicas. (Detecção de microfósseis)
- Evidências sedimentares. (Interpretação de estruturas tipo estromatólito)

### 3.1.1 - C. D. Walcott, Um pioneiro.



Figura 1 - C. D Walcott

Americano, Charles Doolittle Walcott representado na figura ao lado (1850-1927) foi um paleontólogo de invertebrados. Segundo MORRIS (1976), tornou conhecido pela descoberta em 1909 de fósseis bem-preservedos no Folheiros Burgess em Colúmbia Britânica, Canadá.

- Em 1878 ele identificou estromatólitos como massas rochosas deixadas por antigas comunidades de microrganismos. Walcott denominou-os de Cryptozoon.
- Em 1898 Walcott descreveu as estruturas denominadas “chuaría”. Eram pequenos discos negros com cerca de um milímetro, identificado como conchas cônicas comprimidas. Hoje identifica-se algas, como as primeiras e autênticas estruturas celulares preservadas, do Pré-Cambriano (4,5 G.a. até 500 M.a);
- Por volta de 1900, Walcott descreveu diminutas estruturas identificadas como bactérias, observadas em rochas de Lewis Range no Noroeste de Montana, Estados Unidos;
- De 1907 a 1925, estudando as Canadian Rockies no Canadá, descobriu algas e invertebrados marinhos do Cambriano extremamente preservados, conhecidos como “Fósseis em Folheiros de Burgess”;

Devido a seus estudos inovadores Walcott é considerado o fundador da paleobiologia, e o primeiro a demonstrar a existência de um abundante registro fóssil no Pré-Cambriano.

### 3.1.2 Rochas contendo material Biogênico

As rochas sedimentares correspondem a 80% da área dos continentes e são nelas que grande parte dos materiais fósseis encontram-se. São formadas pela ação do intemperismo (água, vento, erosões, etc) em outras rochas (metamórfica, sedimentar ou ígnea), ou seja, a alteração física e/ou química a que estão sujeitas as rochas na superfície da Terra, assim como mostra o bloco sedimentar abaixo:

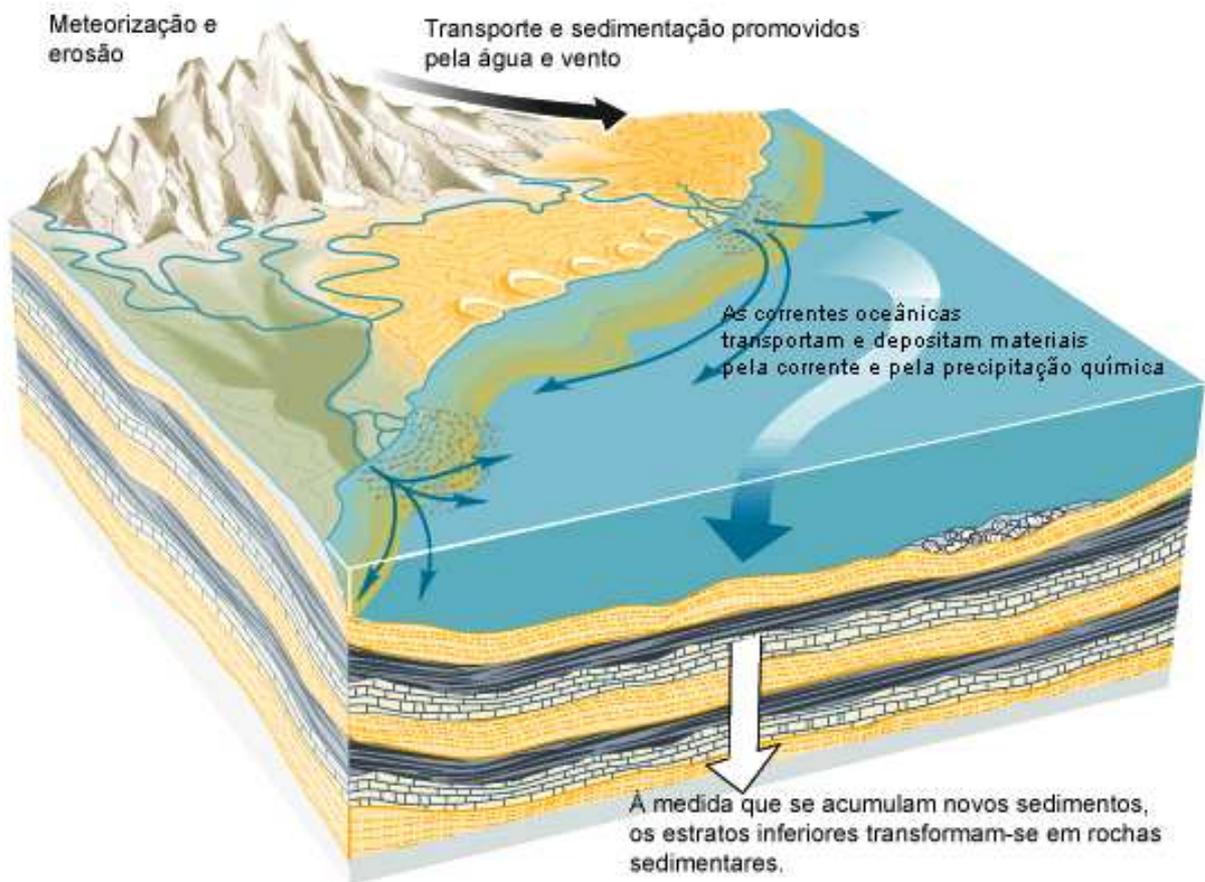


Figura 2 – Esquema de uma bacia sedimentar. As setas representam a ação do intemperismo ocasionado pela água e vento, transportando os íons para o oceano.

Os íons e sedimentos que são transportados, acumulam-se nas bacias sedimentares, formando assim estratos de rochas sedimentares.

Formam-se principalmente devido a três processos:

- Pela sedimentação das partículas originadas pela erosão de outras rochas;
- Pela precipitação de partículas iônicas e minerais em ambiente aquático - rochas sedimentares quimiogênicas; e
- Pela deposição dos materiais de origem biológica - rochas sedimentares biogênicas.

Rochas sedimentares biogênicas são formadas por restos de seres vivos e/ou por substâncias provenientes da sua decomposição (sedimentos biogênicos), também podem ser designadas como quimio-biogênicas, uma vez que seria difícil distinguir, em determinadas situações, os processos inorgânicos dos bioquímicos.

No entanto essas rochas merecem atenção, pois nelas encontram-se restos de micro-organismos que habitavam a Terra a milhares de anos atrás.

Esses fósseis representam vestígios dos organismos de grupos biológicos do passado. Surgiram e se extinguiram em épocas definidas da história da Terra. A partir deles podemos fazer datação relativa das rochas em que ocorrem, e estabelecer correlações entre rochas de locais distantes que apresentam o mesmo conteúdo fossilífero.

Segundo CRAIN (2012), alguns casos o estudo dos fósseis e a sua utilização como indicadores de idade das rochas são imprescindíveis, por exemplo, para a prospecção e exploração de recursos geológicos, tão importantes como o carvão e o petróleo.

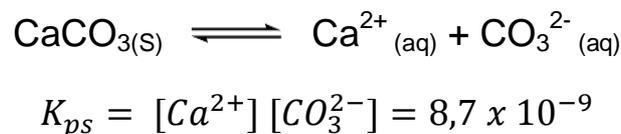
Algumas evidências químicas básicas, podem ser úteis para determinar locais prováveis, onde encontram-se rochas contendo algum tipo de material biogênico, considerando primeiramente a formação de rochas sedimentares quimiogênica.

Podemos ver pela formação da calcita (carbonato de cálcio), representado pela fórmula química  $\text{CaCO}_3$ , sendo este um mineral que pode-se formar a partir dos sedimentos químicos, provenientes de íons de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), através da seguinte reação química:



A diminuição da quantidade de dióxido de carbono na água – em consequência do aumento de temperatura da água, da diminuição da pressão atmosférica ou da agitação das águas (efeito da ondulação) – determina que o equilíbrio químico se desloque no sentido da formação de calcita ( $\rightarrow$ ). A deposição e posterior diagênese dos minerais de calcita originam calcário, neste caso, de origem química.

A calcita apresenta-se muito estável em relação a sua solubilização em água, a partir da equação abaixo pode-se observar que o  $K_{PS}$  (coeficiente de solubilidade) é muito baixo, o que indica um mineral pouco solúvel em condições estáveis:



A precipitação da calcita ocasiona a formação de rochas carbonáticas, que por sua vez podem armazenar material biogênico, visto que muito dos microorganismos possuem cálcio em suas estruturas. No entanto rochas carbonáticas são mais frágeis ao efeito da diagênese (compactação e alteração dos sedimentos para formação de rochas), dificultando a preservação dos microfósseis.

Rochas carbonáticas comumente estão intercaladas com camadas discretas de sucessões siliciclásticas, ou seja, rochas silicáticas, que por sua vez são mais resistentes ao efeito da diagênese, preservando ainda mais os microfósseis.

As rochas carbonáticas são vistas importantes para o estudo de microfósseis, uma vez que contém rochas silicáticas, fundamentais na preservação de microfósseis.

De acordo com DOLBIER *et. al.* (2010), um tipo de rocha silicática conhecida por ter presente material biogênico ocasionado por diversos fatores incluindo pela deposição sedimentar da calcita trata-se do *chert*.

### 3.1.3 – Estromatólitos: Os primeiros fósseis

Estromatólitos são estruturas biossedimentares formadas através de atividades microbianas (cianobactérias, algas, fungos) nos ambientes aquáticos, preferencialmente em mares rasos e quentes. São considerados como as mais antigas evidências macroscópicas de vida na Terra, sendo encontrados em todos os continentes, principalmente em domínios de rochas pré-cambrianas (MORRISON 2002).

De acordo com BERALTI (2007) os estromatólitos de Warrawoona, noroeste da Austrália foram datados de 3450 milhões de anos, no entanto a sua origem biogênica é contestada.

Esses seres formam agregados coloniais causados por dependência alimentar. Estes agregados formam estruturas litificadas biossedimentares (Figura 2), apresentando formas de crescimento laminar assim como apresentado, resultante da precipitação de carbonato de cálcio.

Hoje encontra-se estromatólitos no Lago Thetis, zona oeste na costa do deserto Australiano (Figura 3). Os estromatólitos estão associados a ambientes com taxa de evaporação muito alta, chuvas extremamente fracas e trocas de água com o oceano muito limitadas, o que cria águas hipersalinas.

Não há fósseis macroscópicos desta época, apenas temos informação dada pelos estromatólitos e por raros microfósseis.

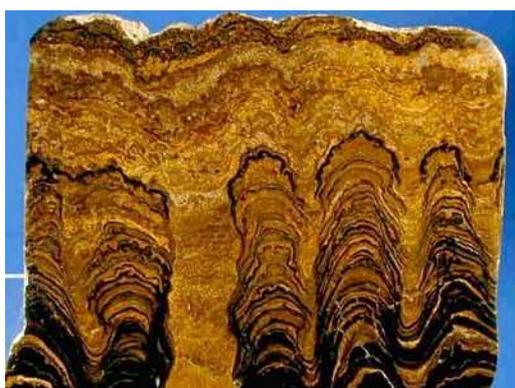


Figura 3 – Estromatólitos Proterozóicos.



Figura 4 - Estromatólitos no Lago Thetis, oeste Australiano.

No início do século XX, não havia relatos de estruturas como estromatólitos da idade arqueana, eles possuíam uma estrutura semelhante aos estromatólitos ricos em matéria orgânica proveniente da base do Cambriano (600 Ma) (NISBET & WILKS 1989).

Segundo MORRIS *et al.*(2006) alguns dos antigos estromatólitos continham faixas e coágulos de querogênio, grãos de pirita, restos de células microbianas, e filamentos que representavam vários estados de conservação, enquanto outros apareciam como fósseis intactos.

No Brasil também encontramos estromatólitos em Lagoa Salgada no Rio de Janeiro sobre as mesmas condições descritas anteriormente, encontradas no Lago Thetis (SRIVASTAVA 2002), o que ressalta a potencialidade paleo-ecológica.



Figura 5 – Estromatólitos em Lagoa Salgada, Rio de Janeiro.  
SRIVASTAVA (2002)

### 3.1.4 – Microfósseis

Segundo ROSSI (2012) o surgimento da micropaleontologia remonta ao século XVII, quando aproximadamente em 1660, Antonie Van Leeuwenhoeck inventou o microscópio óptico. Iniciou-se nesta data, o estudo de microfósseis, marcando uma fase meramente especulativa.

A partir de muitas especulações foi observado que o objeto de estudo era muito importante para diversas áreas da geologia.

Desenvolveram-se estudos sistemáticos, que constituíram a base para estudos posteriores. Mais tarde, no século XIX ( 1860-1870 ), introduziu-se o estudo descritivo de vários grupos de microfósseis como:

- Foraminíferos
- Radiolários
- Ostracodas
- Diatomáceas

Estudos descritivos ganharam impulso no fim do século XIX com a expedição inglesa Challenger, que coletou material praticamente de todo o globo. Em 1884 Brady um biólogo renomado utilizou este material e publicou uma volumosa monografia estes organismos, e é a referência básica, até hoje ROSSI (2012).

A designação de microfóssil é aplicada a fósseis que são vistos apenas por microscópios, dentre eles podem ser pequenas partes de animais macroscópicos, esqueleto completo de organismos unicelulares protistas (foraminíferos, os radiolários, ou algas como as diatomáceas), parte reprodutiva de plantas e fungos (pólen e esporos), célula isolada, ou em grupo, formando filamentos ou redes de bactérias.

Em meio essas descobertas surgiu a micropaleontologia, que é a ciência responsável pelo estudo de fósseis de pequenas dimensões, com o auxílio de instrumentos de ampliação.

Devido às suas diminutas dimensões e ao fato de, frequentemente, serem vestígios de organismos marinhos platônicos (possuem grande distribuição geográfica e curta distribuição temporal), os microfósseis são extremamente úteis como marcadores biostratigráficos, ou seja, como elementos de datação das sequências rochosas.

É ocasionado por ações físico-químicas, quanto bioquímicas de grande importância para a micropaleontologia.

Abaixo são mostradas imagens de microfósseis encontrados por GONÇALVES & EHNHARDT (1999) (Figura 5); e MORRIS (2006) (Figura 6).

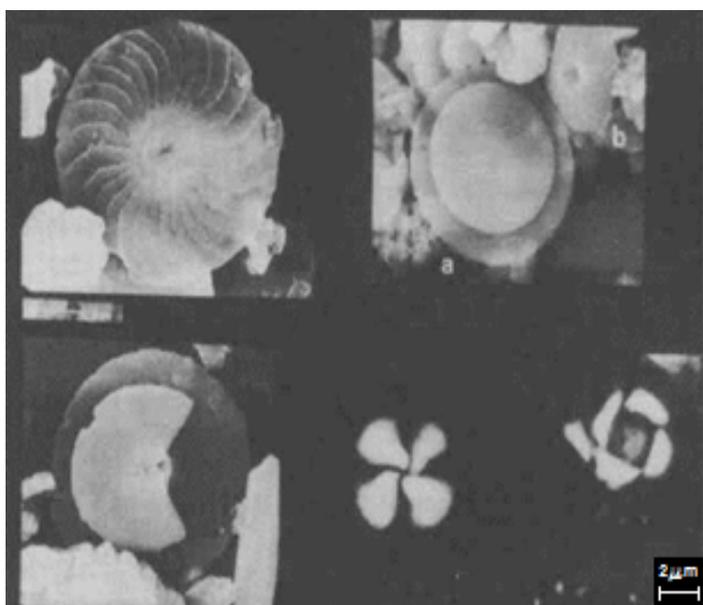


Figura 6 – Nanofósseis Calcários

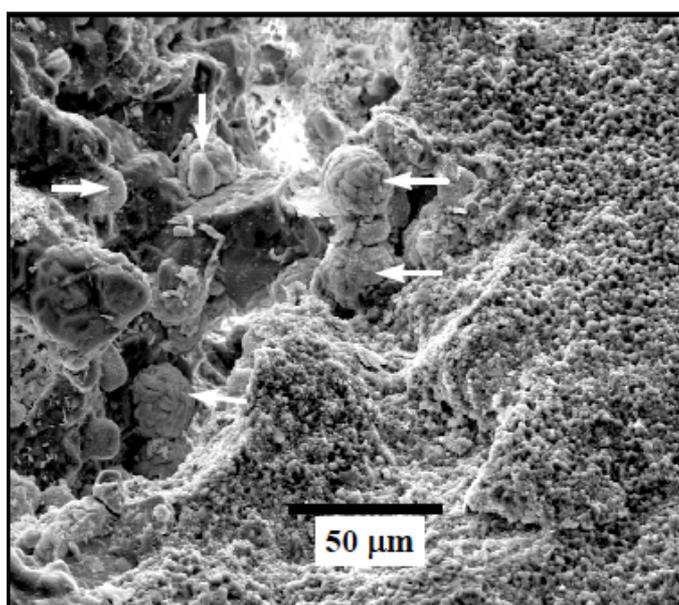


Figura 7 – Esferas Biogênicas, possíveis microfósseis.

## 3.2 – *chert* e *Microfósseis*

### 3.2.1 Aspectos Gerais

O termo *chert* de acordo com RAVIOLLO *et. al.* (2009), é aplicado a uma variedade de grãos finos de sílica sedimentados de forma irregulares (amorfo).

Comumente este vocábulo tem sido usado na base de expressões, correntes entre a comunidade científica, como *chertificado* e *chertificação*, em substituição de silicificado e silicificação.

Trata-se de uma rocha dura, compacta e densa, consistindo de micro-cristais de quartzo amorfo e impurezas. Embora *chert* seja encontrado em todo o registo geológico, a natureza da sua formação e a fonte da sílica não é ainda bem compreendida. Há quatro minerais de sílica associados ao *chert*: opala ou sílica opalina ( $\text{SiO}_2$  amorfo  $n\text{H}_2\text{O}$ ); cristobalita ( $\text{SiO}_2 + \text{SiO}_4$ ); calcedônia ( $\text{SiO}_2$  microcristalina), e microquartzo.

Impurezas no *chert* pode incluir ferro, magnésio, alumínio e entre outros elementos, minerais e detritos biológico. Existe referências a associações de *chert* em carbonatos, compreendendo diferentes idades e ambientes deposicionais (GEESLIN & CHAFETZ (1982), MALIVA & SIEVER (1988)).



Figura 8 e 9 – Amostras de Chert

### 3.2.2 Ocorrência

Algumas propriedades físicas do *chert* são definidas por, De CARVALHO (2012):

“[...] rocha sedimentar silicosa autigênica, coesa e dura, com fratura fácil, conchoidal, essencialmente formada por quartzo microcristalino (0,005 a 0,020 mm), com impurezas (calcita, argila, hematita, matéria orgânica, etc.) em pequena quantidade e restos mais ou menos conservados de esqueletos silicosos, propriedade na qual o torna importante para registros paleontológicos.”

Com base no modo de ocorrência, os *cherts* são distribuídos em dois grupos:

- **Rochas Silicáticas Estratiformes** são mais comuns e ocorrem sob a forma de camadas (conhecidos pela expressão *bedded cherts*);
- **Rochas Silicáticas Nodulares**, aos limitados acidentes descontínuos (alteração das camadas), sob a forma de concreções ou nódulos, no seio de outras rochas, conhecidos como *nodular cherts*;

Os *cherts* Estratiformes e Nodulares possuem características próprias e enquadramentos ambientais, litológicos (formação das rochas a partir dos sedimentos), stratigráficos (processos que formaram as camadas) e tectônicos distintos. A grande característica e importância dos *cherts* é que são bastante fossilíferos.

Existem *cherts* destituídos de quaisquer vestígios fósseis, o que tanto pode corresponder a uma sedimentação exclusivamente quimiogênica, como ao total apagamento desses vestígios por efeito da diagênese e de eventuais ações metamórficas.

De acordo com MALIVA (2004) o *chert*, pode nos fornecer uma janela para a composição original do sedimento, e a história diagenética da rocha hospedeira, devido à sua baixa suscetibilidade, em relação a outras alterações diagenéticas.

O *chert* comumente é encontrado em associações faciológicas de rochas carbonáticas com influência marinha, consistindo na precipitação de sílica inorgânica dissolvida em massas de água, principalmente em locais onde encontravam-se em determinadas condições físico químicas de oxi-redução (EH/pH).

De acordo com Da SILVA *et al.* (2007):

[...] a ocorrência e formação de depósitos silicosos não é um fato comum, pois as águas oceânicas são subsaturadas em sílica. Sua deposição resulta da conjugação de fatores paleo-oceanográficos e paleo-ecológicos que podem estar relacionados a zonas ressurgências aquáticas.

A precipitação da sílica consiste no processo de fossilização e normalmente engloba o material biogênico do tipo, algas e carapaças de micro-organismos. Quando a precipitação ocorre em camadas finas, trata-se de um depósito primário.

O volume de esqueletos silicosos era grande, como ainda acontece nas bacias oceânicas profundas, formaram-se, sobretudo, leitos e camadas lateralmente muito extensas, *cherts* estratiformes indicam, assim, fácies marinha de águas profundas, abaixo de 500m. (BRAZ 2012).

Diferentes alterações químicas (processos diagenéticos) ocorrem com o “*chert*”, isso dependerá de muitos fatores como temperatura, pressão e pH. Deste modo as diferentes substituições que podem ocorrer possibilitam a geração de diferentes graus de composição mineral e preservação.

### 3.2.3 Aspectos Químicos dos Microfósseis

Por mais de uma década, a mais antiga evidência de vida neste planeta tem sido os microfósseis, encontrados no *chert*, 3,5 G.a. na Austrália Ocidental afirma BARGHOORN & TYLER (1965).

Tais microfósseis são descritos por filamentos septados como mostra as Figuras 10 e 11 abaixo e são compostos por uma parte insolúvel de matéria orgânica, modificada por ações geológicas conhecida por querogênio.

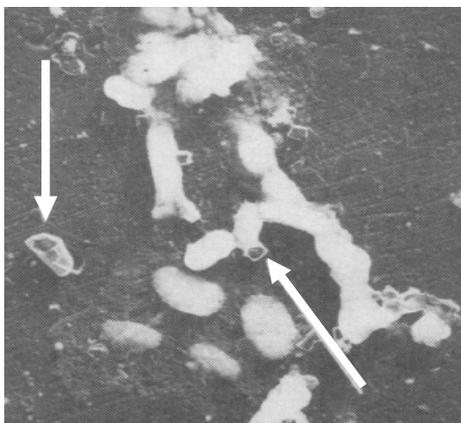


Figura 10 - Em forma de bastonete, tanto isolado e, aparentemente, dispostas em um filamento ramificado. As setas indicam a material orgânico interpretado como bactérias vistas em secção transversal (SCHOPF & BARGHOORN 1965).

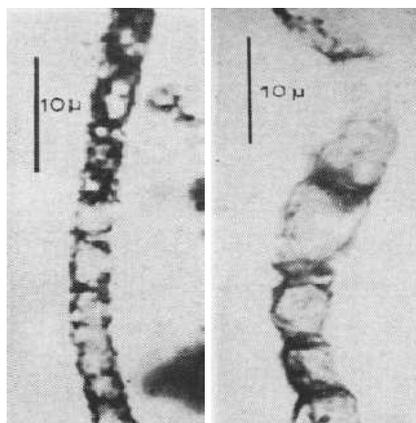


Figura 11 - Micro-organismos, contendo querogênio, filamentos de 7 $\mu$ m de Diâmetro (Gunflint Chert) (BARGHOORN & TYLER 1965).

Querogênio é formado a partir de lipídios, proteínas e carboidratos, dos seres vivos, transforma em petróleo, gás natural ou grafite, dependendo das condições. A mais importante rocha-fonte ou rocha geradora de óleo e gás é formada por camadas de sedimentos finos, ricos em matéria orgânica que, soterrados a uma profundidade mínima de 500 metros, faz com que a rocha se comprima, diminuindo sua porosidade e submetendo-a, progressivamente, a maiores pressões e temperaturas (CRAIN 2012).

Este processo segundo Da SILVA (2007), leva à transformação da matéria orgânica em querogênio, composto químico a partir do qual são gerados todos os tipos de hidrocarbonetos.

O querogênio é estruturalmente amorfo, e se transforma em grafite bem ordenado sobre altas temperaturas e pressão. MINER (1988) propõe que no chert o querogênio, é envolto pelos cristais de quartzo com composição química completamente diferente,

Essa característica permite que a partir de uma análise química, podemos caracterizar os microfósseis. Fato devido elevação na concentração de carbono, onde situa o querogênio (vestígios dos microfósseis).

### 3.2.4 Eventos Paleo-oceanográficos associados a Diagênese

As formações de grandes depósitos silicosos e carbonáticos são resultantes da união de vários fatores oceanográficos como fortes ressurgências oceânicas, conforme podem ser observadas nas pesquisas de diversos autores como BERGER & Von RAD 1970, KLING 1976, SCHLANGER & JENKYN 1976, MOLINA-CRUZ 1977 e CASEY & MCMILLEN 1977.

Diferentes alterações químicas (processos diagenéticos) podem ocorrer com a rocha, bem como os organismos carbonáticos, isso dependerá de fatores como a temperatura, pressão e o pH da água. Deste modo as diferentes substituições minerais, que podem ocorrer possibilitam a geração de diferentes graus de composição química e preservação.

Acredita-se que a maior parte da sílica nas águas profundas está como ácido orto silícico ( $\text{SiO}_4\text{H}_4$ ), em parte dissolvida e em parte coloidal. As águas fortemente básicas podem ter quantidades importantes de sílica iônica (FOURNIER 1973).

A pirita ( $\text{FeS}_2$ ) está relacionado a presença de microfósseis. Na zona de circulação profunda, o ambiente evolui para condições redutoras. Onde há quantidades abundantes de matéria orgânica, a redução de  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{S}^{2-}$  pode ser muito importante na conservação dos Microfósseis ( Da CRUZ & PEIXOTO 1990).

O fato de ter uma pequena porção de pirita é explicado pelo fato da redução de  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{S}^{2-}$  ser muito vagarosa, e íons sulfato podem persistir em soluções fortemente redutoras. Parte do  $\text{S}^{2-}$  formado pode combinar com Fe, abundante nas rochas, e ser fixado como FeS ou  $\text{FeS}_2$  insolúveis.

Entretanto a formação da pirita ( $\text{FeS}_2$ ) é favorecida por condições anódicas, isto é redutoras. Sua ocorrência é muito boa, pois preserva os mais delicados detalhes dos microfósseis, pelo fato de resistir a alterações físico-químicas.

MORRIS *et al.* (2006) considera a relação da hematita, quartzo, pirita, barita, minerais de carbonato de ferro, incluindo carbonato de (siderita), e querogênio aos locais onde os microfósseis situam, devidamente pelo fato das alterações físicas e/ou químicas que a rocha foi submetida.

A concentração de depósitos silicosos nos sedimentos pode estar diretamente associadas à alta produção de organismos silicosos nas porções superiores da coluna d'água, podendo esta analogia ser aplicada a outros tipos de depósitos biogênicos, conforme SEIBOLD & BERGER (1996) *apud* Da SILVA (2004).

Estudos paleo-oceanográficos são muito utilizados para analisar as grandes mudanças oceanográficas ocorridas durante todo o tempo geológico. A utilização de organismos como radiolários e foraminíferos tem importância fundamental, pois sua distribuição ocorre em todas as profundidades.

Mineralogistas e metalúrgicos utilizam a microscopia eletrônica de grande vantagem em estudar as ligas metálicas e os fenômenos de cristalização, mas muito poucos fósseis e rochas fossilíferas foram investigados.

De acordo com SCHOPF & BARGHOORN (1965), a aplicação da microscopia eletrônica para o estudo de microfósseis, foi estimulada pela demonstração de suas potencialidades paleontológicas importantes.

### **3.3 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) aplicada ao Estudo de Microfósseis**

Para análise microestrutural de materiais sólidos, devemos ser metódicos e criteriosos no preparo de amostra. Como aborda MALISKA (2006), no Microscópio Eletrônico de Varredura, há como realizar análise química de pequenas áreas selecionadas em amostras sólidas, sem que a amostra seja destruída, com auxílio de um acessório conhecido como EDS ou EDX (*Energy dispersive X-Ray analysis*).

É muito importante que as pessoas ao utilizarem esta técnica na análise de seus trabalhos, não a utilizem como mais uma técnica, mas conheçam seus recursos e também suas limitações.

As vantagens do MEV, como um instrumento de imagem de alta resolução espacial, com grande profundidade de campo, e simples preparo de amostras, torná-lo uma boa ferramenta para os seguintes ramos da geologia de acordo com REED (2005):

1. Sedimentologia: Imagens tridimensionais de grãos individuais e de sedimentos podem ser obtida; dados sobre tecido e porosidade pode também ser gerado;
2. Mineralogia: O MEV é muito eficaz para o estudo da morfologia de um cristal em uma microescala;
3. Petrologia: A capacidade de produzir imagens de seções polidas apresentam diferenças de número atômico médio é muito útil tanto em sedimentar e em petrologia ígnea;
4. Paleontologia: O MEV é idealmente adequado para o estudo da morfologia e composição fóssil, especialmente de microfósseis.

O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o microscópio óptico (MO) e o Microscópio de Transmissão Eletrônica (TEM). A vantagem do MEV em relação ao microscópio óptico, é sua alta resolução, na ordem de 2 a 5 nm. (20 – 50 Å) – enquanto que no microscópio óptico é de 0,5 µm.

Comparando o MEV com o TEM, a grande vantagem do MEV está na facilidade de preparo das amostras (REED 2005).

As imagens fornecidas pelo MEV possuem um caráter virtual, pois o que é visualizado no monitor do aparelho é a transcodificação da energia emitida pelos elétrons, ao contrário da radiação de luz a qual estamos habitualmente acostumados. Apesar da complexidade dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de muito fácil interpretação.

A microssonda eletrônica (EDS) para MOREIRA & BOTTA FILHO (2006) ,

[...] trata-se um acessório importantíssimo acoplado ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), tendo como partes essenciais um cristal analisador e um detector, ambos móveis, (WDS) e/ou por um detector e um analisador multicanal, ambos imóveis, (EDS).

Estes instrumentos realizam a microanálise e são usados para identificar, e quantificar na escala microscópica, os elementos químicos presentes na amostra.

De acordo com MANNHEIMER (2002), a razão principal de sua utilização está associada à alta resolução que pode ser atingida, tipicamente da ordem de 3.0 nm, e a grande profundidade de foco, da ordem de 300 vezes melhor que a do microscópio óptico, resultando em imagens com aparência tri-dimensional.

### 3.3.1 – Vantagens do MEV

Algumas vantagens desta técnica, dita como versátil na microanálise, são:

- Que o material na amostra pode ser visualizado durante a análise, propiciando assim uma correlação entre a composição química e a morfologia da amostra;
- Na maioria das aplicações, o método analítico não é destrutivo, em termos de recuperação do material, bem como a incidência do feixe não acarreta modificações na composição química da amostra;
- O método analítico é de grande eficiência em relação ao tempo de análise da morfologia, tamanho de partícula e dosagem química elementar (principalmente qualitativa);
- A técnica apresenta alta resolução espacial, permitindo a determinação (qualitativa, semi-quantitativa e quantitativa) da composição química elementar de partículas com diâmetro da ordem de poucos micrômetros (pontos de até 2  $\mu\text{m}$  de diâmetro);

Trata-se de uma técnica eficiente para análise química e morfológica de microfósseis, principalmente em amostras de *chert*. Considerações químicas, como os princípios de funcionamento do equipamento, a interação do feixe de elétrons com a amostra e o preparo de amostras, são necessárias para a utilização da técnica, pois dentre todas as vantagens a análise pontual trata-se da mais importante.

### 3.3.2 – Princípios de Funcionamento

Neste tipo de microscópio, os elétrons são acelerados por uma diferença de potencial de 1kV a 30kV e dirigido na coluna através de duas ou três lentes eletromagnéticas. Essas lentes obrigam o feixe de elétrons colimados a atingir a superfície da amostra, tendo a sua extremidade um diâmetro extremamente pequeno, de cerca de 5nm (MOREIRA & BOTTA FILHO 2005).

Bobinas de varredura fazem o feixe varrer a superfície da amostra e os sinais emitidos a partir desta atingem um detector. No circuito eletrônico do microscópio, os sinais são amplificados, sendo então utilizados para formar uma ou mais imagens em um tubo de raios catódicos (REED 2005).

Quando o feixe de elétrons atinge a amostra, são emitidos vários tipos de radiação pelos átomos componentes da amostra, inclusive os conhecidos raios-X, usados na microanálise.

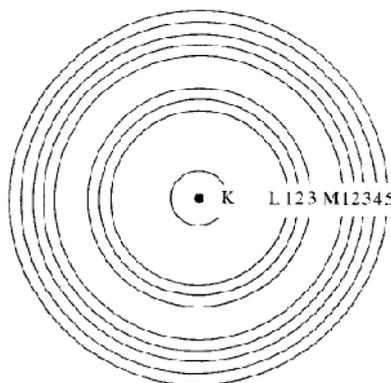


Figura 12 – Diagrama das camadas eletrônicas interiores de um átomo. As transições eletrônicas das camadas mais internas ocasionam a emissão de raios X. (MOREIRA 2008).

Por sua vez, os raios-X gerados na amostra são utilizados para produzir análises químicas elementares de microrregiões (microsonda), tornando-se, então, possível detectar e quantificar os raios-X gerados pela amostra.

A microanálise por espectrometria de raios-X mostra-se um método bastante rápido para determinar qualitativamente a composição química de uma microrregião de interesse.

### 3.3.3 – Componentes do MEV

O MEV, conforme pode ser visto na Figura abaixo, consiste basicamente da coluna óptico-eletrônica (canhão de elétrons e sistema de desmagnificação), da unidade varredura, da câmara de amostra, do sistema de detectores e do sistema de visualização da amostra (MOREIRA 2008).

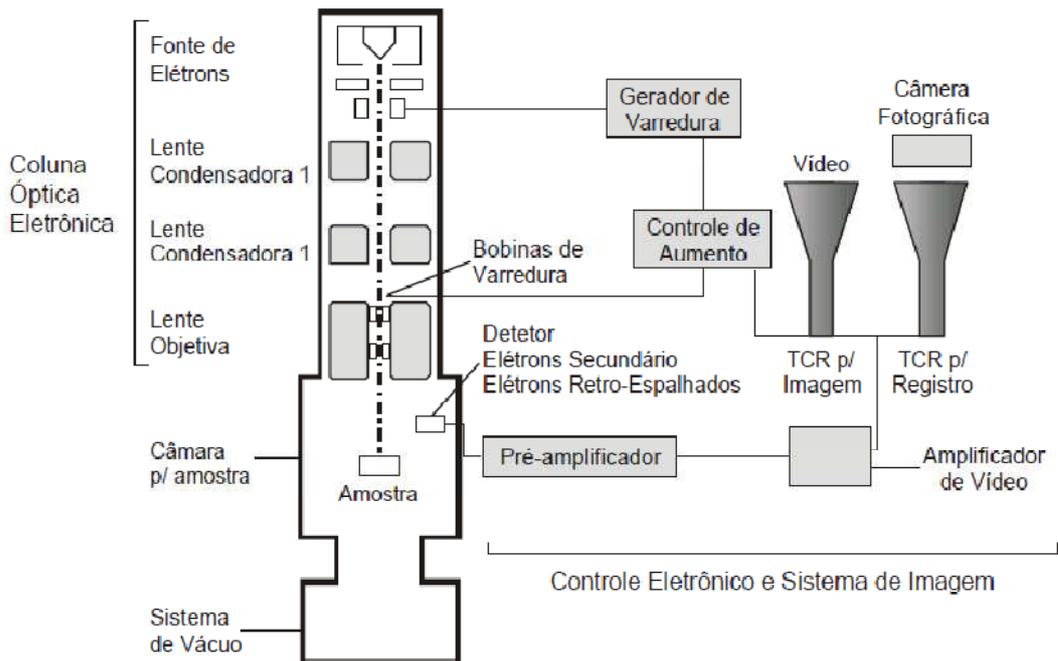


Figura 13 – Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura (MOREIRA 2008)

O fenômeno de interação do feixe de elétrons com a matéria merece atenção. Pois devidos as diferentes radiações absorvidas e posteriormente emitidas, podemos tirar conclusões acerca do tipo de interação.

### 3.3.4 – Interação dos Elétrons com a matéria

#### 3.3.4.1 - Elétrons Retroespalhados

Em tecnologia mineral, umas das imagens mais importantes são as de elétrons retroespalhados (no inglês “*backscattered electrons*” - BSD), cujos elétrons do feixe que incide sobre a amostra, penetram no interior da amostra e parte significativa destes elétrons é defletida elasticamente, pela eletrosfera dos átomos e são emitidos para fora da amostra, de volta ao vácuo do interior do MEV. (MOREIRA & BOTTA FILHO 2006)

Segundo REED (2005) parte destes elétrons é captada, por detectores de estado sólido e são usados para gerar uma das imagens do MEV. Este tipo de imagem não permite aumentos muito grandes, no máximo de 5000 vezes, mas possui três tipos de contraste entre as fases observadas, que a tornam muito utilizada nas observações no MEV.

- i) contraste de densidade ou massa específica, onde as fases densas aparecem mais claras e as menos densas mais escuras;
- ii) contraste de relevo ou topográfico, quando os topos mostram-se mais claros e os vales mais escuros;
- iii) contraste de número atômico ou composicional, onde as fases ricas em elementos químicos com números atômicos maiores ficam mais claras e as fases compostas por elementos com números atômicos mais baixos aparecem mais escuras.

Nestas imagens, o nível de cinza é proporcional ao número de elétrons, e consequentemente ao peso atômico médio em cada pixel da imagem, o que a torna, de maneira indireta, uma imagem composicional.

Se o MEV dispõe de EDS, a identificação dos minerais é imediata pela sua composição química, eventualmente complementa pelo conhecimento prévio da amostra (dados de microscopia óptica e/ou difração de raios X, por exemplo), facilitando muito o trabalho de identificar a mineralogia da amostra.

#### ***3.3.4.2 - Elétrons Secundários***

São elétrons emitidos pelos átomos constituintes das amostras, após interações inelásticas com os elétrons do feixe primário. Parte dos elétrons secundários é captada por um detector gasoso e assim vai gerar a outra imagem do MEV. (MALISKA 2006).

Esta imagem permite os maiores aumentos no MEV, podendo alcançar 50.000 a 100.000 vezes. As imagens de elétrons secundários possuem os mesmos dois primeiros tipos de contrastes que as imagens de elétrons retroespalhados (densidade e topográfico), mas não possuem o contraste de número atômico (Z) (REED 2005).

Amostras de materiais não condutores necessitam de uma camada condutora sobre a superfície para aterrar os elétrons que as atingem e, portanto evitar efeitos de carregamento, que impedem a obtenção de imagens satisfatórias formadas por elétrons secundários.

As camadas de elétrons depositadas podem melhorar o nível de emissão de elétrons uma vez que emitem muito mais elétrons que o material da amostra. Entretanto, é necessário lembrar que somente amostras, não recobertas podem mostrar a verdadeira estrutura da superfície.

### 3.3.5 – Preparo de Amostras de *chert*

O preparo inicial de amostras geológicas devem exigir algum tratamento preliminar antes da montagem para análise no MEV. No preparo de amostras para análise de microfósseis em *chert* devemos seguir alguns critérios, para não adiquirir resultados controversios.

A limpeza é necessária, a fim de eliminar os contaminantes indesejados. Sedimentos (e solos) normalmente precisam de secagem. Materiais porosos geralmente impreguinam na amostra, especialmente se as amostras são polidas. Amostras exigem ser cortadas, para adiquirir um tamanho adequado para a montagem e polimento. Estes processos estão descritos nas seções seguintes. Para mais informações sobre estes e outros aspectos da preparação da amostra, o leitor é referido a HUMPHRIES 1992, LAFLAMME 1990 e MILLER 1988.

#### I - Lavagem

Quando coletadas, as amostras contêm muitos componentes indesejáveis, eles dificultam a análise das características específicas de interesse e precisam ser removidos. Por exemplo, os sedimentos e solos frequentemente exigem a lavagem com água destilada para remover os sais solúveis (principalmente cloretos). Apenas agitação suave deve ser usada, a limpeza ultra-sónica pode danificar os grãos minerais.

Em amostras de *chert* o carbonato indesejado pode ser removido com ácido clorídrico diluído (5%).

Se houver necessidade de realizar análises sem recuperação da amostra os óxidos de ferro podem ser removidos com cloreto estanoso e matéria orgânica com permanganato de potássio ou peróxido de hidrogénio.

REED (2005) ressalta que os hidrocarbonetos podem ser removidos por imersão em um solvente tal como tricloroetano (pressão pode ser necessária no caso de baixa porosidade materiais). Na análise de microfósseis há registros de matéria orgânica, logo se desejar analisar a matéria orgânica não devemos seguir tal procedimento.

## II – Secagem

Alguns materiais da amostra podem estar molhados em seu estado normal e deve ser secado. Esta pode ser realizada por aquecimento suave no ar (temperaturas acima de cerca de 50 °C pode causar a perda de água estrutural a partir de minerais de argila). (MOREIRA & BOTTA FILHO 2006)

Outras abordagens são exigidas quando as estruturas são frágeis e precisam ser preservada. Danos podem ser limitado pela substituição da água com um líquido volátil de tensão superficial menor, tal como acetato de amilo, antes da secagem MCHARDY *et al.* (1982).

Nos *cherts* os microfósseis encontram-se incrustados em uma matriz resistente e homogênea de quartzo, logo não são afetados pelo efeito da secagem utilizando temperaturas amenuas.

## III – Montagem

As amostras para análise no MEV são comumente montadas sobre uma superfície, que tem a forma de um disco, geralmente feito de alumínio. Tipicamente possui 1 centímetro ou mais de diâmetro, com uma ponta para fixação ao mecanismo de fase:

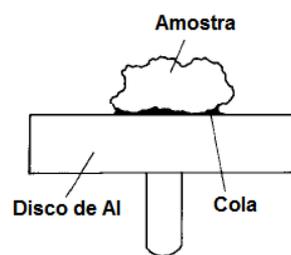


Figura 14 – Esquema Montagem do sistema de amostra para análise no MEV (REED 2005).

Um método alternativo de fixação rápida é a utilização de fita de dupla face adesiva. Um tipo específico de cola condutora pode também ser utilizado (MANNHEIMER 2002).

#### **IV - Corte de amostras de *chert***

Segundo ANINA *et al.* (2007) a análise no MEV pode ser feita, através de lâminas delgadas polidas (espessura da ordem de 30 $\mu$ m a 40 $\mu$ m) ou por seções polidas. Em ambos os casos, deve-se em geral estudar as amostras primeiramente por microscopia óptica.

Algumas amostras (por exemplo, minerais de minério), não são necessárias, a utilização de seções finas, mas para o estudo de microfósseis, as lâminas delgadas polidas apresentam os melhores resultados.

Geralmente, o corte é feito com uma serra circular de diamante. Uma fatia de lados paralelos (tipicamente alguns milímetros de espessura) deve ser cortada e em seguida cortar até adquirir o tamanho necessário.

Danos na amostra ocorrem durante estas operações, e podem se estender a uma profundidade considerável, possivelmente afetando o resultado final, por esta razão, os métodos utilizados devem ser tão suave quanto possível (REED 2005).

Amostras de *chert* contendo microfósseis são comumente analisadas, a partir de lâminas delgadas polidas, pois desta forma os elétrons podem passar de forma significativa pela matriz de quartzo dielétrica (geralmente recoberta por uma substância condutora), possibilitando assim a facilidade de visualização dos microfósseis. A figura abaixo representa uma metodologia descritiva para o preparo de seções polidas de *chert*:

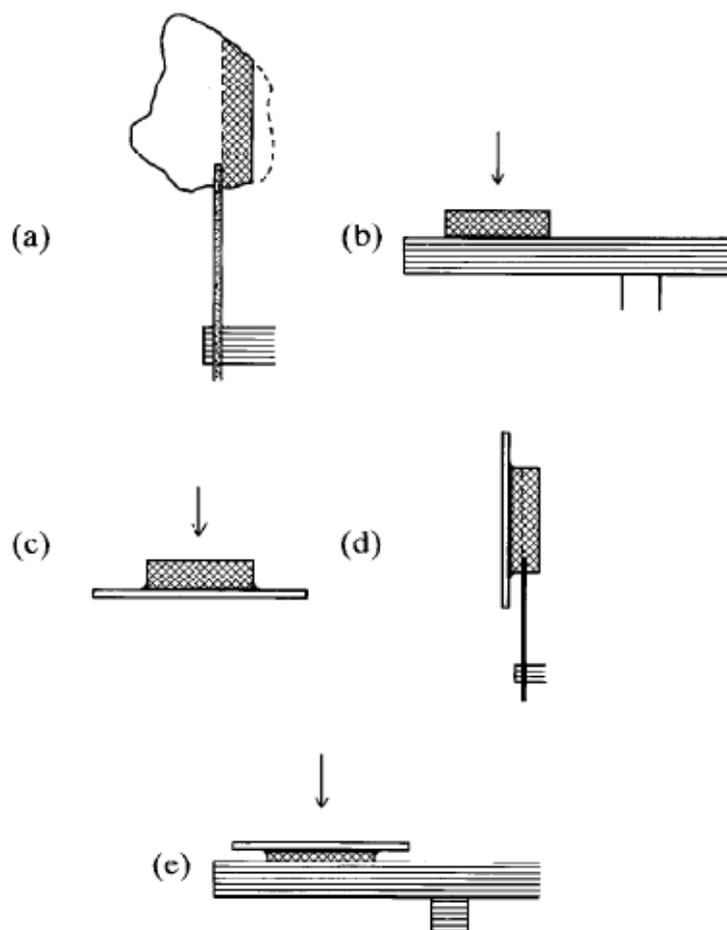


Figura 15 - Preparo de uma seção fina polida de *chert*: (a) uma fatia de rocha com tamanho determinado é cortada com uma serra de diamante, (b) uma face da fatia é polida; (c) a fatia é colada a uma lâmina de vidro e esta colocada para baixo, (d) o material excedente é cortado por um diamante, e (e) a superfície é lixada e polida deixando-a com aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de espessura (REED 2005).

## V – Polimento de amostras de *chert*

O polimento é sem dúvida a operação mais delicada de todo o processo, tendo em vista que as secções devem necessariamente apresentar superfície destituída de relevo, responsável por imprecisões analíticas decorrentes da absorção desigual de raios-X (MOREIRA & BOTTA FILHO 2006).

Segundo REED (2005) para análise composicional (através de raios-X) é extremamente desejável evitar efeitos topográficos: as amostras, portanto, deve ser planas e bem polidas. Os procedimentos de polimento para a microscopia de minério pode ser adaptado para rochas silicáticas

Começando com uma superfície plana, o polimento é realizado com graus progressivamente mais finos de abrasivo (tipicamente esmeril para os graus mais rugosos e de diamante ou alumina nas fases finas posteriores). Tecido de nylon são preferíveis para o polimento, uma vez que têm menos tendência a produzir relevo da superfície entre os minerais de diferentes durezas.

As amostras devem ser cuidadosamente limpas depois de cada fase, a fim de evitar a transferência de material abrasivo nos poros e fissuras. Para faces macias a alumina muito fina pode ser necessária. Técnicas de polimento com alumina tem sido descrita por ALLEN (1984).

Após polimento, as amostras devem ser limpas por lavagem num solvente que não ataca o meio de montagem (por exemplo, etanol ou éter de petróleo), de preferência usando um banho ultra-sónico para desalojar restos de materiais de polimento.

## VI - Recobrimento de Amostras não Condutoras

Os materiais que são condutores elétricos, como os metais, podem ser estudados no MEV sem qualquer preparação especial. Contudo, os materiais dielétricos (ou seja não condutores), como a maioria dos minerais incluindo os *cherts* precisam tornar condutores artificialmente, para dissipação da carga elétrica e do calor introduzidos pela exposição ao feixe de elétrons. Assim, películas delgadas condutoras devem ser depositadas na superfície destas amostras, tendo espessuras entre 5 a 50nm. (REED 2005)

As técnicas de recobrimento comumente utilizadas são:

- Revestimento por carbono.

O método usual de revestimento com o carbono, é o de colocar a amostra na câmara de vácuo com uma fonte de evaporação de carbono. Consiste em pontas de varetas de carbono de 3-6 milímetros de diâmetro, colocadas em contacto assim como descrito na Figura abaixo.

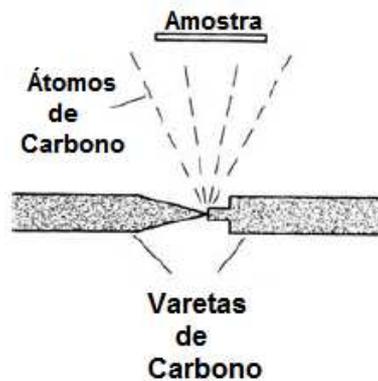


Figura 16 - A evaporação do carbono para dar revestimento condutor na amostra, usando varetas de carbono pontiagudas e uma corrente elevada. (REED 2005).

Uma alta corrente (100 A) é passada através das hastes por alguns segundos, fazendo com que o carbono seja evaporado das hastes para amostra. Uma vez que os átomos de carbono evaporados viajam em linhas retas, este método de revestimento é apropriado apenas para as amostras planas.

A espessura ótima de carbono é de cerca de 20 nm, e esta pode ser controlada usando uma corrente fixa e tempo determinado de evaporação.

A espessura pode ser estimada a partir da cor da superfície revestida de um metal polido, tais como latão (REED 2005 *apud* KERRICK *et al.* 1973): laranja corresponde a 15 nm, vermelhos a 20 nm, azul para verde azulado 25nm, acima de 30 nm pode ser conseguido por meio de um cristal de quartzo sendo este parte de um circuito oscilador eletrônico, com uma superfície exposta, a frequência do oscilador é usada para indicar a espessura do revestimento.

Fibras de carbono evaporam devido ao aquecimento em temperaturas da ordem de 2000°C a vácuo e depositam-se na forma de filmes nas regiões adjacentes. Apesar do carbono não ser um bom emissor de elétrons, este elemento pode fornecer um caminho condutor sobre a amostra mesmo em camadas muito finas.

- Revestimento por evaporação metálica

Embora carbono seja geralmente o material de revestimento preferido para as amostras dielétricas, a condutividade térmica pode ser melhorada com o revestimento metálico.

O ouro deve ser evitado, na utilização como revestimento para as amostras de MEV, porque ele interage fortemente com os elétrons e raios-X por conta de seu alto número atômico. Alternativas, tais como alumínio, cobre e prata são, algumas vezes utilizadas.

O revestimento com estes metais podem ser realizadas por evaporação sob vácuo, utilizando um cesto feito de tungstênio, ou uma folha de molibidênio na forma de “barco”, e estes são aquecidos por passagem de uma elevada corrente elétrica, assim como mostra a figura abaixo:

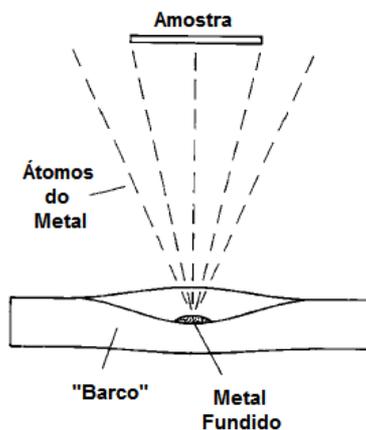


Figura 17 – Apliação de uma elevada corrente ocasiona o aquecimento da folha de molibidênio em forma de barco, acarreta a evaporação do metal (por exemplo, Ag, Al) situado dentro da folha, atingindo assim a amostra. (REED 2005)

Em alguns casos, o revestimento por pulverização catódica pode ser utilizado no lugar, demonstrado assim na seção seguinte.

- Revestimento por pulverização catódica

Este é um método conveniente para a produção dos revestimentos de metais, compostos de ligas de ouro e paládio. Uma vez que um vácuo relativamente pobre é usado. A pulverização catódica é conhecida como a técnica em que os átomos gerados na evaporação do metal (por exemplo, Ag, Al) por aquecimento da folha molibdênio na forma de barco sob corrente elevada (100 A), sejam fortemente dispersos por moléculas de gás inerte, que as deslocam para amostra.

Em amostras com relevo, utiliza-se ouro aplicado em plasma de argônio (sputter) com atmosfera turbulenta, que permite a aplicação do metal em superfícies rugosas e cavidades. Como o ouro é melhor condutor dos elétrons, imagens de melhor resolução e mais magnificação são em geral obtidas com recobrimento com este elemento.

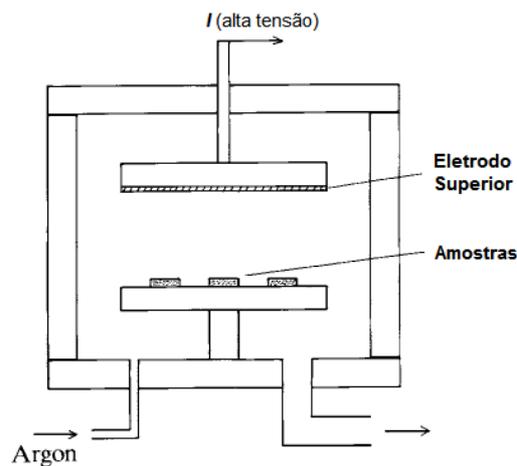


Figura 18 - Revestimeto *spputer*: o ar é removido da câmara e substituído por argônio a baixa pressão; uma corrente de alta tensão (I), é aplicada ao eletrodo superior, e provoca uma descarga no gás de argônio; as amostras são revestidas com os átomos de metal (por exemplo, Au) disperso no gás, método conhecido por “*sputtering*”. (REED 2005).

Os métodos de revestimentos descritos anteriormente possuem vantagens e desvantagens.

O carbono por exemplo, apresenta um único pico no espectro de EDS e, portanto interfere muito pouco em microanálises. É também leve e, portanto não inibe a resposta no detector de elétrons retro-espalhados. Como é aplicado pela vaporização a vácuo, consegue-se uma boa camada apenas em superfícies lisas e planas.

O revestimento de ouro inibe parcialmente a resposta do detector de elétrons retro-espalhados, e os seus muitos picos no espectro de EDS atrapalham as análises qualitativas, e praticamente inviabilizam as quantitativas.

Apesar dos procedimentos de recobrimento ser considerados como rotineiros, é importante salientar que recobrimentos podem facilmente mascarar a superfície real da amostra. Além disso, poucas amostras podem ser estudadas sem recobrimento, desde que o microscópio seja operado na faixa de voltagem adequada.

Para amostras de *chert*, preparadas a partir de seções finas polidas, a alternativa mais viável para visualização dos microfósseis é a utilização do revestimento de carbono, devido a sua uniformidade, entretanto esta não pode ser usada para análise quantitativa de matéria orgânica presente na amostra.

Pode-se dizer que dependendo do estudo, há um método de revestimento adequado para o *chert*.

### 3.3.6 – Análise de Amostras de *chert* através da Microscopia Eletrônica de Varredura

Antes devemos realizar uma pré-análise da amostra através da Microscopia Ótica, um exemplo é o trabalho desenvolvido por TIBÃES E PIRES (2010). Abaixo segue alguns exemplos de imagens da Microscopia Ótica de uma rocha silicática na Fazenda Tijucuçu na Serra do Espinhaço. Ela possui coloração castanha amarelada, estrutura laminada ou brechada contendo planos de filamentos e esferóides imersos na matriz de sílica microcristalina.

Microscopicamente são observadas microestruturas distribuídas em níveis com maior ou menor concentração de formas, podendo ser os microfósseis. Os microfilamentos estão dispersos numa matriz microcristalina de quartzo, podendo ser opala ou calcedônea. (FRAGA *et al.* 2010).

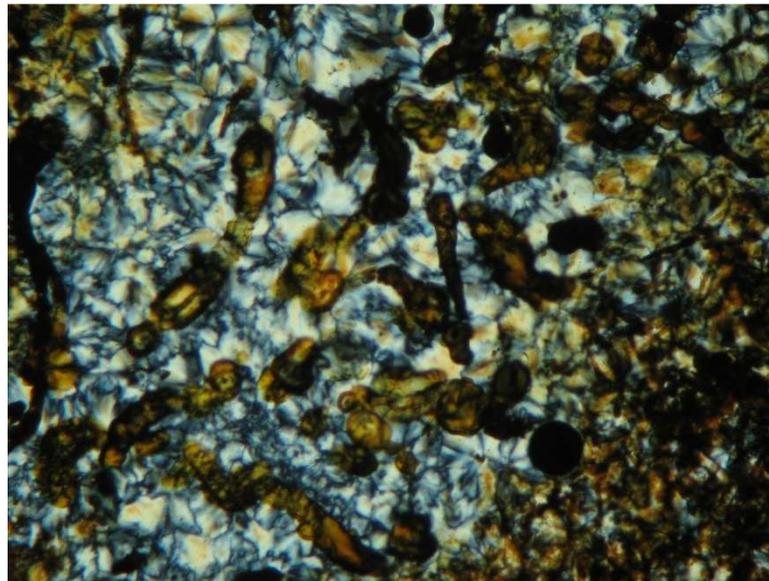


Figura 19 - Microfotografia: Estruturas filamentosas emersas na matriz silicosa. Quartzo microcristalino (opala ou sílex) na matriz do *chert* (Aumento 40X, nicóis cruzados - luz polarizada) TIBÃES & PIRES(2010).

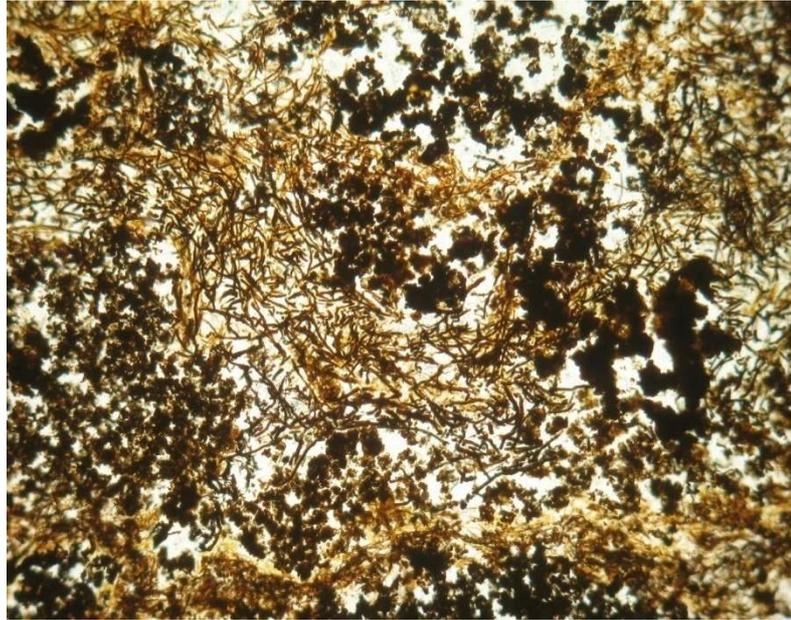


Figura 20 - A mesma lâmina com aumento de 10X e luz transmitida não polarizada, nicóis paralelos, observa-se a concentração de formas filamentosas em níveis determinados TIBÃES & PIRES(2010).

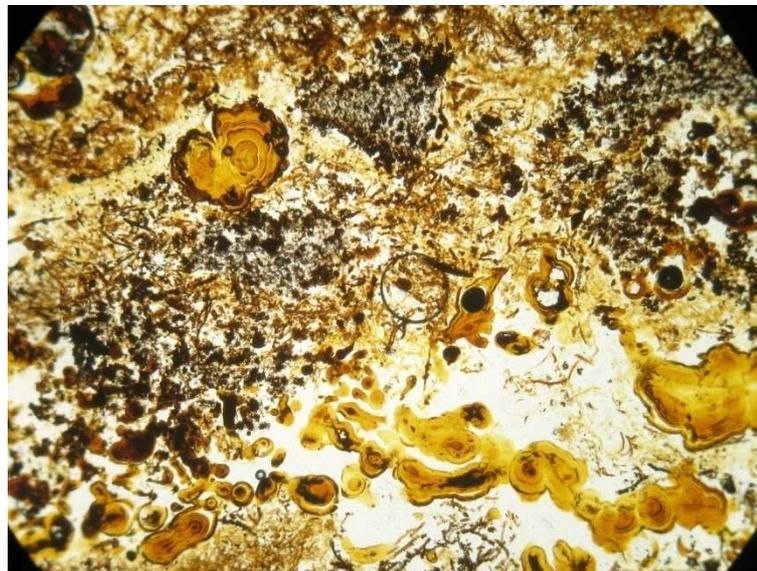


Figura 21 - Localmente observa-se o crescimento de cristais globulares de goethita, com linhas concêntricas possivelmente produto de substituição de pirita framboidal original TIBÃES & PIRES(2010).



Figura 22 - Microfotografia com aumento de 40X, luz transmitida, nicóis paralelos, nota-se claramente as estruturas filamentosas e coccoformes TIBÃES & PIRES(2010).

Abaixo segue uma imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS) de uma amostra de *chert* na Austrália Ocidental, contendo material biogênico realizada por GREGORIO & SHARP (2003).

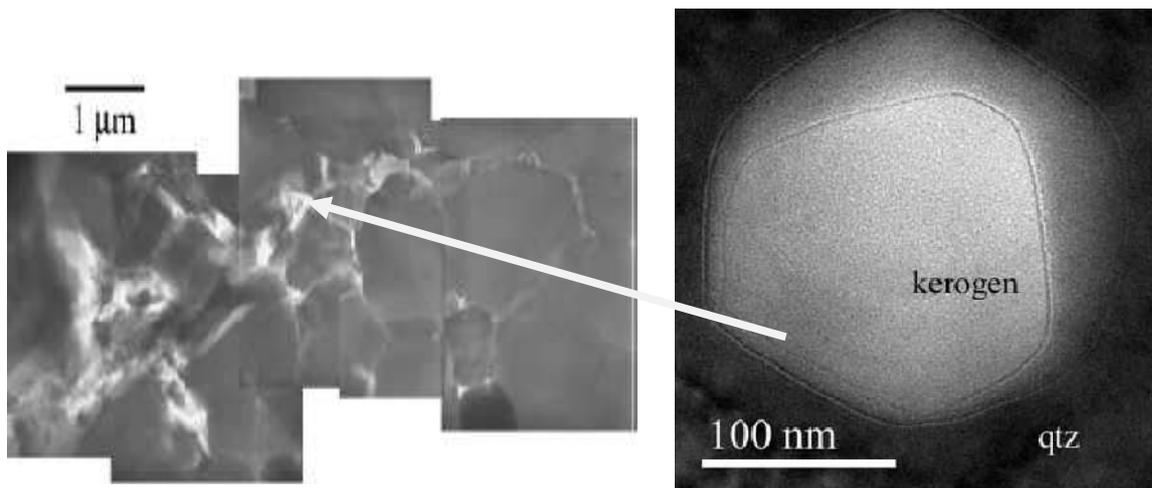


Figura 23 – Matriz de Quartzo contendo sílica e fluido querogênio dentro dessa uma inclusão em um cristal de quartzo. Esta inclusão hexagonal é completamente preenchida com carbono amorfo.

Segundo KREMER *et al.* (2012) o fluido do querogênio dentro de inclusões, sugere que a matéria orgânica foi suspensa no fluido enquanto o quartzo precipitava.

O microfóssil apresentado na Figura 6 (elipsóides, filamentos e material de inertização liso) são ricos em ferro e carbono na comparação com a matriz circundante de quartzo, apontado por SCHOPF & BARGHOORN(2005).

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura com EDS podem de fato revelar se há material incluído, e se é de fato um microfóssil, devido a sua composição química, assim como apresentada na figura abaixo:

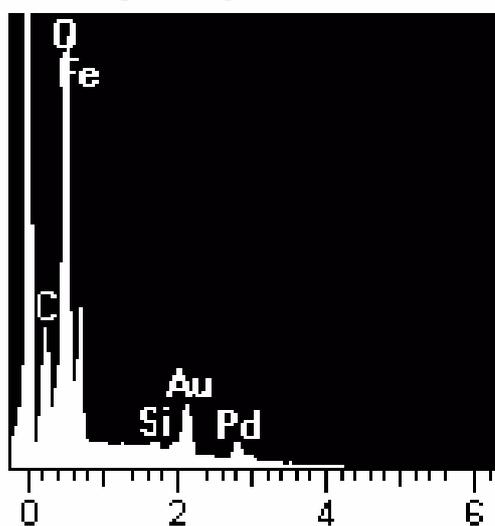


Figura 24 – Análise da Composição Química do Microfóssil em Matriz de *chert*. Nota-se a abundância de carbono, oxigênio e ferro, em relação a sílica. A amostra foi resvestida/dopada com Ouro e Paládio por 30 segundos GREGORIO e SHARP (2003)

Segundo FERRIS *et al.* (1988) o ferro é conhecido por ser importante na conservação microbiana. Geralmente a composição química dos filamentos e esferas apresentadas pelos microfóseis (comumente observadas no MEV), é relacionada a siderita, que pode ser um indício de precipitação microbiana.

A aplicação da microscopia eletrônica para o estudo da vida cambriana é estimulada pela demonstração de suas potencialidades paleontológicas importantes.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desenvolveu-se aqui um material teórico, com conceitos geoquímicos para interpretação da ocorrência dos microfósseis englobados em matrizes de *chert*. Visto que vários fatores físico-químicos influenciam na precipitação da sílica amorfa ocasionando o englobamento de material biogênico (microfósseis).

Aplicação da Microscopia Eletrônica de Varredura é vista como uma técnica importante no estudo da composição química e morfológica desses microfósseis. Apresentou ser útil quando se deseja determinar a composição química de uma determinada região sem que haja perda de amostra.

O *chert* trata-se de uma rocha dielétrica, logo necessita de um revestimento condutor, afim de obter melhores imagens para determinação da morfologia dos microfósseis, no entanto devemos escolher o método de revestimento de acordo com o estudo realizado.

Entretanto devemos levar em conta, que o processo metodológico para o preparo de amostras e o entendimento da ocorrência de microfósseis a fim de evitar a interpretação errônea dos microfósseis.

## 5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALLEN, D. A.; *One-stage precision polishing technique for geological specimens. Mineral.* Cap 48 p. 298–300; USA; 1984

ANINA B., GOMES C. I., MACHADO G.: *Aplicações e preparação de amostras Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores*; Eletrônica De Varredura, – Porto Alegre, Brasil; 2007

BARGHOORN E. S.; TYLER S. A.; *Microorganisms from the Gunflint chert.* vol. 147, p. 563-577 Ontario, Canada; 1965

BERALTI, H. ; *Estromatolitos.* Mexico; 2007  
<http://profesores.sanvalero.net/~w0548/FSVdocumentos/Estromatolitos.pdf> Acessado em: 16/5/12 ,

BERGER, W. H. & VON RAD, U.. *Mineralogy of silica modifications.* In; Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project, 14; 850-886; USA; 1970

CARVALHO A. M., *Petrografia dos Silicitos*  
<http://sopaspedra.blogspot.com.br/2012/03/das-rochas-sedimentares-42.html>  
Acessado em 18/05/12

CASEY, R. E. & MCMILLEN, K. J.; *Cenozoic radiolarians of the Atlantic basin and margins. Developments in Paleontology and Stratigraphy*, , 6; 521-544. USA; 1977

CRAIN R.; *Crain's Petrophysical Handbook - Total Organic Carbon (Toc):*  
<http://www.spec2000.net/11-vshtoc.htm> Acessado em: 15/5/12 Hrs: 18:36

CRUZ W. B.; PEIXOTO C. A. M.; *A evolução Química das águas subterrâneas.* Revista Brasileira de Geociências 21(1):23-33; Belo Horizonte; Brasil; 1990

DA SILVA C. P.; DE SOUZA V.; LEMOS V. B.; *Análise de radiolários e foraminíferos do cretáceo superior da bacia pará-maranhão, margem equatorial brasileira.* Dissertação de Mestrado; UFRGS Porto Alegre; Rio Grande do Sul, Brasil; 2007

DA SILVA GRAZIELLA AZEVEDO; *Caracterização Geoquímica Orgânica das Rochas Geradoras de Petróleo das Formações Irati e Ponta Grossa da Bacia do Paraná.* Dissertação de Mestrado; PPGQ – UFRGS – Porto Alegre 2007 pg-3

De GREGORIO B. T. & SHARP T. G.; *Determining The Biogenicity Of Microfossils In The Apex chert, Western Australia, Using Transmission Electron Microscopy.*, Arizona State University; USA, 2003

DOLBIER, R; ANDERSON T; REGINA N.; *Origin of chert in Mississippian Monte Cristo Formation, Southern Nevada, and Its Relationship to the Antler Orogeny*. Denver, Colorado, Reno, USA, 2010

FOURNIER R.O.; *Silica in thermal water: laboratory and field investigation*. Simpósio de Hidrogeoquímica e Bioquímica. Tokio, 1973.

FERRIS, G. G, FYFE, W.S., BEVERIDGE, TJ.; *Metallic ion binding by Baeillus: implications for the fossilization of micro-organisms*. *Geology* 16, 149-152, 1988

GEESLIN, J.H. & CHAFETZ, H.S.; *Ordovician Aleman ribbon chert: An example of silicification prior to carbonate lithification*; *Journal of Sedimentary petrology*, vol. 52, pp. 1283-1293; USA; 1982

HUMPHRIES, D. W. *The Preparation of Thin Sections of Rocks, Minerals, and Ceramics* Oxford; USA; 1992;

KLING, S. A. *Relation of radiolarian distributions to subsurface hydrography in the North Pacific*. *Deep Sea Research*, Pergamon Press, Great Britain, 23; 1043-1058; USA; 1976.

KREMER, B., BAUER, M., STARK, R.W., GAST, N., ALTERMANN, W., GURSKY, H-J., HECKL, W.M., KAZMIERCZAK, J. *Laser-Raman and atomic force microscopy assessment of the chlorococcalean affinity of problematic microfossils*. *J. Raman Spectr.* 43, 32-39, 2012.

LAFLAMME, J. H. G. *The preparation of materials for microscopic study*. In *Advanced Microscopic Studies of Ore Minerals*, ed. J. L. Jambor and D. J. Vaughan; Canadá; 1990 pg. 37–68.

MACHADO F. B.; *chert* Site:

<http://www.rc.unesp.br/museudpm/rochas/sedimentares/chert.html> Acessado em: 18/05/12

MALISKA A. M.; *Apostila :Microscopia Eletrônica de Varredura*; Capítulo 2; UFSC; Laboratório de Materiais; Florianópolis, Brasil; 2006 p 3, 7, 27, 28, 43, 97

MALIVA R. G. & SIEVER R.; *Pre-Cenozoic nodular cherts; evidence for opal-CT precursors and direct quartz replacement*; USA; 1988, pg 798-809;

MALIVA R. G.; KNOLL A. H.; SIMONSON B. M.; *Secular change in the Precambrian silica cycle: Insights from chert petrology*; Geological Society of American Bulletin, USA, 2004

MANNHEIMER W. A.; *Microscopia dos Materiais - Uma introdução*. Rio de Janeiro, 2002.

MCHARDY, W. J., WILSON, M. J. AND TAIT, J.M. *Electron microscope and X-ray diffraction studies of filamentous illitic clay from sandstones of the Magnus Field*. *Clay Mineral*, USA, 1982, 17 23–39.

MILLER, J. Microscopical techniques: 1. **Slices, slides, stains and peels**. In *Techniques in Sedimentology*, ed. M. Tucke. Oxford USA; 1988; pp. 86–107.

MINER B. A.; *Poorly Graphitized Kerogens*, 1988; pg. 275

MOLINA-CRUZ, A.. *The relation of the Southern trade winds of upwelling processes during the last 75000 years*. *Quaternary research*, 1977; pg-324-338.

MOREIRA A. & J. W. BOTTA FILHO; *Introdução à Microscopia Eletrônica de Varredura e Microanálise*; LCE - DEMa – UFSCar, São Carlos, 2005 p. 5

MORRIS, S. C.; *A new metazoan from the Cambrian Burgess Shale of British Columbia*. Cambridge; 1976

MORRIS, P. A. ; WENTWORTH, S. J. ; ALLEN C.C. & MCKAY D. S., *Possible Microfossils (Warrawoona Group, Towers Formation, Australia)*. Workshop on The Issue of Martian Meteorites, Houston, USA; 2006

MORRISON, R. Australia - **Land beyond time: The 4th billion-year journey of a continent**. New Holland Publ; Australia; 2002.

NISBET, E. G. & WILKS M. E.; *Archaean Stromatolite Reef At Steep Rock Lake, Atikokan, Northwestern Ontario*. Canadian Society of Petroleum Geologist p. 89 - 92, Cambridge, USA, 1989

RAVILOL M. M.; BARBOSAI J. A.; NEUMANNII V. H.; *Characteristics, distribution and diagenetic stages of chert in the La Silla Formation (Lower Ordovician), Argentine Precordillera*. Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil 2009; p:2

REED S. J. B.; *Electron Microprobe Analysis And Scanning Electron Microscopy In Geology*; Published in the United States of America by Cambridge University Press, New York p. 3 University of Cambridge Cambridge, New York; USA 2005; p. 3/8/10/153/158/159-162

ROSSI A; *Micropaleontologia*. Site :

<http://www.adrianarossi.com/micropaleontologia.php> acessado em 17/05/12

ROTHPLEZ A; 28(4), 1-91. & WALCOTT D. *Geol. Surv. Canada Mem*, 28, 16-23, 1916

SCHLANGER, S. O. ; JENKYNS, H. C.. **Cretaceous oceanic anoxic events, causes and consequences.** *Geologie em Mijnbouw*, 1976 pg-179-184

SCHOPF J. W.; BARGHOORN E. S.; *Electron Microscopy of Fossil Bacteria Two Billion Years Old. Department of Biology and Botanical Museum*, Harvard University; Cambridge; Massachusetts; USA, 1965 p. 1, 2

SRIVASTAVA,N.K. 2002. Lagoa Salgada, RJ - *Estromatólitos recentes. In: Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. 1ª ed. Brasília: DNPM/CPRM - Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP), 2002. pg-203-209.

TIBÃES A. L.; PIRES G. L. P. *Estudo paleontológico dos estromatólitos calcáreos do grupo macaúbas, serra do espinhaço meridional, Couto Magalhães de Minas (MG)*. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao departamento de Biologia; Diamantina; Brasil; 2010