

# GUIA rápido e fácil de montagem de *stubs* para análises de MEV

Adaptação do guia do Centro Nacional Multiusuários BR-sul da UFRGS.

- **1 Manuseio**

Sempre utilize luvas sem pó para manusear as amostras e os stubs
- **2 Limpeza**

Limpe previamente seus stubs e amostras com acetona ou isopropanol
- **3 Colagem**

Use fita carbono para fixar o material nos stubs e retire o excesso de partículas com um soprador
- **4 Identificação**

Identifique as amostra na parte inferior dos stubs
- **5 Armazenamento**

Armazene as amostras com cuidado em um local seco, utilizando uma caixinha apropriada

**Importante:** Para serem recebidas, as amostras devem estar dentro dos padrões de limpeza, montagem, identificação e armazenamento.

Qualquer dúvida, entre em contato com o Márcio: (16) 3373-8785 ou [marcio@iqsc.usp.br](mailto:marcio@iqsc.usp.br)

# INFORMAÇÕES

**OBS. a.** Para esse guia, o tamanho e a forma das amostras estão limitados ao tipo de *stub* disponível no MEV do IQSC, que é o *stub* de 10mm de diâmetro. Quaisquer outros tipos e tamanhos de amostras, converse com o técnico do MEV.

## **b. Limpeza e Secagem de Amostras**

Antes da caracterização no MEV, as amostras independente de sua forma, aspecto e origem devem estar **completamente desengorduradas e secas** para eliminar qualquer saída de gás de contaminação orgânica e água. Para isso, o usuário poderá utilizar diferentes estratégias de secagem de tal forma a não danificar ou modificar a sua amostra. Poderá fazer uso de ultrassom, solventes orgânicos, dessecador ou estufa. Amostras com resquícios de umidade não serão analisadas. As poeiras da superfície podem ser removidas utilizando um soprador ou gás comprimido.

## **c. Manuseio**

Luvras devem ser usadas o tempo todo durante a preparação e transferência da amostra ao *stub*. De preferência para luvas sem talco. Não toque nas amostras, porta-amostras, *stubs* de amostras e ferramentas de preparo de amostras com as mãos desprotegidas. A gordura das mãos é a principal fonte de contaminação do sistema de MEV. Todas as peças e ferramentas que envolve a preparação devem ser manuseadas em uma superfície limpa.

**d.** Cada amostra tem sua particularidade de acordo com a proposta do pesquisador. Assim, independente de sua forma, aspecto e origem, toda preparação de amostras deverá ser previamente discutida diretamente com o técnico responsável pelo MEV.

**e.** Amostras que degasam e que apresentem características pastosas ou oleosos deverão ser evitadas. Nesses casos recomenda-se a utilização de microscópio que trabalhe em baixo vácuo. Mesmo assim, o técnico responsável deverá avaliar se será viável ou não a realização das análises.

1. Em *Stubs* com pino (padrão ocidental), escreva embaixo de **CADA STUB** um número ou letra que lhe auxilie a diferenciar cada amostra colocada sobre cada *stub*. Para o padrão oriental (equipamentos da Jeol) escrever o número em cima do *stub*.



**Stubs** padrão ocidental: FEI, Tescan, ZEISS, Philips, LEO, Cambridge



**Stubs** padrão oriental: Jeol



**ESSA ETAPA É IMPRESCINDÍVEL!!!**  
Escreva uma letra ou um N<sup>o</sup> com qualquer caneta permanente.



2. Com o auxílio de uma tesoura, corte um pedaço de fita e cole no centro do *stub* sem ocupar toda superfície. De preferência para fitas condutoras como carbono ou cobre.



Dependendo da amostra (tipo, característica, etc), pode-se utilizar tinta condutiva de carbono para fixar o material. A aplicação é feita com um pincel ou um palito. Quando fizer uso dessa técnica, esperar secar a tinta. Normalmente, 30 minutos é tempo suficiente para que os solventes evaporem, evitando assim a contaminação da câmara do MEV.

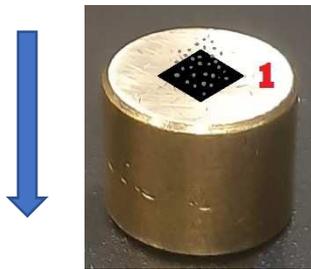


- 3) Se a sua amostra for um pó, basta depositar uma **PEQUENA** quantidade de material sobre a fita carbono. Cuidado ao depositar o material. Lembre-se que o famoso jargão do *masterchef* **menos é mais!** é imprescindível na microscopia, pois uma pequena quantidade torna-se **GRANDE** em nível microscópico!

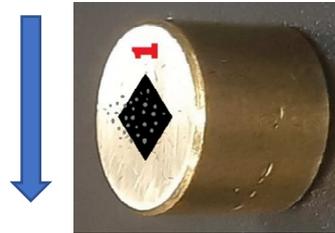
**CUIDADO**

**MENOS É MAIS**

O uso de uma espátula pequena irá auxiliá-lo nesta deposição. Após ter colocado uma pequena quantidade sobre a fita, bata o suporte na posição vertical sobre uma bancada para que o material grude na cola da fita. Em seguida vire o *stub* 90 graus e bata para cair o excesso.

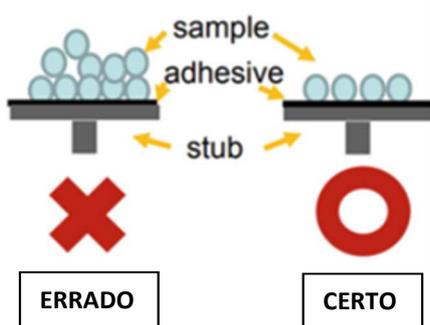


Bater na posição vertical para o material grudar na fita.

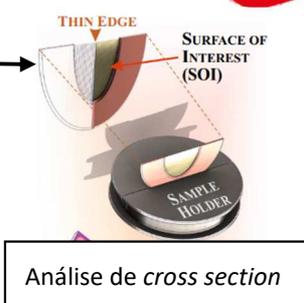


Girar 90 graus e bater na posição vertical para sair o excesso

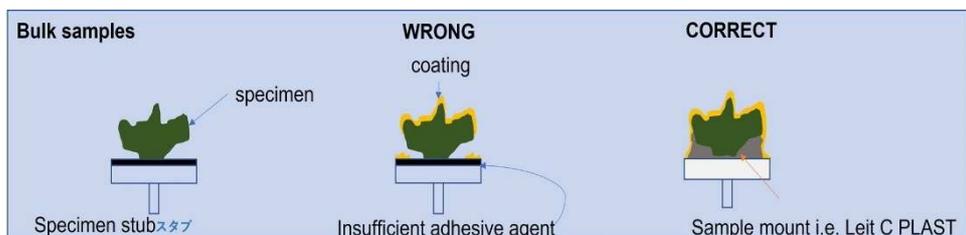
4. Utilize um jato de ar ou um soprador para remover o excesso de material sobre a fita. Amostra em excesso resulta em sobreposição de material formando aglomerados que dificultará a visualização do objeto de estudo (como identificação da morfologia, tamanho de grão, etc). Material em excesso afetará também o processo de metalização, já que pode ocorrer desprendimento de amostra e a não formação de filme homogêneo do material condutor sobre amostra.



5. Se o seu material for uma lamínula, filme polimérico, metal, não tem problema! Basta fixar sobre a fita/cola ou pasta condutora. Para análise da secção transversal, fazer a fratura criogênica em N<sub>2</sub> líquido. Amostras biológicas, além de seguirem protocolos pré-estabelecidos, precisam passar pelo processo de secagem no ponto crítico antes de efetuar a metalização.



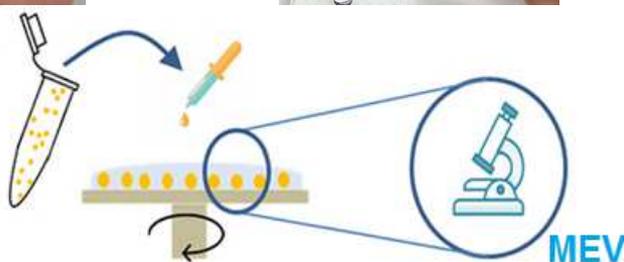
Sempre que puder, deixe a amostra a **MENOR POSSIVEL** com relação a sua altura, pois quanto mais “alta” for a amostra, pior será a condutividade dos elétrons (descarregamento), afetando o resultado das imagens. Para minimizar isso faça um contato com tinta prata entre o topo da amostra e base do stub.



6. Se a sua amostra for um sólido suspenso em meio líquido aquoso ou em solvente orgânico, recomenda-se pingar uma gota sobre uma placa de silício (*silicon wafer*) e esperar secar, antes do processo de metalização ou análise em MEV. De modo geral, uma gota de 3-5 microlitros de uma solução é necessária para dar uma boa dispersão da amostra. Com o sólido suspenso dentro do *ependorf*, recomendasse levá-lo ao ultrassom para que as partículas fiquem bem soltas antes de pingar na plaquinha de silício. Após pingar, espere secar para analisar no MEV.



Disquinhos de silício “silicon wafer”



**7. Pronto!** Agora é só submeter sua amostra ao processo de metalização se necessário e levar no MEV para analisar.



**PROGRAME-SE,**  
POIS É NECESSÁRIO  
TRAZER AS AMOSTRAS  
COM PELO MENOS 48H  
DE ANTECEDÊNCIA DA  
ANÁLISE PARA  
GARANTIR O SERVIÇO  
DE METALIZAÇÃO.



Na microscopia eletrônica de varredura (MEV), os revestimentos condutores são comumente aplicados à superfície de materiais isolantes ou sensíveis ao feixe de elétrons. Ele é utilizado para dissipar o acúmulo de carga e reduzir os danos estruturais resultantes da interação com o feixe de elétrons. Assim, há uma grande variedade de materiais de revestimento comercialmente disponíveis, incluindo metais como ouro, platina, irídio, etc... e não metais, incluindo carbono. Mas a questão é, qual utilizar e que revestimento é o mais correto para as suas amostras?

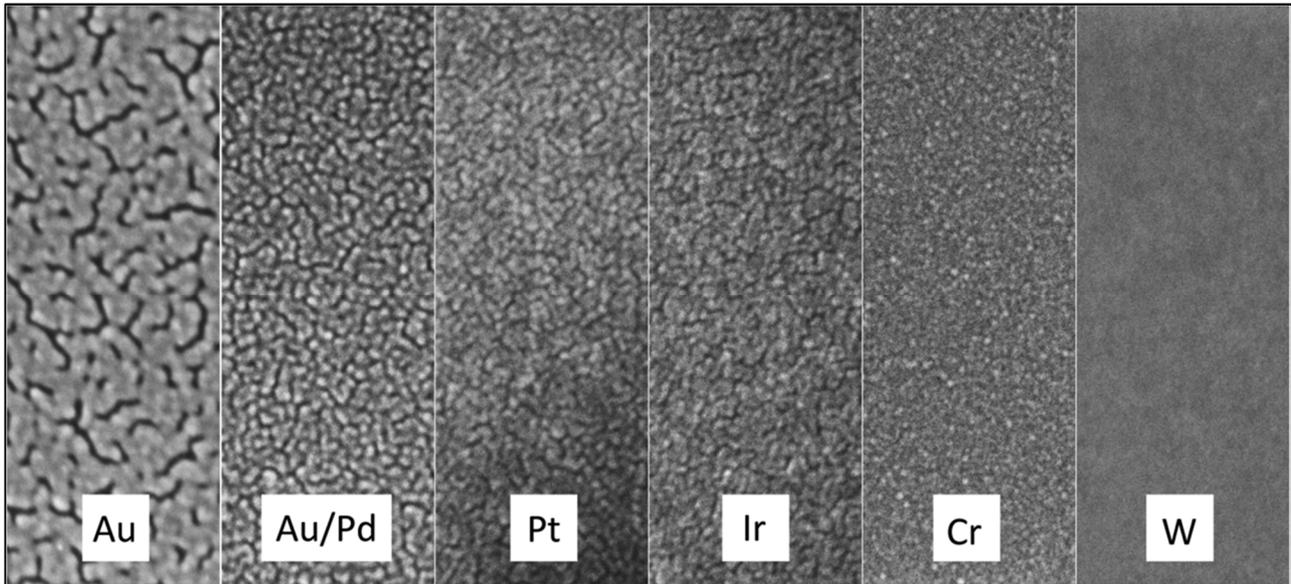
Como podem ver, não menos importante com relação ao preparo de amostras, o processo de metalização é uma etapa primordial a ser definida no preparo de amostras para que não tenha interferência nos detalhes estruturais de sua amostra. É importante considerar o(s) tipo(s) de imagens e análises químicas que você realizará bem como custo-benefício e facilidade de uso.

Os revestimentos metálicos são ideais para imagens de alta resolução. Um revestimento metálico não apenas fornece um caminho de condução, mas também auxilia na dissipação de calor com amostras sensíveis ao feixe. Os revestimentos metálicos também proporcionam um rendimento de elétrons secundários mais alto que pode melhorar o sinal-ruído ao gerar imagens em alta resolução (baixo *probe current*). Uma desvantagem é a possibilidade de absorção de raios X de baixa energia ou interferência com Linhas de raios X inerentes à amostra que está sendo analisada ao realizar a análise EDS. Em contraste, o carbono é um condutor ideal revestimento para análise EDS porque seu único pico detectável de raios X de baixa energia não se sobrepõe a nenhum outro elemento. Além disso, sua baixa absorção de elétrons e raios X permitirá um melhor sinal de elétrons retroespalhados e nenhuma interferência para análise de EDS. No entanto, deve-se ter cuidado ao adicionar um revestimento de carbono, pois a evaporação do carbono é um revestimento de alta temperatura o que pode vir danificar amostras termicamente sensíveis.

Quando falamos em metalização, o ouro é sem dúvida o revestimento mais usado em microscopia para amostras não condutoras. No entanto, devemos ter cuidado com o que queremos ver e analisar. Devido ao tamanho de seus grãos, ele não deve ser usado em ampliações superiores a 50.000x, pois esses grãos começarão a aparecer e ficará a dúvida se essas partículas faziam parte de sua amostra ou não. Outro ponto que deva ficar atento é quando for fazer microanálise de EDS. Devido as suas linhas de emissão de raios-X da série M (2.12keV), interferência com sinais de outros elementos como S, Nb, Zr, Pt, irão acontecer. Assim, para microanálise de EDX, recomenda-se utilizar C.

Para ajudar, segue abaixo uma figura com os tamanhos de grãos dos metais mais utilizados na metalização. Isso irá ajudá-lo a decidir qual metal utilizar. Segue também um fluxograma geral para você decidir as etapas e qual material depositar sobre suas amostras. Para auxiliá-lo a decidir, segue também uma tabela relacionando a ampliação com esses metais. Essas informações podem ser acessadas em:

1. **Target Material Selection for Sputter Coating of SEM Samples.** *Microscopy Today*, volume 27, issue 4, July 2019, pp. 32-36.
  2. <https://www.jeolusa.com/Search-Results?Search=Sample%20Preparation%20Techniques%20%E2%80%93%20Conductive%20Coatings>
-



**Figura:** Imagens de MEV em elétrons secundários de vários materiais usados em microscopia. Todos os revestimentos tem 2 nm de espessura depositados em vidro e fotografados a 10 keV. A escala é de = 140 nm.

**Tabela:** Características de alguns materiais usados na metalização. As medidas são baseadas na figura acima

Sputter Material	Grain Size <sup>a</sup>	Typical Maximum Magnification <sup>b</sup>	Relative SE yield <sup>c</sup>
Au	10–12 nm	10,000×	High
Au/Pd	4–8 nm	25,000×	High
Pt	2–3 nm	50,000×	High
Ir	1–2 nm	100,000×	High
Cr	1–2 nm	100,000×	Moderate
W	< 1 nm	200,000×	High

**Tabela.:** Metais utilizados na metalização para várias aplicações de tipos de MEV (indicado por x). As recomendações assumem que um filme de 1–2 nm de espessura foi devidamente depositado usando equipamento apropriado.

Sputter Material	Tabletop SEM	Research SEM (tungsten)	Research SEM (field emission)	SE Signal Boost	X-ray Microanalysis
Au	x			x	
Au/Pd	x	x	x	x	
Pt		x	x	x	
Ir			x	x	
Cr			x	x	x
W			x	x	
C <sup>a</sup>					x

**Como podem ver, o conhecimento prévio de seu material bem como aquilo que pretende visualizar, irá ajudar muito a escolher o metal adequado para a metalização bem com o grande sucesso de sua análise.**

## What conductive coating is best for you?

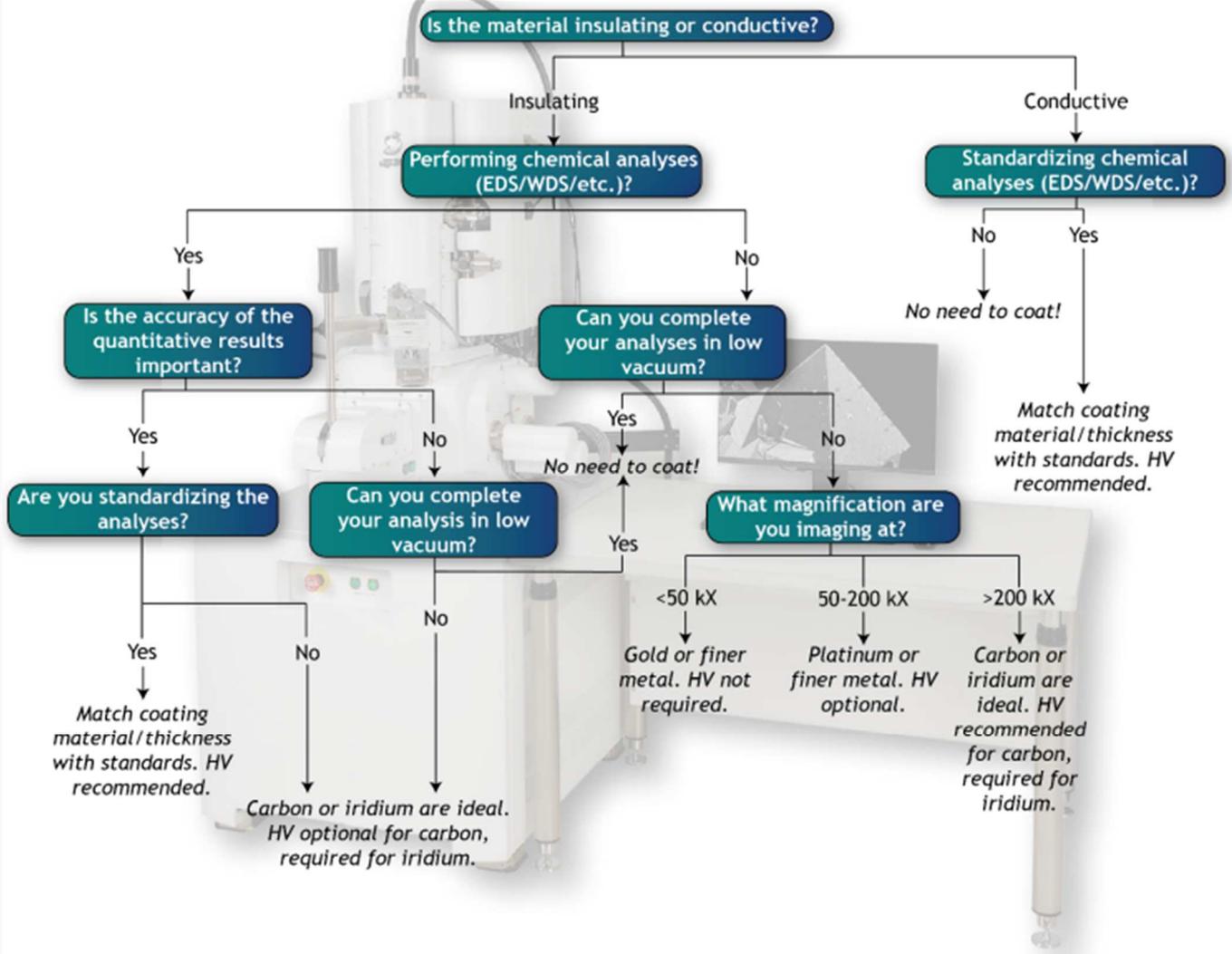


Figure 3. Generalized flow chart for conductive coatings. HV = high vacuum coater.