



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

Microscópio Eletrônico de Varredura FEI®

Inspect S50

Manual para operação





UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

Setembro de 2015



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

SUMÁRIO

1. RECOMENDAÇÕES IMPORTANTES
2. CONHECENDO O MICROSCÓPIO
3. INICIANDO O PROGRAMA
4. CONHECENDO A INTERFACE DO XT MICROSCOPE CONTROL
5. INICIANDO A OPERAÇÃO DO MICROSCÓPIO
6. INSERINDO AS AMOSTRAS NO MICROSCÓPIO
7. LIGANDO O FEIXE DE ELÉTRONS
8. SATURANDO O FILAMENTO
9. LOCALIZANDO AMOSTRAS E OBTENDO IMAGENS
10. FINALIZANDO A OPERAÇÃO



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Computadores usados na operação do microscópio *Inspect S50*.

Figura 2: Monitores usados na operação do microscópio *Inspect S50*.

Figura 3: “*Mouses*” e teclados usados na operação do microscópio *Inspect S50*.

Figura 4: Área de trabalho do monitor da direita (Computador FEI).

Figura 5: Interface do programa “*xT microscope Server*”.

Figura 6: Descrição básica da interface do programa “*xT microscope Server*”.

Figura 7: Botão de seleção do modo de detecção.

Figura 8: Imagem da câmara do microscópio *Inspect S50*.

Figura 9: Indicação do vácuo do microscópio e das posições do Estágio.

Figura 10: Aba “*Control*” e botão “*Vent*”.

Figura 11: Confirmação da opção de despressurização da câmara (“*Vent*”).

Figura 12: Sequências de mudanças no indicador da pressão.

Figura 13: Inserção dos “*stubs*” no porta-amostra.

Figura 14: Indicação da altura ideal em azul na qual o porta-amostra deve ser ajustado.

Figura 15: Posição ideal do porta-amostra no Estágio do microscópio *Inspect S50*.

16

Figura 16: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando na distância segura entra as amostras e detector BSE.

Figura 17: Interface do programa *xTmicroscope Control* após o procedimento de subida do porta-amostra até a altura ideal para operação do microscópio *Inspect S50*.

Figura 18: Indicação para travar o campo manual de inserção de altura.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRAL ANALÍTICA

Figura 19: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando a indicação do botão para ligar a bomba de vácuo (“*Pump*”).

Figura 20: Sequência do indicador de pressão após pressionado o botão “*Pump*”.

Figura 21: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando indicação para ativar o feixe de elétrons (“*Beam On*”).

Figura 22: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando os parâmetros a serem ajustados para obtenção da imagem no microscópio *Inspect S50*.

Figura 23: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando a saturação do filamento é feita na aba “*Alignments*” > “*Souce Control*”.

Figura 24: Parâmetros a serem ajustados para a saturação do filamento do microscópio *Inspect S50*.

Figura 25: Saturação do filamento e centralização do feixe de elétrons.

Figura 26: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando a ferramentas de seleção de área e de velocidade de varredura do feixe.

Figura 27: Painel de controle do microscópio

Figura 28: Imagens geradas pelos detectores de elétrons secundários (Imagem SE) e retro-espalhados (Imagem BSE) do microscópio *Inspect S50*.

Figura 29: Aspecto das imagens com astigmatismo e após a correção, obtidas em diferentes condições de foco.

Figura 30: Selecionado a velocidade de varredura para obtenção de imagens.

Figura 31: Acesso ao menu para salvar as imagens geradas.

Figura 32: Sequência para salvar imagens obtidas no microscópio *Inspect S50*.

Figura 33: Informações contidas na barra de escala das imagens.

Figura 34: Menu que dá acesso à opção de “*Home Stage*”, que leva o Estágio para a posição padrão.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA



1. Recomendações importantes

- ✓ **Não deixar bolsas ou mochilas sobre as mesas da sala durante sua sessão. Trazer apenas o material essencialmente necessário;**
- ✓ **Sempre utilizar luvas para manipular qualquer componente que será colocado no interior do microscópio;**
- ✓ **Guardar todas as ferramentas e porta amostras imediatamente após o uso;**
- ✓ **Ao terminar sua sessão, deixe a mesa limpa e organizada;**
- ✓ **É obrigatório anotar no caderno de controle todos os dados requisitados (horário em que iniciou e terminou sua sessão, nome, instituição, material analisado incluindo número de protocolo, detectores utilizados);**
- ✓ **Este equipamento é de caráter multiusuário e a conservação do mesmo também é responsabilidade sua.**
- ✓ **O ar condicionado deve estar configurado para 21 °C. Não modifique essa temperatura em hipótese alguma!**
- ✓ **O desumidificador deve estar ligado.**



ATENÇÃO!

**Sempre que você não tiver absoluta certeza do que fazer, chame um dos responsáveis!
Caso algum desses parâmetros esteja desconfigurado, favor entrar em contato com um dos responsáveis**



2. Conhecendo o microscópio

- ✓ Após a checagem dos parâmetros anteriores, você deve ligar os computadores que controlam o microscópio. O microscópio estará sempre ligado para o usuário, ou seja, a parte eletrônica e o vácuo estarão ligados.
- ✓ O microscópio possui três computadores acoplados. O computador da esquerda é o responsável pelo suporte ao programa de Litografia de elétrons (*Raith*); o computador central suporta a Microanálise de raios-X (*Oxford*); e o computador da direita suporta o programa básico de controle do microscópio (*FEI*). Ver Figura 1.

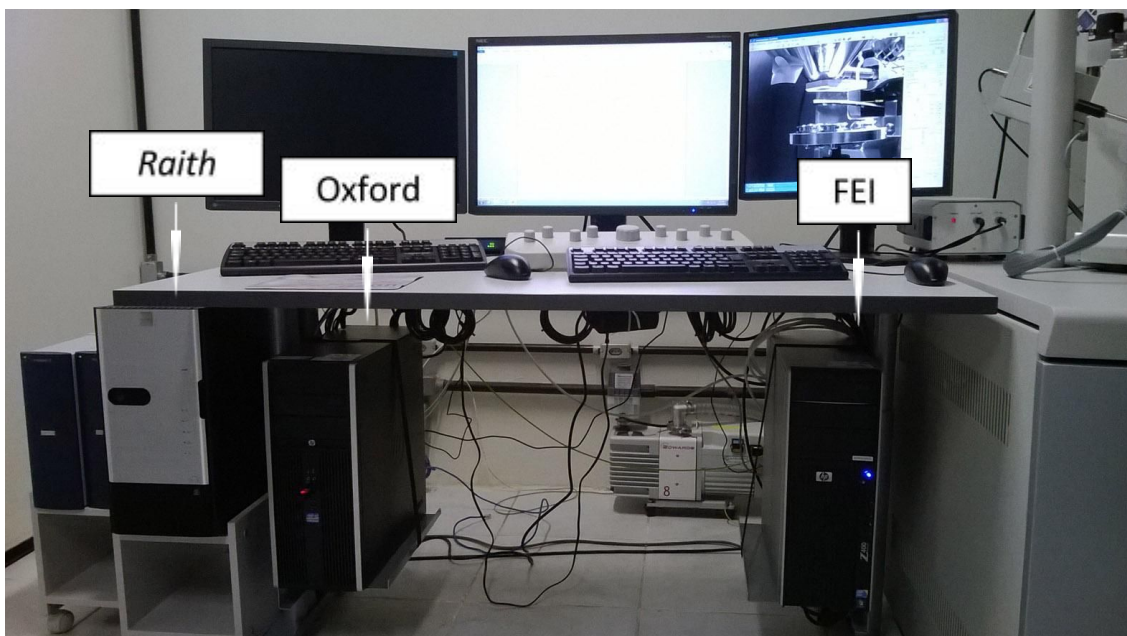


Figura 1: Computadores usados na operação do microscópio *Inspect S50*.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

- ✓ Há três monitores, cada um conectado a um computador. O monitor da esquerda está ligado ao computador do controle da Litografia de elétrons (*Raith*); o monitor central está ligado ao computador que controla a Microanálise de raios-X (*Oxford*); e o monitor da direita está ligado ao computador que suporta o programa básico de controle do microscópio (*FEI*). Ver Figura 2.

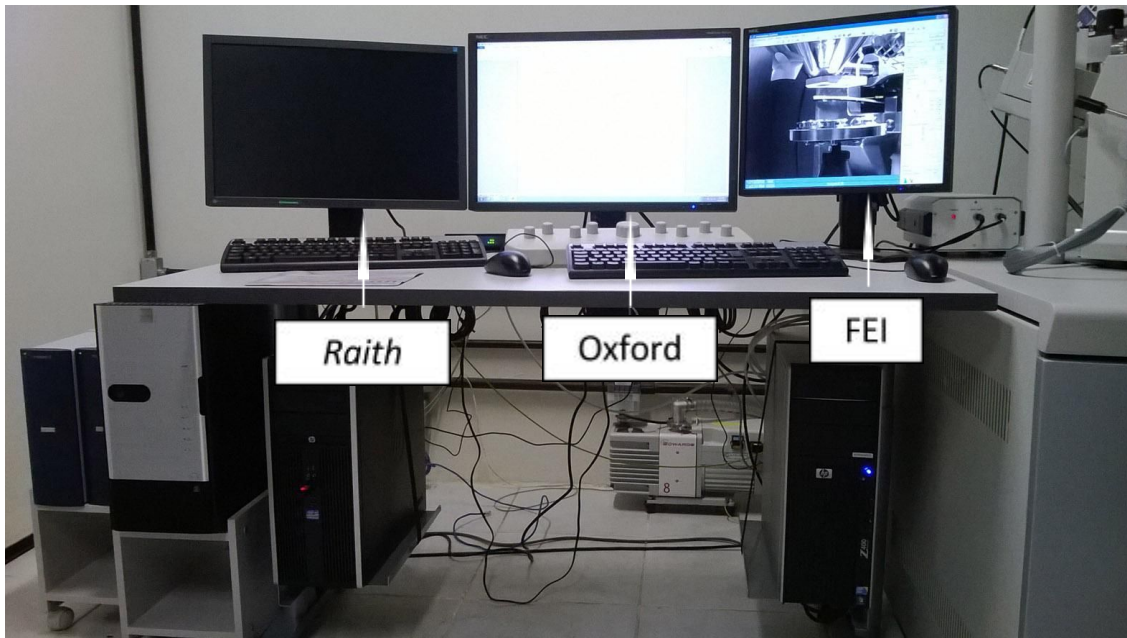


Figura 2: Monitores usados na operação do microscópio *Inspect S50*.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

- ✓ Há dois “*mouses*” e dois teclados. O *mouse* e o teclado da esquerda controlam os computadores da Microanálise de raios-X (Oxford) e da Litografia de Elétrons (*Raith*); e o *mouse* e o teclado da direita controlam o computador que suporta o programa básico de controle do microscópio (FEI). Ver Figura 3.

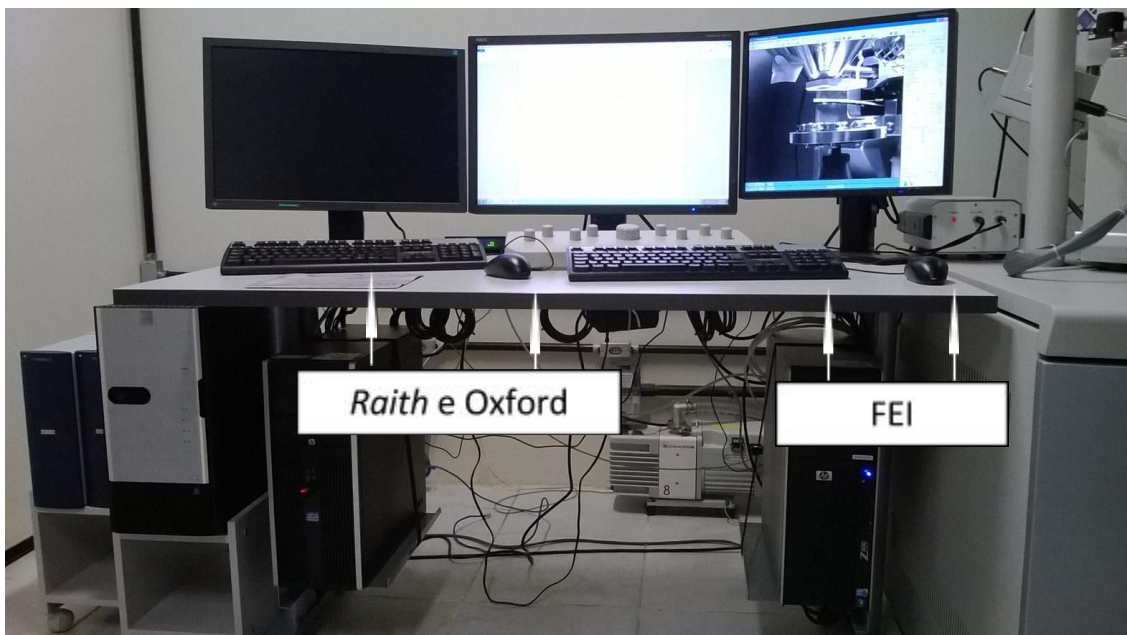


Figura 3: “*Mouses*” e teclados usados na operação do microscópio *Inspect S50*.



3. Iniciando o programa

✓ Primeiramente, ligue o microcomputador central (Oxford);

✓ Aguarde até aparecer à tela do Windows;

✓ Faça o *login*:

✓ *Login*: supervisor

✓ Senha: supervisor

✓ Ligue o computador da direita (FEI);

✓ Aguarde até aparecer à tela do Windows;

✓ Faça o *login*:

✓ *Login*: supervisor

✓ Senha: supervisor

✓ Caso for usar a litografia, ligue o computador da esquerda (*Raith*);

✓ Aguarde até aparecer à tela do Windows;

✓ Faça o *login*:

✓ *Login*: supervisor

✓ Senha: supervisor



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRAL ANALÍTICA

- ✓ Após o *login*, no monitor da direita (conectado ao computador FEI) haverá a área de trabalho mostrada na figura 4. No canto inferior esquerdo da tela, clicar duas vezes em “*xT microscope Server*”. Este é o programa que controla o microscópio.

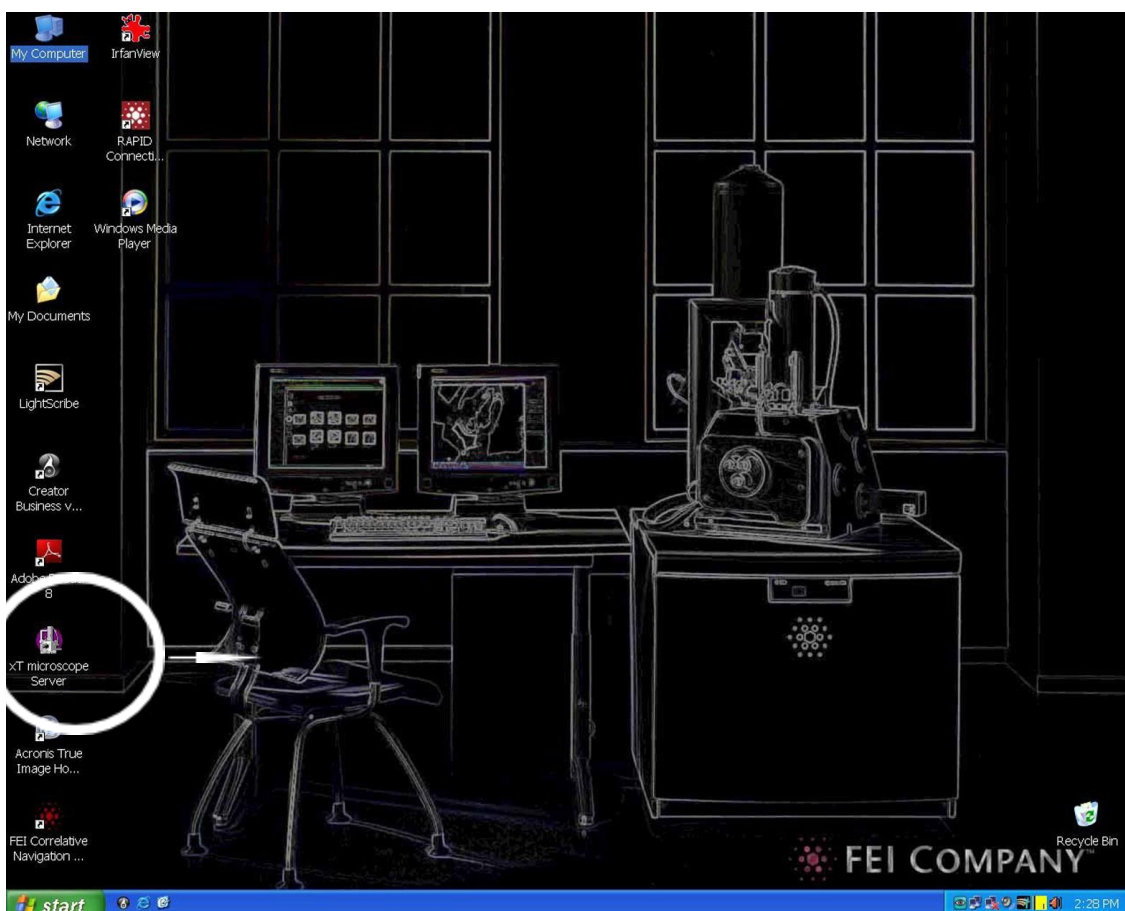


Figura 4: Área de trabalho do monitor da direita (Computador FEI).



- ✓ A primeira interface deste programa é apresentada na Figura 5. Para iniciar a operação do microscópio, cheque se todos os parâmetros da janela superior direita estão com o “*status*” correto, representado pela cor verde. Caso tudo esteja funcionando, o botão “*Start*” estará disponível. Por Favor, pressione esse botão (seta preta).

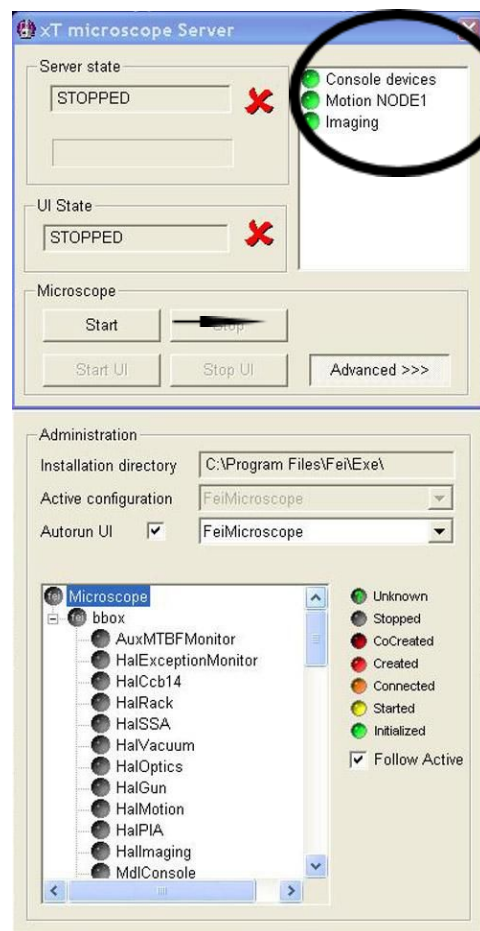


Figura 5: Interface do programa “*xT microscope Server*”.



ATENÇÃO!

Caso algum desses itens esteja com outra cor que não seja verde, favor entrar em contato com um dos responsáveis.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

✓ Após início do programa, a tela apresentada na Figura 6 aparecerá. Nessa tela, faça o *login* no programa:

- ✓ **Login:** supervisor
- ✓ **Senha:** supervisor

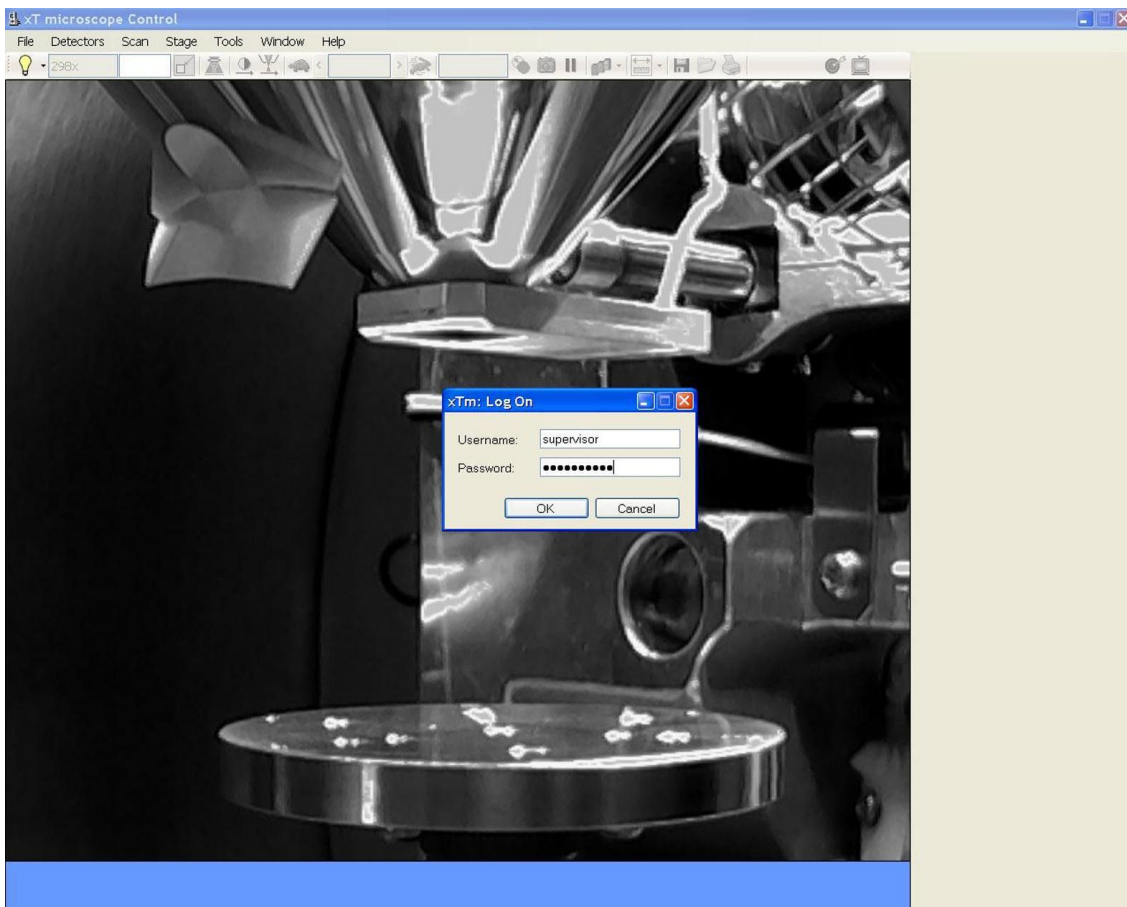


Figura 6: Tela de *login* no programa “xT microscope Server”.



4. Conhecendo a interface do *xT microscope Control*

- ✓ A Figura 7 apresenta uma visão geral da interface do programa de controle do microscópio (*xT microscope Control*).

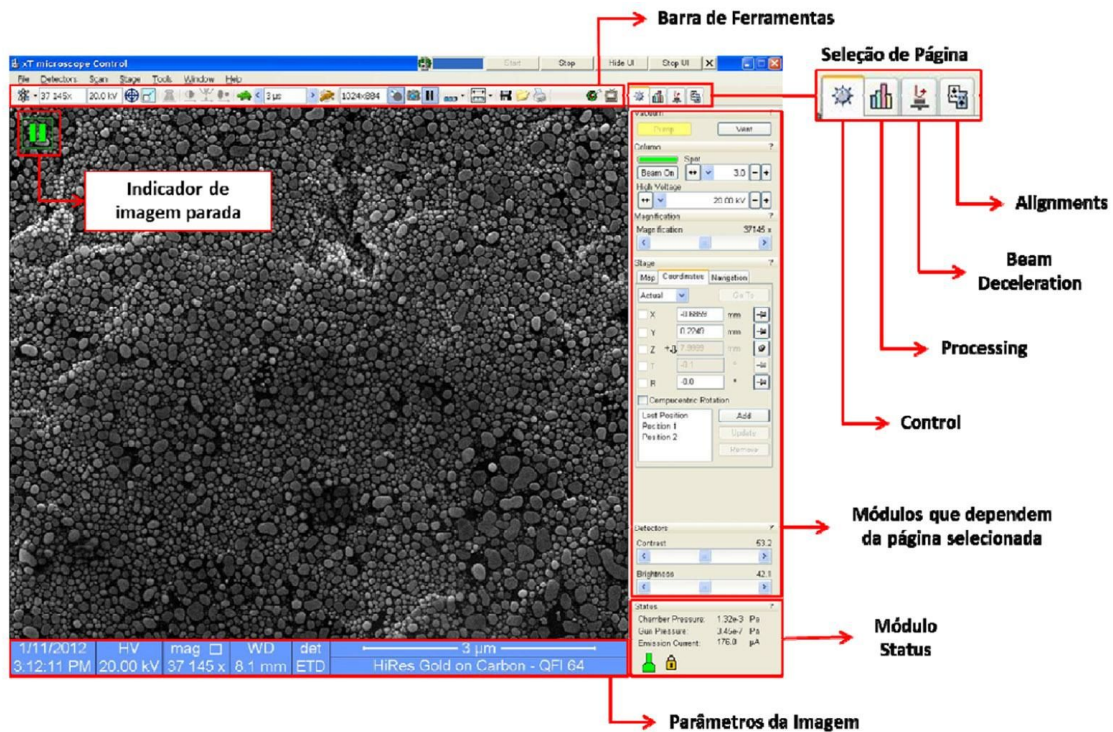


Figura 6: Descrição básica da interface do programa “*xT microscope Server*”.

- ✓ Além das ferramentas disponíveis na “barra de ferramentas” e no menu do programa, existem diversas funções que ficam disponíveis na coluna de páginas na margem direita. Esta coluna é dividida em módulos que permitem o ajuste e controle das principais funções do



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRAL ANALÍTICA

microscópio, distribuída meio da aba de seleção de página. São elas:

- ✓ **Beam Control:** Contêm as principais funções de controle do vácuo da câmara, coluna, aumento, controle do feixe, detectores e “*status*” da pressão da coluna.
- ✓ **Processing:** Contêm as funções de Medida/Anotações, zoom digital, pós-processamento da imagem (*Enhanced Image*) e Detectores (Brilho e Contraste).
- ✓ **Beam Deceleration:** Contêm as funções de Coluna (Alta tensão e *Spot size*), aumento, Controle do feixe (*Stigmator*, *Beam shift*, *Lens alignment* e *Source tilt*), Desaceleração do feixe (*Beam deceleration*), Detectores (Brilho e Contraste) e *Status* (informações da pressão da câmara, pressão da coluna e corrente do feixe).
- ✓ **Alignments:** Esta aba permite realizar o alinhamento dos defletores de astigmatismo, a saturação do filamento e a definição do centro de rotação para rotação compucêntrica do estágio. Caso deseje utilizar a rotação compucêntrica peça o auxílio do técnico responsável.
- ✓ **Muito cuidado nos ajuste dos parâmetros.**
- ✓ **Eles não necessitam ser ajustados com frequência, caso não tenha certeza absoluta do procedimento, por favor, chamar o técnico.**



5. Iniciando a operação do microscópio

- ✓ Clicar no canto superior esquerdo da tela principal, o qual possibilita selecionar o modo de detecção: feixe de elétrons ou câmera CCD. Ative a câmera (“*CCD Camera*”). Ver Figura 8.



Figura 7: Botão de seleção do modo de detecção.

- ✓ A tela exibirá a imagem da câmera CCD, que detecta a imagem da câmara do microscópio, conforme mostrada abaixo na Figura 9.

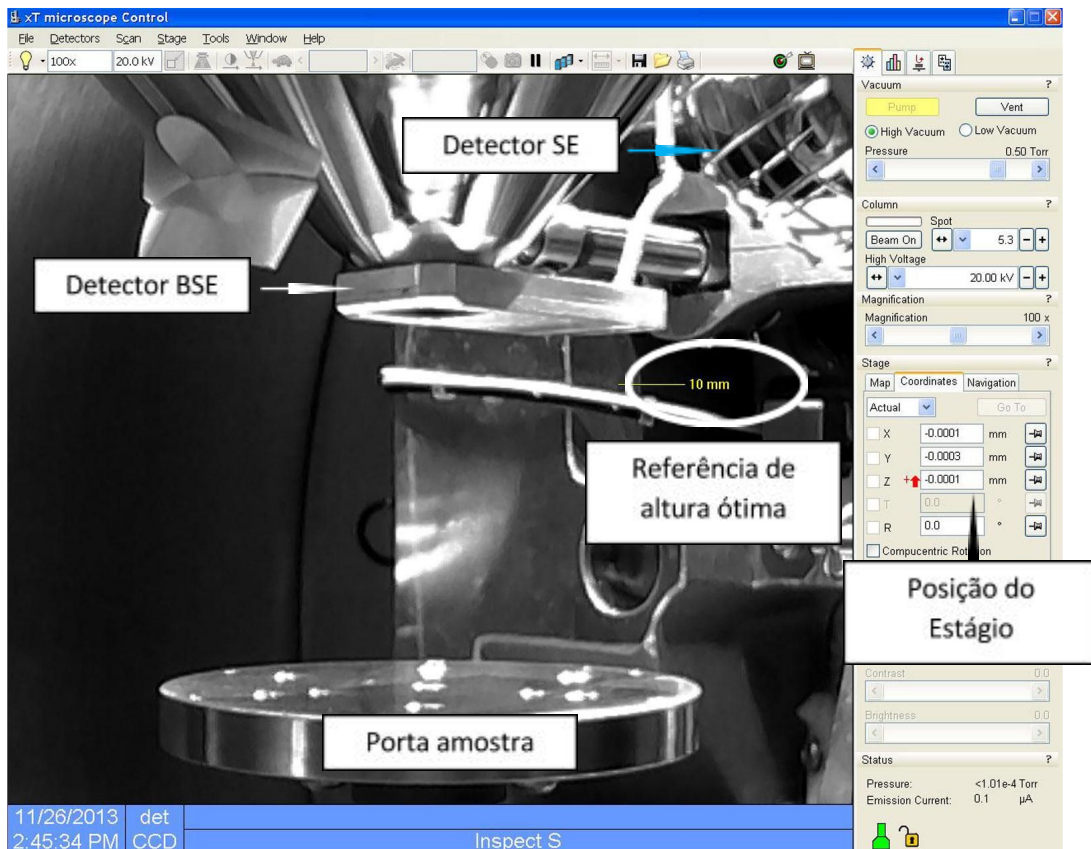


Figura 8: Imagem da câmara do microscópio *Inspect S50*.

- ✓ Estarão visíveis o detector de elétrons secundários (SE), o detector de elétrons retro-espalhados (BSE), o porta amostra em posição inicial (posição de “*Home Stage*”) e a referência de altura ótima para operação do microscópio.

6. Inserindo as amostras no microscópio

- ✓ O usuário encontra o microscópio sempre com a câmara em condições de vácuo, com pressões menores que $1,01 \times 10^{-4}$ Torr. Além disso, a posição do Estágio deve ser $X = 0$ mm, $Y = 0$ mm e $Z = 0$ mm. Ver Figura 10.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRAL ANALÍTICA

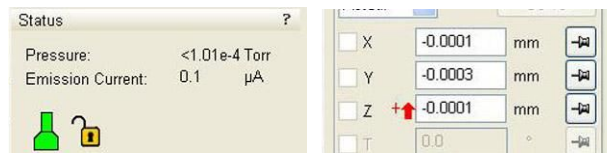


Figura 9: Indicação do vácuo do microscópio e das posições do Estágio.

- ✓ Para abrir a câmara quando for inserir as amostras, no canto superior direito da tela, na aba “Control”, clique no botão “Vent”.



Figura 10: Aba “Control” e botão “Vent”.

- ✓ Surgirá uma mensagem solicitando confirmação. Clique em “Yes”.



Figura 11: Confirmação da opção de despressurização da câmara (“Vent”).

- ✓ Dentro de alguns minutos o indicador do vácuo, no canto inferior direito, passará de verde para amarelo, e finalmente ficará cinza (ver Figura 13). Quando o indicador da coluna estiver cinza você poderá abrir a câmara e inserir sua amostra.





Figura 12: Sequências de mudanças no indicador da pressão.



ATENÇÃO!

Não é necessário fazer força para abrir a câmara. Caso você puxe a barra suporte gentilmente e a câmara não abra, aguarde mais uns instantes e puxe novamente.

- ✓ **Destrave gentilmente a base do porta amostra (parte cinza) e então o desrosqueie gentilmente do Estágio. Após, retirado da câmara do microscópio, apoie-o sobre a mesa de manipulação de amostra (ao lado do microscópio) utilizando um suporte como mostrado na Figura 14. Utilize um fórceps para inserir os “stubs” com as amostras nos orifícios do porta amostra.**



ATENÇÃO!

Manuseie a sua amostra com o maior cuidado possível. Sempre use luvas e pinças para manipular qualquer componente que será colocado no interior da câmara. Para maiores informações converse com um dos responsáveis.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

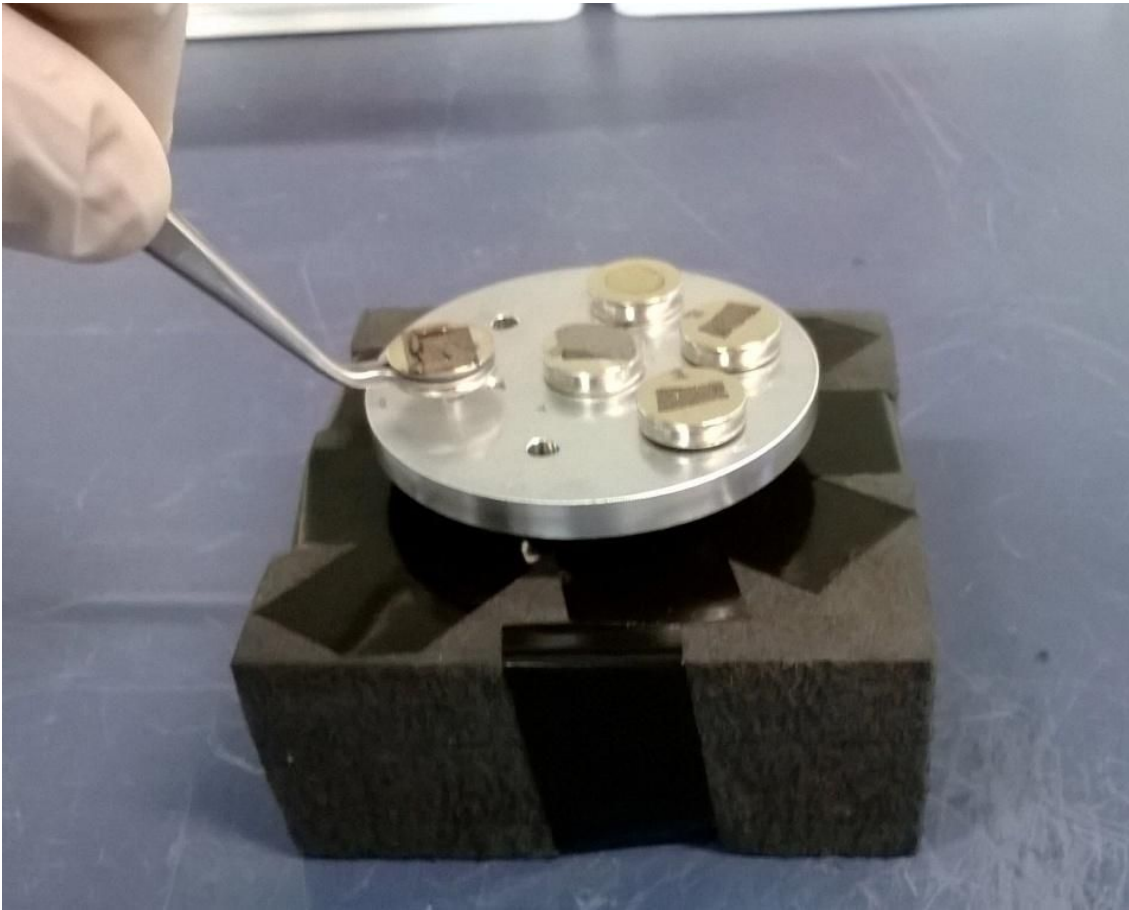


Figura 13: Inserção dos “stubs” no porta-amostra.

- ✓ Após a inserção dos “stubs” no porta-amostra, rosqueie-o novamente no Estágio até a altura determinada pela marca em azul no “*elefante*” metálico de referência. Ver Figura 15.



Figura 14: Indicação da altura ideal em azul na qual o porta amostra deve ser ajustado.

- ✓ Após ajustada a altura, rotacione gentilmente o porta-amostra para que a condição mostrada na Figura 16 seja adquirida. Esse posicionamento facilitará a localização das amostras quando os detectores de elétrons estiverem sendo usados. Nessa condição os “stubs” na posição 1, 2 e 5 estão sobre o eixo Y do sistema de posicionamento do Estágio. Os “stubs” 6 e 4, e 7 e 3 estão paralelos ao eixo X.

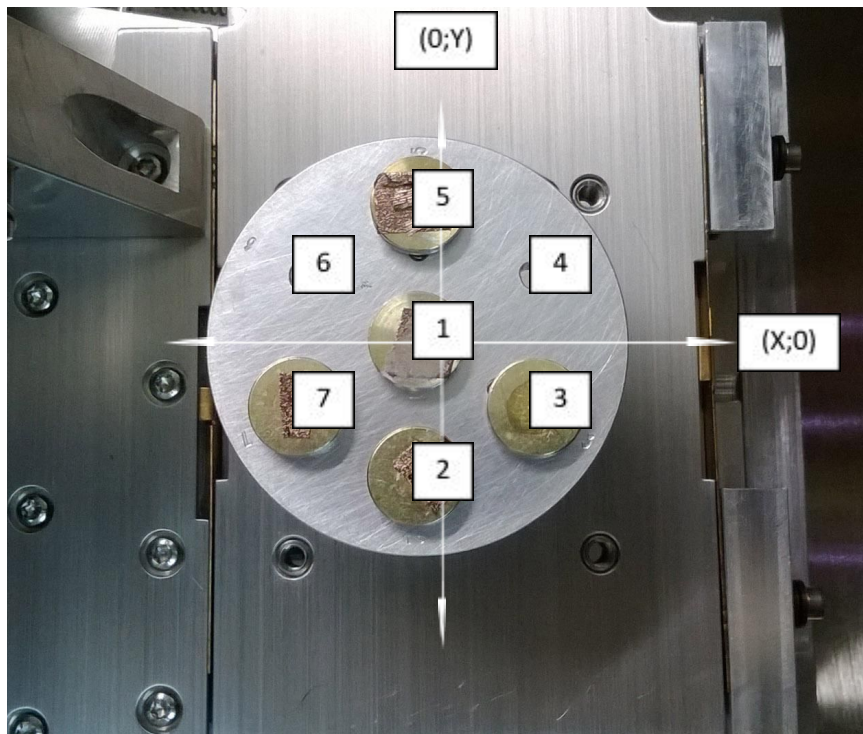


Figura 15: Posição ideal do porta amostra no Estágio do microscópio *Inspect S50*.

- ✓ Após esses ajustes, feche gentilmente a porta da câmara. Durante esse processo continue olhando o monitor que mostrará a imagem da câmara do microscópio através da câmera CCD.



MUITA ATENÇÃO!

Fique muito atento para que o porta amostra ou a sua amostra sobre o “*stub*” não atinja em hipótese alguma o detector BSE. Garantir que a sua amostra com maior altura seja inserida com distância segura do detector BSE, conforme mostrado na Figura 17.

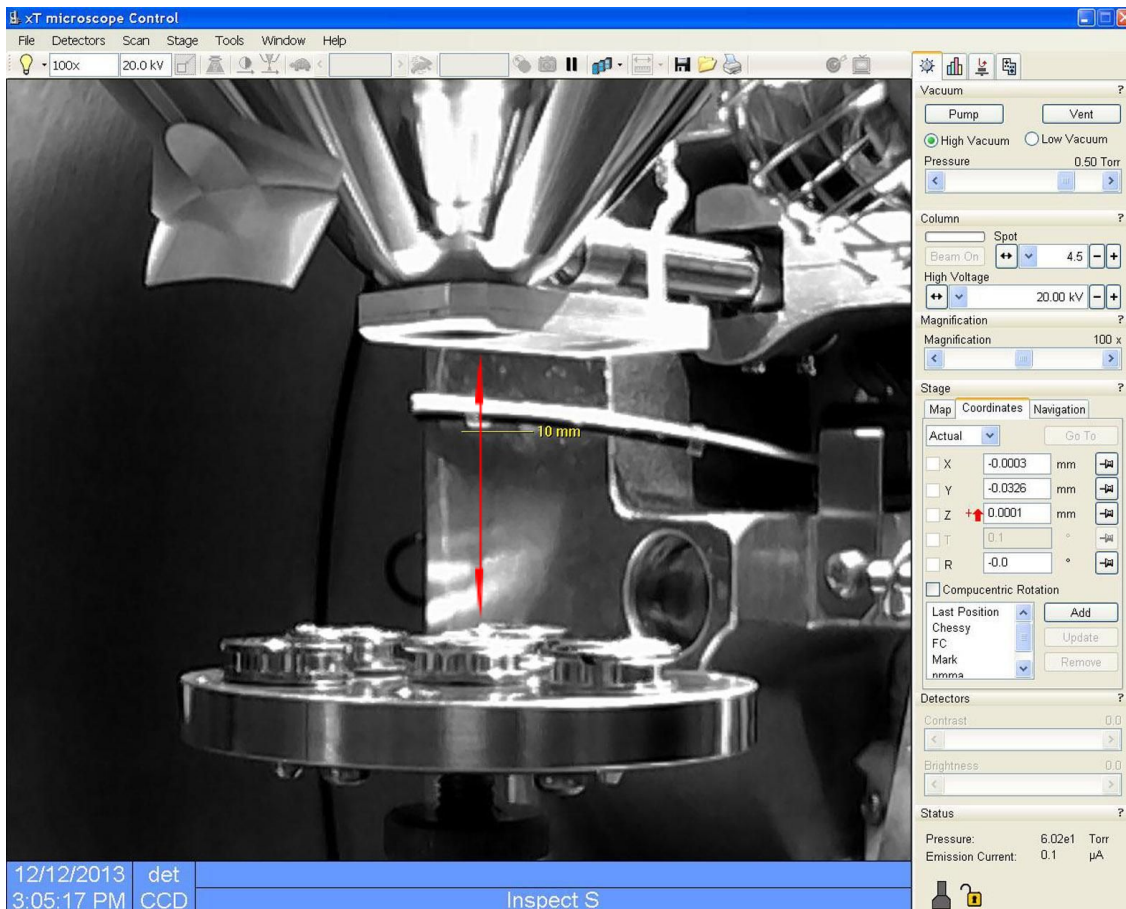


Figura 16 Interface do programa *xT microscope Control* mostrando na distância segura entra as amostras e detector BSE.

- ✓ Com o cursor do *mouse* posicionado dentro da tela mostrando a imagem da câmara do microscópio (ver retângulo vermelho na Figura 18), apertar e segurar o botão do meio do mouse (o de rolagem), e em seguida posicionar o mouse mais para frente para fazer o porta amostra subir ao longo do eixo Z.



MUITA ATENÇÃO!

Mantenha a amostra mais alta a uma distância segura do detector BSE, sob-risco de quebrá-lo caso haja colisão. Não ultrapassar a altura indicada pela marca mostrada na Figura 18, a qual indica a distância ótima para



**operação do microscópio: a 10 mm da lente
objetiva.**

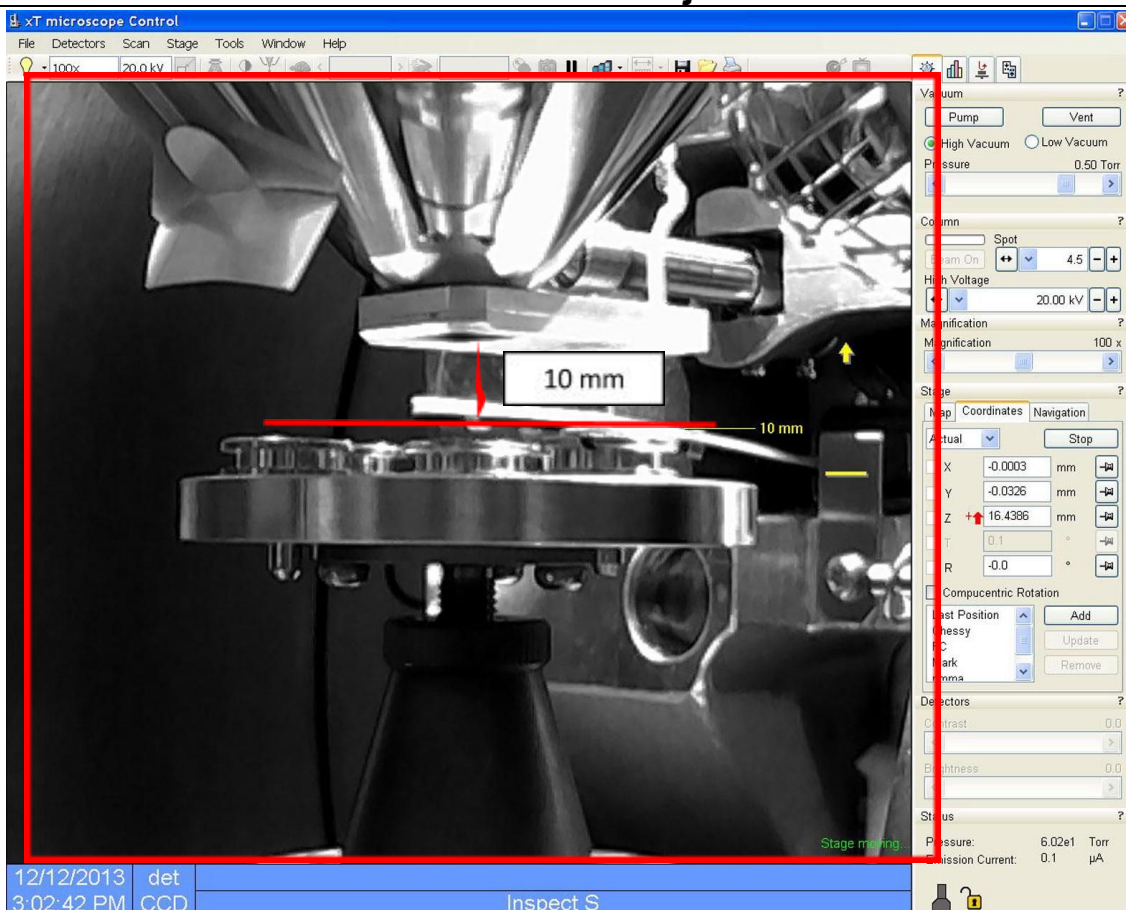


Figura 17: Interface do programa *xT microscope Control* após o procedimento de subida do porta amostra até a altura ideal para operação do microscópio *Inspect S50*.

- ✓ Após o ajuste de altura do porta amostra, travar o campo de inserção manual para a altura do Estágio. Para isso, apertar o botão mostrado pelo círculo na Figura 19.

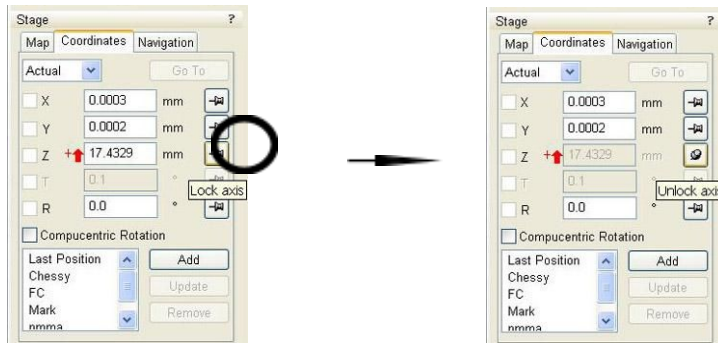


Figura 18: Indicação para travar o campo manual de inserção de altura.

- ✓ No canto superior direito do programa, aperte o botão “*Pump*” para ligar a bomba de vácuo. Certifique-se que microscópio esteja no modo “*High Vacuum*”.



Figura 19: Interface do programa *xT microscope Control* mostrando a indicação do botão para ligar a bomba de vácuo (“*Pump*”).

- ✓ Após, pressionado o botão “*Pump*”, o indicador da pressão (no canto inferior direito) fará o caminho inverso do descrito anteriormente quando da abertura da câmara: passará de cinza para amarelo e, em seguida, verde.



Figura 20: Sequência do indicador de pressão após, pressionado o botão “*Pump*”.



7. Ligando o feixe de elétrons

- ✓ Antes de ligar o feixe de elétrons, primeiramente escolher o aumento de 50x no campo “*Magnificação*”; selecionar o modo de detecção “*Electron Beam*”; selecionar o detector “ETD (SE)” na aba “*Detectors*”; e selecionar também o diâmetro da sonda (“*Spot*”) em 3,0 nm e a voltagem (“*High Voltage*”) do feixe em 20 kV. Finalmente, apertar “*Beam on*”. Ver Figura 23.

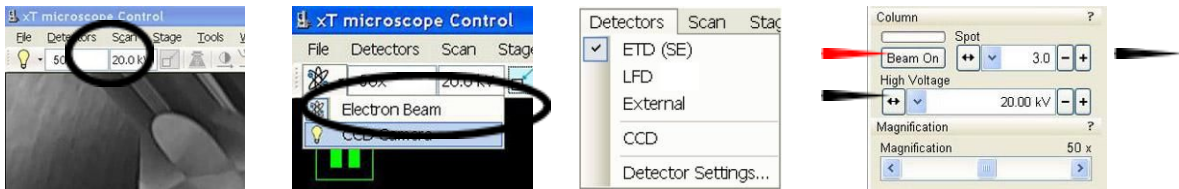


Figura 21: Interface do programa *xT microscope Control* mostrando indicação para ativar o feixe de elétrons (“*Beam On*”).

- ✓ Apesar de ter ligado o feixe de elétrons, você pode não observar uma imagem sendo formado na tela principal do programa. Para visualização da imagem, certifique-se que (i) o “*Beam blank*” (capaz de bloquear o feixe de elétrons para que ele não atinja a amostra) esteja desativado; (ii) certifique-se que a varredura do feixe não esteja “*pausada*”; (iii) e ajuste iterativamente o contraste e o brilho da imagem. O formato circular da imagem formada se deve à obstrução parcial pelo detector de elétrons retro-espalhados (BSE), que está posicionado na extremidade da lente objetiva. Ver Figura 23.

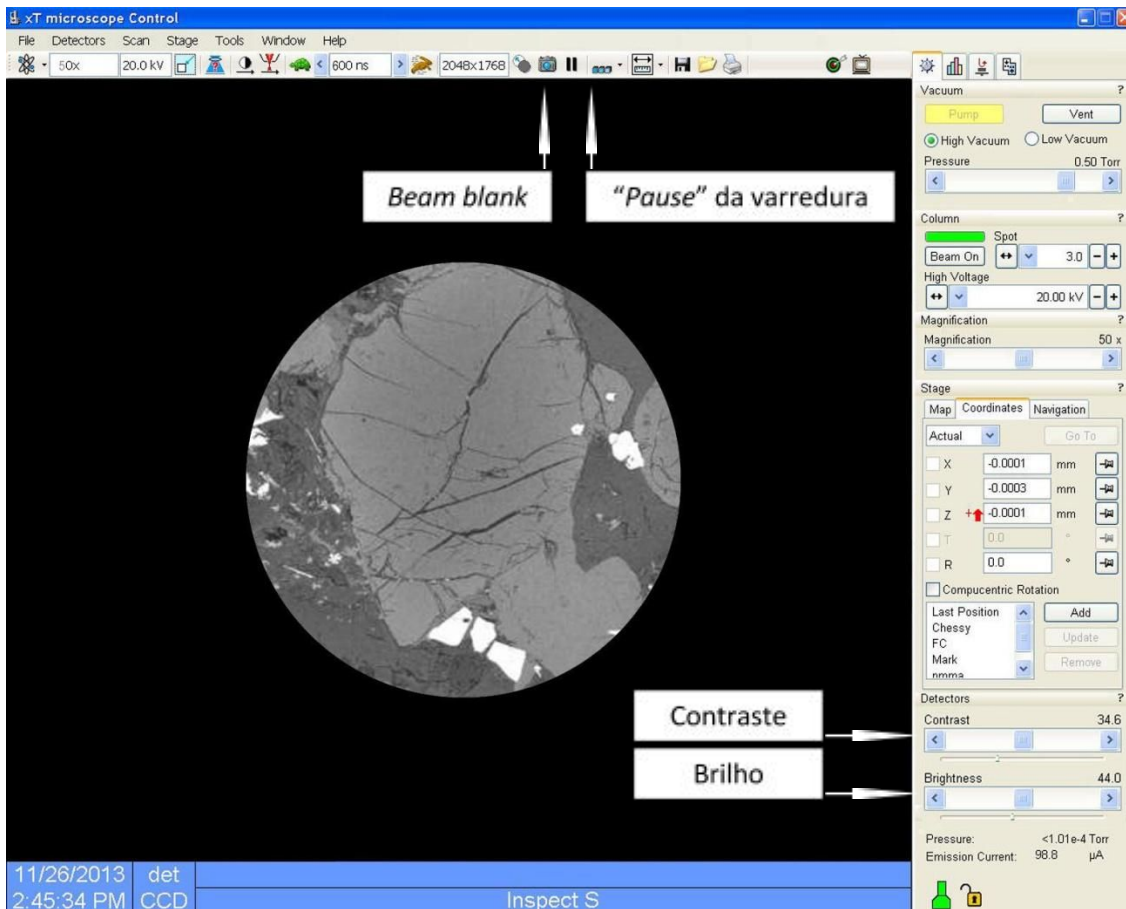


Figura 22: Interface do programa *xT microscope Control* mostrando os parâmetros a serem ajustados para obtenção da imagem no microscópio *Inspect S50*.

8. Saturando o filamento



MUITA ATENÇÃO!
Este procedimento não precisa (e não DEVE) ser feito a todo o momento. Tais ajustes são necessários esporadicamente e devem ser realizados, Exclusivamente, com a supervisão de um técnico.



- ✓ A voltagem que deve ser usada para a emissão dos elétrons muda a cada dia uma vez que o diâmetro do filamento diminui com o tempo de uso. Assim, o primeiro procedimento a ser feito logo que visualizada a primeira imagem na tela é a saturação do filamento, isso para que não haja deterioração desnecessária do mesmo, aumentando assim sua vida útil. A saturação deve ser feita na primeira operação do microscópio no dia. Para isso, selecionar a aba “Alignments” e a opção 1: “Source Control”. Apertar o botão “Start”.



Figura 23: Interface do programa *xTmicroscope Control* mostrando a saturação do filamento é feita na aba “Alignments” > “Souce Control”.

- ✓ Após pressionar o botão “Start”, na nova janela (i) apertar o botão “Crossover”, (ii) em seguida garantir que a caixa “Limit Voltage” esteja desmarcada, e finalmente (iii) selecionar o “Emission Current” em 100 μ A (ver Figura 25).

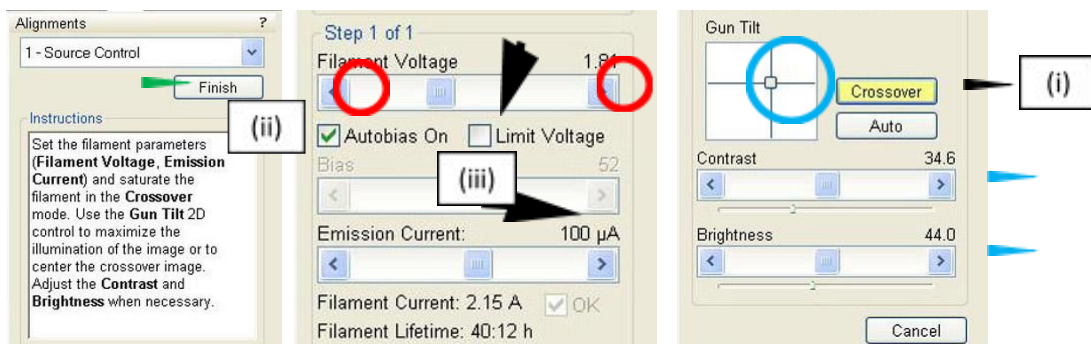




Figura 24: Parâmetros a serem ajustados para a saturação do filamento do microscópio *INSPECT S50*.

- ✓ Com os parâmetros ajustados, o campo “*Filament Voltage*” deve ser modificado até que a imagem obtida do “*crossover*” do filamento tenha as características da Figura 26a. Normalmente, a diminuição de poucos centésimos do valor já é suficiente para que o filamento esteja saturado novamente. Caso a voltagem seja diminuída em excesso, o “*crossover*” passa a ter um halo escuro no centro, como mostrado na Figura 26b. Após esse ajuste centralizar o “*crossover*” como mostrado na Figura 26c através da ferramenta “*Gun Tilt*” (mostrada no círculo azul da Figura 25). Para fazer esses ajustes aqui mencionados, deixe o valor do “*Contrast*” em torno de 35 e o do “*Brightness*” em torno de 45, para que fique evidente o estado de saturação do filamento. Finalizado essa etapa, apertar o botão “*Finish*” (indicado pela seta verde na Figura 25).

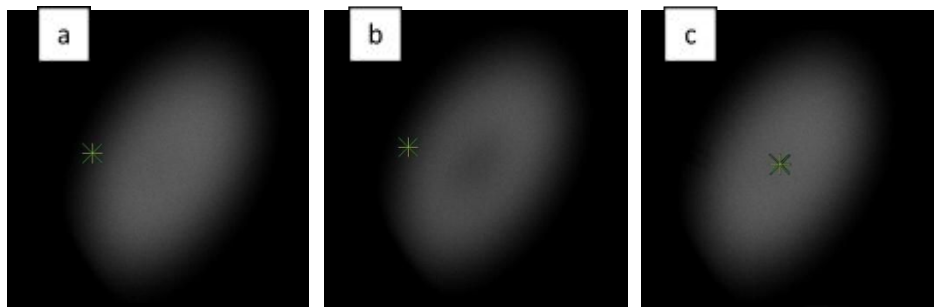


Figura 25: Saturação do filamento e centralização do feixe de elétrons.



MUITA ATENÇÃO!

O ajuste feito nessa etapa deve ser cuidadoso. Não se deve aumentar o “*Filament Voltage*” em grandes passos. Só se deve modificar esse campo utilizando os botões “<” e “>” (ver círculos vermelhos na Figura 25), os quais promovem um aumento progressivo e adequado da voltagem. Tudo isso para que o filamento não seja danificado.

9. Localizando amostras e obtendo imagens

- ✓ No aumento de 50x é mais fácil para se visualizar a movimentação do Estágio na câmara do microscópio, e, conseqüentemente, para se localizar a posição dos “*stubs*” com as amostras inseridas. A imagem formada na tela é centralizada na posição $X = 0$ mm e $Y = 0$ mm, relativa à amostra colocada sobre o “*stub*” inserido na posição 1 do porta amostra (ver Figura 16). Para movimentar o Estágio, aperte o botão de seleção de área de varredura, e selecione a área mostrada na Figura 27. Posteriormente, selecione a maior velocidade de varredura do feixe apertando o botão “>”, ou apertando o botão com ícone “lebre”. A movimentação do Estágio é feita apertando-se e segurando-se o botão central do mouse (o de rolagem) e movimentando-o no sentido desejado.

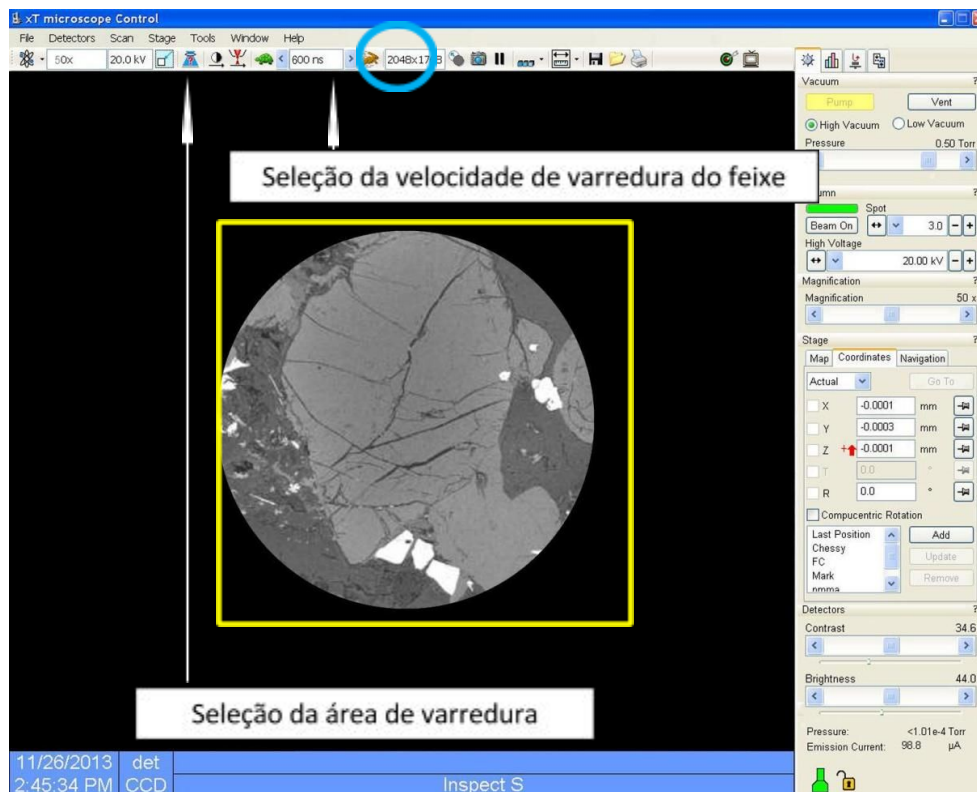


Figura 26: Interface do programa *xT microscope Control* mostrando a ferramentas de seleção de área e de velocidade de varredura do feixe.

- ✓ Após, localizada a região de interesse da amostra, a obtenção de uma boa imagem utilizando o detector de elétrons secundários (“ETD (SE)”, selecionado na etapa anterior) é resultado da modificação sincronizada de alguns parâmetros do microscópio, todos esses, presentes no painel de controle principal do equipamento (ver Figura 28).
- ✓ “*Contrast e Brightness*”: altera o contraste e o brilho da imagem.
- ✓ “*Stigmator*”: corrige o astigmatismo da imagem.
- ✓ “*Magnification*”: altera o aumento/magnificação.



- ✓ **“Shift”**: desloca o feixe de elétrons, alterando a região de varredura. Deve ser usado em grandes aumentos, quando o passo mínimo do Estágio não consegue deslocá-lo para o ponto desejado.
- ✓ **“Focus”**: altera o foco da imagem gerada. Possui um ajuste “grosso” (“coarse”) e “fino” (“fine”).

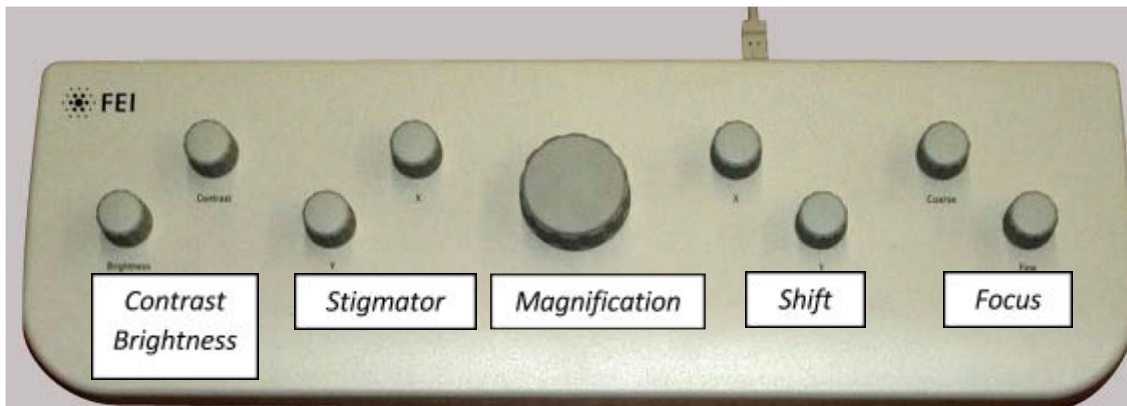


Figura 27: Painel de controle do microscópio

- ✓ Durante o procedimento de ajuste desses parâmetros o usuário deve fazer uso constante da seleção de área de varredura e deve-se usar uma alta velocidade de varredura do feixe (ver Figura 27), para facilitar principalmente o ajuste do foco e a correção do astigmatismo. Aconselha-se a realização desses ajustes em magnificações maiores que aqueles nas quais as imagens de interesse serão obtidas.
- ✓ A troca do detector de elétrons secundários “ETD (SE)” pelo detector de elétrons retroespalhados (“VCD” ou “LFD”), ou vice-versa, pode ser feita em qualquer momento da operação através da aba “Detectors”, no menu superior do programa (ver Figura 22). Cada detector utiliza sinais diferentes para gerar a imagem (ver Figura 29). A escolha dos detectores depende de sua amostra e



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

**do tipo de informação desejada (topográfica,
composicional, etc).**

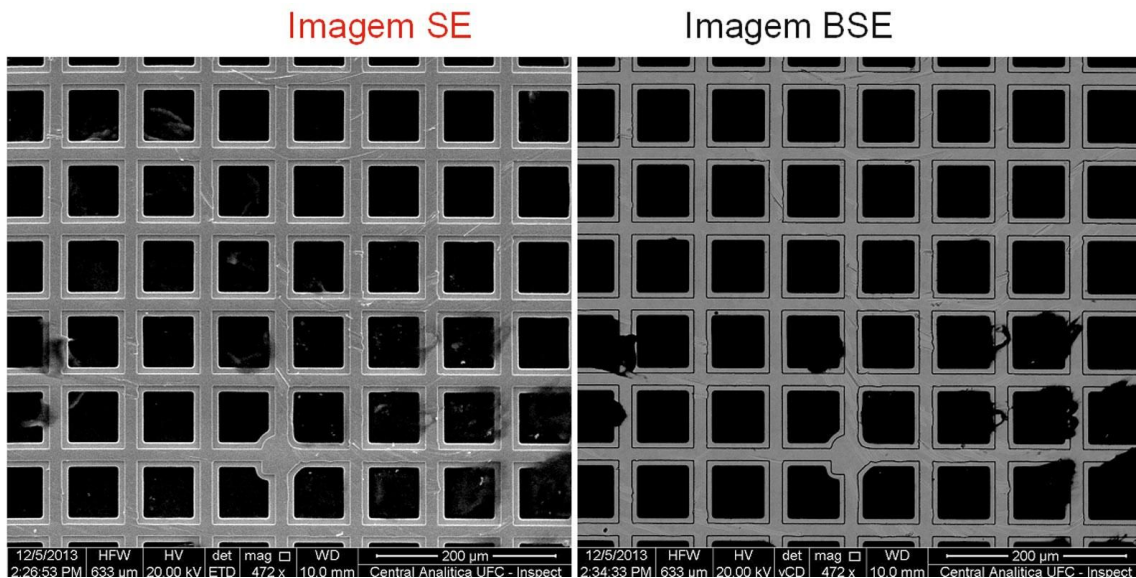


Figura 28: Imagens geradas pelos detectores de elétrons secundários (Imagem SE) e retro-espalhados (Imagem BSE) do microscópio *Inspect S50*.

- ✓ O astigmatismo impede a obtenção de imagens com resolução adequada mesmo em condição de foco (ver Figura 30a). A presença de astigmatismo é confirmada através da variação do foco, passando de uma situação “*underfocus*” (ver Figura 30b) para “*overfocus*” (ver Figura 30c), ou vice-versa. Durante esse procedimento, a presença de astigmatismo provoca a deformação perpendicular dos elementos da imagem. Os botões de correção do astigmatismo devem ser usados iterativamente, procurando-se a melhor resolução em cada manipulação (“X” e “Y”). A Figura 30d ilustra a situação onde o astigmatismo foi compensado (corrigido).



MUITA ATENÇÃO!
Caso você não esteja seguro do tipo de detector a utilizar, por favor, chame um técnico.

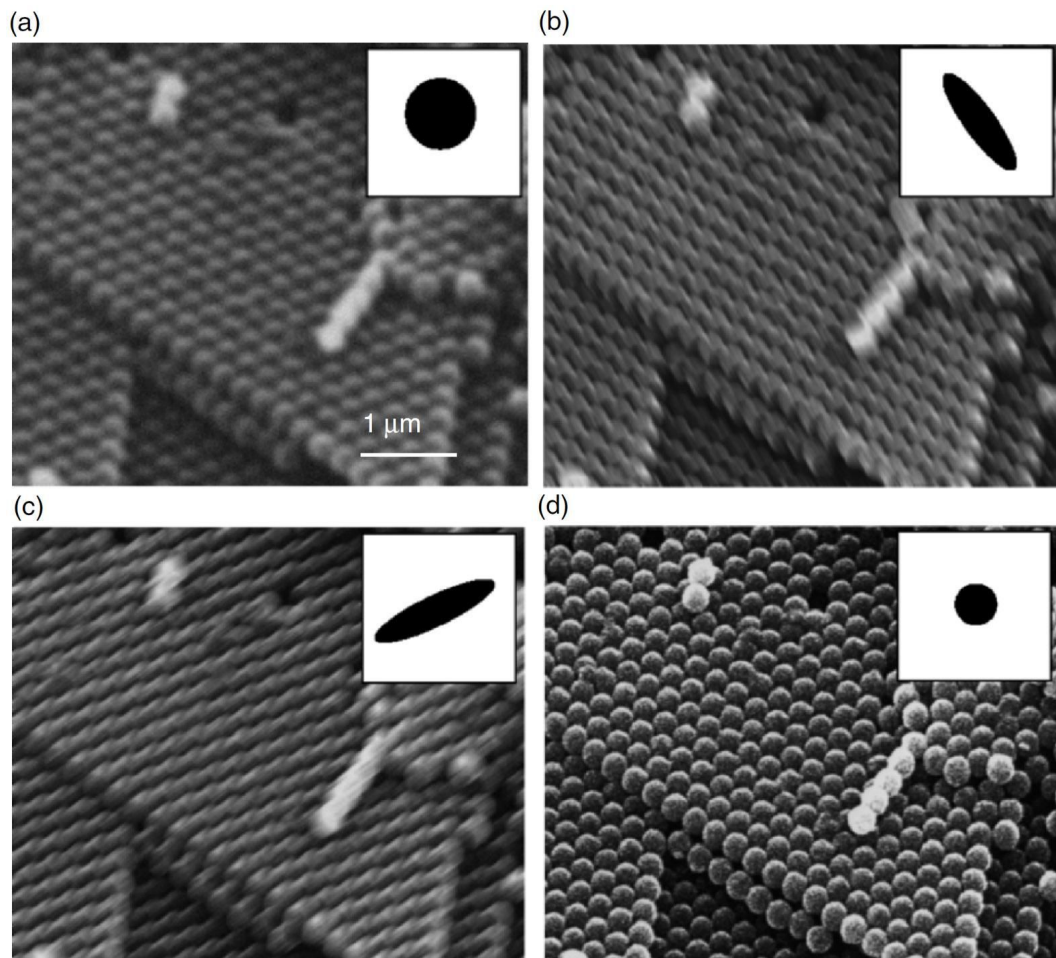


Figura 29: Aspecto das imagens com astigmatismo e após a correção, obtidas em diferentes condições de foco.

- ✓ Após o ajuste adequado de todos os parâmetros (foco, magnificação, astigmatismo), a região de interesse da amostra deve ser capturada em imagens de alta resolução digital. Para isso, selecione baixas velocidades de varredura no menu superior do programa. A velocidade mais baixa de varredura pode ser diretamente selecionada através do ícone “tartaruga”, ou outras velocidades podem ser selecionadas utilizando o botão “<” (ver Figura 31). Selecione também no menu superior o



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

tamanho da imagem que será gerada (em pixels): 2048x1768. Finalmente, aperte o botão “*Pause*” para o microscópio parar a varredura após formação da imagem na tela.

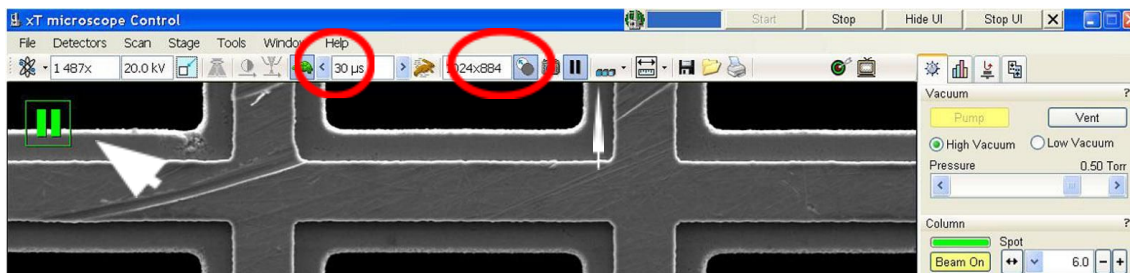


Figura 30: Selecionado a velocidade de varredura para obtenção de imagens.

✓ A imagem obtida na tela pode ser salva digitalmente acessando a aba “*File*” e depois apertando a opção “*Save As*”.



Figura 31: Acesso ao menu para salvar as imagens geradas.



ATENCAO!

Normalmente imagens de 1024 x 884 são suficientes para resolver a maior parte dos problemas. Apenas situações especiais

- ✓ Por questões de segurança, todas as imagens obtidas no *Inspect S50* são salvas no computador “*Raith*” (ver Figura 1). Nunca se deve salvar as imagens no computador que controla o microscópio (FEI). Portanto, depois de selecionada a opção “*Save As*”, a imagem deverá ser salva clicando no ícone “*Rede*” (canto inferior esquerdo da tela); selecionar a pasta “*Usuários on Oxford-PC (Oxford-PC)*”; criar uma nova pasta com o nome do usuário (caso seja a primeira vez operando o microscópio); e finalmente criar uma nova pasta nomeando-a com o dia em que foi feita a operação. Essa pasta criada deverá obedecer a sequência ANO-MÊS-DIA, conforme mostrado na Figura 33.

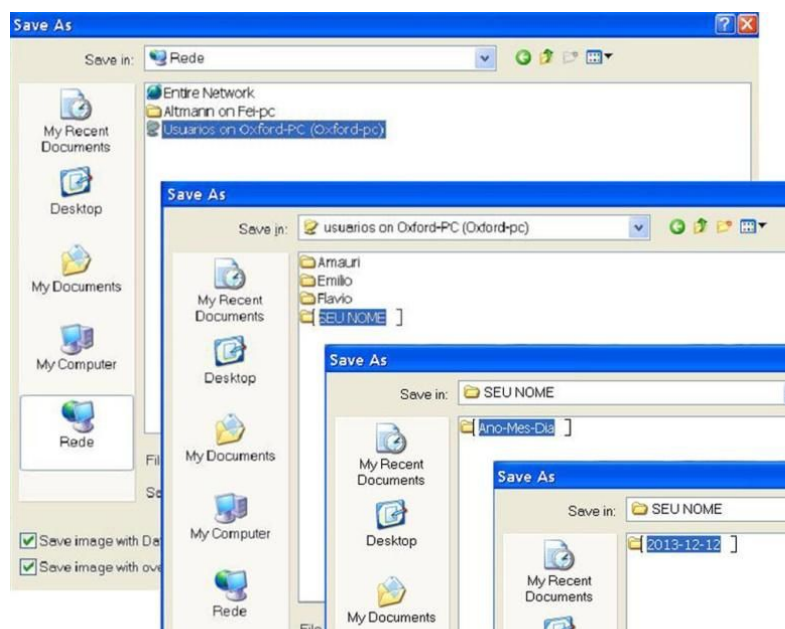




Figura 32: Sequência para salvar imagens obtidas no microscópio *Inspect S50*.

- ✓ Dentro dessa pasta as imagens podem ser nomeadas de acordo com as preferências do usuário. As imagens devem ser salvas no formato “TIF 24 bit Image Files (*.tif)”. Para que as informações de operação e a barra de escala da imagem sejam incorporadas (ver Figura 34), a caixa “*Save image with Databar*” deve estar selecionada (ver seta na Figura 33). Se algum tipo de medida, seleção, ou texto foi introduzido na imagem durante a operação, essas informações serão incorporadas na imagem caso a caixa “*Save image with overlaid graphics*” esteja selecionada.

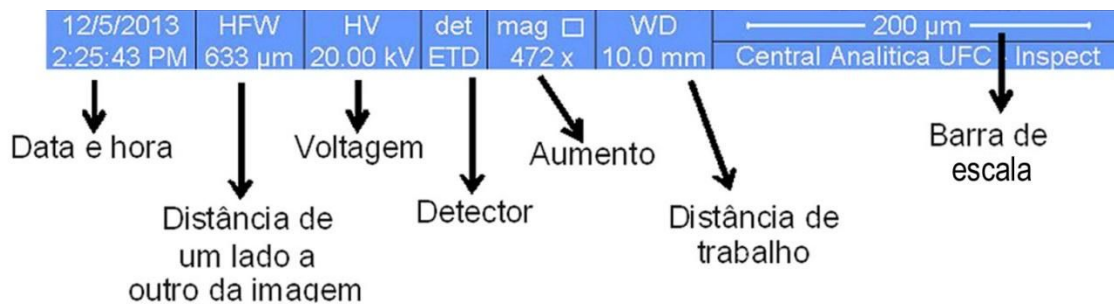



Figura 33: Informações contidas na barra de escala das imagens.

IMPORTANTE!

 Por uma questão de organização interna da Central Analítica, essa sequência de passos para o arquivamento dos dados obtidos nos microscópios deve ser cumprida corretamente. Todos os dados obtidos devem ser organizados em pastas com as datas de operação do microscópio. Cada dia de



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ
CENTRAL ANALÍTICA

**operação deve gerar uma nova pasta dentro
da pasta do usuário.**



DICA!



Quando há interesse na obtenção de imagens com grande aumentos (>40kX), o usuário pode fazer uso de diferentes combinações nos parâmetros "Spot", "High Voltage" e "Filament Voltage". Para esses casos, peça esclarecimentos a um dos responsáveis pelo equipamento.

10. Finalizando a operação

- ✓ Após obtenção das informações desejadas, desligue o feixe de elétrons apertando novamente o botão "Beam on".
- ✓ Posteriormente, na parte superior do programa, na aba "Stage", clique em "Home Stage" (ver Figura 35). Isso fará com que o porta amostra seja levado para a posição padrão, para que outro usuário inicie nova operação no microscópio. Essa operação levará alguns minutos.



Figura 34: Menu que dá acesso à opção de "Home Stage", que leva o Estágio para a posição padrão.



MUITA ATENÇÃO!

Nunca ventile a câmara (apertar o botão "Vent") imediatamente após desligar o feixe de elétrons sob-risco de diminuir a vida útil do



filamento. Após desligado o feixe de elétrons, esperar 5 minutos antes de apertar “Vent”.

- ✓ Após cinco minutos que o feixe de elétrons foi desligado, apertar o botão “Vent” para despressurizar a câmara. Dentro de alguns minutos o indicador do vácuo, no canto inferior direito, passará de verde para amarelo, e finalmente ficará cinza (ver Figura 13). Quando o indicador da coluna estiver cinza você poderá abrir a câmara e retirar suas amostras.



ATENÇÃO!

Não é necessário fazer força para abrir a câmara. Caso você puxe a barra suporte gentilmente e a câmara não abra, aguarde mais uns instantes e puxe novamente.

- ✓ Destrave gentilmente a base do porta amostra (parte cinza) e então o desrosqueie gentilmente do Estágio. Depois de retirado da câmara do microscópio, apoie-o sobre a mesa de manipulação de amostra (ao lado do microscópio) utilizando um suporte como mostrado na Figura 14. Utilize um fórceps para retirar os “stubs” com as amostras dos orifícios do porta amostra.



ATENÇÃO!

Manuseie a sua amostra com o maior cuidado possível. Sempre use luvas e pinças para manipular qualquer componente que será colocado no interior da câmara. Para maiores informações converse com um dos responsáveis.



**UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ**
CENTRAL ANALÍTICA

- ✓ Após retirar os “*stubs*” do porta amostra, rosqueie-o novamente no Estágio até a altura determinada pela marca em azul no “*elefante*” metálico de referência. Esse procedimento é análogo ao que foi feito para inserção de suas amostras no microscópio. Ver Figura 15.
- ✓ Após este procedimento fecha a câmara gentilmente.
- ✓ Com a porta fechada, pressione o botão de “*Pump*”. Desta forma a câmara será colocada em vácuo novamente. Aguardar até o vácuo ter se estabelecido.
- ✓ Finalmente, desligue todos os monitores usados durante a operação, mantendo os computadores ligados.
- ✓ Antes de sair da sala, deixe limpo tudo o que foi usado durante a operação.



**UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ**
CENTRAL ANALÍTICA

**Universidade Federal do Ceará
Central Analítica**

**Versão do Manual: 1.0
Fortaleza, Abril de 2016**

Elaborado por:
Dra. Rosemayre Souza Freire
Técnico - Central Analítica
Pedro Henrique Moreira Lima
Bolsista de Auxílio Técnico - Física
Dr. Emilio de Castro Miguel
Departamento de Bioquímica e Biologia
Molecular UFC

Revisado por
Prof. Antônio Gomes de Souza Filho
(Departamento de Física UFC)

Mais informações em:
www.centralanalitica.ufc.br