

扫描电镜生物样品离子镀膜及简易离子镀膜装置的制作

赵京 肖荫厚

(中国科学院植物研究所)

在扫描电镜生物样品制备过程中,由于其导电性能差,因此需要在样品表面喷涂一层导电物质——金属薄膜,以便增强其导电性及二次电子发射率。以往生物样品多采用真空镀膜法在样品表面淀积一层金属薄膜。这种方法不仅绕性差,而且膜层颗粒粗,分布不均匀,并需要较高的真空度,喷涂时间较长。近年来,国际上采用离子镀膜法,克服了真空镀膜存在的缺点,其简单原理是:在蒸发源和被镀物之间建立一个低气压气体放电的等离子体区。在镀膜前及喷涂过程中,离子源不断轰击处于负高压(—1—5KV)的靶极,以便除去靶极表面的污染层。在整个喷涂过程中始终保持膜层表面的清洁。同时蒸发源的蒸气分子(或原子)受等离子体中电子的轰击,一部分被电离为正离子,在负高压电场作用下,便淀积在被镀物的表面上。离子镀膜可采取不同方法,如可用气体电离型、射频激励型等。在扫描电镜生物样品制备过程中,较为方便的方法为直流二极溅射法。该方法是,在低真空状态下(10^{-1} — 10^{-2} 托),在阳极与阴极之间加一直流高压,使之产生辉光

放电。把被镀物置于阳极或辉光之中,使离子轰击在阴极(靶极)上,从而引起靶极(金或铂)逸出原子,向各个方向散射而粘附在被镀物上,形成一均匀牢固的薄膜(图1)。

普遍认为,离子镀膜法较真空镀膜法优点较多:绕性好,即对复杂样品表面形貌能很好涂复,不会形成“阴影”,防止电荷的积累。离子镀膜与真空镀膜绕性比较见图2。

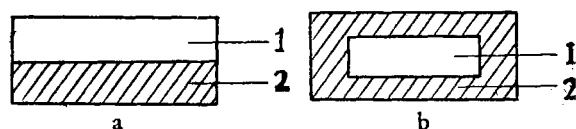


图 2

a. 真空镀膜 b. 离子镀膜物体、膜层

真空镀膜往往只能喷涂平面物体的表面(除采用旋转倾斜喷涂外),而离子镀膜对一个物体的不同表面均能涂敷。此外,离子镀膜具有膜层均匀、颗粒细、能避免辐射热对样品结构可能造成的影响等优点。

离子镀膜优点较多,但这种设备目前多为引进,国内适用于扫描电镜生物样品制备的离

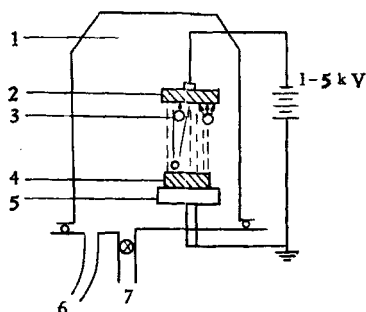


图 1 直流二极溅射原理图

1. 镀膜室 2. 阴极(靶极) 3. 轰击粒子 4. 阳极(极板) 5. 阳极托 6. 纯氩入口 7. 真空泵

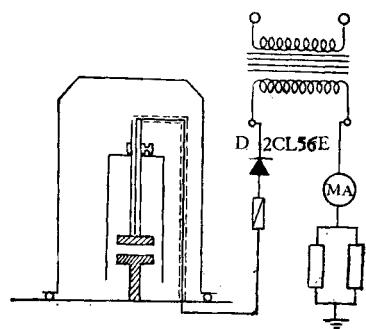


图 3 GZD-310C 型镀膜机高压轰击电源改装图

子镀膜仪近年虽有试验生产,但设备较复杂,价格也偏高。我们利用国产真空镀膜机(锦州产 GZD-310C 型),在高压电源(即该机上的轰击电源)上稍加改装(见图 3),再在真空室中安装一个自制的离子镀膜附件(图 4),仅花费 15—20 元,即可作为离子镀膜之用。

改装 GZD-310C 型镀膜机上的高压电源很简单,该机使用说明书上附有线路图,从线路图上可看出有四个变压器,即 B_1 、 B_2 、 B_3 、 B_4 。其他任何部分不必改动,只将 B_2 (作为高压轰击用的变压器),按本文图 3 所示进行连结,将 2 CL 56E 型高压硅堆串连在该变压器的次级上,这样就将该机上轰击电源输出的交流 3000 V 高压,变为 3000 V 直流负高压。这一高压直接加到真空镀膜机钟罩内原有的高压轰击棒的支架上,取下高压轰击棒。把自制好的离子镀膜附件(图 4)的负极引出线连接到高压轰击棒的立柱上,把真空室内高压导线用塑料管屏蔽好即可。

离子镀膜附件(图 4),主要由两个 $\phi 50\text{mm}$, 厚 10 mm 的铝块组成,外面加一个有机玻璃屏蔽罩。屏蔽罩的高为 150 mm,内径 80 mm,在铝块上车一个深度为 5 mm 的槽,把喷涂用的金属箔(金、铂等)平整地置入槽内,然后用一个

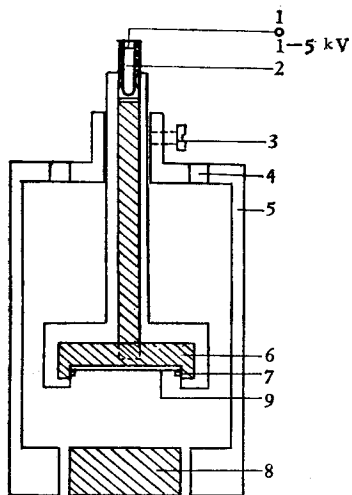


图 4 自制离子镀膜附件

- 1. 直流高压输入 2. 插头 3. 制紧螺丝 4. 排气孔
- 5. 有机玻璃罩 6. 阴极(靶极) 7. 制紧压圈 8. 阳极
- 9. 金属箔片(金、铂等)

配合紧密的压圈压牢。上面的铝块可以通过制紧螺丝上下调节,以便使上、下铝块保持一合适的距离。在屏蔽罩的上方或侧面开两个孔,以便排气之用。

当高压电源改装好。离子镀膜附件制作完成后,检查无误即可安装使用。

扫描电镜生物样品制备方法,近年来也在不断改进和发展。由于生物样品不同,对样品的处理方法也不尽相同。这里仅就一般方法做一简要叙述。诸如对某些已经自然干燥的木材、花粉、种子、以及动物牙齿、骨头等样品,一般不需经固定、脱水和干燥处理。只将其固着在标本台上喷涂金属膜层后即可放入电镜观察。但对大多数含水样品,则需要做一系列处理。

1. 样品的选择 对欲观察的样品,先用蒸馏水冲洗干净,对在样品表面上粘附力强的物质宜多冲洗几遍。

2. 前固定 把样品切成适于观察的小块,在 5% 戊二醛(溶于磷酸缓冲液中, pH7.2—7.4) 固定液中固定 1—2 小时。

3. 水洗 用磷酸缓冲液冲洗二次,每次 15 分钟。

4. 后固定 用 2% 四氧化钼(溶于磷酸缓冲液中 pH 7.2—7.4) 固定液 1—2 小时。

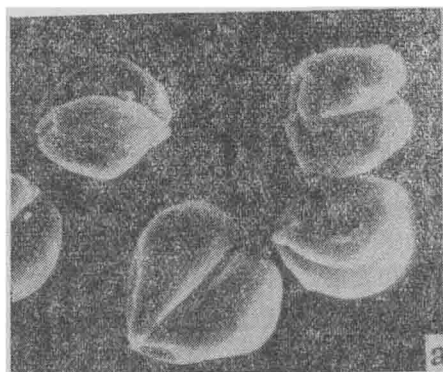
5. 冲洗 (同第 3 步)

6. 脱水 常用脱水剂为乙醇或丙酮。以乙醇为例,从 50%、80%、90%、100%、每次 15 分钟。100% 乙醇中脱水两次。

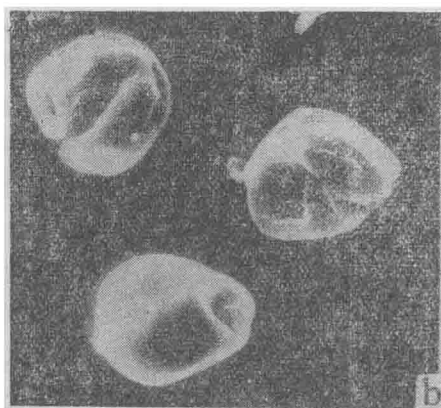
脱水后的样品要进行干燥,根据现有条件,可采用如下几种干燥方法。

1. 临界点干燥法 该项技术的原理是利用二氧化碳在临界状态时相界消失而不存在表面张力的特点,从而使生物材料达到干燥的目的。这种方法是生物材料扫描电镜样品制备中常规而有效的方法之一。

2. 冰冻干燥法 将预先经过(或未经过)脱水的样品在液氮温度下(-196°C)迅速冷冻,把经过冷冻的样品置于真空条件下,使冰逐渐升华以达到样品干燥的目的。冷冻速度要尽可能快,否则样品上会形成一层冰晶而影响观察。



(a) 离子镀膜的云杉花粉 1200 倍



(b) 真空蒸发镀膜的云杉花粉 1200 倍

图 5

3. 苧烯 (camphene) 干燥法 苧烯之熔点为 $35-45^{\circ}\text{C}$, 在 45°C 以下为固体, 在室温下即可升华, 因此利用它进行干燥也不存在液—气相界面问题, 从而可以避免表面张力引起的组织损伤。该法不需特殊设备, 经济简便, 得到了越来越普遍的应用。此外也有用乙腈 (CH_3CH) 干燥、电热差冷冻干燥 (Thermoelectric Freezedrying) 及对二氯苯 (p-Dichlorobenzene) 等方法进行干燥的。

将经过前处理的样品, 固定或贴附在阳极铝块上, 并把该铝块放在镀膜机的底盘上, 把制作好的镀膜附件扣在阳极铝块上。通过制紧螺丝调节阳极与阴极间的距离。二者之间的理想距离依据镀膜机高压直流电压及电流强度而定。在我们制作的这个离子镀膜装置上, 高压为 -3000 V , 电流为 20 mA 的条件下, 把上下铝块(阴、阳极)之间的距离调节在 $15-20$ 毫米左右。调节好以后, 放下真空罩抽真空。当真空度达到 5×10^{-3} 托时, 可以通过镀膜机真空罩右侧的针阀, 把装入小钢瓶内的氩气充入真空室。也可采用不输入氩气的办法。即当真空度达到 $10^{-1}-10^{-2}$ 托时, 转动 GZD-310C 镀膜机控制板上的高压轰击旋钮, 这时通过钟罩上的

观察窗看到离子镀膜附件内阴极与阳极之间有蓝色辉光产生。在喷涂像花粉, 木材等凹凸不平的样品时, 只需喷涂 1 分钟至 2 分钟时间, 就能获得较为理想的膜层。如果采取真空罩内不充入氩气的办法, 整个喷涂过程从安放样品、抽低真空室到离子喷涂完毕, 只需几分钟时间, 这与真空蒸发镀膜相比, 时间大大缩短(真空蒸发镀膜需要一个多小时)。此外, 离子镀膜还可节约贵重金属。这是因为离子镀膜法金属粒子的溅射只局限在有机玻璃罩内, 而真空蒸发则分布在整个真空钟罩内。

经过一年来的使用和改进, 我们认为, 在 GZD-310C 型真空镀膜机的高压轰击电源上稍加改装, 再自制一个离子镀膜附件, 做扫描电镜生物样品镀膜之用, 效果良好, 可以代替真空蒸发方法(图 5)。

参 考 文 献

- [1] 骆定祚: 《实用真空技术》, 1980 年, 第 491 页。
- [2] 《薄膜工艺》编辑组: 《薄膜工艺》, 1972 年, 第 82 页。
- [3] 应国华等: 《超微结构论文选编》, 1980 年, 第 9 页。
- [4] 郝兰: 《真空镀膜技术》译本, 第 229 页。
- [5] Atsuo, Koreeda: *J. Electron Microscopy*, 29(1), 61, 1980.

[本文于 1981 年 1 月 7 日收到]

(上接第 67 页)
316.

- [13] Johuson, D. H.: *J. A. S. A.*, 68, 876, 1980.
- [14] Winton, H. J. et al.: *Simulation*, 15, 213, 1970.

- [15] Brown, R. F.: *IEEE Transactions on BME*, BME-27, 1, 1980.

[本文于 1981 年 7 月 18 日收到]