

TEM 样品前处理设备——亲水化处理仪（辉光放电仪）原理及应用

辉光放电一般是指低气压放电现象,工作压力一般都低于 10 mbar,其基本构造是在封闭的容器内放置两个平行的电极板,利用产生的电子将中性原子或分子激发,而被激发的粒子由激发态降回基态时会以光的形式释放出能量。在激发状态下构成分子的原子获得足够大的动能,开始彼此分离,原子的外层电子摆脱原子核的束缚成为自由电子,失去电子的原子变成正离子。这一过程叫电离,形成的等离子体是一种电离气体,是离子、电子和高能原子等的集合体;正离子和电子总是成对的出现,总数大致相等,整体呈准电中性,它是一种由带电粒子组成的电离状态,称为物质的第四态-等离子态。

等离子表面处理是一种新的技术,可以实现很多功能,例如超洁净清洗、表面能改善、表面活化、刻蚀、涂覆等。TEM 样品前处理设备亲水化处理仪或者称为辉光放电仪就是利用这一技术实现对 TEM 碳膜进行表面改性,以获取最佳的制样效果。但是不同厂家不同机型可实现的模式和功能并不完全一致,但总的来说有如下几类:

1、表面超洁净清洁

原理:就反应机理来看,等离子体清洗通常包括以下过程:无机气体被激发为等离子态;气相物质被吸附在固体表面;被吸附基团与固体表面分子反应生成产物分子;产物分子解析形成气相;反应残余物脱离表面。在使用空气作为工作气体的情况下,氧气被激发到离子态,有很强的氧化性,可将样品表面常见的有机分子、油脂分子的污染物清洗干净。

效果:经过处理的样品表面会表现出材料本身应有的、均一的亲疏水性能。而且通常情况下有机分子、油脂等污染物都是强疏水材料,所以超净清洗后样品表面一般会变的更为亲水。

天美(中国)科学仪器有限公司
北京市朝阳区天畅园7号楼(100107)

t 010-64010651

f 010-64060202

e techcomp@techcomp.cn

w www.techcomp.cn

2、短期亲水处理

原理：这一过程事实上是和超净清洗同时进行的。在用的是空气进行等离子处理时，辉光放电将氧气变成等离子态，中性的氧气的变成带电粒子（有正电荷，也有负电荷），这些高能粒子轰击物体表面，会暂时使得样品表面富集负电荷从而提高样品表面能，这就改变物体表面的性质。

效果：对碳膜、硅片等基底来说会呈现很好的亲水性，如图 1。因为表面能量过高，处于不稳定的状态，所以一般需要在 2 小时内完后续操作。但是这段时间无论是捞取切片类样品，还是滴加粉末样品悬浊液，还是对样品进行染色都足够了。经过处理处于亲水状态的碳膜亲可使粉末样品得到更好的水分散效果，可使超薄切片样品捞片更容易捞起、贴合度更好，也可使重金属染色更加均匀。

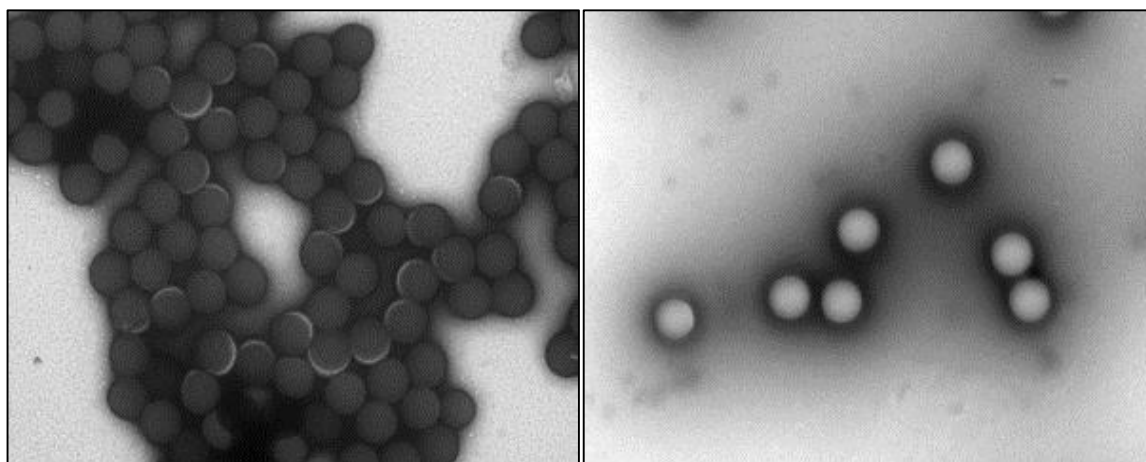


图 1 磷钨酸负染的乳胶微球 TEM 照片。左：碳膜未经处理，颗粒团聚严重，染色及集中在样品附近不均匀；右：碳膜经过短期亲水性处理，颗粒分散的更好，负染剂较右图更均匀的分布在碳膜上，没有在样品上严重聚集。

3、亲水性保持处理

原理：使用醋酸镁溶液对上述经过辉光放电处理的样品进行后处理， Mg^{+2} 离子会被样品表面的负电荷吸附。而像上面所说的，表面的负电荷是不稳定的，当其消失后

样品表面会留有一层 Mg^{+2} 离子，带正电荷。如果是生物切片样品或为了排除 Mg 的影响，可使用赖氨酸代替醋酸镁。

效果：处理后硅片或碳膜的亲水性保持时间大大延长，通常可维持一周以上。同时，由于核酸、抗体和戊二醛固定过的蛋白等生物大分子呈负电性，所以经过这种处理后，碳膜对这些负电颗粒有很好的吸附效果。

4、疏水负电处理

原理：使用甲醇做为工作气体，在辉光放电下形成还原性气氛，可使得碳膜表面暂时变为负电的疏水表面。

效果：这种疏水性一般会在一天内消失，推荐在处理两小时内完成后续操作。经过疏水负电处理的碳膜对于铁蛋白、细胞色素 C 族蛋白等正电性分子有很好的吸附效果。

5、疏水正电处理

原理：使用烷基胺做为工作气体，在辉光放电下可使得碳膜表面暂时变为正电的疏水表面。一般可以使用少量乙胺或者戊胺气体加入到低压气体中混合为工作气体。

效果：经过处理后，碳膜表面疏水带正电，所以可以使用于油性溶液分散的核酸、抗体和戊二醛固定的蛋白等。

目前国内辉光放电仪使用最多的功能仍然是清洗和短期亲水处理（1 和 2）。但是随着生命科学对分子尺寸越来越多的关注，针对不同电负性分子的优化处理也必然会成为主流。这就要求辉光放电仪要有选择不同工作气体的能力。比如，英国 Quorum 公司的 GloQube，就可以实现上述全部的 5 种处理功能。



图 2 Quorum 公司双仓辉光放电仪 GloQube（左）；工作气体瓶（右）。

从上面原理介绍可以看出，亲水处理和疏水处理所使用的工作气体不一样，所以如果在同一个仓室使用亲水和疏水两种功能，会有污染的问题而影响性能。Quorum 的 GloQube，有左右两个仓室，左边的用来做亲水，右边的用来做疏水，右边的仓室可通过更换液体小瓶来选择工作气体。两个仓室完全独立，互不影响，而且可同时进行处理效率更高。

当然，如果经费较为紧张，可以选择只包含清洗和短期亲水处理的设备。比如性价比极高的美国 IXRF 公司的 PIB-10 亲水性处理仪。



图 3 IXRF 公司亲水性处理仪 PIB-10

PIB-10 可以很好的完成清洗和短期亲水处理。而且还要两个独特的优势：第一，不同于其他辉光放电仪的直流放电，PIB-10 采用交流辉光放电技术，不容易产生局部的腐蚀、支持膜等不会发生穿孔或厚度不均匀；第二，PIB-10 有专门针对超薄切片机钻石刀头的 Hard 清洗模式，可以减小刀尖的水接触角，避免切片起皱、连续切片更加整齐不乱漂。

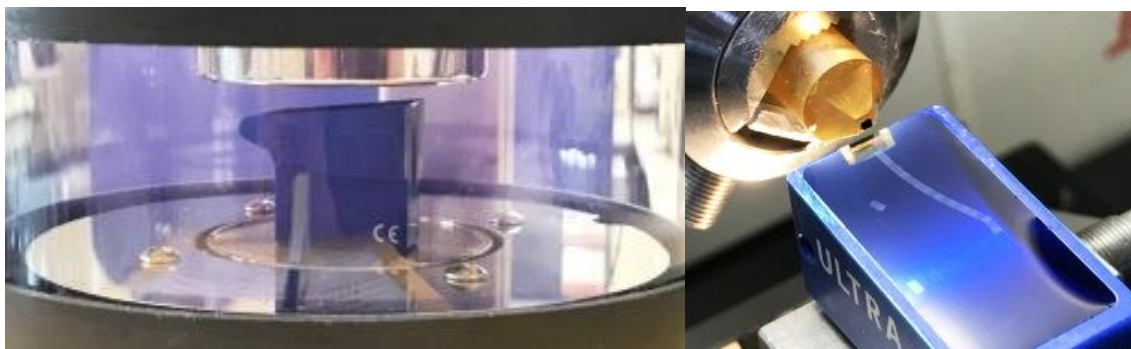


图 4 左：PIB-10 使用 Hard 模式处理钻石刀头；右：经过处理的钻石刀切片更加稳定。