

扫描电镜观测生物样品微观形貌的解决方案

用于扫描电镜观察微观形貌的生物样品类别多种多样，如植物、昆虫、细胞组织、病理组织和细菌病毒等。生物样品要获得清晰真实的扫描电镜图像，需要解决样品失水变形和图像放电的问题。扫描电镜样品仓都是处于一定的真空状态下，未经处理的含水生物样品容易因水分挥发出现表面结构变形，如图 1 所示的幼芽叶气孔。另外生物样品通常导电性不良，不恰当的电镜参数选择会引起图像放电现象发生。本文以日立 S-3400N 型钨灯丝扫描电镜为例，针对不同生物样品的特点，给出四种形貌观察的解决方案。

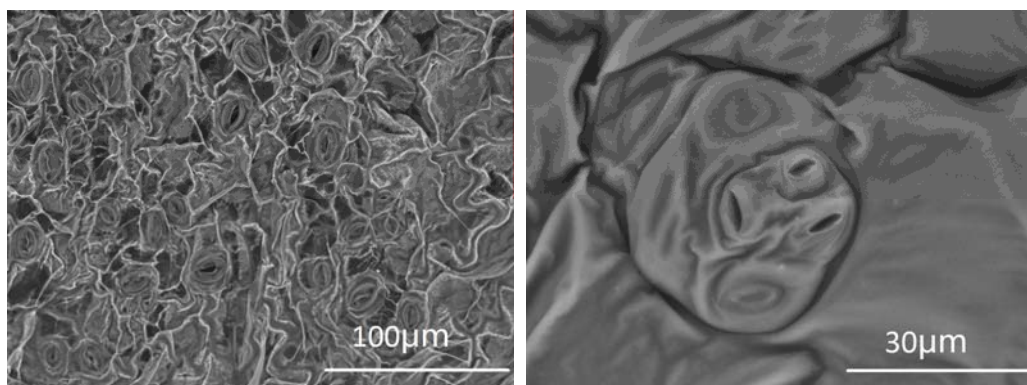


图 1 幼芽叶未经喷金和干燥处理在电镜样品仓出现失水变形

首先，对于含水量较少、放大倍率不太高的生物样品，如大麦的叶片和根，可以不喷金直接放入扫描电镜样品仓，高真空下用低加速电压观察。在高真空下，样品仓压力大概 10^{-3}Pa ，短时间（如 10 分钟）内看不到明显的表面失水变化，可以获得非常好的形象细节。日立 S-3400N 具有电子枪四偏压设计，能够有效提高低加速电压下的发射束流，改善图像信噪比，并能通过设定小的探针电流值间接提高实际样品的分辨率。图 2 和图 3 是白粉病菌入侵大麦叶片的实验图像，实验中采取 1.5kV 的低加速电压观察到叶片上微小细节形貌，放大倍率在 2000 倍依然具有非常好的图像清晰度和信噪比。

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

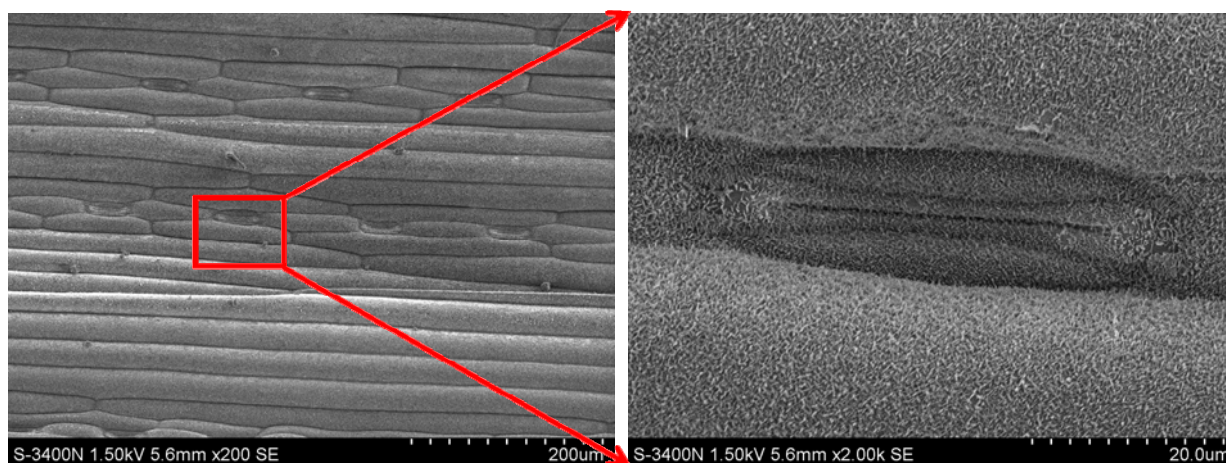


图 2 正常的大麦叶片气孔微观形貌，样品未喷金，高真空直接观察

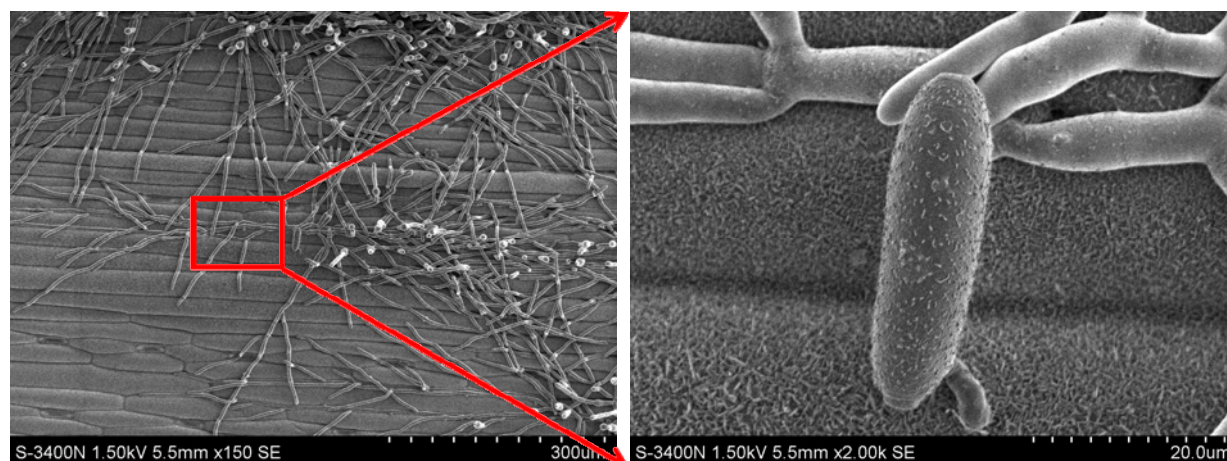


图 3 大麦叶片的白粉病菌微观形貌，样品未喷金，高真空直接观察

第二,对于医学类病理样品观察扫描电镜,通常采取冷冻干燥或临界点干燥的方式,适当喷金后可以获得信噪比好,结构清晰的高倍率图像。图 4 是冷冻干燥后的血液,可以观察到正常或病变的红细胞及白细胞。使用冷冻干燥仪或临界点干燥仪处理生物样品可以避免样品脱水过程中的组织变形,样品便于保存。

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

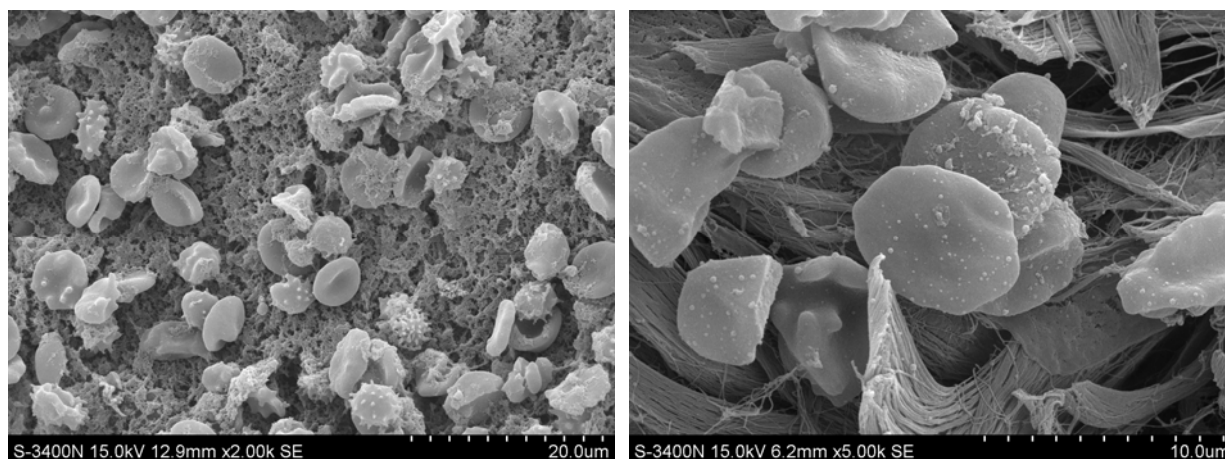


图 4 病变组织中的红白细胞(喷镀 Au)

第三，如果要保持水分观察含水量大的生物样品，推荐使用冷冻传输附件。在冷冻的状态下制备和观察样品，有利于保持样品的原始形貌。图 5 中的水稻根毛样品在自然失水情况下变形歪倒（左图），在冷冻情况下保持竖直和饱满的状态（右图）。配置冷冻传输装置的国内用户数量越来越多，如同济大学和武汉大学的日立 S-3400N 用户。

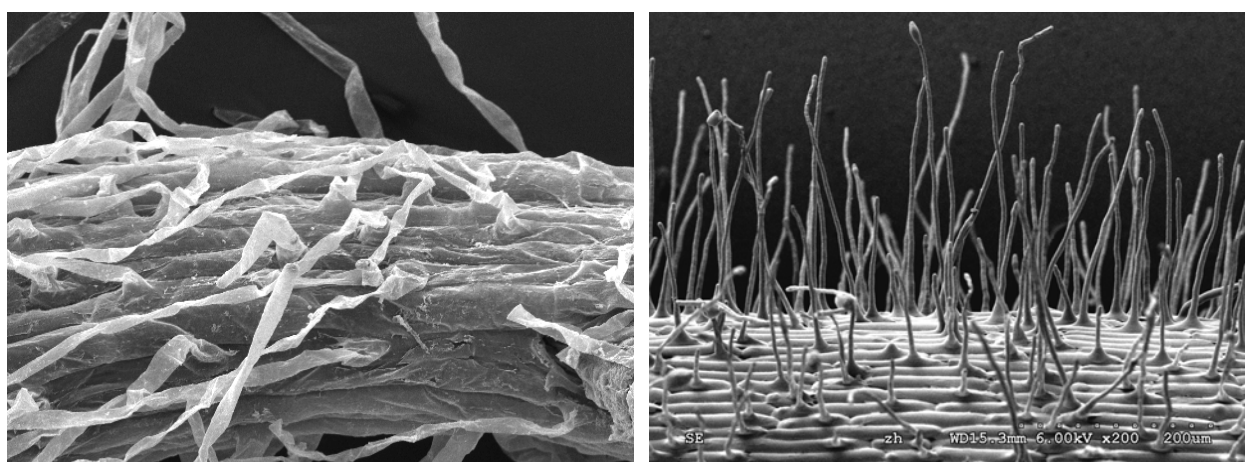


图 5 自然干燥和冷冻干燥处理下的水稻根毛形态

第四，对于含水量很少，可以自然干燥后处理的生物样品，如硅藻和骨头等，可以在低真空模式下直接观察。图 6 是硅藻样品没有喷金在低真空条件下观察的图像，低真

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

空可以避免样品放电，低加速电压可以获得比高加速电压更好的样品形貌细节。

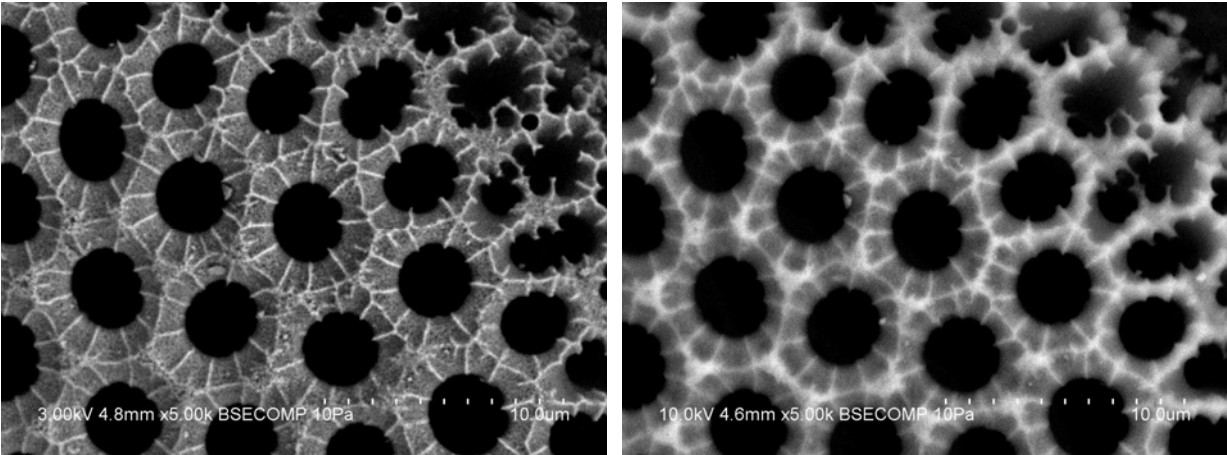


图 6 硅藻样品在低真空条件下的观察

最后，总结一下这四种生物样品扫描电镜观察解决方案的优点和劣势，请见下表。

	优点	缺点
低加速电压直接观察	样品无需制备，图像细节表征丰富	不适合于含水多的样品
临界点干燥（冷冻干燥仪）	样品可保存时间长，可喷金高真空度观察，图像信噪比好	样品制备时间长，细微结构有可能会被破坏
冷冻电镜附件 Cryo-SEM	样品制备时间较短且无损伤，可喷金高真空度观察，图像信噪比好	附件价格稍贵, 样品不能保存
低真空条件	样品无需制备	不适合于含水多的样品，不适用于低加速电压观察，细节表征不好