

# 树脂包埋在透射电子显微镜测试中的应用

王小曼, 梁 正, 卢 思

(中国科学院广州能源研究所 分析测试中心, 广东 广州 510630)

**摘要:** 在环氧树脂包埋样品的过程中, 部分样品易漂浮于树脂中而不易定位, 因而影响了技术人员超薄切片的效率及样品在透射电子显微镜下的观察效果. 对易漂浮于环氧树脂中的样品进行多次包埋定位, 再通过修块、切片等步骤制备透射电子显微镜截面样品, 特别适用于快速高效地制备纳米线、棒等截面样品. 多次包埋方法操作简单、实用性强, 经超薄切片后制备出的样品截面更清晰、更完整.

**关键词:** 环氧树脂; 透射电子显微镜; 多次包埋定位; 截面样品

中图分类号: O657; TN16

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2022)04-0469-04

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2022.04.016

## Application of Resin Embedding in Transmission Electron Microscopy

WANG Xiao-man, LIANG Zheng, LU Si

(Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Analysis and Testing Center, Guangzhou 510630, China)

**Abstract:** In the process of embedding samples in epoxy resin, some samples are easy to float in the resin and not easy to be in fixed position, thus affecting the efficiency of ultrathin sections and the observation effect of the samples under transmission electron microscope. It is especially suitable for the rapid and efficient preparation of nanowires, rods and other cross section samples by embedding and positioning the samples easily floating in epoxy resin for many times, and then preparing the cross section samples for transmission electron microscopy through the steps of block modification and section. The method of multiple embedding is simple and practical, and the sample section prepared by ultrathin section is clearer and more complete.

**Key words:** epoxy resin; transmission electron microscope; multiple embedding localization; cross-section samples

环氧树脂是透射电子显微镜(TEM)样品制备过程中应用最为广泛的包埋剂, 为制备 TEM 样品提供支撑, 同时起到保护样品超微结构的作用<sup>[1]</sup>. 超薄切片机对环氧树脂包埋过的样品进行切片, 可为 TEM 观察提供 100 nm 以下的超薄切片, 在研究纳米纤维材料的内部结构及截面显微形貌分析方面有着广泛的应用前景<sup>[2]</sup>. 超薄切片技术主要用于生物样品的研究, 随着科学研究的发展, 其对无机材料的内部结构以及特定截面的研究也日益增多, 如纳米棒及纤维材料的截面形貌等. 超薄切片技术主

要包括样品包埋、修块、切片等多个步骤. 样品包埋需用到环氧树脂, 由于环氧树脂的浮力会导致样品在其中漂浮, 当需观测材料样品特定方向的截面形貌时, 需对样品定位. 但在环氧树脂包埋的过程中, 棒状材料及纤维状材料易漂浮于包埋树脂中而不易定位, 影响了技术人员超薄切片的效率, 技术人员通常依靠个人经验预估设定样品夹的旋转角度, 进行连续切片和不断地调整角度, 非常繁琐耗时, 极大地增加了切片的困难<sup>[3]</sup>. 同时, 当样品颜色与环氧树脂颜色相近且样品量较少时, 实验人员仍需对

收稿日期: 2022-07-08; 修订日期: 2022-10-24.

作者简介: 王小曼(1991-), 女, 硕士, 工程师, 主要从事透射电镜以及电镜样品前处理等工作, E-mail: wangxm@ms.giec.ac.cn.

样品包埋定位并作好标记。

在环氧树脂包埋样品的过程中,样品易漂浮于树脂中而不易定位,降低了技术人员超薄切片的效率,也影响了样品截面的 TEM 观察效果. 本文介绍一种可以对样品进行简单包埋定位的多次包埋法。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

EM UC7/FC7 超薄切片机, 徕卡; JEM-2100F 透射电子显微镜, 日本电子; SPON 812 环氧树脂. 表 1 为 SPON 812 树脂的包埋配方。

试验材料为垂直生长在碳布上的纳米棒、聚乙烯纤维材料、无机粉末材料. 选用的是 SPON 812 环氧树脂<sup>[1]</sup>, 其配方如表 1 所列。

表 1 SPON 812 树脂配方  
Table 1 Resin composition of SPON 812

| 树脂成分        | 体积/mL   |
|-------------|---------|
| SPI-PON 812 | 9.8     |
| DDSA        | 3.3     |
| NMA         | 6.9     |
| DMP-30      | 0.3~0.4 |

### 1.2 普通包埋法

#### 1.2.1 装样

使用镊子夹持样品放进离心管底部, 如图 1(a) 所示。

#### 1.2.2 加入环氧树脂

在装有样品的离心管中加入按表 1 配置的包埋剂浸没样品, 放入烘箱固化 8 h, 温度设置 80 ℃, 形成包埋块, 如图 1(b) 所示。

### 1.3 多次包埋法

#### 1.3.1 固化树脂作样品基座

取体积为 20 mL 的离心管盛取包埋剂, 采用一次性滴管按表 1 依次量取相应体积的试剂, 每加一种试剂需轻轻搅拌, 使其混合均匀并减少气泡的产生. 取配置好的包埋剂滴入包埋剂模板中, 至其体积的 1/3 处, 放入烘箱固化 8 h, 温度设置为 80 ℃, 以制备平整的样品基座, 如图 2(a) 所示。

#### 1.3.2 薄涂包埋树脂

用软毛刷蘸取少量树脂, 轻轻地薄涂于样品基座上, 使样品基座具有粘性, 以便定位样品, 如图 2(b) 所示。

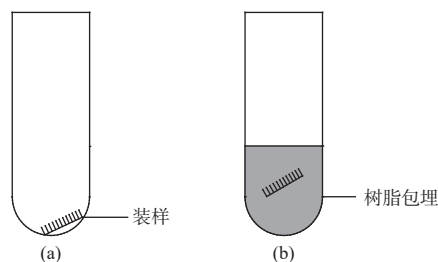


图 1 普通包埋法过程图

(a) 装样, (b) 树脂包埋

Fig. 1 Process diagram of common embedding method  
(a) placing samples, (b) resin embedding

#### 1.3.3 定位样品

使用镊子夹持生长有纳米棒的碳布或者聚乙烯纤维材料平铺于刷有树脂的样品基座上, 室温静置, 待其与样品基座结合稳固, 定位样品. 若为量较少、颜色与树脂包埋剂的颜色相近的粉末样, 可用牙签将样品挑至带有粘性的薄涂树脂上, 并在周围作好标记, 定位样品, 如图 2(c) 所示。

#### 1.3.4 终包埋

使用吸管吸取刚配制好的包埋树脂滴于包埋板中, 使树脂浸没样品, 放入烘箱固化 8 h, 温度设置为 80 ℃, 得到包埋完成的样品, 如图 2(d) 所示。

## 2 超薄切片

将包埋好的样品块置于精研一体机 (Leica TXP) 的样品夹具上, 利用铣刀铣掉包埋树脂露出样品面, 转速为 12 000 r/min. 再将样品置于超薄切片机 (Leica EM FC7) 上, 对样品块进行修块、对刀、切片、捞片等超薄切片的步骤<sup>[4]</sup>. 根据材料的特性, 选择常温超薄切片或冷冻超薄切片。

在常温切片的过程中, 其切面通常在  $500\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$  以内, 修整后的样品边缘需平整, 避免碎屑残留污染刀口, 碎屑会导致切片面产生划痕. 在修块过程中可使用静电发生器, 使切片及碎屑更易离开样品块. 对刀的过程是使刀口和样品面平行, 当刀口和样品之间出现一道彩色的缝隙, 即为对刀完成. 常温切片刀上有注水槽, 将水槽中注入超纯水, 水面呈现雾白即为注水位置适宜, 以方便形成连续切片浮在水面上. 对刀后是超薄切片, 切片厚度 FEED 常设置为 100 nm 以下, 以满足 TEM 观察对样品的要求. 若样品易褶皱可适当降低切片速度, 若样品端面会吸水, 可适当增加切片速度, 以保证切片顺利漂浮于

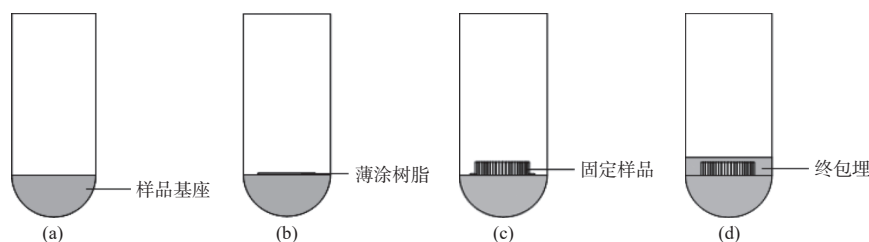


图2 多次包埋法过程图

(a) 固化环氧树脂作样品基座, (b) 薄涂树脂, (c) 固定样品, (d) 终包埋

Fig. 2 Process diagram of multiple embedding method

(a) cure epoxy resin as sample base, (b) coating resin, (c) fixed samples, (d) final embedding

水面上. 使用睫毛笔将连续切片剥离刀口, 用捞片圈或手持夹有铜网的自锁镊子沾取切片, 并将铜网置于滤纸上吸干水分, 将铜网放入样品盒中等待测试.

冷冻超薄切片需将样品降温至其玻璃化转变温度以下进行切片, 其捞片的方式是用捞片圈沾取饱和的蔗糖溶液, 当蔗糖溶液由透明开始变白凝固时, 快速沾取切片并转移至铜网上.

### 3 结果分析

以垂直生长在碳布上的纳米棒为例, 通过上述

多次包埋法, 利用 EM UC7/FC7 超薄切片机制备纳米棒截面, JEM-2100F 透射电子显微镜进行透射电子显微分析. 通过普通包埋法制备的纳米棒截面如图 3(a) 中红色标记所示, 纳米棒有较大倾斜, 截面形貌模糊, 枝晶易碎裂不完整. 采用多次包埋法制备的纳米棒截面如图 3(b) 中红色标记所示, 纳米棒平铺于树脂基座上, 可以清晰地看到周围生长的枝晶形貌, 截面清晰完整不倾斜. 由此可以看出, 对于碳布上生长的纳米棒材料, 采用上述的多次包埋方法可以制备出较好的 TEM 截面样品.

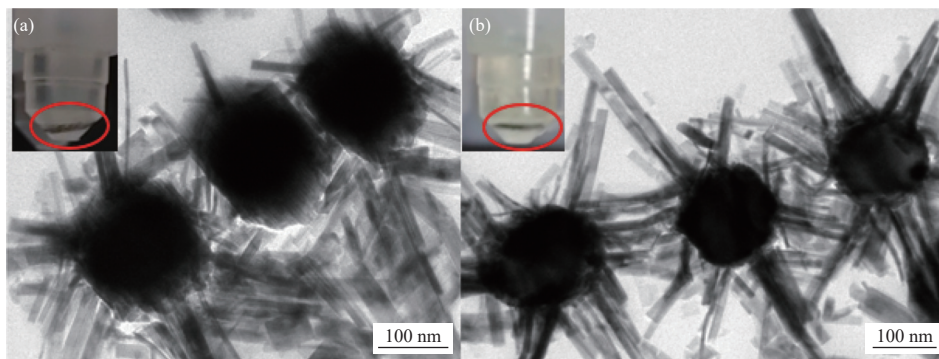


图3 不同包埋方法制备的 TEM 纳米棒截面图

(a) 普通包埋法, (b) 多次包埋法

Fig. 3 Cross-section images of TEM of nanorods prepared by different embedding methods

(a) common embedding method, (b) multiple embedding method

一些尺寸较小且不易用样品夹夹取的材料, 如细长的聚乙烯纤维材料, 必须通过树脂包埋形成包埋块后, 再进行超薄切片. 如图 4(a) 所示, 当需要观测聚乙烯纤维短轴方向的形貌时, 通过多次包埋方法实现样品的定位, 技术人员需剪取一小段纤维材料, 在样品基座上薄涂包埋树脂后, 将其平放于样品基座上实现定位. 该方法有利于对纤维材料的短轴方向进行超薄切片, 图 4(b) 中红色箭头方向为切片方向.

当样品颜色与树脂包埋剂颜色相近且样品量较少时, 样品漂浮于树脂中, 采用常规的包埋方法确定样品位置时, 会给技术人员寻找样品造成困难. 采用上述的多次包埋法可避免样品漂浮, 实现样品的定位, 再对该位置作好标记. 如图 5(a) 为颜色较浅的粉末材料, 树脂包埋后较难看清样品位置, 如图 5(b) 可用多次包埋法将样品定位, 并在样品处用纸片作标记, 以便于超薄切片.

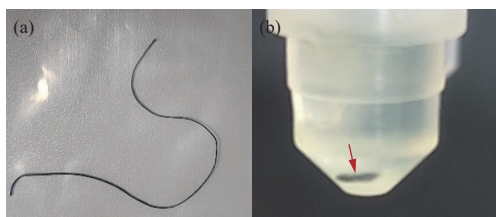


图 4 多次包埋法制备聚乙烯纤维短轴截面样品

(a) 聚乙烯纤维, (b) 聚乙烯纤维经过多次包埋

Fig. 4 Polyethylene fiber samples with short axis section prepared by multiple embedding method

(a) polyethylene fiber, (b) polyethylene fiber after multiple embedding

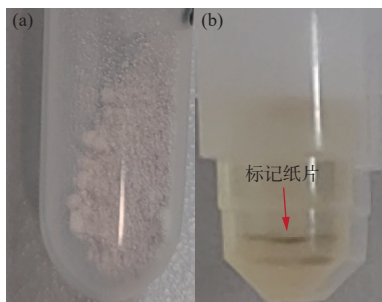


图 5 定位标记浅色样品

(a) 浅色粉末材料, (b) 多次包埋法并标记样品位置

Fig. 5 Locate and label light-colored samples

(a) light colored powder material, (b) multiple embedding method and marking of sample locations

## 4 结论

本文介绍了一种操作简单、实用性强的环氧树脂多次包埋方法. 该方法可以避免样品在树脂中的漂浮, 实现定位样品, 进而缩短了技术人员在超薄

切片定位上的时间. 通过超薄切片后制备出的样品截面更清晰、完整. 同时, 当样品颜色与环氧树脂颜色相近或样品量较少时, 多次包埋法为实验人员提供了包埋的新思路.

## 参考文献:

- [ 1 ] 杨慧, 金良韵, 姬曼, 孙竹林, 陈大兴, 赵君朋. 不同树脂对特殊生物样品包埋效果的比较[J]. *分析仪器*, 2019(5): 46-51. [YANG Hui, JIN Liang-yun, JI Man, SUN Zhu-lin, CHEN Da-xing, ZHAO Jun-peng. Comparison of embedding effects of two resins on special biological specimens[J]. *Analytical Instrumentation*, 2019 (5): 46-51.]
- [ 2 ] 章晓中. 电子显微分析[M]. 北京: 清华大学出版社, 2006:55-56. [ZHANG Xiao-zhong. *Electron microscopy and analysis*[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2006:55-56.]
- [ 3 ] 朱燕华, 王戈, 刘彬鑫, 郭新秋, 何琳. 用于材料样品的电镜超薄切片辅助定位装置[J]. *电子显微学报*, 2019, 38(2): 171-174. [ZHU Yan-hua, WANG Ge, LIU Bin-xin, GUO Xin-qiu, HE Lin. Auxiliary location equipment of TEM ultrathin section for material specimen[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2019, 38 (2): 171-174.]
- [ 4 ] 王小曼, 卢思, 梁正. 冷冻超薄切片技术用于高分子材料的透射电镜研究[J]. *电子显微学报*, 2022, 41(2): 199-204. [WANG Xiao-man, LU Si, LIANG Zheng. Transmission electron microscopy (TEM) study of polymer materials by freezing ultrathin section technique[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2022, 41 (2): 199-204.]