

几种典型扫描电镜生物样本制备

胡春辉^a, 徐 青^b, 孙 璇^b, 于 浩^b, 袁玉清^a
(青岛农业大学, a. 中心实验室; b. 生命科学学院, 山东 青岛 266109)

摘要:总结了几种典型扫描电镜生物样本的制备方法。结果表明,分别采用牙签直接涂抹、在合适的溶剂中超声分散后用铜片和铜网捞取的方法,得到较好的粉末样品扫描电镜图像;微生物在液体或固体培养基中培养后,经戊二醛固定,乙醇脱水和冷冻干燥等处理过程;植物样品根据含水量的不同,选择合适的固定液和干燥方法对样品进行处理;动物样品采用双固定和临界点干燥的方法进行处理;均获得较为理想的扫描电镜图片。
关键词:生物样品;扫描电镜;样品制备;干燥方法;场发射
中图分类号: TB383 **文献标识码:** A **文章编号:** 0439-8114(2016)20-5389-04
DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2016.20.056

Several Biological Typical Samples Preparation Methods of Scanning Electron Microscope

HU Chun-hui^a, XU Qing^b, SUN Xuan^b, YU Hao^b, YUAN Yu-qing^a
(a. Central Labratory; b. School of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong, China)

Abstract: This paper explores and summarizes the Scanning Electron Microscope (SEM) preparation methods of several typical samples. The results showed that using toothpick direct smear method, copper and copper net gain by ultrasonic dispersion in suitable solvent to obtain excellent SEM images; Microorganisms in liquid or solid culture were fixed in glutaraldehyde using ethanol dehydration and freeze drying process to prepare the samples; Plant samples under different water content, select the applicable stationary liquid and proper drying methods for the processing of samples; Animal samples were prepared by using the method of double fixed and critical point drying processing; Above all samples are obtain ideal scanning electron microscope images.
Key words: biological sample; scanning electron microscope; sample preparation; drying method; field-emission

随着科学技术的发展,扫描电子显微镜技术已成为检测物质性能和表征微观结构的重要手段,被广泛应用于食品学、生物学、医学、高分子材料等领域^[1]。扫描电子显微镜在科学研究中有广泛应用,如观察不同淀粉颗粒的超微形貌^[2]、蛋白复合膜的微观结构^[3]、淀粉纳米颗粒的研究^[4]及不同储藏过程中肉食类微结构的变化^[5]等。相较于传统的光学显微镜和透射电镜,扫描电镜具有以下特点:直接多角度观察样品的表面结构;不需要将样品切成薄片;景深大、图像立体感强;放大倍数从几十倍到几十万倍连续可调;电子束能量较低,对样品的损伤小;在观察形貌的同时可以对微区的成分进行定量

和定性分析。
扫描电镜同样对于样品有一定的要求,需要满足以下条件:①导电性能好,样品在电子束的作用下表面电位不会升高,不会产生荷电效应^[6];②样品要尽可能干燥,电子束在真空状态下运行,若样品中含有水分,水分挥发会造成图像漂移,损伤光阑和灯丝等^[7];③热稳定性好,避免在电子束作用下样品分解,释放出气体或其他物质,污染镜筒;④样品不能有磁性。粉末样品尤其是超微粒子,吉普斯自由能较大^[8],在样品制备过程中需克服团聚现象,且使样品有一定的密度^[9]。生物样品具有含水量高、导电性差等特点。生物样品的含水量一般为 70%~

收稿日期:2016-07-15
基金项目:青岛农业大学实验技术课题资助项目(SYJK12-03);青岛农业大学大学生创新项目
作者简介:胡春辉(1987-),女,山东潍坊人,助理实验师,博士,主要从事仪器分析研究工作,(电话)0532-86080543(电子信箱)hollyhuchunhui@163.com。

80%,只有少数的样品,如花粉、毛发等可以直接放入扫描电镜中观察,大部分生物样品需要经过脱水干燥处理后才能进行观察^[10]。因此生物样品制备的关键步骤是干燥,应尽量减少因水分蒸发导致的形变。因此扫描电镜的样品制备方法对于电镜的观察非常重要^[11],能否获得真实、清晰、理想的扫描电镜图片,样品制备方法非常关键。

本试验研究了 12 种典型样品 (包括普通粉末材料、纳米材料、微生物、植物和动物)的扫描电镜制备方法,对扫描电镜样品制备方法进行全面阐述,同时对其他方法进行了改进,为同类样品的扫描电镜样品制备提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 粉末样品 淀粉颗粒,淀粉纳米颗粒。
- 1.1.2 生物样品 金黄色葡萄球菌(球菌)、大肠杆菌(杆菌)、放线菌(真菌)、青岛老鹳草(陆生植物)的花粉、睡莲(水生植物)的花粉、绞股蓝的叶片、玉米茎秆、青岛百合的花芽、鸡血和鸡气管等。
- 1.1.3 主要仪器 JFC-1600 型离子溅射仪、JFD-320 型冷冻干燥机、Emitech K850 型二氧化碳临界点干燥仪、JSM-7500F 场发射扫描电子显微镜。
- 1.1.4 所用试剂 磷酸盐缓冲液(pH 7.2)、2.5%戊二醛溶液、1%四氧化锇溶液、FAA 固定液、乙醇、丙酮、醋酸异戊酯、叔丁醇等。所有试剂均为分析纯,试验用水均为去离子水。

1.2 方法

- 1.2.1 牙签直接固定法 将双面导电胶带粘到样品台上,用牙签蘸取待测样品,轻轻用手指将牙签上多余的样品弹掉。然后将牙签轻轻在双面胶上滚动,使样品颗粒均匀地涂布到导电胶上。用洗耳球轻吹试样,除去未附着的或者没有固定牢固的颗粒。
- 1.2.2 铜片固定法 取少量样品置于离心管中,加入适量的乙醇,将剪成 0.5 cm×0.5 cm 大小清洗过的铜片放入离心管中,超声 15 min 后,用镊子将铜片取出,然后将附着有样品的铜片放在滤纸上,自然干燥,用导电胶水将铜片固定在样品台上。
- 1.2.3 铜网碳载膜捞取法 取少量样品置于离心管中,加入合适的分散剂(常用的分散剂有乙醇、丙酮、水或者 0.1% SDS 水溶液,分散剂的选择标准:①样品不能溶解在该试剂中;②易挥发,超声 15 min 后,用镊子取一片附有碳膜的铜网,轻轻捞取样品,立即放在铜网盒中置于-20 ℃冰箱中预冷 20 min,放入冷冻干燥机中干燥样品 3 h 左右,样品完全干燥后取出铜网,用导电胶水将铜网粘到样品台上。

以上 3 种方法制备完成后,导电类粉末可以直接进行扫描电镜观察,不导电的粉末样品需喷金导电处理后进行观察。

以上样品的具体处理方法见表 1。

表 1 粉末样品的处理方法

样品名称	样品大小	分散剂	捞取载体	粘样品台
淀粉颗粒	几微米到几十微米	无	牙签	双面导电胶带
纳米淀粉颗粒	几纳米到几微米	乙醇	铜片	导电胶水
纳米淀粉颗粒	几纳米到几微米	0.1%SDS	铜网	导电胶水

1.2.4 球菌(金黄色葡萄球菌)和杆菌(大肠杆菌)的扫描电镜样品制备 取培养至稳定期或对数生长后期的菌液 2~3 mL,8 000 r/min 离心 3~5 min,弃上清,加入 40 倍菌体体积的 2.5%戊二醛固定液,置于 4 ℃冰箱中固定 2 h 以上,用磷酸盐缓冲液冲洗 2~3 遍,依次用 50%、70%、90%和 100%乙醇进行梯度脱水,每次脱水时间为 5~10 min。脱水结束后,用乙醇-叔丁醇溶液(1:1,V/V,下同)置换 20 min,最后用 100%叔丁醇置换两次,每次 20 min。置换后将样品进行冷冻干燥处理,干燥后的样品进行离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察、拍照。

1.2.5 放线菌的扫描电镜样品制备 在固体培养基中培养放线菌,用镊子将灭菌处理的盖玻片以 45°夹角插入培养基中,让细菌爬片生长。将盖玻片轻轻拔出,用磷酸缓冲液将盖玻片上多余的培养基洗掉。将盖玻片放到预装有 2.5%戊二醛溶液中(有菌丝的一面朝上),室温或者 4 ℃固定 12 h 以上。依次用 50%、60%、70%、80%、90%、95%和 100%乙醇脱水,每次脱水时间为 5~10 min。乙醇-叔丁醇溶液置换 10 min,再用 100%叔丁醇溶液置换 2 次,每次 10 min。置换完毕后将样品放置-20 ℃冰箱中预冷。冷冻干燥处理,离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察、拍照。

1.2.6 花粉的扫描电镜样品制备 将一种陆生植物的花粉(青岛老鹳草)和一种水生植物的花粉(睡莲),分别用自然干燥法和冷冻干燥处理法处理,观察花粉颗粒的形貌。

花粉颗粒自然干燥法:取含苞待放的花朵,放置于干净的培养皿中,待其自然散落花粉。自然干燥后,直接用双面导电胶带将花粉颗粒粘到样品台上。离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察。

花粉颗粒的冷冻干燥处理方法:取未完全开放的花朵置于干净的培养皿中,将其花粉抖落。将花粉颗粒收集到含有 2.5%戊二醛的离心管中,固定 2 h 以上,乙醇梯度脱水,叔丁醇置换后冷冻干燥处理,离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察。

1.2.7 植物叶片的扫描电镜样品制备 取材要准确,体积不宜过大,样品大小为 $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$ 。用 2.5% 的戊二醛/缓冲液在室温或 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固定。对于表面凹凸不平、黏有许多杂质的样品,在固定前后都需彻底的清洗,以免影响成像质量。采用缓冲液清洗法:用缓冲液在常温下彻底清洗样品 3 次,每次 15 min。用梯度浓度乙醇或丙酮逐级脱水,30%、50%、70%、80%、95%、100%,每次时间 15~20 min。如果进行临界点干燥:用醋酸异戊酯置换 100% 乙醇,在室温下置换 20 min 以上,重复置换两次。如果进行冷冻干燥:用叔丁醇置换 100% 乙醇,在室温下先用乙醇-叔丁醇溶液置换 20 min,再用 100% 叔丁醇置换 30 min,100% 叔丁醇重复置换一次。冷冻干燥处理,离子溅射仪喷镀后,进行扫描电子显微镜观察。

1.2.8 玉米茎秆的扫描电镜样品制备 取成熟期的玉米茎秆,置于固定液(通常用 FAA 固定液)中固定 24 h 以上,然后将材料切割成 $10\text{ mm} \times 10\text{ mm} \times 20\text{ mm}$ 的小块,继续固定 24 h。然后依次置于 70%、50% 和 30% 的乙醇溶液中,各放置 30 min,逐级复水,最后将材料置于纯水中,放置 30 min。然后依次进行脱硅、软化、包埋、切片、捞片、脱脂等处理,将附有样品的铜网用双面导电胶带粘到样品台上,离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察、拍照。

1.2.9 花芽的扫描电镜样品制备 取新鲜的花芽立即放到 FAA 固定液中固定 12 h 以上,取材尽量小。依次用 70%、90% 和 100% 乙醇脱水处理,每次时间 20 min。然后用 100% 醋酸异戊酯置换两次,每次时间 20 min。置于二氧化碳临界点干燥仪中干燥,样品完全干燥后取出在解剖镜下仔细剖出要观察的部位。将观察面朝上用双面导电胶带粘到样品台上,离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察、拍照。

1.2.10 鸡血细胞扫描电镜样品制备 将取出的新鲜血液立即进行抗凝处理:①先在注射器中吸取约 1 mL 抗凝剂,再将注射器扎入动物血管中抽血;②预先在离心管中加入 1 mL 抗凝剂,注射器取血后将血液转移至装有抗凝剂的离心管中。将装有抗凝剂和血液的离心管在 $2\,500\text{ r/min}$ 下离心 5 min。将上清吸出,加入与上清等量的生理盐水, $2\,500\text{ r/min}$ 离心 5 min,弃去上清液,吸取 1 mL 下层沉淀,用生理盐水稀释 10 倍制作血涂片。吸取一小滴血细胞稀释液,滴至盖玻片上,用另一片盖玻片将血滴轻轻推开即可。将血涂片置于 2.5% 戊二醛固定液中固定 2 h 以上。配制不同梯度的乙醇对材料进行脱水处理,乙醇浓度分别为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 和 100%,每个浓度浸泡 10~15 min。置于二氧化碳临界点干燥仪中对样品进行干燥处理。干

燥完毕后,将样品用双面导电胶带粘到样品台上,离子溅射仪喷镀后,扫描电子显微镜观察、拍照。

1.2.11 鸡气管纤毛的扫描电镜样品的制备 将取出的鸡的气管,用生理盐水或磷酸缓冲液清洗去除表面的杂质。将气管上的杂物(如鸡毛和凝血等)剔除,避免影响后期的观察,然后把气管切成 $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$ 的小块。样品太大固定不完全,容易发生形变。将新鲜的气管立即放入 2.5% 的戊二醛固定液中,做好标记。样品应完全浸没在 1% 的锇酸缓冲液中。分别用 30%、50%、70%、80%、90% 和 100% 的丙酮对气管样品进行脱水处理,每次脱水时间为 10~15 min。

以上生物样品的制备方法如表 2 所示。

表 2 生物样品的处理方法

样品名称	固定	脱水	置换	干燥方法
金黄色葡萄球菌	2.5%戊二醛	乙醇	叔丁醇	冷冻干燥
大肠杆菌	2.5%戊二醛	乙醇	叔丁醇	冷冻干燥
放线菌	2.5%戊二醛	乙醇	叔丁醇	冷冻干燥
老鹳草花粉	无	无	无	自然风干
睡莲花粉	2.5%戊二醛	乙醇	叔丁醇	冷冻干燥
绞股蓝叶片	2.5%戊二醛	乙醇	乙酸异戊酯	冷冻干燥
玉米茎秆	FAA 固定液	丙酮	丙酮	烘干
青岛百合花芽	FAA 固定液	乙醇	乙酸异戊酯	临界点干燥
鸡血细胞	2.5%戊二醛	乙醇	乙醇	临界点干燥
鸡气管	2.5%戊二醛,1%锇酸	丙酮	丙酮	临界点干燥

2 结果与分析

2.1 不同大小粉末样品的电镜观察

从图 1-a1、图 1-a2 可以看出,十几微米大小的淀粉颗粒直接用牙签涂抹即可得到均匀分散性好的电镜图片,该方法制样简单,可操作性强。淀粉颗粒较大且导电性差,因此观察时设置电镜参数 WD 为 10 mm,增大景深,电压为 4 kV,观察模式为 LEI、SEM,得到的电镜图片立体感较强,喷金时间短,没有放电现象产生,淀粉颗粒表面的纹饰清晰。图 1-b1、图 1-b2、图 1-c1、图 1-c2 均为淀粉纳米颗粒,可以看出用乙醇作为分散剂进行超声分散效果不是很明显,样品团聚现象严重,无法观察到单个

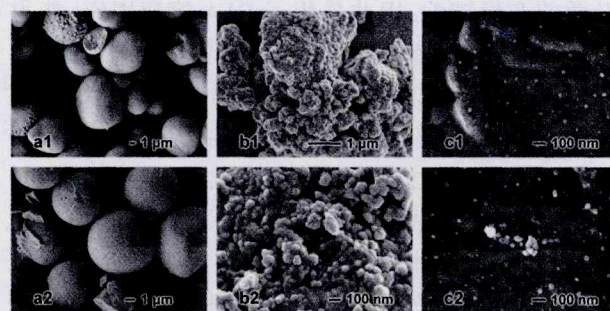


图 1 不同大小淀粉粉末样品的电镜图片

的纳米颗粒(图 1-b1、图 1-b2);而用 0.1%SDS 作为分散剂淀粉颗粒分散的效果更好,纳米颗粒在碳膜上均匀地分布,可以准确测量纳米颗粒的粒径在几纳米到三十纳米之间(图 1-c1、图 1-c2)。

2.2 微生物样品的扫描电镜观察

从图 2 中可以看出,无论是真菌还是细菌用该处理方法均可得到较为满意的电镜图片,菌体和孢子的分散比较均匀,图像背景干净,菌体结构清晰,层次分明,立体感强,无杂质干扰。根据菌体特点,球状和杆状的细菌用液体培养基培养较为方便,且菌体的分散性较好,处理过程大部分在 1.5 mL 离心管中即可完成,操作简单,节省试剂,最后叔丁醇置换时将菌液滴到盖玻片上,进行冷冻干燥后即可上机观察。图 2-a1、图 2-a2 为球菌,球菌饱满圆润,表面光滑,无皱缩和变形。图 2-b1、图 2-b2 为大肠杆菌的电镜照片,菌体呈杆状,背景干净无杂质干扰,可以清晰地看到其生殖方式为二分裂;图 2-c1、图 2-c2 为放线菌。放线菌等真菌,在固体培养基中,利用插片的方法获得菌体进行处理,能够真实地展现菌丝自然生长的形态,不会破坏菌丝和孢子的完整性。

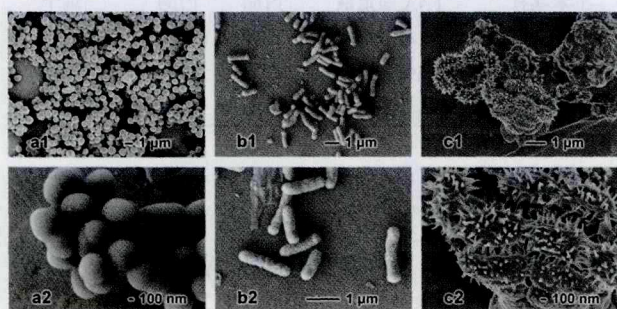


图 2 不同微生物样品的扫描电镜图片

2.3 植物样品的扫描电镜观察

植物样品的处理过程差别较大,主要是根据样品中含水量多少,有无细胞壁等选择合适的处理方法。陆生植物(以老鹳草为例)的花粉含水量较少,采用自然干燥的方法进行处理,得到的电镜图片如图 3-a1、图 3-a2 所示,结构完整清晰,无形变,无杂质干扰,制样过程快速简单。水生植物(如睡莲)的花粉含水量高一些,若采用自然干燥法处理,会有轻微的变形皱缩,因此采用了 FAA 溶液固定,能得到较好的电镜图片(图 3-b1、图 3-b2)。

观察叶片的表面形貌,需根据叶子的幼嫩程度(含水量和细胞壁有无)选择合适的处理方法,如图 4-a1、图 4-a2 所示是用临界点干燥法处理的绞股蓝叶片,叶片表面干净无杂质,表皮细胞饱满无皱缩,表皮毛清晰完整,基本能够反映叶片的真实形貌。图 4-b1、图 4-b2 为玉米茎秆的横截面图,玉米茎秆中含有大量的硅质,质地坚硬,因此在制样

过程中首先对其进行了脱硅处理。为了减少细胞形变,采用半薄切片的方法获得截面,考虑到观察的目的是统计维管束细胞数目,进一步去除多余的杂质,在维持细胞结构的同时,使图片干净无干扰,便于测量和计数分析。图 4-c1、图 4-c2 是植物花芽的微观结构,植物的花芽是植物组织中最幼嫩的部位,极易发生形变,处理过程需格外小心,利用上述处理过程得到的百合花芽图片细胞饱满,立体感强,获得了较好的效果。

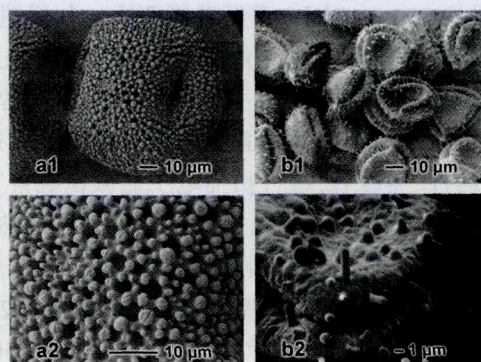


图 3 不同花粉颗粒的扫描电镜图片

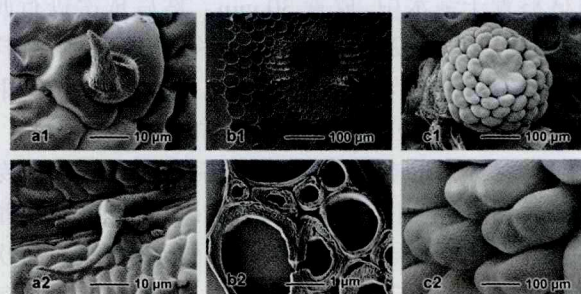


图 4 不同植物样品的扫描电镜图片

2.4 动物样品的扫描电镜观察

对于动物样品,根据细胞含脂类物质的多少,选择是否需要锇酸后固定,干燥方法为临界点干燥法。血细胞含脂类物质较少可以不用锇酸后固定处理,该处理方法得到的鸡血细胞如图 5-a1、图 5-a2 所示,背景简单无杂质干扰,血细胞呈中间厚边缘

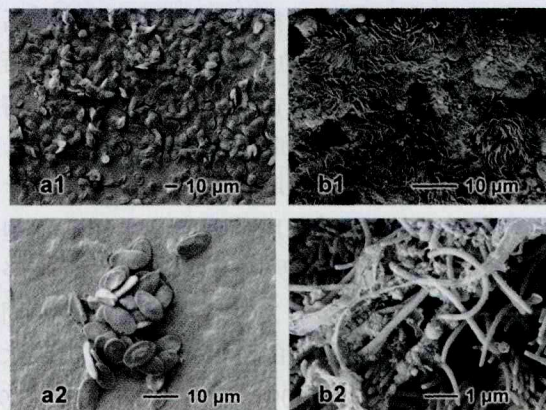


图 5 不同动物样品的扫描电镜图片

(下转第 5402 页)

参考文献:

- [1] KEOGH B. Social Impacts of Outdoor Recreation in Canada[M]. Toronto: John Wiley Press, 1985.
- [2] TOSUN C. Host Perceptions of impacts: A comparative tourism study[J]. Annals of Tourism Research, 2002, 29: 231-253.
- [3] 王昌海, 吴云超, 温亚利. 少数民族地区旅游收入农户间分配实证研究——以湘西州苗寨景区德夯村为例[J]. 林业经济问题, 2011, 31(1): 41-46.
- [4] KIM S S, J F PETRICK. Residents' perceptions on impacts of the FIFA 2002 World Cup: the case of Seoul as a host city[J]. Tourism Management, 2005, 25(1): 25-38.
- [5] ARCHER B, FLETCHER J. The Economic impact of tourism in the seychelles[J]. Annals of Tourism Research, 1996, 23(1): 32-47.
- [6] NURAY TURKER. Host community perceptions of tourism impacts: A case study on the world heritage city of safranbolu, Turkey [J]. Revista de Cercetare si Interventie Sociala, 2013, 43: 115-141.
- [7] SHAH K. Tourism, the poor and other stakeholders: Asian experience[Z]. ODI Fair-Trade in Tourism Paper. London: ODI, 2000.
- [8] 刘炳献. 旅游对阳朔社区居民影响的实证研究[D]. 南宁: 广西大学, 2005.
- [9] CROMPTON J L, MCKAY S L. Measuring the economic impact of festivals and events: Some myths, misapplications [J]. Festival Management & Event Tourism, 1994, 2(1): 33-34.
- [10] 黎 洁. 西部生态旅游发展中农村社区就业与旅游收入分配的实证研究: 以陕西太白山国家森林公园周边农村社区为例[J]. 旅游学刊, 2005, 20(3): 18-22.
- [11] 李春茂. 旅游对目的地社会影响研究——以云南大理、丽江为例[D]. 昆明: 云南师范大学, 2001.
- [12] 张永民. 生态系统与人类福祉: 评估框架[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2007.
- [13] 杨 莉, 甄 霖, 李 芬, 等. 黄土高原生态系统服务变化对人类福祉的影响初探[J]. 资源科学, 2010, 32(5): 849-855.
- [14] COSTANZA R, FISHER B, ALI S, et al. Quality of life: An approach integrating opportunities, human needs, and subjective well-being[J]. Ecological Economics, 2007, 61(2): 267-276.
- [15] 刘秀丽, 张 勃, 郑庆荣, 等. 黄土高原土石山区退耕还林对农户福祉的影响研究——以宁武县为例[J]. 资源科学, 2014, 36(2): 397-405.
- [16] 穆广杰. 居民生活质量评价指标体系的完善[J]. 郑州航空工业管理学院学报(社会科学版), 2004(6): 117-118.
- [17] 刘正山. 幸福指数的研究与实践[J]. 中国国情国力, 2012(11): 25-28.
- [18] 吕昌河, 程 量. 土地利用变化与生态服务功能冲突: 以安塞县为例[J]. 干旱区研究, 2007, 24(3): 302-306.

(上接第 5392 页)

薄的圆饼状, 血细胞表面没有明显的褶皱, 表明该处理过程没有引起血细胞的形变, 能够基本反映其真实的形貌信息。而动物组织中脂类物质的含量较高, 需用钨酸进行固定处理, 本研究以鸡气管为例观察鸡气管中的纤毛, 如图 5-b1、图 5-b2 所示, 细胞排列整齐无明显皱缩形变, 纤毛排列整齐干净无杂质无断裂, 能够反映其真实的形貌。

3 结论

随着科技的不断进步, 扫描电镜的性能也在不断提升, 如环境扫描电镜可以观察新鲜植物材料, 冷冻扫描电子显微镜可以直接观察蛋白质的结构。但是扫描电镜的样品制备技术一直以来是获得高质量电镜图片的瓶颈, 没有统一的方法, 主要依靠操作者的经验和不断的尝试。本研究给出了不同颗粒大小的粉末材料(微米级淀粉颗粒和纳米级淀粉颗粒)、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、放线菌、陆生植物花粉、水生植物花粉、植物叶片、玉米茎秆、花芽、鸡血细胞、鸡气管等样品的扫描电镜制样方法, 样品涉及材料、植物和动物, 总结了适用于不同样品的扫描电镜处理方法, 均获得较为满意的扫描电镜图片, 为其他样品的制备提供了参考。

参考文献:

- [1] 戈尔茨坦. 扫描电子显微技术与 X 射线显微分析[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [2] 王绍清, 王琳琳, 范文浩, 等. 扫描电镜法分析常见可食用淀粉颗粒的超微形貌[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 74-77.
- [3] 孙荣飞, 王相友, 刘战丽. 纳米 $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ 复合膜结构的表征及其对双孢菇涂膜保鲜的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 134-141.
- [4] 周文超, 李强双, 曹龙奎. 我国不同地区特色品种小米淀粉性质[J]. 食品科技, 2014, 35(5): 59-63.
- [5] 苗 壮, 刘竞艳, 常 璐, 等. 扫描电镜粉末样品的制备方法[J]. 钛工业进展, 2008, 25(4): 31-34.
- [6] 华佳捷, 刘紫薇, 林初城, 等. 场发射扫描电镜中核电现象研究[J]. 电子显微学报, 2014, 33(3): 226-232.
- [7] HUMPHERY E. Microwave processing in a modern microscopy facility[J]. Sacnning, 2005, 27: 74.
- [8] HUSSAIN C M, Mitra S. Nanomaterials for sample preparation[J]. Comprehensive Sampling and Sample Preparation, 2012, 2: 389-418.
- [9] 马原辉, 陈学广, 刘 哲. 扫描电镜粉末样品的制备方法[J]. 实验室科学, 2011, 14(1): 148-150.
- [10] 肖 媛, 刘 伟, 汪 艳, 等. 生物样品的扫描电镜制样干燥方法[J]. 实验室研究与探索, 2013, 32(5): 45-53.
- [11] 徐学红, 张锡元. 扫描电镜样品制备的简易方法[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1990(4): 119-120.