

电镜样品的复型技术及其在土壤学研究中的应用

李淑秋 徐梦熊 顾新运

(中国科学院南京土壤研究所)

复型技术是用来研究试样表面结构的电子显微术的一种制样方法。“复型”就是将试样表面的形貌用薄膜复印下来,在透射电子显微镜下进行观察。电镜样品的复型技术一般可分为两种方法:一级复型技术和二级复型技术。根据样品的性质和大小又可分为颗粒复型技术和断面复型技术。由于制样过程比较复杂,因此要想得到理想的复印膜需要一定技巧和细心。虽然到了六十年代中期出现了扫描电镜,它具有聚焦景深大,制样简单和不破坏试样等优点而迅速发展,然而,由于目前大部分扫描电镜的分辨本领不高,最好的也只能达到50—100埃左右。因此对于某些要求高分辨率的试样,特别是观察精细的结构,扫描电镜还存在着困难。近年来,随着电子光学科学的向前发展,透射电子显微镜的分辨本领在不断的提高,到目前为止,透射电镜的分辨率已达到理论极限值(分辨本领可达2—3埃,放大倍率可达100万倍)。因此,尽管这种方法有制样复杂成功率低的缺点,但由于它具有在高分辨率透射电镜下观察的优点而仍然被许多研究者所应用。在土壤学研究的领域中,复型技术对于了解土壤矿物成份的形貌和研究有机物质和无机物质的复合情况,具有一定的实际意义。例如各种粘土矿物的晶形以及它们的风化情况,水稻土中红色胶膜表面的形貌等都可以应用复型技术。本文仅介绍应用于土壤样品制备的几种复型技术和应用的实例。

一、土壤样品的复型技术

复型法制样要求样品干燥、致密、坚硬,试样表面要求新鲜平整,这样才便于在表面上复印,投影喷碳后也才能形成连续坚固的碳膜。但是土壤样品和矿石样品不一样,常常是疏松多孔的,特别是耕层的土壤,这给复型技术带来了一定的困难。通常我们根据土壤样品的不同情况采用不同的复型方法,比较致密坚硬的样品用二级断面复型法,比较疏松的样品用一级断面复型法,土壤胶体粉末用一级颗粒复型法。下面结合我们所做的土壤样品介绍上述三种复型的具体方法。

(一)一级断面复型技术 即在试样的断面上直接制取碳膜的方法。其优点是一次复印,图像真实。本文所做的粘土矿物高岭石、多水高岭石、蒙脱石、硅藻土和水稻土的红色胶膜均采用此法。具体步骤:将粘土块敲开取表面新鲜平整的小薄片作试样(约0.5厘米×0.5厘米)。红色胶膜也是敲开土块取水稻土新鲜结构面上胶膜比较厚而平整的一小片(同一试样要取3—4片以保证成功)。选好复型的部位,用胶纸固定在载玻片上,轻轻吹掉试样表面松浮的颗粒随即放入真空镀膜台中投影喷碳。投影用的金属一般为铂和铬,视试样表面颗粒的大小而定,表面颗粒粗大的用铬,细小的用铂。投影的角度也视试样表面的高差程度而定,高差小的用小角度投影,一般小于30度,高差大的用大角度投影,一般为45度左右。投影的厚度铂至少为12—16埃,铬则需要50埃。投影后紧接着对样品垂直喷碳,碳膜的最佳厚度为200埃左右。由于土块表面不太平整,最好在喷碳的过程中转动试样使其表面每个部分都能得到垂直入射的碳粒。然后取一粒低温石蜡在塑料片上熔化,待冷却至适宜的时候将试样表面的碳膜轻轻地贴在石蜡上。这一步在操作过程中必须仔细进行,既不能使石蜡过份熔化渗进碳膜包住粘粒造成后来溶解试样的困难,也不能冷却过头使碳膜贴不牢,必须掌握石蜡冷却的火候。然后将塑料片连同试样浸泡在水中溶去大部分试样,再放进氢氟酸中溶解,溶解用的酸的浓度为稀—浓(市售的)—稀三种,溶解的时间视碳膜上残留试样的多少而定。为防止产生氟化钙沉淀必须放在1:1的盐酸中半小时。最后取出塑料片洗净,吸去水迹放入丙酮中稍加温熔化石蜡,碳膜即漂起,再用丙酮反复清洗2—3次,捞到水中使碳膜展平,即可用铜网捞起凉干观察。

应用这一方法时最关键的是石蜡固定碳膜的操作,要掌握石蜡冷却的火候,以及最后加温熔化石蜡和清洗碳膜时千万不能让丙酮沸腾,否则碳膜全破,前功尽弃。

(二)二级断面复型技术 即两次复印间接制取碳膜的方法。这种方法由于过程复杂稍不仔细容易出现

假象。本文的磷灰石样品应用了此法。具体步骤：敲开试样取新鲜平整的断面(约1厘米²)，吹掉表面松散的颗粒，滴一滴丙酮在断面上，贴一片比断面稍大的醋酸纤维膜(5%的醋酸纤维素丙酮溶液制成的厚度均匀的膜)，用手轻轻压膜，待膜溶于丙酮后便紧贴在断面上，约10—15分钟膜干透后用镊子把它揭下来。这样反复2—3次以清洗表面。最后要用的一张膜必须仔细进行，根据断面的光滑程度选择厚度适宜的醋酸纤维膜，断面上的丙酮要适量，干透后要以小角度揭下膜。然后剪去周围不必要的部分，把复印的一面朝上用胶纸固定在载玻片上，按上述方法用铈以小于45度的角投影并垂直喷碳。然后取出用针尖将碳膜划成比载样品的铜网略大的小方块，用石蜡固定碳膜，将固定好的膜放到丙酮中在室温下溶解约半小时左右，待醋酸纤维膜全部溶掉后，这时应该检查碳膜是否带有试样的颗粒，若有则必须照上法放进酸内溶解，若碳膜很干净可直接放丙酮中熔掉石蜡，清洗干净，捞起凉干即可观察。在做这一方法时必须注意：

1. 断面上滴丙酮的量要适宜，多了贴上去的醋酸纤维膜因快速溶解往往会夹带气泡在膜上形成假象，少了膜贴不牢，一般是当丙酮均匀地潮湿了整个断面时贴上醋酸纤维膜最适宜。

2. 复型用的醋酸纤维膜可制成几种不同的厚度，视断面的情况而定。表面细致光滑的用薄膜，粗糙不平的用厚膜，薄膜比厚膜效果好。也可以做复膜，即第一次贴上去的揭不下来，再在上面滴丙酮再贴膜，复膜可以是2—3层的膜，这种膜效果更好图像更真实。

3. 在揭膜时角度要小(小于30度)，千万不要倒斜以免使膜变形造成假象。

(三)一级颗粒复型技术 主要用于观察小于1—2微米的土壤胶体颗粒的表面形貌。在颗粒上直接喷碳制成碳膜。本文火山灰土应用了这一方法。具体步骤：沿云母的解理面剥开选择新鲜的白云母一片(约3—4厘米²)，将适当浓度的土壤胶体悬浮液用超声波分散后滴1—2滴在云母片上使其均匀铺开，烘干剪去没有样品的部分，用胶纸固定在载玻片上，按上法投影喷碳。碳膜的厚度视颗粒的大小而定，对于1—2微米以下的土壤胶体一般为100埃左右。注意要避免不必要的厚膜，因为象的对比度将随着膜的厚度的增加而降低。然后用针尖将碳膜划成比铜网略大的方块，以小于20度的角插入水中，依靠水的表面张力，碳膜脱离云母漂浮起来，象上法一样将碳膜捞入酸中溶解试样的颗粒，清洗干净捞起凉干即可观察。应用这一方法时必须注意：

1. 云母片要新鲜现剥现用，不能在空气中暴露时间过长，否则表面氧化以后会造成碳膜与云母分离的

困难。这是这一方法的关键。

2. 颗粒悬浮液的浓度要适中，分散要好，云母片上的颗粒要均匀。

二、复型技术在土壤学研究中应用的实例

应用复型技术拍摄的土壤样品的电镜照片，清晰地再现了各试样表面的结构形貌，这对于研究土壤矿物的晶体形态、风化程度以及各种矿物的伴生组合等提供了有用的资料。

(一)磷灰石的结晶程度和肥效的关系 应用二级复型对磷灰石进行了电镜检查，发现有三种结晶程度不同的磷灰石，表现的晶形也不一样，结晶程度好的磷灰石呈柱状，晶棱晶面完整清晰(附图照片1)。结晶程度中等的磷灰石晶形不完整，但大部分有较明显的晶体轮廓(附图照片2)。结晶差的磷灰石(也称胶磷矿)没有明显的晶体界线，细粒呈胶状(附图照片3)。根据农业化学的研究认为：磷灰石的结晶程度和肥效有直接的关系，结晶程度好的肥效较低，结晶程度差的肥效较高。因此研究磷灰石的结晶形态，对于有目的地选择农业所需要的高肥效的磷矿石原料具有重要意义。

(二)火山灰土壤的风化程度 应用一级颗粒复型对东北地区火山灰土壤进行电镜观察发现，这种土壤中尚保留有风化程度极弱的火山玻璃碎屑，颗粒复型的照片表现出这些玻璃碎屑所特有的贝壳状断口，断口上纹路明显(附图照片4)，还保留有尖锐的棱角。这些特点表明这类土壤发育程度浅，尚处于风化阶段的初期。在土壤学的发生分类上就可以将这类土壤划为幼年火山灰土*。因此利用复型技术所提供的土壤风化程度，可以作为划分土壤类型的依据之一。

(三)高岭石、多水高岭石、蒙脱石的晶形和硅藻土的形态 高岭石、多水高岭石、蒙脱石是土壤中常见的粘土矿物。了解他们的晶形对于鉴定土壤矿物成份有重要意义。硅藻也是土壤中常见的一种藻类。高岭石具有完整的六角片状晶体，常常呈书状重叠，排列不规则(附图照片5)。高岭石是我国南方土壤中的主要粘土矿物，在土壤中一般呈分散状态，因受了不同程度的风化作用，晶形往往受到影响。多水高岭石的晶体多呈长管状(附图照片6)，单个晶体长约1微米，粗0.1微米，大小较均匀，排列不规则。土壤中的多水高岭石往往和片状的高岭石伴生在一起，含量一般比较少。蒙脱石在断面上呈扭曲的厚度不均匀的片状，单个晶体边缘卷曲(附图照片7)。它是我国北方

* 赵其国：黑龙江黑河地区土壤资源及其利用。黑河地区科委及农牧局编，1976。

黑土中的主要粘土矿物。硅藻是土壤中常见的一种分泌硅质介壳的生物。形态多种,有的呈圆形(附图照片8),有的呈纺锤形等,他们可以分为湖泊相和浅海相两种,根据它们的种属分类可以了解当时的成土环境。

(四)水稻土中红色胶膜的表面形貌 苏南水稻土中红色胶膜表面的一级复型照片,表现出胶膜的表面为一层绒毛状的粉末,其中有一些极细的球形颗粒,大小约为0.03微米(附图照片9),在这些细粒粉末中间偶见少量收缩的网状物质。这一特点表明了红色胶膜就是由这些物质组成的。根据已有的研究资料认为,水稻土中的红色胶膜是有机铁复合物和无机氧化铁的复合体(4)。表面上的一层绒毛状粉末可能就是失水后氧化铁凝胶的沉淀物,球形颗粒可能是赤铁矿和氧化铁凝胶的团聚体,网状物质可能是有机铁的复合物,这与红色胶膜特性研究的结果是一致的。因此应用复型技术研究红色胶膜的微观形貌,对于它的形成机理进一步提供了有用的资料。

三、小 结

1. 复型制样技术应用于土壤样品,要视样品的具

体情况选用不同的复型方法。由于制样过程比较复杂,必须十分细心,尤其是在二级复型中要特别注意避免假象。

2. 本文所列举的几个应用实例表明,复型技术对于了解土壤矿物的晶形、风化情况,结晶程度和肥效的关系,以及土体表面结构的超微形貌等均具有很实际的意义。

参 考 文 献

(1) J.A. Gard; The Electron-Optical Investigation of Clays. Mineralogical Society 41 Queen's Gate London, S.W. 7. 93—100, 1971.

(2) 周剑雄; 矿物微区分析概论。178—182页。科学出版社, 1980年。

(3) 张天乐等; 中国粘土矿物的电子显微镜研究。11—28页, 地质出版社, 1978年。

(4) Gu Xin-yun, Li Shu-qi; Proceedings of Symposium on paddy Soil. (Edited by Institute of Soil Science Academia Sinica, Science press, Beijing Springer Verlag Berlin Heidelberg New York). 486—492, 1981.

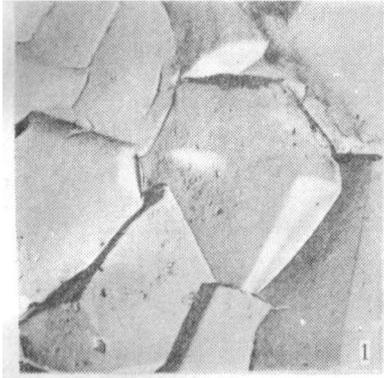
《土壤农业化学常规分析方法》出版消息

该书是中国土壤学会邀请四十位土壤农化分析专家编写的,内容分土壤分析、植物分析、肥料分析和分析数据的统计处理四部分,共三十三章,分别介绍土壤、植物、肥料样品的采集和制备,土壤比重、容重、孔隙度、水分的测定和颗粒分析,土壤有机质、常量和微量养分、PH值、交换性能、水溶性盐类、氧化还原电位和还原性物质的测定,植物近似组成、常量和微量元素、糖类、含氮化合物和其它成分的测定,各类化肥和有机肥料的成分分析,以及分析数据的统计处理。此外还附录一些土化分析常用资料和统计用表。

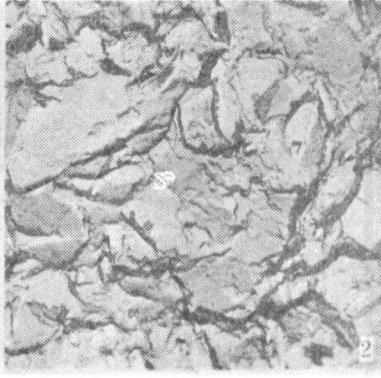
土壤农业化学常规分析方法的规范化和统一是土壤农化科学发展的需要和有关科技工作者的迫切愿望。因此该书对每一分析项目一般只推荐适用于指定条件下的一个分析方法。选定分析方法的原则是:方法原理和分析技术较成熟,结果的准确度和精密度较好,操作较简单,所需设备和技术条件能适应于我国县级以上土化分析室的现况。对于少数常需测定但尚无十分成熟方法的项目,则推荐一个“试用”方法。每一分析项目下除说明选择这个方法的依据及其适用范围或条件外,还列有方法要点、主要仪器、试剂、操作步骤、结果计算和注释,叙述力求细致严密,以便于读者掌握。

该书可供土壤、农业工作者,有关科研、技术部门和农林院校师生参考,将于1983年7月由科学出版社出版,请注意新华书店新书预告目录。

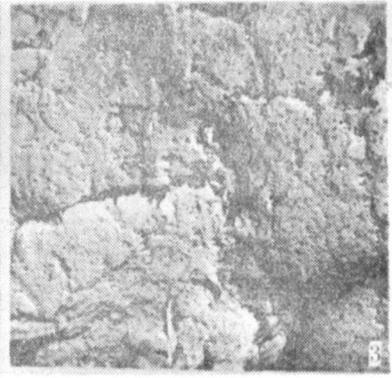
李淑秋等：电镜样品的复型技术及其在土壤学研究中的应用(附图)



照片1. 结晶好的磷灰石
(甘肃酒泉) × 1900



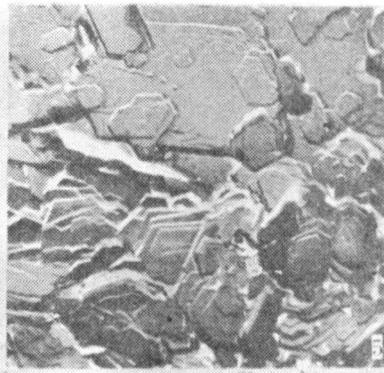
照片2. 结晶中等的磷灰石
(四川金河) × 10000



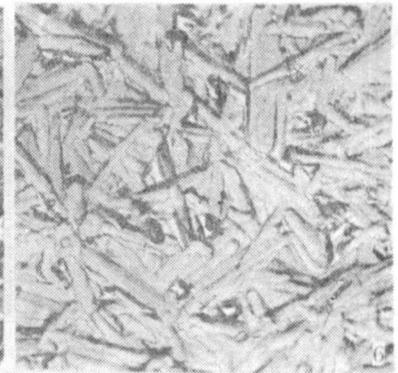
照片3. 结晶差的磷灰石
(广西溶洞型) × 5000



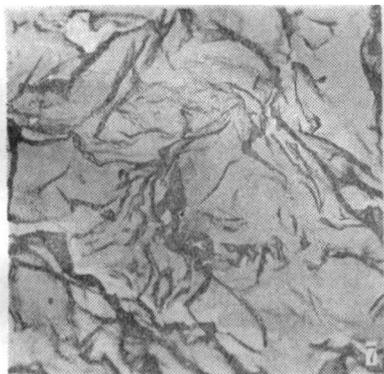
照片4. 火山灰土的碎屑
(东北黑河) × 8600



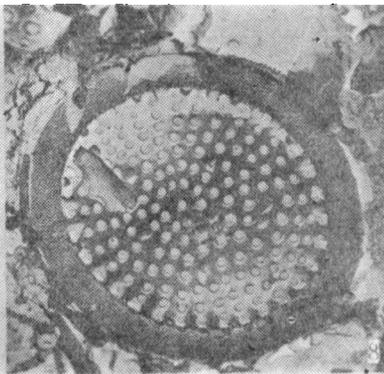
照片5. 高岭石
(苏州) × 15000



照片6. 多水高岭石
(山西阳泉) × 20000



照片7. 蒙脱石
(安徽) × 10000



照片8. 硅藻土
(南京) × 2500



照片9. 红色胶膜的表面
(江苏吴县) × 15000