

张清敏 徐 濮 编译
洪 涛 审 阅

扫描电子显微镜

和X射线微区分析



扫描电子显微镜和 X射线微区分析

张清敏 徐 濮 编译
洪 涛 阅 审

南开大学出版社

内 容 简 介

本书主要叙述了扫描电子显微镜的基本特点和结构以及 X 射线微区分析的基本理论和实践, 包括波长色散分析仪、能量色散分析仪的结构和性能, 常规的定性、定量分析方法, 生物样品的定性、定量分析程序等。此外, 对于样品的制备尤其是生物样品的制备作了比较详细的介绍。

本书可供从事生命科学、固体物理、固态化学、环境科学、地质矿物、电子科学、材料科学及电镜工作的科研、工程技术人员和高等院校师生参考。

扫描电子显微镜和 X 射线微区分析

张清敏 徐 洪 编译

南开大学出版社出版

(天津八里台南开大学校内)

新华书店天津发行所发行

天津市宝坻县马家店印刷厂印刷

1988年1月第1版 1988年1月第1次印刷

开本: 850×1163 1/32 印张: 14.25

字数: 355 千 印数: 1—4000

ISBN 7-310-00114-1/O·24 定价: 6.70 元

序 言

随着科学技术的飞速发展，扫描电子显微镜观察和X射线微区分析技术的应用越来越广泛，不仅在材料科学、地质学、电子科学上有着重要的应用，而且在生物学、医学、环境科学、农业科学等领域中，都有众多的科学工作者开始应用这一技术。随着计算机的开发和样品制备方法的改进，用扫描电子显微镜不仅可以进行形态学上的研究，而且同时还可以对微细结构的元素进行定性、定量分析。毫无疑问，这一技术的应用，将大大开阔人类对微观世界的认识。

目前我国电镜技术已有了相当的基础，但是在扫描电镜观察和X射线微区分析方面，与先进国家相比，尚有较大的差距。在开展功能研究方面则差距可谓悬殊。我认为本书将会为迅速开发和推广这一新技术并为功能电镜技术(functional EM)的发展作出积极贡献。

本书的原著是美国戈德斯泰(Goldstein)等几位电镜权威在教学的基础上写成的。经编译后，更加简明实用，深入浅出，使之符合我国的实际情况。实为从事材料学、地质学、医学、生物学等领域的科学工作者的颇有价值的参考书。

对于那些已经在从事扫描电镜观察和微区分析的研究人员，这本书将为他们提供可借鉴的宝贵经验，而对于初学者，这更是一本难得可贵的教科书，它不仅为读者提供了理论和实际应用技术，还可使读者在科研思路和实验设计上受到启发。

洪 涛

1985年6月

编译者的话

扫描电子显微镜观察和 X 射线微区分析是近年来迅速发展起来的一项重要的分析技术。这一技术，具有操作简便、分析迅速、选择性强等优点。在观察形貌的同时，就可以进行多种元素的分析（一般可以作到从硼到铀）。而且毋需进行化学的提取和分离，就可以进行各种样品原位的元素测定。随着计算机程序的改进和样品制备方法的发展，测定的灵敏度和准确度都已达到超微量和十分准确的水平。

鉴于目前有关扫描电镜和 X 射线微区分析的著作甚少，而且不系统，因此，我们以美国 Goldstein 等编著的 *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis* 一书为主要内容编译了本书。

如果本书能对我国扫描电镜和 X 射线微区分析，尤其是生物、医学样品的微区定性、定量分析技术的开发，有所裨益，将使我们如愿以偿。

本书内容包括扫描电镜的基本特点和结构，X 射线微区分析中的定性、定量以及有关的样品制备等三大部分。其中有关生物样品的制备和如何进行定性、定量分析，是本书中最主要的部分。

本书基本上保持了原书的结构和内容，只是对于扫描电镜的结构和原理这一部分，作了较大的删节，以期简明实用，重点突出。

本书的第一、二、三、八、九、十、十一、十二、十三章，

由南开大学张清敏编译，第四、五、六、七章由北京师范大学徐
濮翻译。

本书承蒙洪涛教授在百忙之中审阅并写了序言，在此表示衷
心的感谢。

在编译本书过程中曾得到了不少同志的赞助并提出了宝贵意
见，在此一并致谢。

由于编译水平所限，一定还有不少错误，敬请广大读者批评
指正。

编 译 者

1984年12月

目 录

第一章 扫描电镜的基本特点与结构	(1)
1.1 扫描电镜的基本特点	(1)
1.2 扫描电镜的基本结构	(3)
1.2.1 电子枪	(4)
1.2.2 电子透镜	(5)
1.2.3 扫描系统	(7)
1.2.4 消象散装置	(8)
1.2.5 检测器	(9)
1.2.6 真空系统	(11)
第二章 扫描电镜的成象原理	(12)
2.1 电子束与样品的相互作用	(12)
2.2 二次电子成象	(14)
2.3 背散射电子成象	(15)
2.4 吸收电流象	(18)
第三章 X 射线的产生与 X 射线的特性	(18)
3.1 X 射线的产生	(18)
3.2 特征 X 射线	(19)
3.3 X 射线被物质的吸收	(22)
3.4 吸收边与荧光激发	(23)
第四章 X 射线的测量: WDS 和 EDS	(25)
4.1 引言	(25)
4.2 波长色散谱仪 (WDS)	(25)
4.2.1 基本结构	(25)
4.2.2 X 射线检测器	(31)

4.2.3	检测器电子线路	(33)
4.3	能量色散 X 射线谱仪 (EDS)	(43)
4.3.1	工作原理	(43)
4.3.2	检测过程	(43)
4.3.3	检测过程中的假象	(48)
4.3.4	主放大器和脉冲堆积的去除	(56)
4.3.5	来源于检测器环境的假象	(65)
4.3.6	多道脉高分析器	(77)
4.3.7	EDS 工作与假象的小结	(85)
4.4	WDS 与 EDS 的对比	(86)
4.4.1	几何收集效率	(86)
4.4.2	量子效率	(87)
4.4.3	分辨率	(88)
4.4.4	可接收的谱线范围	(90)
4.4.5	最大计数率	(91)
4.4.6	最小电子束尺寸	(91)
4.4.7	分析速度	(93)
4.4.8	谱线假象	(94)
	附录: 新检测器的安装与检验	(94)
第五章	X 射线定性分析	(98)
5.1	概述	(98)
5.2	EDS 定性分析	(101)
5.2.1	X 射线谱线	(101)
5.2.2	EDS 定性分析的指南	(105)
5.2.3	EDS 定性分析中的峰重叠问题	(112)
5.2.4	EDS 定性分析实例	(114)
5.3	WDS 定性分析	(117)
5.3.1	X 射线的测量	(117)
5.3.2	WDS 定性分析一般原则	(123)
5.4	X 射线扫描	(125)

第六章 X 射线微区分析的定量	(131)
6.1 引言	(131)
6.2 ZAF 修正技术.....	(132)
6.2.1 引言	(132)
6.2.2 吸收因子 A	(134)
6.2.3 原子序数因子 Z	(143)
6.2.4 特征荧光修正因子 F	(150)
6.2.5 连续荧光修正	(153)
6.2.6 ZAF 技术讨论小结.....	(155)
6.3 经验方法	(160)
6.4 电子束非垂直入射的定量分析	(165)
6.5 微粒与粗糙表面的分析	(168)
6.5.1 几何效应	(168)
6.5.2 几何效应的补偿	(177)
6.5.3 总结	(181)
6.6 薄膜与薄片的分析	(183)
6.6.1 薄片	(183)
6.6.2 载体上的薄膜	(185)
6.7 生物样品的定量分析	(195)
6.7.1 引言	(195)
6.7.2 分析期间的质量损失与假象	(197)
6.7.3 块状样品	(198)
6.7.4 大块载体上的厚切片	(202)
6.7.5 薄切片	(202)
6.7.6 连续谱法	(205)
6.7.7 很薄支持膜上的厚样品	(210)
6.7.8 微液滴	(211)
6.7.9 标样	(212)
6.7.10 结论	(214)
附录 A: 连续谱方法.....	(214)

附录 B: 生物材料定量分析实例.....	(220)
第七章 X 射线微区分析的实际技术.....	(228)
7.1 数据处理的一般考虑:	(228)
7.2 背底的形状	(231)
7.2.1 背底的模式	(232)
7.2.2 背底的滤波	(239)
7.3 峰的重叠	(244)
7.3.1 线性	(246)
7.3.2 拟合	(247)
7.3.3 线性方法	(248)
7.3.4 非线性方法	(257)
7.3.5 误差估计	(261)
7.4 死时间修正	(264)
7.5 定量分析实例	(265)
7.6 X 射线微区分析的精度和灵敏度	(268)
7.6.1 计算精度和灵敏度的统计学基础	(268)
7.6.2 样品的均匀性	(269)
7.6.3 分析灵敏度	(272)
7.6.4 微量元素分析	(273)
7.7 轻元素分析	(277)
第八章 材料样品的制备	(285)
8.1 材料和陶瓷	(285)
8.1.1 扫描电镜	(286)
8.1.2 X 射线微区分析	(286)
8.2 微粒和纤维	(290)
8.3 含水的材料	(296)
8.3.1 土壤	(296)
8.3.2 聚合物	(297)
第九章 在 SEM 和 X 射线微区分析中的喷镀技术.....	(298)
9.1 序言	(298)

9.1.1	样品的性质	(298)
9.1.2	喷镀的选择	(302)
9.1.3	薄膜技术	(303)
9.2	热蒸发	(303)
9.2.1	高真空蒸发	(304)
9.2.2	低真空蒸发	(309)
9.3	离子溅射喷镀	(300)
9.3.1	离子束溅射	(311)
9.3.2	二极管或直流溅射 (DC)	(311)
9.3.3	低温二极管溅射	(313)
9.3.4	溅射技术	(313)
9.3.5	靶的选择	(314)
9.3.6	喷镀的厚度	(315)
9.3.7	离子溅射喷镀的优点	(315)
9.3.8	溅射喷镀伴随产生的假象	(316)
9.4	特殊喷镀方法	(317)
9.4.1	高分辨喷镀	(317)
9.4.2	低温喷镀	(318)
9.5	喷镀厚度的测量	(319)
9.5.1	喷镀后的测定	(319)
9.5.2	移去喷镀层	(320)
第十章	扫描电镜生物样品的制备	(321)
10.1	序言	(321)
10.2	电镜的改进	(322)
10.2.1	模拟样品台	(322)
10.2.2	非最佳电镜性能的利用	(323)
10.3	样品的改进	(324)
10.3.1	光镜和电镜的对照观察	(324)
10.3.2	样品的挑选	(325)
10.3.3	样品的清洁	(326)

10.3.4	样品的粘固	(327)
10.3.5	揭示内表面	(329)
10.3.6	已知生理活性的区域定位	(333)
10.3.7	样品的脱水	(335)
10.3.8	样品的支撑	(339)
10.3.9	样品的导电性	(340)
10.3.10	重金属的导入	(340)
10.3.11	膺象和解释	(341)
第十一章	X 射线微区分析时生物样品的制备	(345)
11.1	序言	(345)
11.1.1	问题的性质和困难:	(345)
11.1.2	X 射线微区分析的应用	(347)
11.1.3	X 射线微区分析研究的类型	(347)
11.1.4	生物样品的类型	(348)
11.1.5	策略	(350)
11.1.6	关于良好样品制备的标准	(351)
11.2	常温下的制备过程	(352)
11.2.1	固定前	(352)
11.2.2	固定	(352)
11.2.3	组织化学技术	(353)
11.2.4	沉淀技术	(354)
11.2.5	脱水	(355)
11.2.6	包埋	(356)
11.2.7	切片和断裂	(356)
11.2.8	样品的支撑	(357)
11.2.9	样品的染色	(357)
11.2.10	样品的喷镀	(357)
11.3	低温样品制备	(358)
11.3.1	样品的预处理	(358)
11.3.2	冷冻过程	(360)

11.3.3	冷冻-含水或局部冷冻-含水材料	(361)
11.3.4	冷冻干燥	(361)
11.3.5	冷冻置换	(366)
11.3.6	切片	(369)
11.3.7	断裂	(370)
11.4	微区灰化	(371)
第十二章	扫描电镜观察和 X 射线微区分析的实践	(373)
第十三章	基本数据表	(378)
第十四章	主要参考文献	(420)

第一章 扫描电镜的基本特点 与结构

扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope) 简称 SEM, 是近十年来迅速发展起来的一种电子光学仪器。简单地讲, 就是用聚得很细的电子束照射要检测的样品表面。由于电子束与样品的相互作用产生各种信息, 然后将这些信息经过处理后显示出样品的各种特征。近年来, 扫描电镜又综合了光学显微镜、X 射线分光谱仪、电子探针以及其它许多技术而发展成为分析型的扫描电镜。也有人称之为“扫描型 X 射线显微分析仪”或“X 射线显微分析仪”。

本书所涉及的扫描电镜就是指这种分析型的扫描电子显微镜。

1.1 扫描电镜的基本特点

扫描电镜具有和光学显微镜一样的机能, 可以观察样品的形貌和结构。但是和光学显微镜相比, 具有分辨率高、放大倍率高, 图像景深大, 立体感强等优点。目前的扫描电镜分辨率已达 $30\sim 60\text{ \AA}$ (1 \AA 等于法定计量单位的 0.1nm), 是光学显微镜的 50 倍。

另外, 用 X 射线分光谱仪, 可以测定样品中元素的特征 X 射线。利用 X 射线的波长和强度的不同, 可以在观察某一微小区域的形貌的同时, 对该小区域所含元素进行原位的定性或定量分析。这样就可以把样品所含元素的分析与其形貌对应起来。这种

分析方法的优点还在于不用象化学分析那样溶解、提取，就可以进行非破坏性分析。

扫描电镜另一个突出的特点是对于样品的适应性大。样品的适应性是指样品的大小，种类、制备和要求几个方面。

1. 对样品大小的适应性大

在扫描电镜中，由于物镜的工作距离长，样品室空间大，因此可以放入大块样品，这对于不能破坏的超硬材料、地质样品和各种昆虫样品是很方便的。

2. 对样品种类适应性大

扫描电镜观察的样品种类，除了气体外，可以说无所不包，无所不能。当然象放射性样品需要加屏蔽，带磁的样品需要去磁处理。

3. 样品制备适应性大

扫描电镜遇到的样品种类如此之多，如果在制备上相当繁杂，那么对于种类繁多的适应性也就成了空话。

扫描电镜一个突出的功能就是许多样品稍加处理后（如清洗）就可以进行观察和分析。对于导电性差的金属、非金属、纤维一类的样品，在经过表面金属化处理后，就可以作各种观察和分析了。

对于生物样品的制备稍复杂些，但是比起透射电镜（TEM）和光学显微镜（OM）也还是简单些。一般新鲜的植物组织、活体昆虫，等稍加清洗后也可以直接观察；其它类型的生物样品也要固定、脱水等，但不像TEM的超薄切片那样要求严格，只要保证表面或断面清洁、稳定、不充电就可以了。另外，TEM的超薄切片和OM的石蜡切片略作处理也可以作扫描电镜观察，从而达到对同一样品、同一部位的光镜-电镜的对照比较观察。

1.2 扫描电镜的基本结构

为了便于理解而整理成扫描电镜的结构示意图如下：

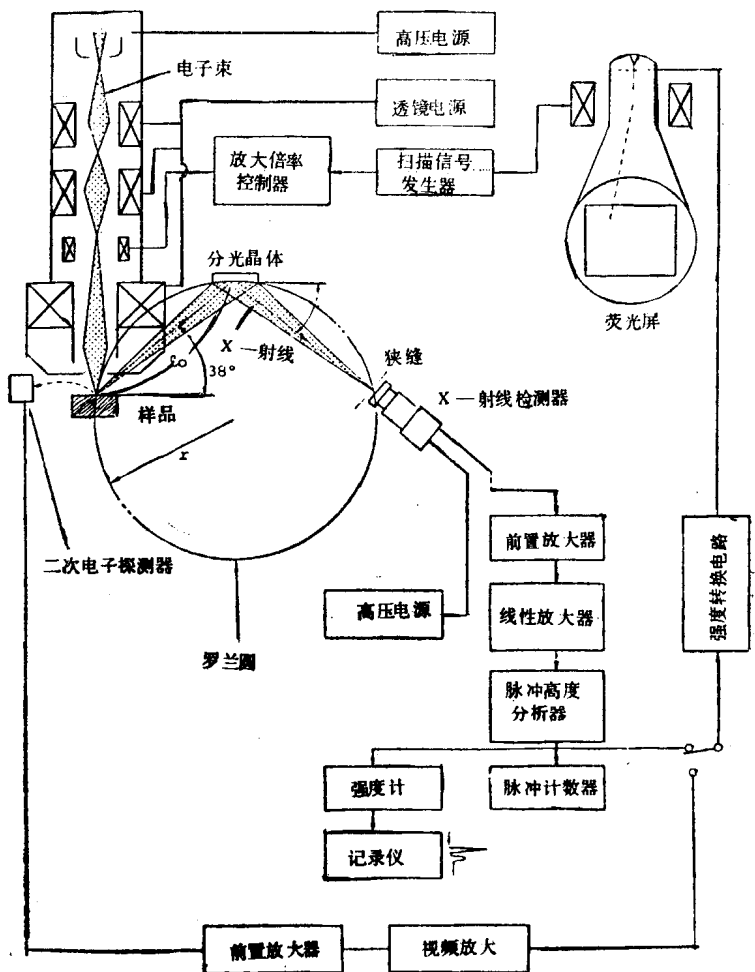


图 1.1 扫描电镜的基本结构

(日本日立 X-650)

扫描电镜大体上由三大系统组成：即电子光学系统、信息接收显示系统和真空系统。下面就一些主要部件作一简单介绍。

1.2.1 电子枪

电子枪的作用就是产生连续不断的稳定的电子流。其结构如图 1.2 所示。

电子枪由阴极（灯丝）、栅极（通常也称为威耐耳特(Wennelt 圆帽。)和阳极组成。阴极采用能加热的钨丝，栅极围在阴极周围，被加热了的钨丝放出电子，并在阳极和阴极之间施加高压，形成加速电场，从而使电子得到了能量——加速前进。一般来说，实际加速电压可以用 $10\sim 30\text{kV}$ 。由灯丝发射出的电子束，经栅极

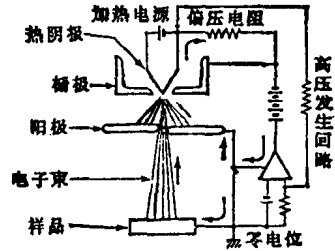


图 1.2. 电子枪结构示意图
由热阴极发出的电子流到阳极及样品上，箭头表示电流方向（电子的流动方向与电流方向相反）

的负电位调整，控制其发散，形成一稳定的束流，然后再向阳极发散开去。实际上可以把电子枪看作一个静电透镜，因而使得电子束在阳极附近会聚成一个小的交叉点（Crossover）。交叉点的直径依电子枪的设计而异，大约为 $10\sim 100\mu\text{m}$ ，由灯丝发出的电子束流强度为数十微安，交叉点的电流密度为 $10\text{A}/\text{cm}^2$ 左右。加速电压是直流电源，它是将适当频率的电源或高频交流进行升压，再整流及稳定化而做成的负高压直流电源。

阴极是用直径为 0.12mm 的钨丝制成的，大多数作成 V 形。为了提高灯丝的使用寿命和发射的稳定度，要求真空度比较高，且稳定（机械工作稳定，冷却水源的温度、流量也要稳定），灯丝电源也应很稳定。

为了进一步提高电子枪的亮度，即提高电子发射率，以及缩