

电子染色技术在 $\text{SiO}_2/\text{P}(\text{St-co-BA})$ 复合微球 TEM 表征中的应用*

李小琴¹ 周 娟¹ 乔晓光¹ 武利民^{1,2**}

(¹ 湖北大学化学与材料学院 武汉 430062) (² 复旦大学材料系和教育部先进涂料工程研究中心先进材料实验室 上海 200433)

摘 要 以核壳型的二氧化硅/苯乙烯-丙烯酸丁酯共聚物 [$\text{SiO}_2/\text{P}(\text{St-co-BA})$] 纳米复合微球为例,首次采用电子染色技术研究了不同的染色条件(染色方式、染液用量及染色时间)对 $\text{SiO}_2/\text{P}(\text{St-co-BA})$ 核壳复合微球形貌的透射电镜(TEM)观察效果的影响,实验证明,对于该体系,采用的混合染色法不仅安全有效,而且易于操作和控制. 醋酸双氧铀的染色效果优于 PTA. 染色时间 1 min 左右,染液用量控制在 0.08% 至 0.16% 之间能得到最佳效果. 并讨论了该技术在有机-无机纳米复合微球形貌的 TEM 应用.

关键词 电子染色, 核壳结构, 复合微球, TEM

有机-无机纳米复合微球由于具有可调的有机相和无机相本征特性(种类、尺寸、物化性)、形貌(核-壳、草莓、菊花等)而有望获得新一代先进功能分子材料,因此引起了国际材料研究领域的广泛兴趣,透射电镜(TEM)作为一种重要的表征手段在其研究中起着重要的作用^[1~12]. TEM 图片能够很直观地表现出纳米复合微球的形貌,然而在有些情况下表现的却不太明显,主要是因为有机层不易分辨或壳层太薄. 电子染色技术常用在生物、医学中来提高图像反差^[13], 使在一般条件下不易显现的部分得以显示,而在高分子复合材料中使用较少,在有机-无机纳米复合微球中使用更是鲜有报道. 本文在分析了电子染色技术的机理后,提出了将电子显微技术中的电子染色技术应用于有机-无机纳米复合微球的 TEM 表征,以核壳型 SiO_2 /聚合物纳米复合微球为例,通过选择不同的染液、改变不同的染色方式、染液用量和染色时间,得到了不同条件下的 TEM 图片,并对得到的图片进行了分析解释,最终得到了适宜于表征有机-无机纳米复合微球的染色条件,即合适的染色方式,染液用量和染色时间.

1 实验部分

1.1 仪器

JEM-100SX 透射电镜(日本电子株式会社).

1.2 原料

试样,核壳型 SiO_2 /聚合物微球(自制),细乳

液方法制备的二氧化硅/苯乙烯-丙烯酸丁酯共聚物 [$\text{SiO}_2/\text{P}(\text{St-co-BA})$] 复合微球^[4](单体质量比 St/BA = 6:4, SiO_2 占单体质量的 3%). 电子染液, pH = 6.4 的磷钨酸(PTA)水溶液, pH = 2.0 的 PTA 水溶液,醋酸双氧铀水溶液.

1.3 样品制备

在小瓶中将 SiO_2 /聚合物乳液用超纯水稀释至适当程度,超声振荡一段时间后,充分摇匀,用移液枪吸取少许,滴于覆有火棉胶膜和碳膜的铜网上,将铜网置于滤纸片上晾干,作为未染色处理. 改变不同的染色条件,对一系列样品进行染色处理,处理后进行同样的操作后进行电镜观察.

2 结果与讨论

2.1 电子染色剂的影响

电子染色的实质就是让染色剂中的重金属元素沉积在样品上或样品的周围,有效改善图像不同区域散射电子的能力,从而增强图像反差,提高图像清晰度. 对于提高有机-无机复合微球的有机层和无机颗粒间的反差效果明显. 图 1(a)是未经染色的 SiO_2 /聚合物核壳型微球,由于复合微球无机粒子较大而有机壳层较薄,核壳形貌不很明显;图 1(b)是同一样品经醋酸双氧铀染色后的 TEM 图片,图中复合微球的核壳结构非常明显. 粒子外围的聚合物部分表现为亮色,复合微球最外层因电子染料的沉积而显暗色,这样从里到外的暗、明、暗的显现使得试样微球的核壳结构十分清晰,

* 2006-08-16 收稿,2006-11-10 修稿; ** 通讯联系人, E-mail: lmw@fudan.edu.cn

整体效果上看,包与未包,包多包少,非常清楚.图 1(c)是聚合物内部二氧化硅粒径不同于图 1(a), (b)样品的未经染色的 SiO_2 /聚合物核壳型微球,其中无机纳米粒子粒径很小,有粘连团聚现象,而有机壳层更因此而不明显,微球间的边界也不明显.图 1(d)为该样品经醋酸双氧铀染色后的 TEM 图片,图中微球间的边界明显表现出来,无机颗粒间也可较清晰的分辨出团聚的程度,而且复合微球内多核的数目也能分辨出来.

电子染色剂是含有重金属元素的酸、盐或氧化物,其中的重金属元素有着很高的电子密度,当染色剂与试样接触后,它会沉积在试样表面,有染

色剂沉积的地方,其电子密度比原来要增加很多,将导致该部分质量厚度的增大,使其散射电子的能力大大提高,从而表现出暗色.而没有电子染色剂沉积的地方,则保持自身原有的质量厚度.在图 1(b)和图 1(d)中,染色剂沉积在复合微球表面,从而使微球外层变黑,而有机层本身质量厚度不变,乳胶粒颜色也因此不发生变化,但是明暗对比却因此增加,从而使乳胶粒边缘为黑色而其本身发白;复合微球内部的 SiO_2 粒子因含有 Si 元素本身有较高的质量厚度而呈暗色,这样的对比效果使得核壳结构非常明显,而且更凸现出内部 SiO_2 核的分布及形貌.

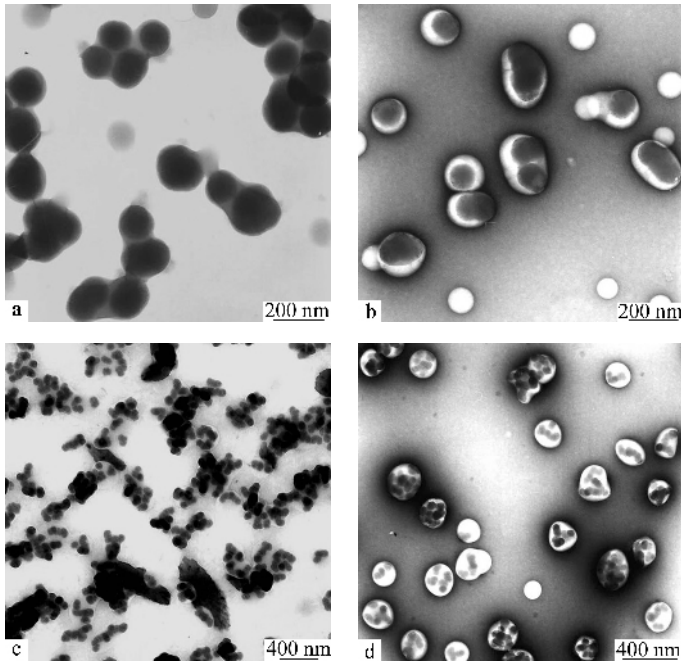


Fig. 1 TEM images of composite microspheres at different staining conditions
a, c) Without staining; b, d) Staining with uranyl acetate

2.2 电子染色剂的选择

电镜室常用的电子染料有磷钨酸、醋酸双氧铀等,他们具有在空气中较稳定,使用时无需特殊设备,且价格低廉等优点.磷钨酸水溶液在使用时常常配制成两种不同 pH 值的溶液, pH = 2.0 的磷钨酸(PTA)即 PTA 的水溶液(原液);由原液经 NaOH 调制而成 pH = 6.4 的 PTA 水溶液.本文采用 pH = 2.0 的 PTA 水溶液、pH = 6.4 的 PTA 水溶液和醋酸双氧铀水溶液分别对同一样品进行处理,比较此 3 种处理结果的优劣.图 2(a)是经 pH = 2.0 的 PTA 染色的结果,图 2(b)是经 pH = 6.4 的 PTA 染色的结果.将图 2 与经醋酸双氧铀染色的图 1(d)相比较,很容易看出,PTA 的染色效果

不及醋酸双氧铀. PTA 染色虽然能够将复合微球的包覆情况表现出来,但却有以下不足,一是造成有些复合微球形态的改变,不少微球的粒径变小,由原本的圆润变成梭状;二是微球周围背景不洁净.图 2(a),有许多深色物质附着在微球周围,形成模糊的晕圈.图 2(b)中虽然没有晕圈,但背景中却有不少边界清晰的巨大黑斑,而且微球存在变形变小的弊端.

醋酸双氧铀和 PTA 在染色效果上的差异,应该与它们物理和化学特性上的差异有关.

就分子量而言,醋酸双氧铀为 388.15, PTA 为 2917.13.就离子大小而言,双氧铀离子的直径为 0.4 ~ 0.5 nm,而含钨的杂多阴离子的粒径为

0.8~1.5 nm;就电子密度而言,铀元素的原子序数为 92,钨为 74. 以上数据说明,一是混合染色时醋酸双氧铀因为分子量小,离子直径小,在液相中扩散、渗透和被吸附比 PTA 更容易;二是在沉积了相同原子数目的情况下,铀比钨具有更强的散射电子的能力. 另外有文献报道^[14],醋酸双氧铀水溶液的 pH 为 4.0,与试样的 pH(5.5)更接近. 而且 PTA 是一强酸,是一种具有 keggin 结构的杂

多酸,具有持续不断提供质子的能力,因此会形成对微球很不利的酸环境,使胶粒表面的吸附层解吸,甚至脱落,这些脱落物或散布在胶粒周围形成晕圈,或聚结在背景中,形成巨大黑斑块. 复合微球由于表面物质的脱落使其粒径会变小,使微球的结构失去原有的形态. 综上所述,醋酸双氧铀的电子染色效果比 PTA 更安全,更细致,更真实.

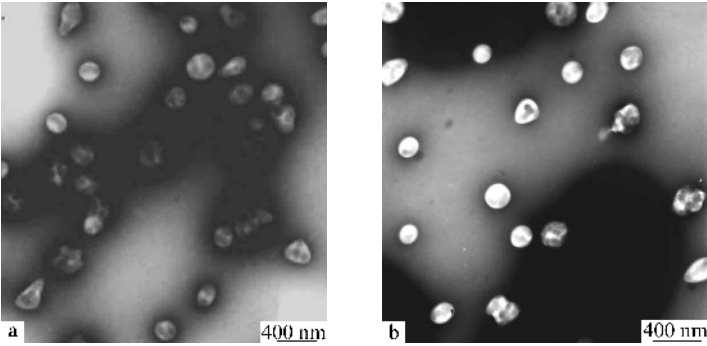


Fig. 2 TEM images of composite microspheres at different staining pH values
a) pH = 2.0 ;b) pH = 6.4

2.3 醋酸双氧铀的使用方法

2.3.1 染色方式 在电镜试样的制备中,常见的染色方法有漂浮染色法和混合染色法. 漂浮染色法是将沾有试样的铜网膜面朝下浮在染液液滴上,一段时间后,镊起铜网,用滤纸吸去多余染液,晾干后上镜观察. 该法染液浓度、染色时间都不易控制. 浓度偏大,时间偏长,不但会形成大黑斑,甚至会导致一些晶体产生,干扰图片的真实性. 混合染色法是将试样稀释适当后,往稀释液中滴加染液,混合均匀后,吸取少许混合液滴在复膜铜网上,晾干后,即可观察. 此法中染色时间(滴加染液后到滴混合液于复膜铜网上的时间)和染液的用量虽然与结果很有关系,但这两者都容易控制. 鉴于漂浮染色法的弊端^[15],本文均采用混合染色法.

2.3.2 染液的用量 在试样稀释液体积一定的情况下,染液浓度的大小实际上就是染液用量的多少. 染液用量的多少对观察结果起着至关重要的作用. 图 1(a)与图 1(d)是在醋酸双氧铀的用量为 0.08% 时的结果. 当将这样的用量提高到 0.16%,0.24%和 0.40%,得到图 3. 认真分析此 3 图,并将它们与图 1(d)比较,可以看出,随着染液用量的增加,背景噪声越来越大,微球粘连的情况增加,微球形变越严重. 当用量为原用量的 2 倍(即 0.16%)时,除了背景稍暗,背景中不太洁净之外,微球的形状和包覆状况基本体现完好(图

3a) 而当用量增加至原用量的 3 倍后(图 3b),背景暗度增加,微球发生粘连,发生粘连的微球内外侧的反差减小,且形状不规整. 当用量为原用量的 5 倍时,背景中黑色物质连成片,微球形状多变成尖棱形(图 3c). 除此之外,在观察中还见到,有的区域中有巨大的黑斑,有一些微球被“埋”在黑斑中. 这是因为醋酸双氧铀虽然是一种有机酸盐,毕竟也是一种电解质,当用量过大时,也会造成微球表面吸附层的解吸甚至脱落,导致微球变形、粘连和图像背景的污染等.

由以上分析可知,染液的用量对结果起着至关重要的作用,用量应控制在 0.16% 以内,才能得到较满意效果,对大多数的乳胶粒的染色而言,染液用量控制在 0.04% 至 0.10% 之间为宜.

2.3.3 染色时间 在染液用量一定的情况下,延长染色时间(滴加染液以后至滴铜网之前)对观察结果也会产生一些影响,图 4 是不同染色时间的形态结果. 在染色 1 min 的情况下,复合微球不但核壳二者反差明显,而且球形规整,图像背景较洁净;当染色时间增加到 5 min 后,微球形态虽无大的变化,但微球略显萎缩,且核壳间反差减小,微球四周有一些脱落物散出,背景不太干净;当染色时间增加至 1 h 后,微球形态变化不大,但微球核壳结构间的反差进一步减小,微球四周的脱落物进一步散开,因此图像背景变暗.

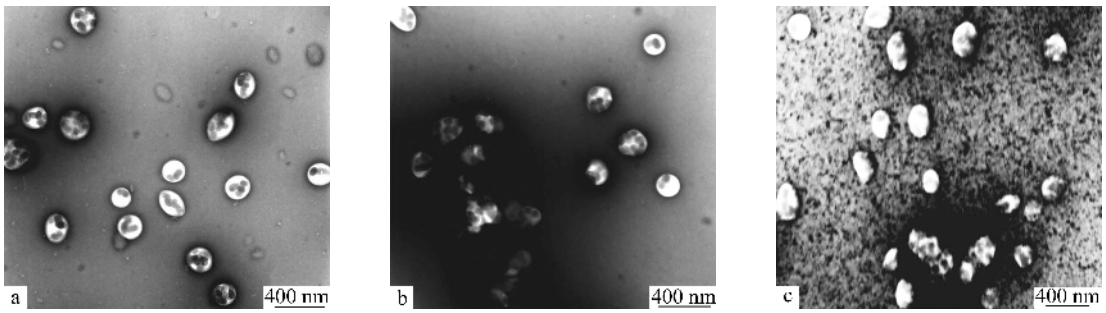


Fig. 3 TEM images of composite microspheres with different concentrations of uranyl acetate
a) 0.16% ; b) 0.24% ; c) 0.40%

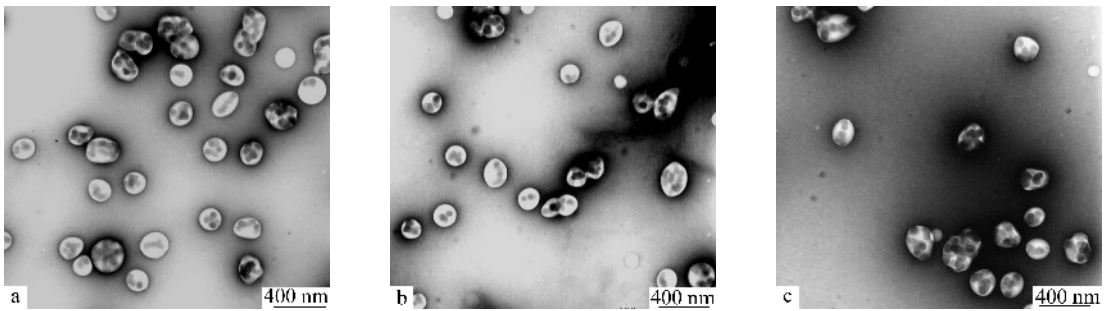


Fig. 4 TEM images of composite microspheres at different staining time of uranyl acetate
a) 1 min ; b) 5 min ; c) 1 h

由以上分析可知,在染液用量一定的情况下,较短的染色时间(1 min)不但对微球损伤最小,而且还能有效提高图像反差,是获得优良图片的最佳时间.随着染色时间的延长(1 h 以内),图像背景噪声增大,图像反差逐渐减小.

染液在微球表面的沉积是染液在液相中通过扩散或渗透移动至微球表面,一旦液体不存在了,染色的过程也就结束了.较短的染色时间可以适时阻断染液的进一步渗透或扩散,提高着色与未着色两部分间的差别.液相介质长时间的存在,染液的渗透或扩散也就持续不断,原本不应着色

的区域也会受到染液的影响,着色与未着色区域间的差异也就变小了.

综上所述,电子染色能明显改善图像质量,增强图像反差,提高图像清晰度,适用于核壳型有机无机复合微球的 TEM 表征,并在相应的高分子测试领域中有良好的应用前景.对于该体系而言,我们采用的混合染色法不仅安全有效,而且易于操作和控制.醋酸双氧铀的染色效果优于 PTA.染色时间 1 min 左右,染液用量控制在 0.08% 至 0.16% 之间能得到最佳效果.

REFERENCES

- 1 Yang Z Z, Niu Z W, Lu Y F, Hu Z B, Han C C. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 42: 1943 ~ 1945
- 2 Zhang K, Zhang X H, Chen H T, Chen X, Zheng L L, Zhang J H, Yang B. *Langmuir*, 2004, 20: 11312 ~ 11314
- 3 Chen M, Wu L M, Zhou S X, You B. *Macromolecules*, 2005, 38: 6411 ~ 6417
- 4 Zhou J, Zhang S W, Qiao X G, Li X Q. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 2006, 44: 3202 ~ 3209
- 5 Landfester K. *Adv Mater*, 2001, 13: 765 ~ 768
- 6 Percy M J, Armes S P. *Langmuir*, 2002, 18: 4562 ~ 4565
- 7 Reculusa S, Mingotaud C, Bourgeat-Lami E, Duguet E, Ravaine S. *Nano Lett*, 2004, 4: 1677 ~ 1682
- 8 Wang P, Chen D, Tang F Q. *Langmuir*, 2006, 22: 4832 ~ 4835
- 9 Zhang S W, Zhou S X, Weng Y M, Wu L M. *Langmuir*, 2005, 21: 2124 ~ 2128
- 10 Chen Min (陈敏), You Bo (游波), Zhou Shuxue (周树学), Wu Limin (武利民). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2006, (6): 790 ~ 794
- 11 Li H, Zhou S X, You B, Wu L M. *Chinese J Polym Sci*, 2006, 24(3): 323 ~ 331

12 Qi Dongming(戚栋明), Bao Yongzhong(包永忠), Huang Zhiming(黄志明), Weng Zhixue(翁志学). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2006, (6) 774 ~ 778

13 Liu Zhengxia(刘征峡), Zhou Meiyun(周美云), Xie Hengyue(谢恒月), Qian Ruolan(钱若兰). Science Bulletin(科学通报), 1998, 43(2) :187 ~ 189

14 Fu Honglan(付洪兰). Practical Electron Microscope Technique(实用电子显微镜技术). Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社), 2004. 132

15 Li Xiaoqin(李小琴), Chen Peizhi(陈沛智), Qin Changhua(秦昌华), Liao Shouxian(廖寿贤). Polymer Materials Science and Engineering(高分子材料科学与工程), 1999, 15(1) :129 ~ 131

APPLICATION OF ELECTRON STAINING TECHNIQUE IN TEM OBSERVATIONS OF
SiO₂/P(St-co-BA) NANOCOMPOSITE MICROSPHERES

LI Xiaoqin¹, ZHOU Juan¹, QIAO Xiaoguang¹, WU Limin^{1,2}

(¹ College of Chemistry and Materials Science, Hubei University, Wuhan 430062)

(² Department of Materials Science and Advanced Materials Platform, Fudan University, Shanghai 200433)

Abstract The strategy to design and fabricate organic-inorganic nanocomposite microspheres is of burgeoning interest in recent years. Electron staining technique was used to investigate the effect of various staining parameters on the morphology of organic-inorganic nanocomposite microspheres with SiO₂/P (St-co-BA) core-shell nanocomposite particles as an example. The results showed that the different staining conditions had an obvious influence on the morphology of organic-inorganic nanocomposite microspheres observed by transmission electron microscope (TEM). It was found that the staining time was around 1 min and the staining agent dosage should be controlled between 0.08% ~ 0.16% to obtain the desired results. Usually, uranium acetate may give better TEM results than phosphtungstic acid.

Key words Electron staining, Core-shell, Composite Microspheres, TEM