

良好实验室规范

2021 年第三版



前言 preface

信息技术党支部由分析测试中心、图书馆和网络室三个部分构成，在测试表征、方法学研究、测试功能开发、文献收集与整理、网络保障与管理、数据库维护等方面发挥着作用。

为了充分创新学习交流的方式，开展特色的支部工作，构建和谐的支撑环境，助力化学所的科学研究，我们整合并规范了良好实验室（分析测试中心），以期待在时不我待的大环境中不懈怠、不忘初心、牢记使命，为化学所的飞速发展贡献自己的力量。

信息技术党支部

2021年9月

目录 contents

001 化学实验室安全与常规应急处理预案

001 分析测试中心概况

002 实验室安全与应急处理预案

008 构建良好实验室

008 质谱组

079 X 射线衍射组

086 电镜组

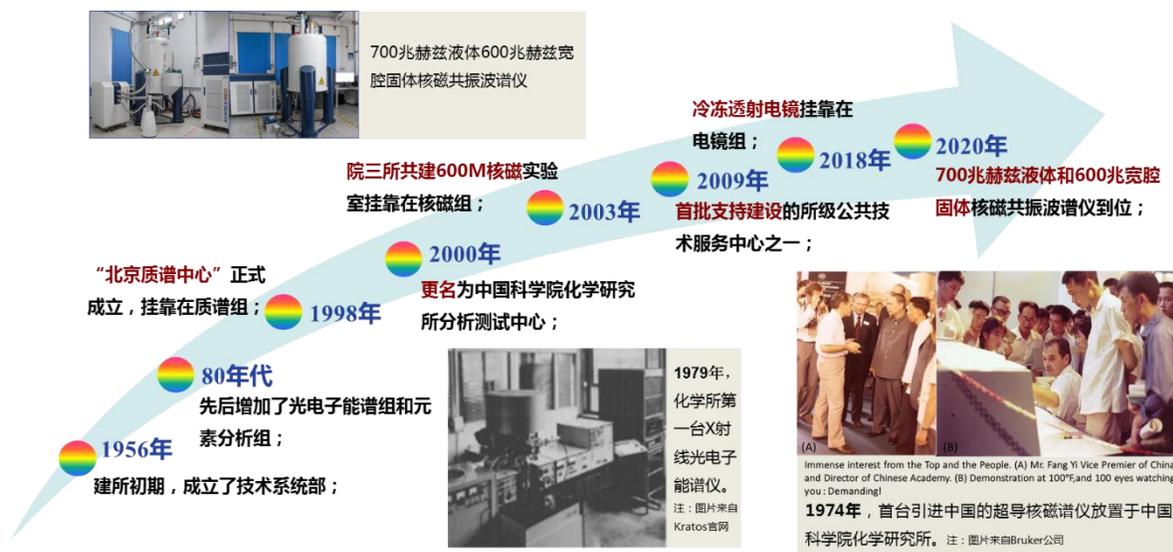
143 光谱组

213 光电子能谱组

225 核磁组

261 元素分析组

分析测试中心概况



中国科学院化学研究所仪器中心成立于1988年，于2000年更名为分析测试中心，是我国综合实力较强的分析机构之一。现有7个机组46台仪器，主要定位于从事各种检测与表征，以及紧密围绕科研需求开展有关的方法学研究和测试功能开发工作，包括组成分析、结构分析、形态分析、仪器功能拓展与开发，发挥了分析测试服务、分析方法研究和分析人员培训的作用，有力地支持了化学所、中科院及全国的有关领域的科研和生产工作。

第一部分、实验室安全与应急处理预案

一、实验室安全

1. 实验室应保持整洁、安静、严肃、严禁吸烟及进食。未经批准不得带无关人员进入，未经仪器管理员允许任何人不得随意开关机和操作。

实验过程保持仪器桌面整洁，请勿将水杯及饮料放置在仪器桌面；测试完毕将随身物品（例如一次性口罩、手套、纸巾、实验记录本等）带走。

严禁在仪器范围内使用插线板充电，不得随意触碰仪器接线；不得更改实验室内空调设置。

禁止穿戴实验防护用具（如工作服、手套、护目镜等）进入所办公、阅览、会议、文体活动等公共区域。

2. 操作各仪器时严格按照“操作规程”，工作人员经过考核合格后方可上机操作。操作过程发现仪器问题及时与工作人员沟通（例如：样品掉入样品室、仪器真空破坏、仪器状态混乱等），请勿随意调动及拆卸仪器。

工作日晚上及周末测试的同学需做好登记、严格执行仪器开关机步骤。由于晚上及周末无工作人员，测试者请勿随意触碰非开放测试仪器，实验过程中不得擅自离测试仪器，测试完毕及时关灯及锁门。若测试过程仪器出现问题，及时联系工作人员。

3. 消防安全

每个实验室必须配备灭火器，灭火器材应放置于干燥、阴凉、易取用的地方。每个实验室粘贴相关的消防安全标识。确定消防安全监督员，定期对各个实验室的消防安全进行检查，并将检查情况登记在表格中，检查内容包括：

（1）各种消防标识：安装是否牢固，定位是否准确，整体有无损坏，清扫表面灰尘等；

（2）各种灭火器：瓶体是否完好，固定是否牢靠，保险栓是否完好，气体压力是否在规定范围等；

（3）要定期检查实验室线路有无老化、电器使用是否规范，发现问题及时整改；定期检查消防设备，在消防设备使用期限到临之前，及时更换消防器械。

(4) 对堆放杂物的储物间进行整理，丢弃不需要杂物，清洁储物间；清理纸箱，用整理箱装配件或杂物，消除消防隐患。

(5) 废旧光源如汞灯、氙灯、卤素灯内填充气体，有一定的压力，可能会发生气体泄露、爆炸；正确措施为：废旧光源不做任何处理置于玻璃垃圾桶，并告知回收人员，不在实验室存放。

4. 气瓶安全

气瓶的放置地点不得靠近热源和明火，应保持气瓶瓶体干燥；每个气瓶都应该配备气瓶架，或者直接将其锁链固定于墙面，以确保安全；所有钢瓶压力降低到安全范围，尽量放置于角落，危险气瓶严禁进入实验室，可以接钢管引入，如果必须放在实验室，可以购买防爆气瓶柜；经常使用的危险气瓶，可以多次购买，按需采购。要定期检查气瓶及减压阀，气瓶使用时间超过年限（如3年）或减压阀到期都要及时更换。

氧气瓶特别是瓶嘴及与氧气接触的附件（如减压阀、焊接炬、输气胶管等）严禁接触沾染油脂，操作人员不得穿戴和使用沾染油污的工作服、手套及工具等接触氧气瓶及其附件。

5. 液氮安全

液氮罐要存放在通风良好的阴凉处，不要在太阳光下直晒。由于其制造精密及其固有特性，无论在使用或存放时，液氮罐均不准倾斜、横放、倒置、堆压、相互撞击或与其他物件碰撞，要做到轻拿轻放并始终保持直立。实时关注液氮罐内压力，主动放气；确保泄压阀正常；液氮罐泄压时，泄压阀对面不可有实验人员；为避免实验室内氮气浓度过高，24h 空调开启，实验室门一直处于打开状态，并安装氧气报警器；使用液氮时，戴防护手套，穿长衣长裤。

核磁组每周三固定给所有磁体添加液氮，为了防止低温液氮烫伤，请非工作人员在添加液氮期间自动离开现场；约20天左右将会有磁体添加液氮，为了防止低温液氮烫伤和钢瓶用气安全，请非工作人员在添加液氮期间自动离开现场。

6. 化学药品安全

(1) 危险化学品应置于适当的容器中并标注名称，存放在危险化学品专用库房，由专人负责保管。储存化学品的房间应保持阴凉和空气流通，并避免一次

储存过多的危险化学品。

(2) 实验室的剧毒、易燃、易爆、有毒物品要专人保管，定点存放，有领用办法和使用记录。未经允许严禁将实验室内任何物品、试剂带离实验室。

(3) 易燃化学品宜放于通风良好的试剂柜中，室内禁止吸烟、点火及使用电热器，应配备适当的灭火设备。

(4) 危险化学品不应放在高处，以避免取用时容器坠落发生意外。

(5) 定期检查所储存的化学品。发现化学品标签模糊不清或脱落，应立即更换。发现试剂变质、泄露等迹象，要及时处理。

(6) 在处理具有刺激性的化学品时，应在通风橱进行，并带防护手套。严格按照实验操作规程实验，了解所使用试剂在实验过程的潜在危险性，严禁私自开展危险性试验。

(7) 对废气、废物、废液不得随意排放或丢弃，须按有关规定进行处置。

7. 其他

使用外接电化学装置、磁场装置、光学装置等时，须告知工作人员。

二、实验室突发事件应急处理预案

1. 火灾应急处理预案

(1) 对于初起火灾，由各实验室安全员及时切断电源；在保证安全的前提下灭火。根据火情不同原因，可采取隔离法、冷却法、窒息法、化学抑制法，火灾现场人员要在第一时间内临近所有灭火器，集中使用对准火点进行灭火。如果火势过大无法扑灭，则设法隔离火源，防止火势蔓延，等待专业消防人员来灭火。

(2) 做好人员疏散工作：火灾时，现场指挥人员应保持镇静，稳定好人员情绪，维护好现场秩序，组织有序疏散，防止惊慌造成挤伤、踩伤等事故；火灾时，一旦人体身上着火，切忌不能奔跑。如旁边有水，立即用水浇洒全身，或用湿毯子等压灭火焰，着火人也可就地倒下打滚，把身上的火焰压灭。

(3) 做好物资疏散工作：在保证人身安全的前提下，首先疏散可能扩大火灾和有爆炸危险的物资，例如起火点附近的液化气罐、化学实验室易爆和有毒物品，以及堵塞通道使灭火行动受阻的物资；然后疏散性质重要、价值昂贵的物资。例如机密文件、档案资料、仪器设备以及价值贵重的物资。

(4) 出现伤员时，应及时组织安排人员将伤员送至医院进行急救或联系 120 护送伤员去医院救治。

(5) 消防车到来后，由消防负责人负责引导消防人员到起火点，并积极协助灭火。

(6) 划出警戒范围，严禁无关人员进入着火现场，以防发生不必要的伤亡，同时也为火灾消灭后的调查起火原因提供有力证据。

2. 触电应急处理预案

触电急救的原则是在现场采取积极措施保护伤员生命。

(1) 首先要使触电者迅速脱离电源，越快越好，触电者未脱离电源前，救护人员不准用手直接接触及伤员。若电源开关较远，可用干燥的木橇，竹竿等挑开触电者身上的电线或带电设备；可用几层干燥的衣服将手包住，或者站在干燥的木板上，拉触电者的衣服，使其脱离电源。

(2) 触电者脱离电源后，应视其神志是否清醒，神志清醒者，应使其就地躺平，严密观察，暂时不要站立或走动；如神志不清，应就地仰面躺平，且确保气道通畅，并于 5 秒时间间隔呼叫伤员或轻拍其肩膀，以判定伤员是否意识丧失。禁止摇动伤员头部呼叫伤员。

(3) 抢救的伤员应立即就地坚持用人工肺复苏法正确抢救，并设法联系所医务室接替救治。

3. 实验室用化学试剂安全细则

实验室常用工业酒精、丙酮、醋酸双氧铀等，容易对人体造成损伤，发生危险。因此在使用过程中必须严格按照以下规定执行：

(1) 取用化学试剂时必须全程在通风橱里操作，并做好安全防护（佩戴防护手套、护目镜、口罩或防毒面具）。

(2) 取用溶剂时，不得用鼻子嗅其气味或将瓶口对准人的脸部。

(3) 醋酸双氧铀使用完应立即放置于铅罐中保存。

(4) 实验过程中产生的所有废液必须倒入废液瓶中集中处理，不能倒入水槽，以防侵蚀下水道及环境污染。

4. 实验室安全急救措施

(1) 危险化学品泄露的处置

①切断火源、电源；

②隔离泄漏污染区，尽快找到泄漏原因，采取堵漏措施；

浓酸洒漏，先用碳酸氢钠溶液中和，至不产生气泡为止，然后用水冲洗，再用抹布擦净；

浓碱洒漏，先用稀醋酸中和，至不产生气泡为止，然后用水冲洗，用抹布擦干净；

③对中毒人员进行急救，并尽快送到医院。

(2) 吸入或误食酸或碱

吸入：迅速脱离现场至空气新鲜处，保持呼吸道通畅，如呼吸困难，需输氧；如呼吸、心跳停止，立即进行心肺复苏术，迅速就医。。

误食：误食浓酸后应及时用大量清水漱口，饮用大量牛奶或鸡蛋清（食入盐酸禁止服用小苏打等药品），禁止催吐，迅速就医。误食苛性碱（氢氧化钠、氢氧化钾）后可用小剂量橄榄油，5%醋酸、食用醋或柠檬汁口服，饮用大量牛奶或鸡蛋清，迅速就医，忌洗胃、催吐，以防胃与食道穿孔。误食过氧化氢需饮足量温水，催吐，迅速就医。

(3) 眼睛化学灼伤

凡是溶于水的化学品进入眼睛，立刻用大量流动水冲洗；若是碱灼伤，用1%硼酸溶液淋洗；若是酸灼伤，则用1%的碳酸氢钠溶液淋洗。可配备洗眼器清洗。

(4) 皮肤化学品灼伤

①强酸烧伤

酸的致伤特点是使组织脱水，蛋白沉淀，凝固，故烧伤后创面迅速成痂，界限清楚，因此限制了继续向深部侵蚀。

硫酸、盐酸、硝酸烧伤：立即脱去污染的衣着，硫酸应立即用纸或布轻沾去残留酸，切忌擦破皮肤，然后用大量流动水冲洗至少20分钟，盐酸、硝酸可立即用水冲洗，冲洗后可用1%碳酸氢钠溶液或肥皂水等中和留在皮肤上的氢离子，中和后，仍继续冲洗。创面采用暴露疗法。

②强碱烧伤

碱烧伤的特点是与组织蛋白结合，形成碱性蛋白化合物，易于溶解，进一步使创面加深，因此碱造成的损伤比酸烧伤更严重。

急救处理原则：立即脱去污染的衣着，及时用流动冷水冲洗至少 20 分钟，再用 1% 硼酸溶液冲洗，及时送医。

石灰烧伤用水冲洗前应将石灰粉末擦拭干净，以免生石灰(氧化钙)与水生成氢氧化钙(熟石灰)放出大量的热加重创面。

③过氧化氢烧伤：立即脱去污染的衣着，用大量流动清水冲洗至少 20 分钟，1%的碳酸氢钠溶液湿敷后迅速就医。

(5) 乙烷气体泄漏的安全处置预案

①吸入危险处理预案

迅速脱离现场至空气新鲜处，保持呼吸道通畅，如呼吸困难，给输氧。如呼吸停止，立即进行人工呼吸，就医。

②火灾处理预案

切断气源。合理通风，加速扩散。如有可能，将漏出气用排风机送至空旷地方或装设适当喷头烧掉。也可以将漏气的容器移至空旷处，注意通风。漏气容器要妥善处理，修复、检验后再用。

切断火源。喷水冷却容器，可能的话将容器从火场移至空旷处。使用的灭火剂类型：雾状水、泡沫、二氧化碳、干粉。

迅速撤离泄漏污染区人员至上风处，并进行隔离，严格限制出入。

建议应急处理人员戴自给正压式呼吸器，穿防静电工作服。

防止泄漏物通过下水道、通风系统和密闭性空间扩散。

5、重要电话

所消防电话：82617200

所综合办电话：62553350

所医务室电话：62554195

电镜组电话：62588935,62557012

消防电话：120 报警电话：110

第二部分、分析测试机组实验室良好规范

质谱组

第一部分、样品制备

仪器一、 基质辅助激光解吸质谱仪器

1.1 基质的选择:

多肽: 4-Hydroxy- α -cyanocinnamic acid (HCCA, α -氰基-4-羟基肉桂酸)

蛋白: 2,5-Dihydroxyacetophenone (DHAP, 2,5-二羟基苯乙酮)

Sinapinic acid (SA, 芥子酸)

2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB)

多糖: 2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB, 2,5-二羟基苯甲酸)

2,4,6-Trihydroxyacetophenone (THAP, 2,4,6-三羟基苯乙酮)

核酸: 3-Hydroxypicolinic acid (HPA, 3-羟基-2-吡啶甲酸),

2,4,6-Trihydroxyacetophenone (THAP, 2,4,6-三羟基苯乙酮)

聚合物: Dithranol, HABA, IAA, DHB, DCTB.....

金属团簇: DCTB

1.2 点样方法

1.2.1 HCCA 干点法

适合于多肽, 蛋白酶解产物分析。

样品靶: Ground steel。

基质溶液配制: 用 TA30 配制 HCCA 饱和溶液。

样品: 用 0.1% TFA 或者 TA30 溶解, 取 1 微升样品和 1 微升基质均匀混合, 取 1 微升混合溶液点在样品靶上, 自然干燥。样品不能含有碱金属盐、表面活性剂和其他已知的能干扰 MALDI 分析的污染物。如果有这些污染, 请先用磁珠、ZipTips、透析或类似的方法去除它们。

1.2.2 SA 双铺法

适合于蛋白质分子量分析。

样品靶: Ground steel。

基质溶液 I 配制： SA 乙醇饱和溶液。

基质溶液 II 配制： SA 在 TA30 饱和溶液。

样品：用 0.1% TFA 溶解，取 1 微升基质溶液 I 点在样品靶上，形成基质薄层，将 1 微升基质溶液 II 和 1 微升样品均匀混合，移取其中 1 微升混合溶液点在基质薄层上。

2. 液质连用仪器

样品需溶解为浓度范围在 1×10^{-4} mol/L - 1×10^{-6} mol/L 溶液后进样。

2.1 可选溶剂：

水、甲醇、乙腈、各种比例混合液 (常用)，乙醇、异丙醇、丁醇、二氯甲烷、二氯甲烷/甲醇混合液、四氢呋喃、丙酮、二甲亚砜*、N,N-二甲基甲先胺* (*高沸点，含量不得高于 10 %) 、甲苯(用于富勒烯)

2.2 缓冲试剂：(含量 0.5-1%)

甲酸、乙酸、乙酸胺、氢氧化氨、甲氨、三乙氨

2.3 三氟乙酸(TFA)的抑制作用

三氟乙酸阴离子与样品形成离子对，导致中性化。0.1% TFA 会使样品信号下降至 1/5 - 1/10

3. 气质联用仪器

GCMS 适合检测浓度在 1-100 $\mu\text{g/ml}$ 溶液样品，所需样品量大约需要几百微升。根据送检样品形态把样品分为大块固体样品、粉末固体样品、纯液体样品和溶液样品四大类。依据样品的不同形态采用不同的方法制样：

3.1 大块固体样品首先要用研钵捣碎成粉末，然后用天平称取适量的粉末放入样品瓶中加入适量溶剂，溶解成浓度在 1-100 $\mu\text{g/ml}$ 溶液样品待测。

3.2 粉末样品可直接称量适量的样品置于样品瓶中加入溶剂溶解成 1-100 $\mu\text{g/ml}$ 溶液待测样。

3.3 纯液体样品用移液管提取适量样品放入样品瓶中，再加入适量溶剂稀释到 1-100 $\mu\text{g/ml}$ 的浓度范围后待测。

3.4 溶液样品首先要询问样品中的溶剂是哪种溶剂，样品浓度是多大。如果样品浓度大于仪器的检测范围，就向样品中加入适量的溶剂。如果样品太稀，则可

以将样品瓶盖打开并置于通风橱内，让溶剂挥发掉一些从而提高样品溶液浓度。

4. 电子轰击离子源直接进样质谱仪器

采用固体进样模式，由于溶剂会导致检测器饱和并关闭，故样品中不可以有溶剂。

第二部分、上机操作

仪器一、 solariX 型傅里叶离子回旋共振质谱仪

1.1. 开机准备

在使用质谱仪前请确认并检查以下条件：

仪器已经正确安装并且经过厂商工程师的检测；

质谱仪属于精密贵重仪器，未经专门培训人员不得擅自开启使用，更不得随意“调校”氮气和氩气压力或更改仪器参数等；

检查液氮罐和氩气钢瓶是否有一定压力，以便为测试样品提供符合流速和压力要求的氮气（喷雾气体和干燥气体）和氩气（碰撞气体和脉冲阀控制气体）；

常规 ESI 源和 MALDI 已安装完毕；

样品溶液必须澄清透明，不含有固体微粒，避免过多的基质和不挥发盐分，以免污染源和毛细管。

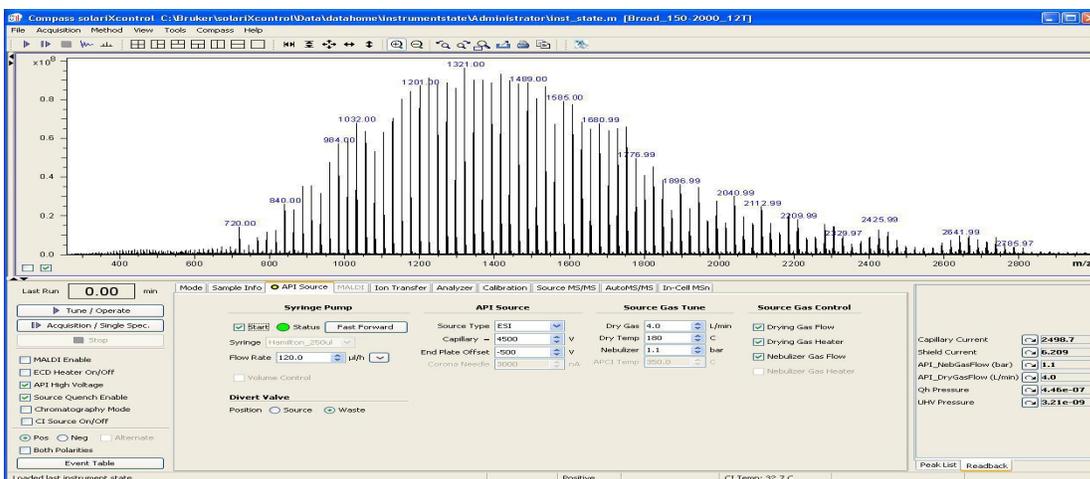
1.2. 开机

将电源面板上的 MAIN POWER 旋钮由 OFF 旋至 ON

1.3. 启动 solariXcontrol 软件及选择方法

1.3.1 单击  桌面图标或者通过程序目录启动 Start > All Programs > Bruker Daltonics > solariXcontrol > Run solariXcontrol

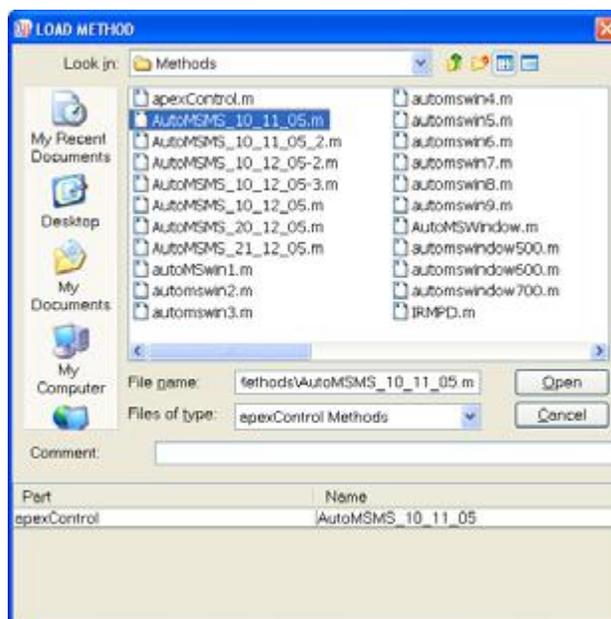
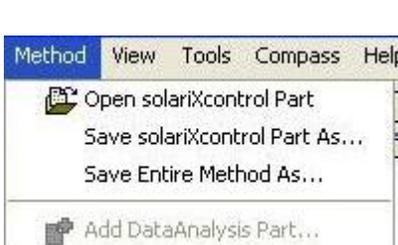
1.3.2 软件界面



1.3.3 选择合适的质谱方法

1.3.3.1 质谱方法可以从原来采集的数据中选择，双击左侧数据即可

1.3.3.2 通过 Method > Open solariXcontrol Part 调用方法



1.4. ESI 源直接测试样品（或标准品）

直接进样用于标准品、相对较纯或不含盐的混合样品测定。

1.4.1 标准品 Tuning Mix 按体积比 1:10 用乙腈稀释

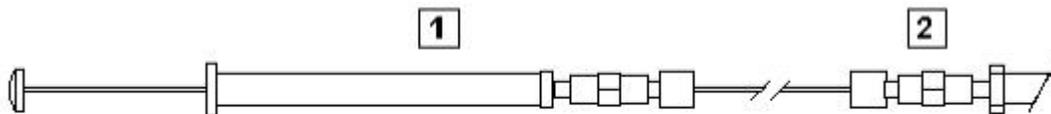
样品用标准溶剂（50% H_2O ，50%乙腈或甲醇，0.1%甲酸）溶解或稀释

1.4.2 将配好的样品或标准品吸入进样器（针），将进样器（针）放置于

进样泵中。

注意：进样器（针）内不能有气泡

1.4.3 将进样器（针）直接与离子源连接（如图）



注意毛细管与注射器之间需紧密连接。进样器内不能有气泡。

1.4.4 勾选 Start 打开进样泵，流速为 120~180 $\mu\text{l}/\text{h}$

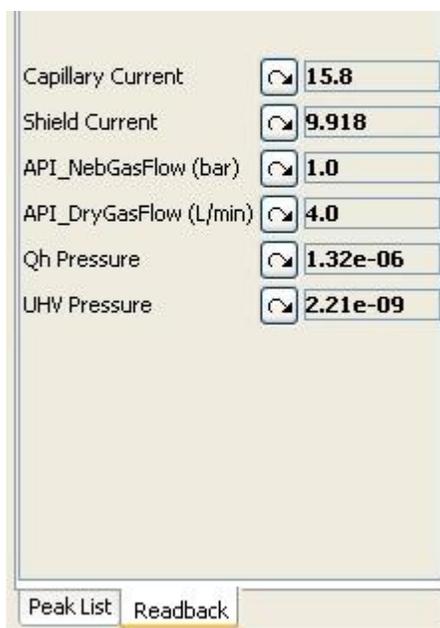
可以按住 Fast Forward 快进，推出前端溶剂和气泡。



1.5 设置离子源参数

1.5.1 检查毛细管电流是否正确：

确保 Readback（右下角激活 Readback 选项卡）中 Capillary Current 电流范围 12~25 mA。

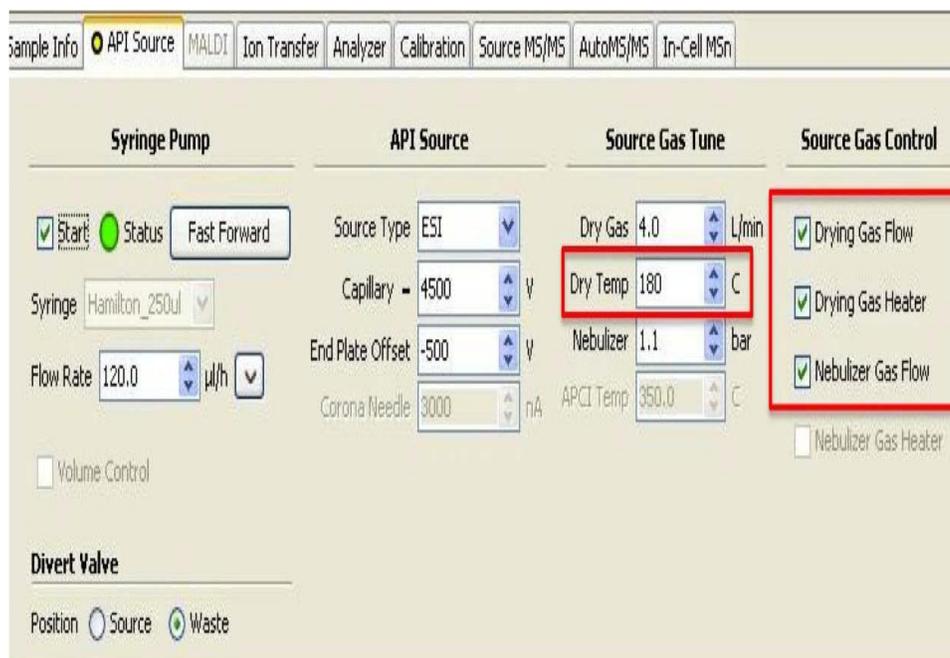


1.5.2 勾选 Nebulizer Gas Flow 和 Drying Gas Flow。

1.5.3 在左下方控制区，勾选 ESI High Voltage。

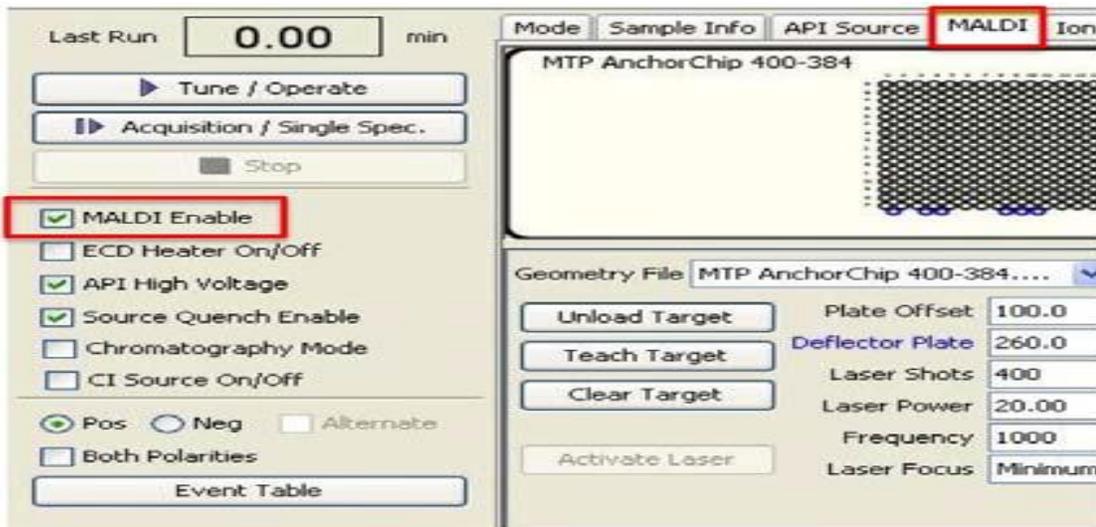
1.5.4 勾选 Drying Gas Heater，并将 Dry Temp 设置为 200 °C 左右。

1.5.5 调谐合适的 Capillary 电压，正离子最大 4500 V，负离子最大 3500 V。



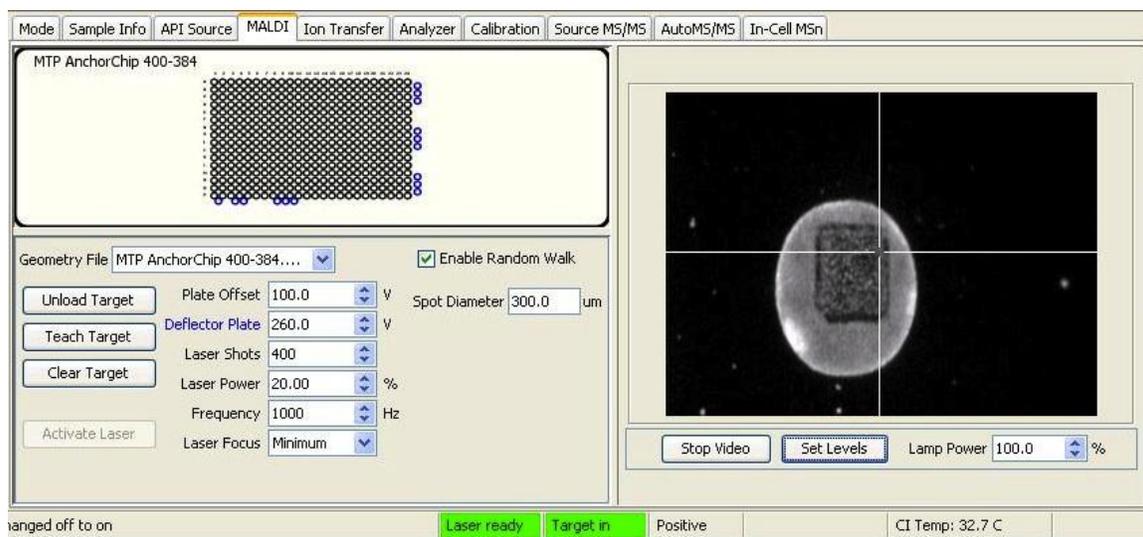
1.6 MALDI 源直接测试样品（或标准品）

1.6.1 激活 MALDI 控制界面

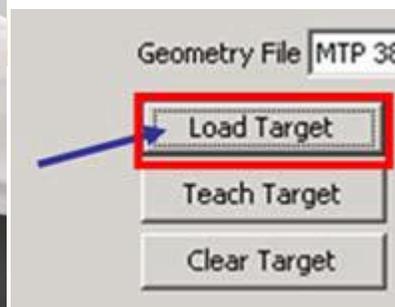


1.6.2 MALDI 操作

1.6.2.1 进入 MALDI 操作界面



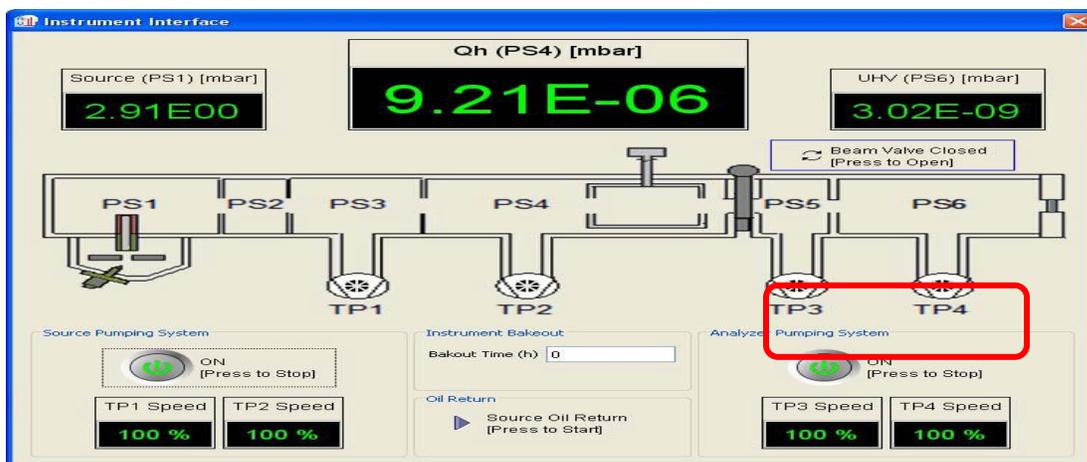
1.6.2.2 放入样品靶



1.6.2.3 激光在 30 min 不使用的情况下会自动待机 (Laser standby)，
激活 MALDI 方法时会自动激活，请等待。

1.6.2.4 选择适合的 MALDI 方法测试 (默认方法
D:\Methods\MALDI_Pos.m)。

1.7 测试前需确保 BEAM VALVE 处于打开状态



1.8 Tuning

点击 Tune/Operate 按钮进入 Tuning 模式。

Tuning 模式用于优化参数并观察谱图的变化，可以适当调节参数，提高
信号强度、分辨率等，并可用于多级质谱的参数调节。Tuning 模式下，可以
实时观察到质谱图的变化，但是数据并不会被记录下来。



1.9 采集数据

1.9.1 采集前，可在 Mode 选项卡 -> Detection Mode 中选择相应模式：
Broadband 用于一段较宽质荷比范围的检测；Narrowband 用于较窄范围的检
测并借此提高分辨率。

如果选择 Broadband，需要设置最低/最高质荷比 (范围)。

| Acquisition Mass Control | | Accumulation | |
|--------------------------|----------------------|-----------------------|-----------|
| Detection Mode | Broadband | Average Spectra | 24 |
| TD (Acquisition) | 4M | Source Accumulation | 0.050 sec |
| TD (Tune/Display) | 4M (Full_Resolution) | Ion Accumulation Time | 0.150 sec |
| Low Mass | 147.42 m/z | Ion Cooling Time | 0.010 sec |
| High Mass | 2000.00 m/z | Time of Flight | 1.000 ms |
| Estimated R.P. | 390000 (at m/z 400) | | |
| Transient length | 1.6777 sec | | |
| Data transfer mode | streaming | | |

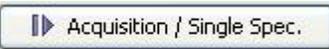
1.9.2 在 Mode 选项卡 -> Average Spectra 中设置平均的次数，一般为 10~20 scans。

1.9.3 输入样品信息

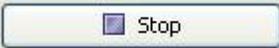
在数据文本选项里选择 Prefix 或者 Manual，在 Prefix 和 Counter 输入文件名或编号；在 subdirectory 中选择子目录；以上各项请采用字母、数字和下划线。在 Sample Name 选项下输入样品名；如果需要的话，在 comment 选项下输入关于样品的描述。这些内容以及样品名将显示在数据分析程序（DataAnalysis）下的分析信息窗口（参考数据后期处理）。

The 'Sample Info' dialog box is divided into two main sections: 'Data File' and 'Sample Parameter'.

- Data File Section:**
 - Radio buttons for 'Prefix/Counter' (selected) and 'Manual'.
 - Prefix: Calibration_pos_070207
 - Counter: 000005
 - Subdirectory: Copenhagen_Feb2007
 - Data Root: D:\Data
- Sample Parameter Section:**
 - Sample Name: Arginine
 - Sample Comment: 0.01 mg/ml in 50% MeOH

1.9.4 点击  按钮进入采集模式，采集模式会将所得的信号平均并记录在指定文件中。

当达到 Average Spectra 中设置的次数后，采集自动停止；也可以按

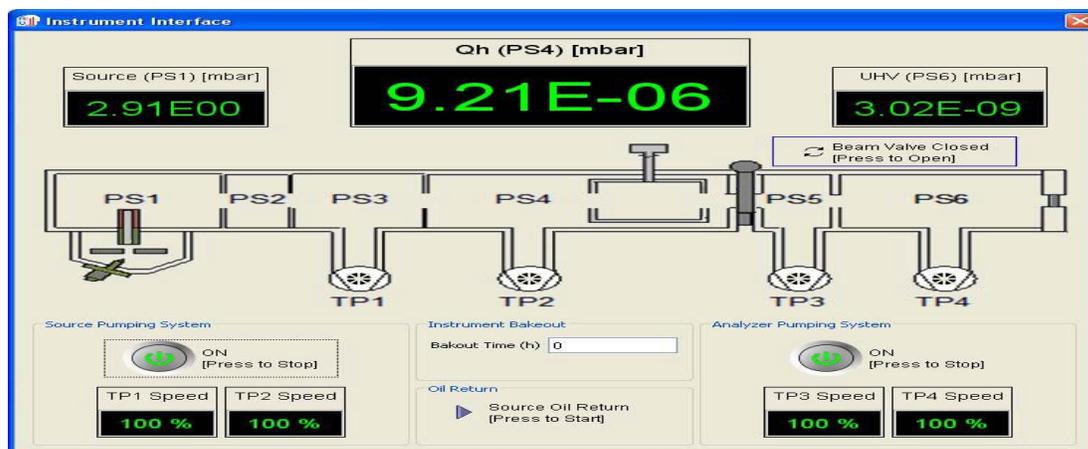
 按钮手动停止采集。

注意：采集过程中不可修改参数。

1.10 关机

1.10.1 确保 BEAM VALVE 处于关闭状态。

1.10.2 点击控制面板上的 Source pumping system 和 Analyzer pumping system 模块中的 ON 键，关闭真空。



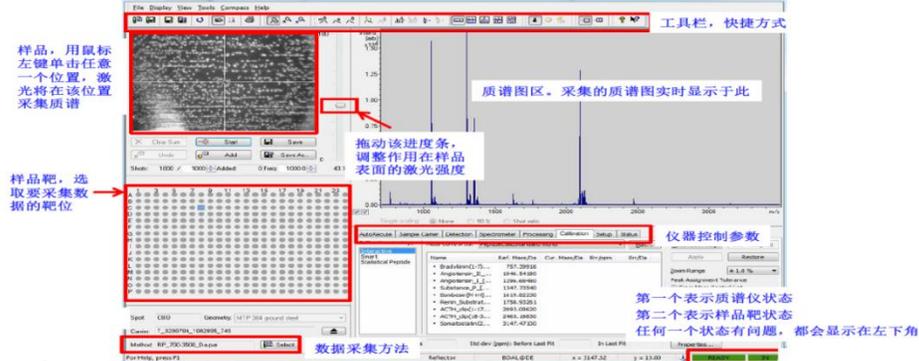
1.10.3 二十分钟后将电源面板上的 MAIN POWER 旋钮由 ON 旋至 OFF。

仪器二、Autoflex & Ultraflex 型基质辅助激光解吸质谱仪

2.1 启动 flexcontrol

点击桌面快捷方式  启动 flexControl, 或通过 windows 屏幕左下角的 Start All Programs Bruker Daltonics flexControl 启动。

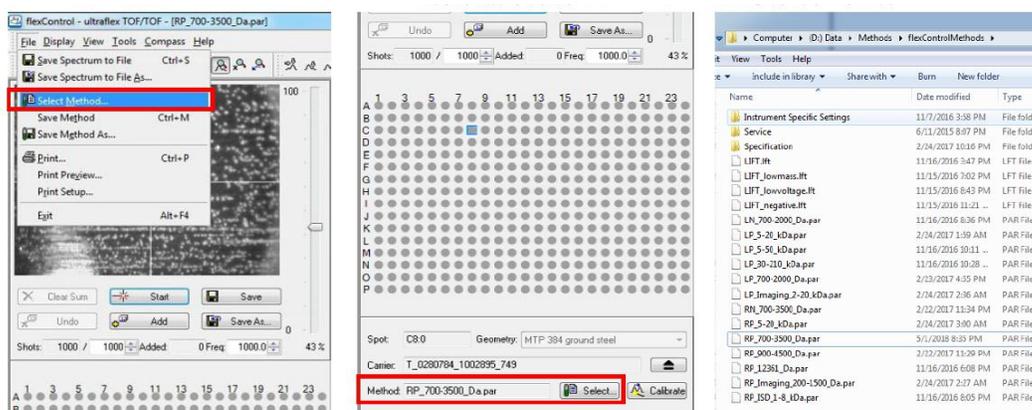
软件启动过程，会自动和硬件进行通讯（10-30s），启动成功后，显示如下界面



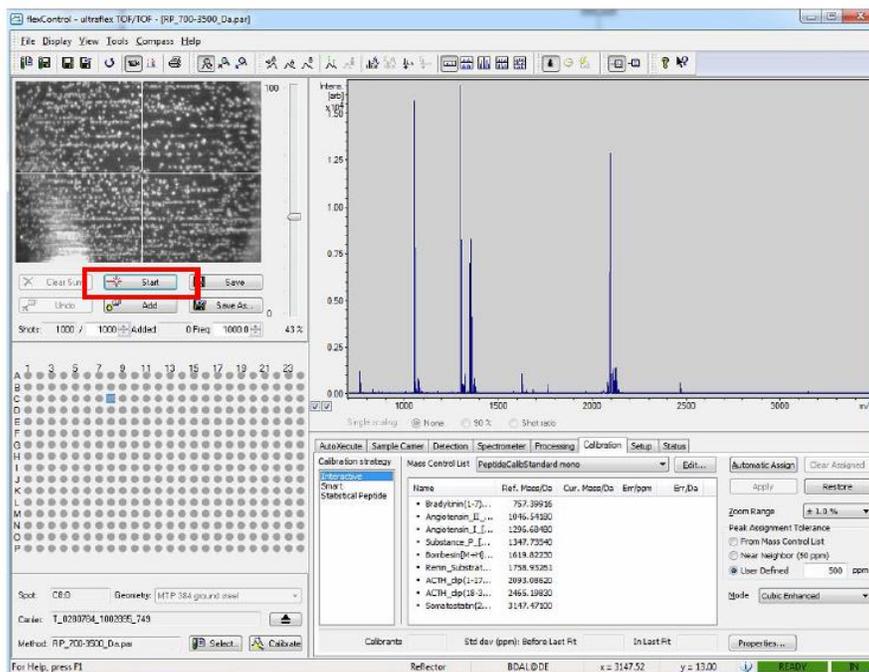
2.1.2 选择数据采集方法

可以通过 **File Select Method** 选择数据采集方法, 也可以通过快捷方式选择数据采集方法命名规则: 第一个字母 **L** 代表线性模式; **R**:代表反射模式;

第二个字母 **P** 代表正离子模式；**N** 代表负离子模式；接下来的数字部分，代表分子量区间；**lift**：二级质谱(TOF/TOF 方式)。

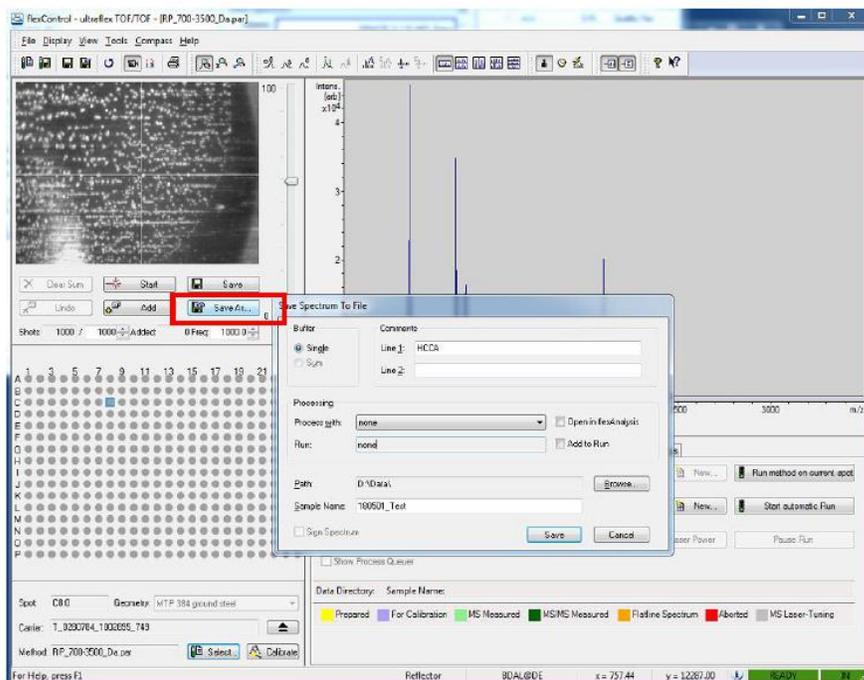


2.1.3 获取标准品的谱图



选择标准样品位置，合适的激光能量，点击 **start**。

2.1.4 保存谱图

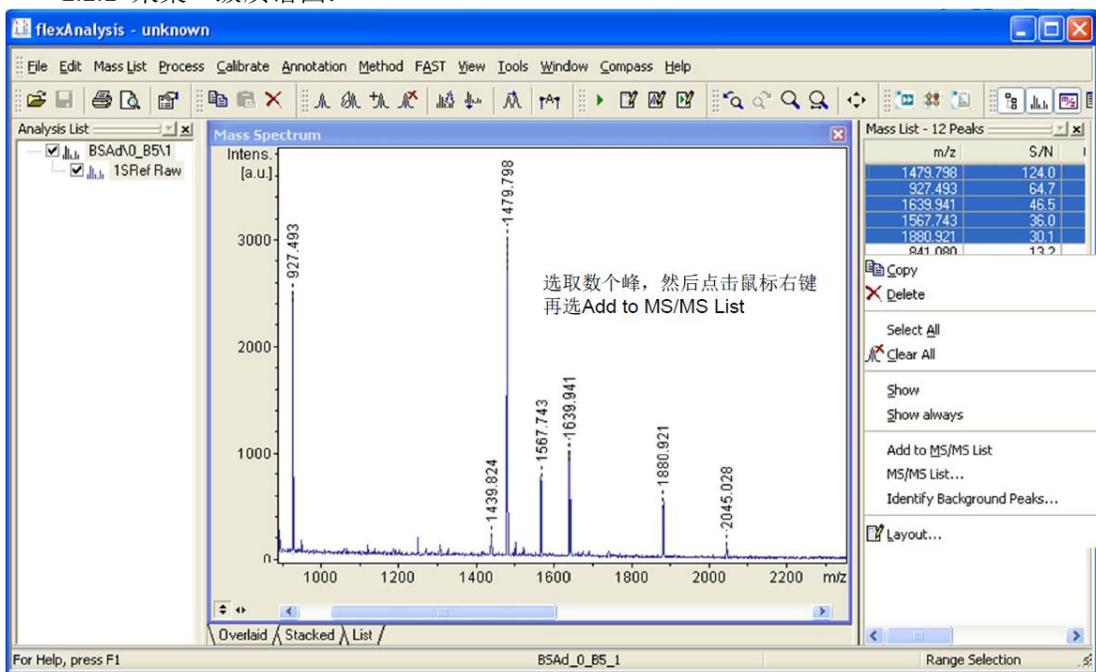


点击 **Save As**，更改 **Path** 和 **Sample Name**，保存谱图；点击 **Save**，则默认保存为上一次的文件路径和样品名。

2.2 MALDI-TOF-TOF(MS2)操作流程($m/z < 4000$ 的分子)。

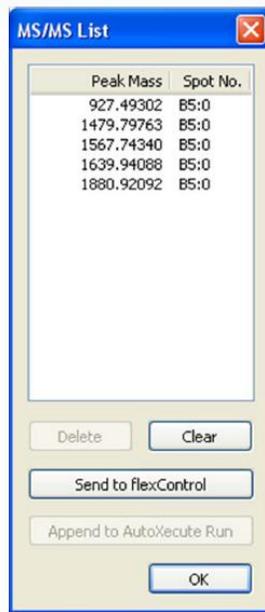
- 在FlexControl软件界面获取一级质谱图 (反射模式)
- 在FlexAnalysis中对一级质谱图标峰
- 在FlexAnalysis中选取一些信噪比较高的峰做TOF/TOF
- 将这些峰的信息发送到FlexControl
- 在FlexControl中选择LIFT方法
- 获取母离子质谱(parent mode)，并点击Add按钮
- 获取子离子质谱(fragment mode)，并点击Add按钮
- 保存数据

2.2.1 采集一级质谱图:



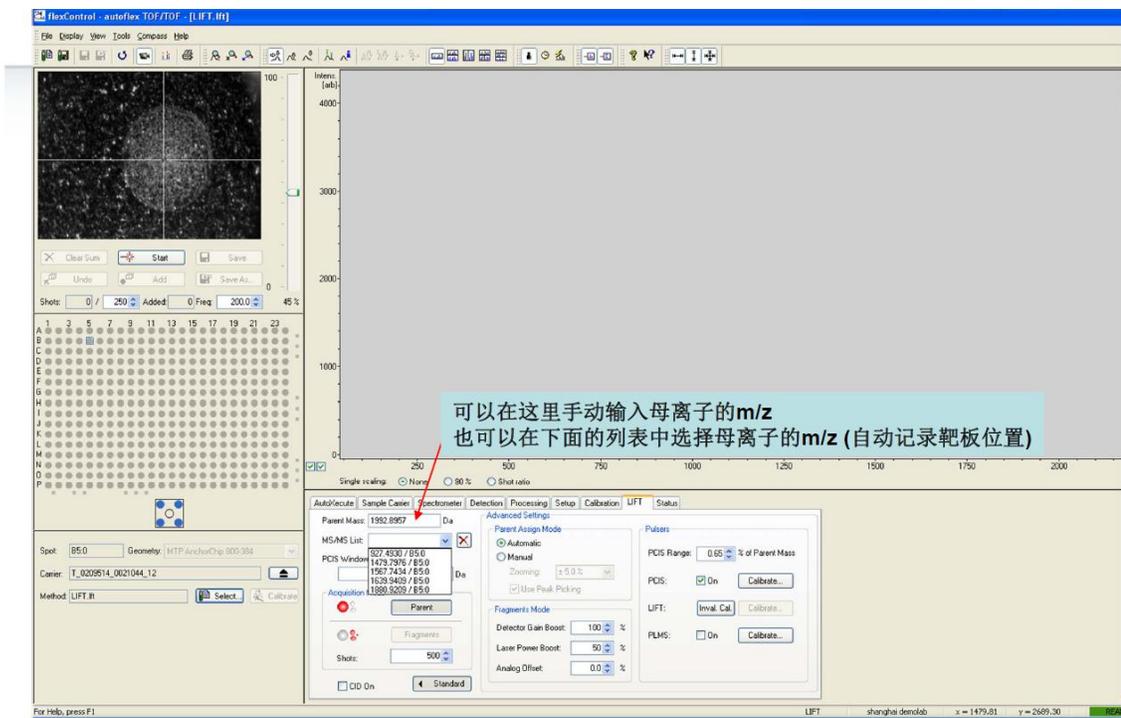
2.2.2 选取其中感兴趣母离子:

再点击鼠标右键
选取MS/MS List....
弹出右边窗口

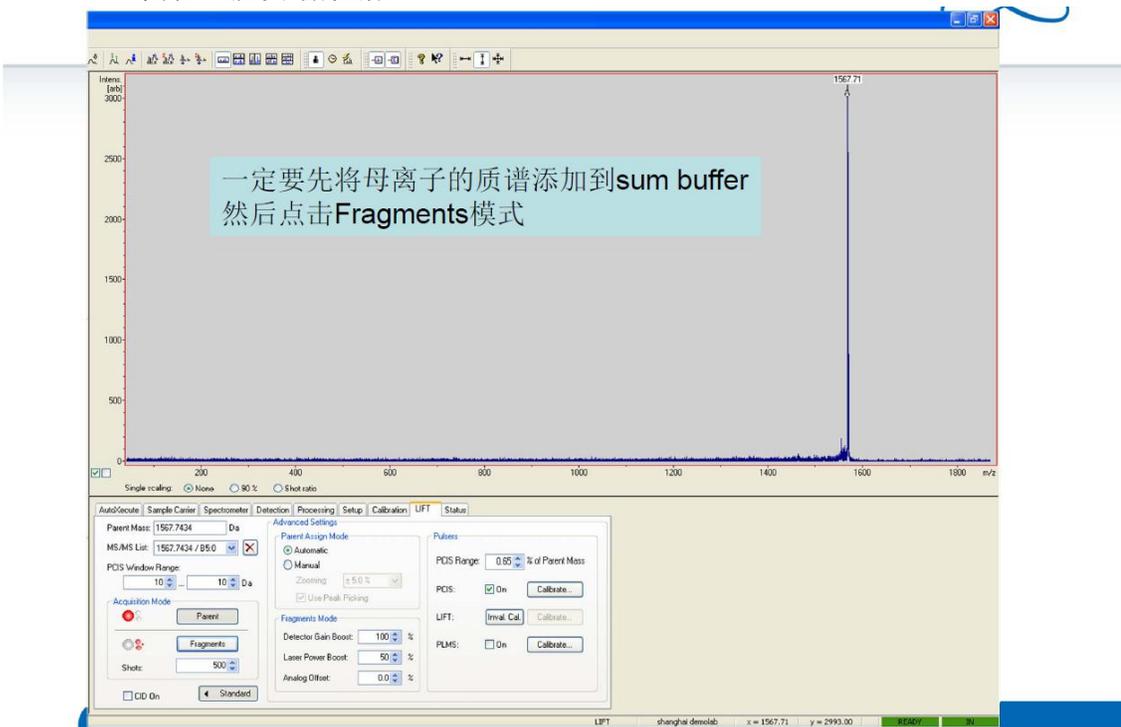


点击Send to flexControl

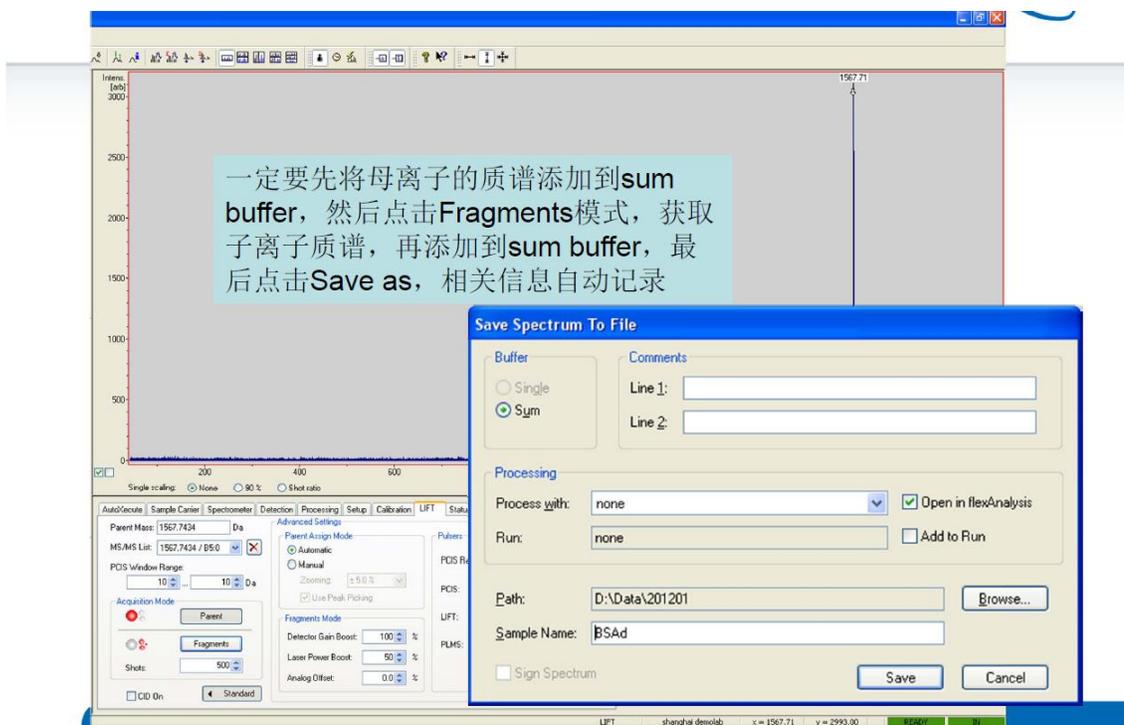
2.2.3 选择合适的 LIFT 方法:



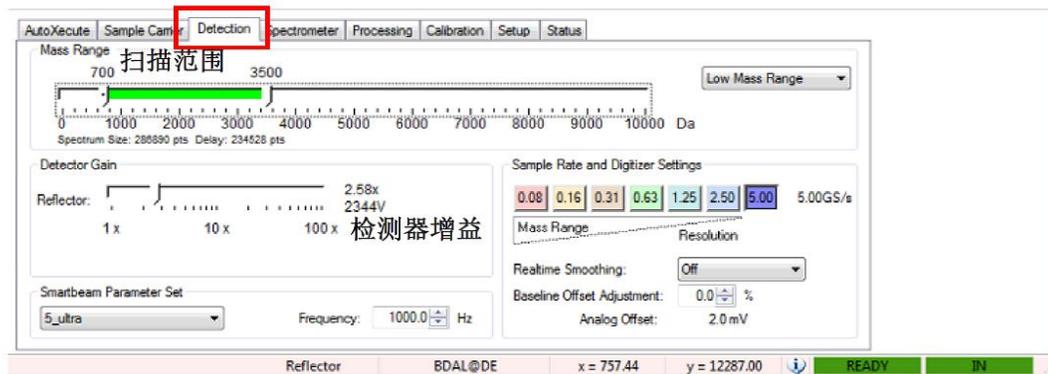
2.2.4 采集二级质谱数据：



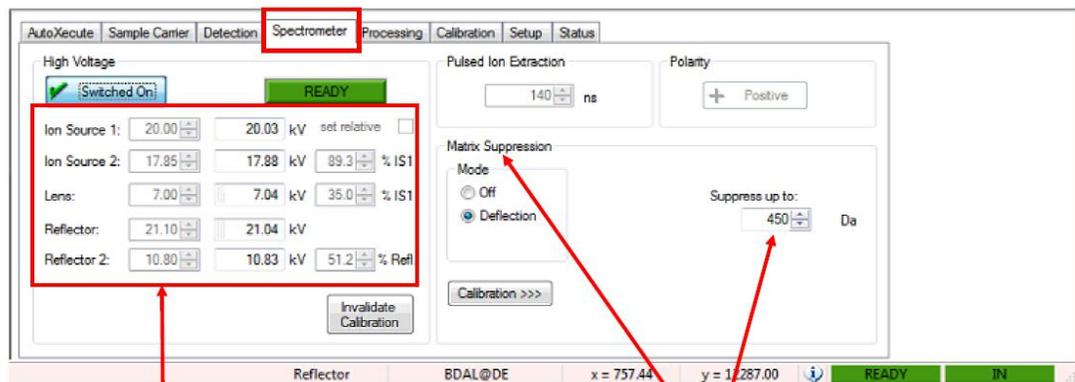
2.2.5 得到一级、二级质谱加和图：



2.3 flexcontrol 主要参数介绍

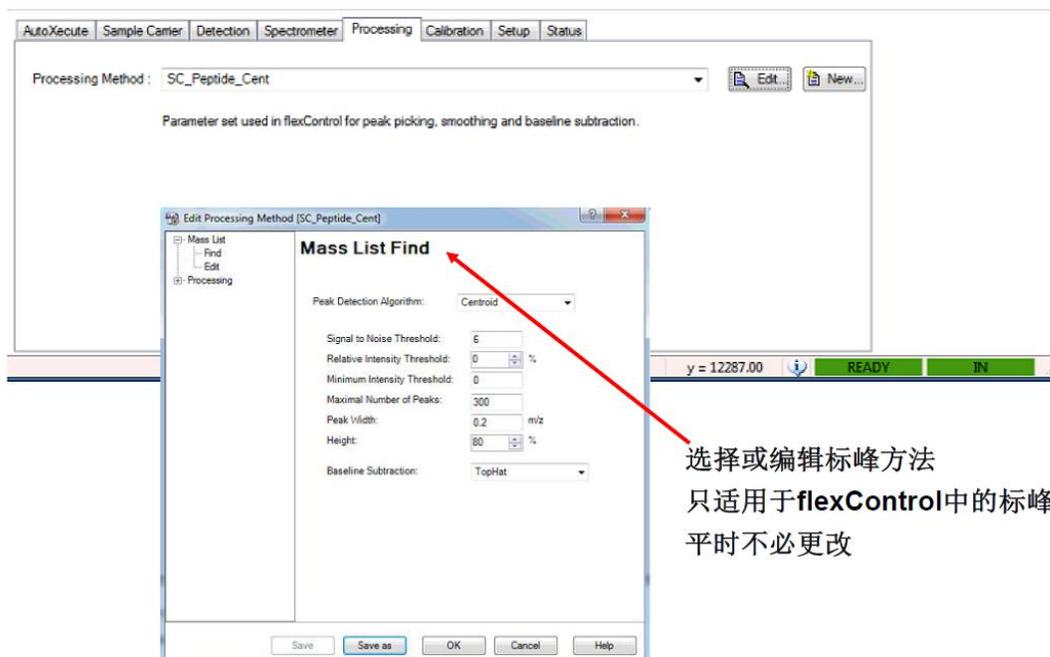


根据样品信息和测量要求, 设定扫描范围。如果信号很弱, 可适当调高检测器增益。



电压设置，一般不需调整。

基质峰抑制，测量小分子选择<Off>即不抑制，其它都需要选择<Deflection>



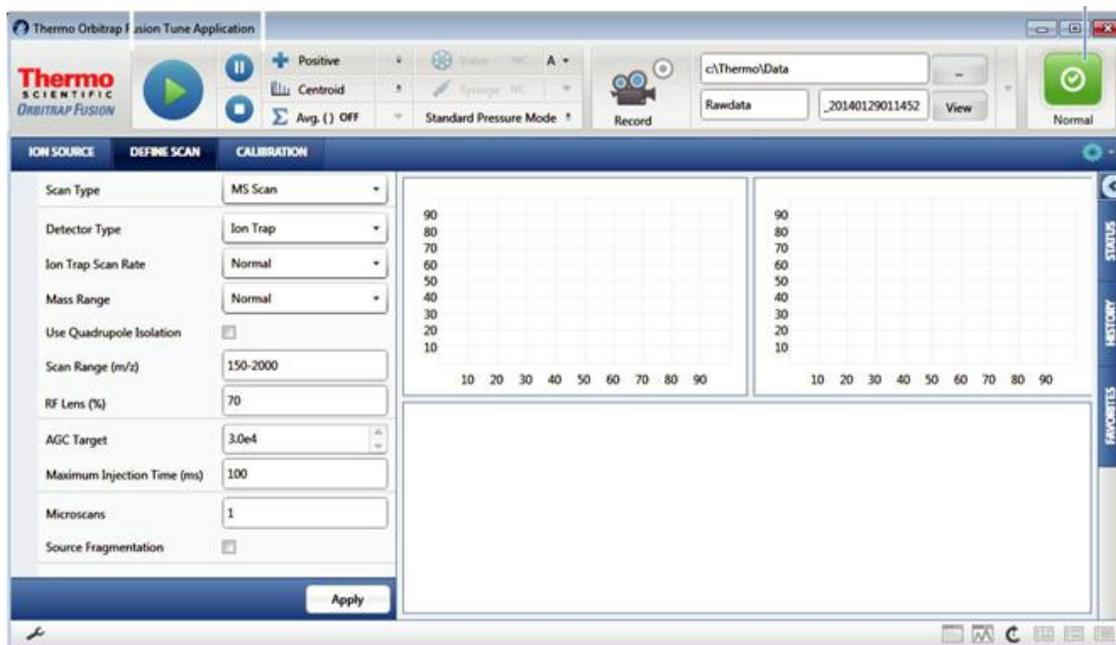
选择或编辑标峰方法
只适用于flexControl中的标峰
平时不必更改

仪器三、 Orbitrap Fusion Lumos 型液质联用质谱仪

3.1 系统关机、开机和重启

3.1.1 将质谱仪置于 Standby（待机）模式

若暂时不使用 Orbitrap Fusion 系列 MS，则不需要完全将其关闭。相反，将质谱仪置于待机模式。在 Windows 任务栏上，选择 Start（开始）> All Programs（所有程序）> Thermo Instruments（Thermo 仪器）> model x.x（型号x.x）> model Tune（型号调谐）以打开 Tune（调谐）窗口。



若 LC/MS 系统包含 LC 泵，则需关闭流至 API 离子源的液体流路。当通过 Xcalibur 数据系统控制 LC 泵时，使用 Direct Control（直接控制）对话框关闭溶剂流路。例如，若要关闭 Accela™ 泵的溶剂流路，执行以下步骤：

- a. 在 Xcalibur Instrument Setup（Xcalibur 仪器设置）窗口中，点击 LC 泵的图标。
- b. 在菜单栏中，选择 pump model（泵型号）> Direct Control（直接控制）以打开 Direct Control（直接控制）对话框。Direct Control（直接控制）对话框（Instrument Setup [仪器设置] 窗口
- c. 点击 LC 泵选项卡，然后选中 Take Pump Under Control（控制泵）复选框。
- d. 点击 Stop（停止）按钮。

在 Tune（调谐）窗口中，将质谱仪置于 Standby（待机）模式。

所选电源模式图标的中心由白色变成绿色。前方面板上的 System（系统）LED 灯变成黄色。为了保持 API 离子源清洁，质谱仪将辅助气和鞘气流速降低至其待机时的默认设置（2 个任意单位）。质谱仪关闭电子倍增器、转换打拿极、连接至 API 离子源的 8 kV 电源、主 RF 电压和离子光学 RF 电压。

3.1.2 打开质谱仪

打开 Tune（调谐）窗口，点击 On（开）按钮，将质谱仪置于 On（开）模式。所选电源模式图标的中心由白色变成绿色。前方面板上的 System（系统）LED 灯变成绿色。电子倍增器的高压打开。

3.1.3 完全关闭质谱仪

仅在长时间不使用质谱仪，或必须将其关闭以进行维护或维修的情况下完全关闭 Orbitrap Fusion 系列 MS。如果暂时不使用系统，如过夜或过周末，则无需彻底关闭系统。而可以根据“将质谱仪置于 Standby（待机）模式”中的介绍将系统置于待机模式。

- a. 按照步骤“将质谱仪置于 Standby（待机）模式”进行操作。
- b. 将电子维修开关拨至 Service Mode（维修模式，向下位置。从而关闭非真系统电子组件的电源。
- c. 关闭 Main Power（主电源）开关。
- d. 从电源插座上拔下质谱仪的电源线。

3.1.4 完全关机后启动系统

启动质谱仪之前，确保数据系统正在运行。质谱仪在接收到数据系统的信息之前将无法运行。

- a. 打开氦气和氮气瓶上的流量（若已关闭）。
- b. 关闭 Main Power（主电源）开关，将电子维修开关置于 Service Mode（维修模式，向下）位置。接通质谱仪的电源线。
- c. 打开 Main Power（主电源）开关。
从而打开前级泵和涡轮分子泵。前方面板上的所有 LED 灯均熄灭。
- d. 若长时间关闭质谱仪，按照 Orbitrap Fusion 系列入门手册(Orbitrap Fusion Series Getting Started Guide)第 5 章中“质谱仪抽真空”部分中的步骤进行操作。否则，至少等待 1 小时使质谱仪抽真空。
- e. 将电子维修开关拨至 Operating Mode（运行模式，向上）位置。出现以下情况：

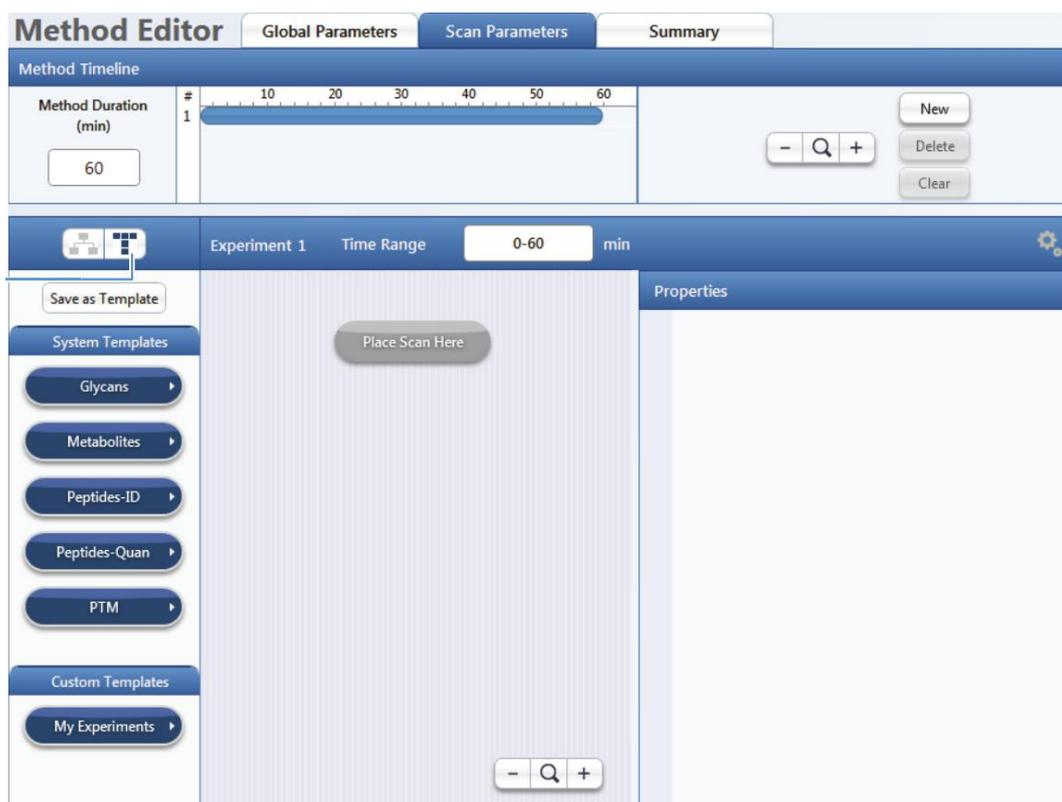
等待几秒后，Communication（通信）LED 灯变为绿色，表示质谱仪和数据系

统已建立通信连接。确保仪器控制台窗口已打开。数据系统将操作软件传输至质谱仪。3 分钟后，System（系统）LED 灯变为黄色，表示软件已从数据系统传输至质谱仪，且质谱仪处于待机模式。当用户将模式从待机更改为开机时，System（系统）LED 灯变为绿色，表示质谱仪已可以运行且已启动高压。

3.2 日常操作

3.2.1 Thermo Xcalibur的仪器设置模板

使用Xcalibur Instrument Setup（Xcalibur仪器设置）窗口中打开的 Method Editor（方法编辑器）创建实验的仪器方法。为了节省输入仪器方法参数的时间，打开欲执行实验类型的系统模板，输入实验的特定参数，然后将该条目保存为Xcalibur仪器方法（.meth 文件）的一部。Method Editor（方法编辑器）为以下几种实验类型提供系统默认模板：代谢组学、蛋白质组学和小分子实验。



3.2.2 采集样品数据

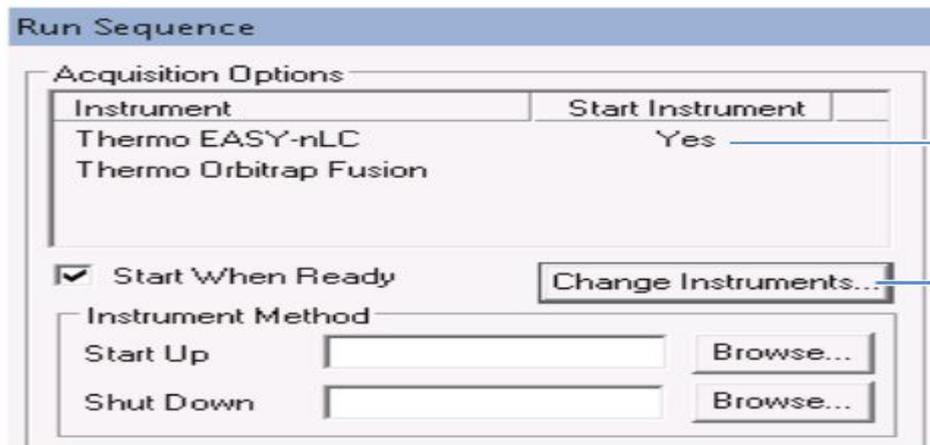
运行仪器方法采集样品数据之前使用Xcalibur数据系统启动仪器。数据系统计算机自动将采集的数据保存到硬盘。

使用Xcalibur数据系统采集样品数据按照以下步骤进行操作：

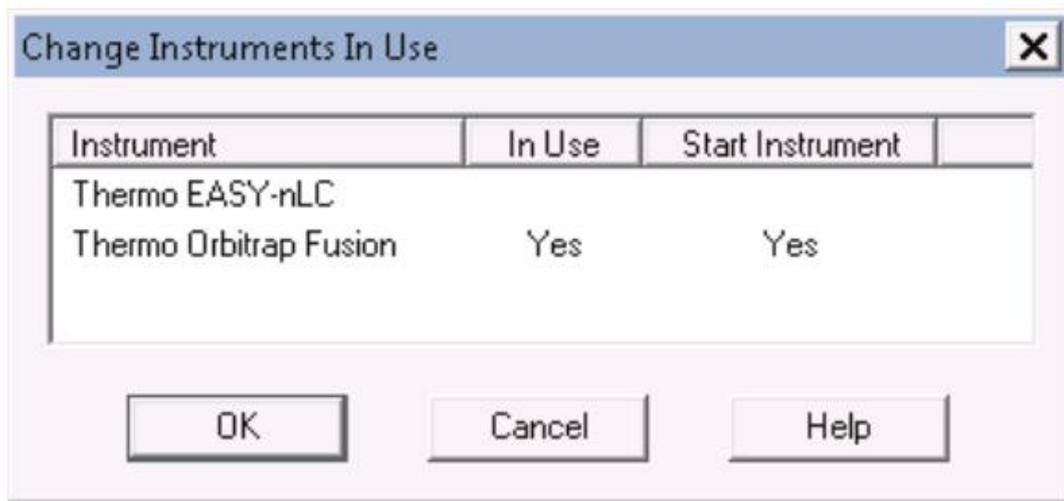
打开Xcalibur数据系统，然后选择 View（视图）> Sequence Setup View（序列

设置视图)以打开 Sequence Setup (序列设置) 窗口。打开欲运行的序列，操作如下：a. 点击 Open (打开) 按钮并浏览至合适的文件夹。b. 选择序列 (.sld) 文件并点击Open (打开)。

选择 Actions (操作) > Run Sequence (运行序列) 或 Actions (操作) > Run This Sample (运行该样品) 以打开 Run Sequence (运行序列) 对话框 Start Instrument (启动仪器) 列中的Yes (是) 用于指示序列运行的默认启动仪器。



若 MS 的 Start Instrument (启动仪器) 列中出现 Yes (是)，或者若需要将启动仪器更改为其他设备，点击 Change Instruments (更改仪器) 以打开 Change Instruments In Use (更改使用的仪器) 对话框。



在 Start Instrument (启动仪器) 列中，点击适合的触发设备 (通常为自动进样器) 右侧的空白字段，将 “Yes (是)” 移动到该区域。点击 OK (确定)。在 Run Sequence (运行序列) 对话框中，完成余下的选项。点击 OK (确定)。启动仪器设置就此完成。

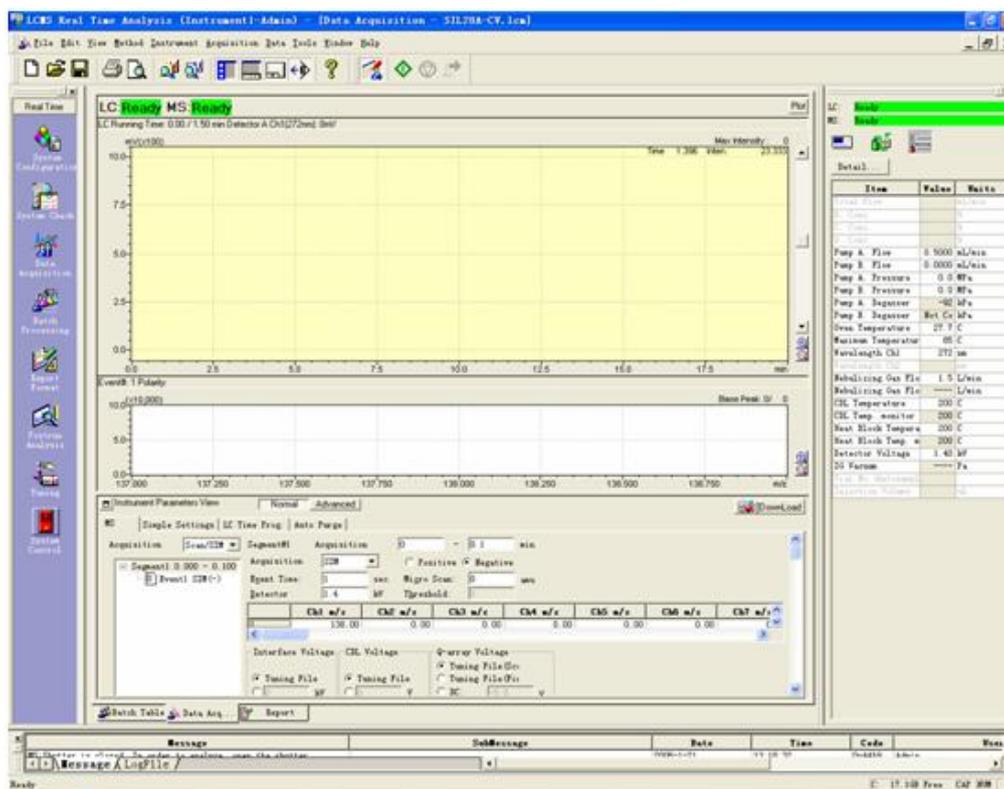
仪器四、 LC-MS2010型液质联用质谱仪

4.1 开关机

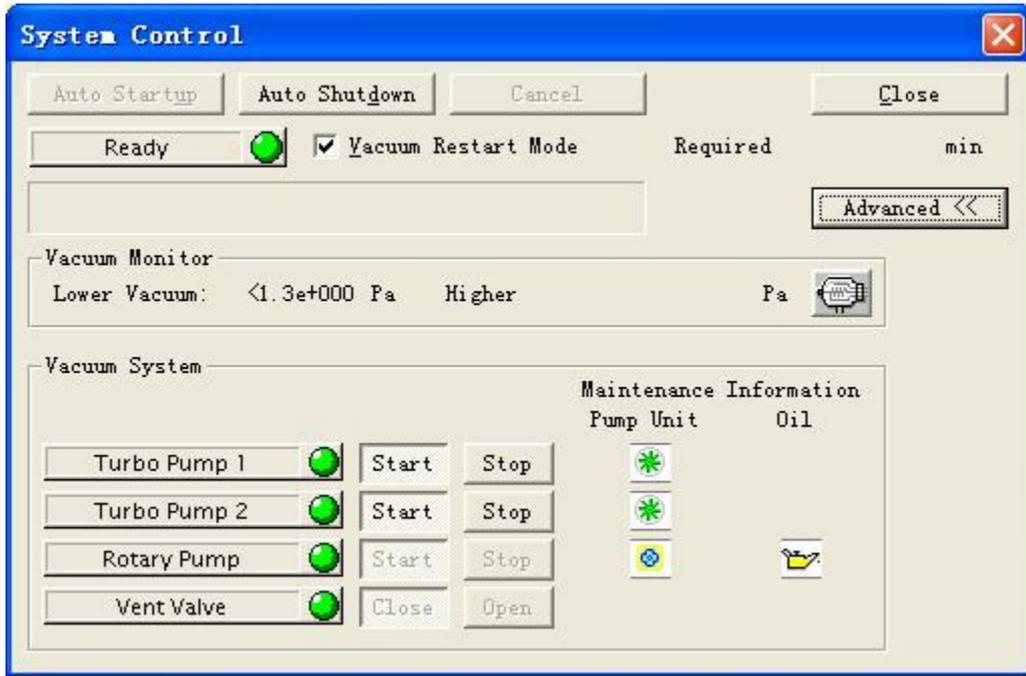
岛津质谱仪器的开关机分两种情况：

- (1) 完全开关机（主要是真空启动和关闭）
- (2) 日常开关机（主要是其它部分，如气体，CDL，IG，HV 的开启和关闭）

4.1.1 完全开关机打开仪器电源，打开软件，点击 System Control 。



点击 Auto Startup 开始抽真空，约 30min 后仪器会到 Ready 状态，仪器面板 STATUS 灯不闪，长亮。如果需要完全关机，必须先点击 Auto Shutdown 关闭真空，约 20-40min 再关闭主机电源开关。

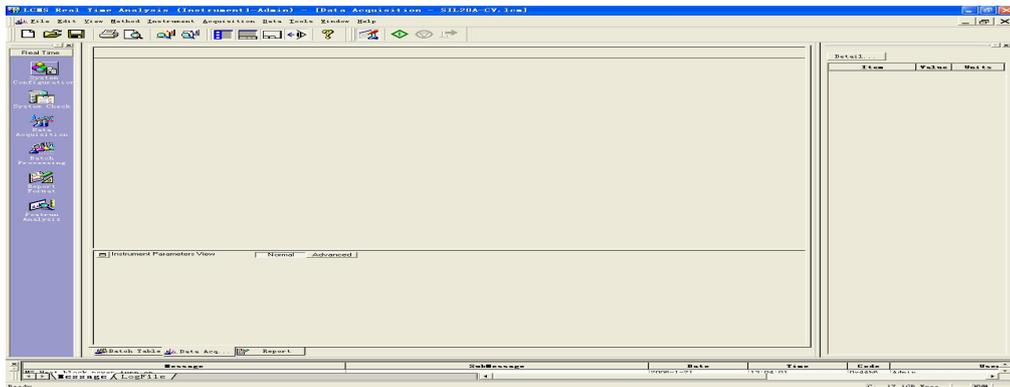


4.1.2 日常开关机:

一般情况下，在液相泵开始运行之前，最好先手动开启雾化气，CDL 和 Heat Block 的温度，然后再开启液相的输液泵。关机，请直接关闭 LCMSsolution 软件窗口，软件会提醒您是否关闭液相的泵，还有质谱气体，CDL 等等。

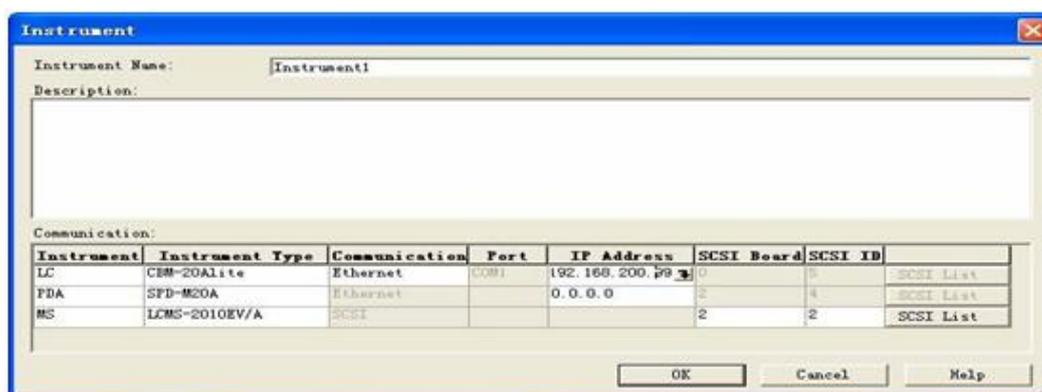
4.2 系统配置

4.2.1 点击 SYSTEM CONFIGURATION

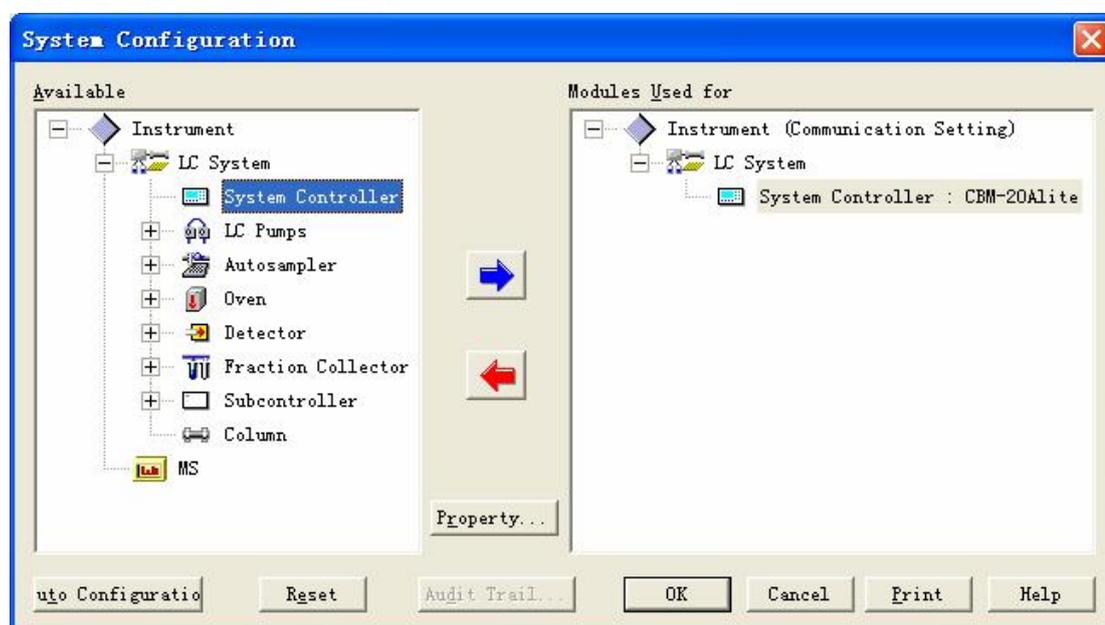


4.2.2 双击 Instrument(Communication setting)

设置液相控制器类型（如：CBM20Alite），连接方式（Ethernet 或者 RS232C），IP 地址或者串口号。

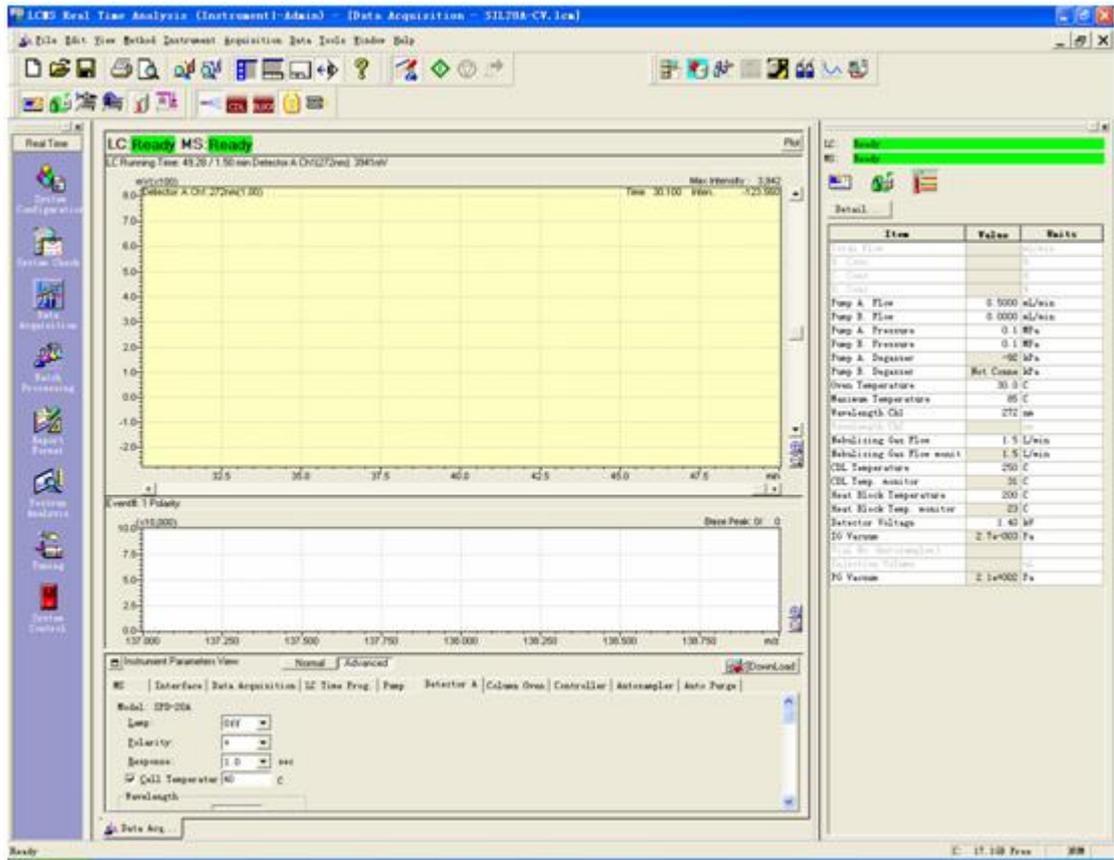


将左侧 System controller 选中，点击蓝色右箭头添加至 Modules Used For。同样添加 MS。然后点击 Auto Configuration,所有部件均自动配置上，点击 OK 完成系统配置。

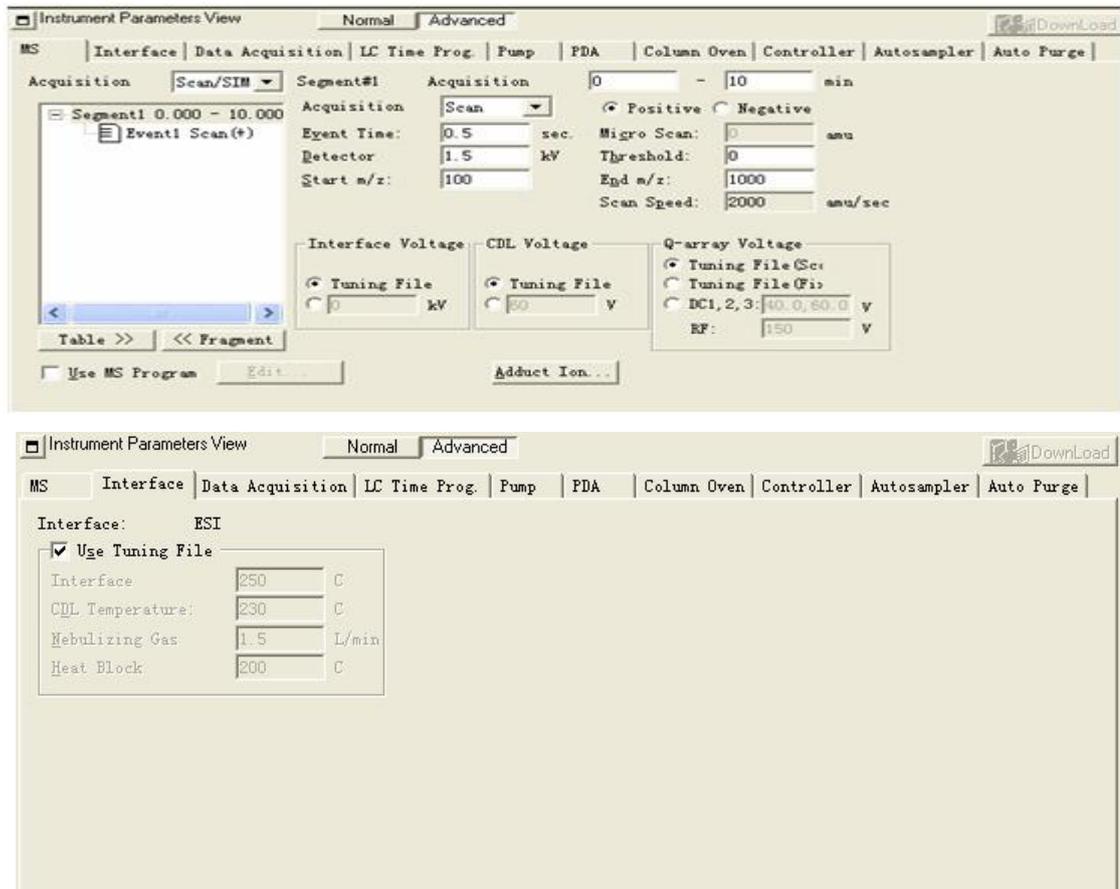


4.3 数据采集

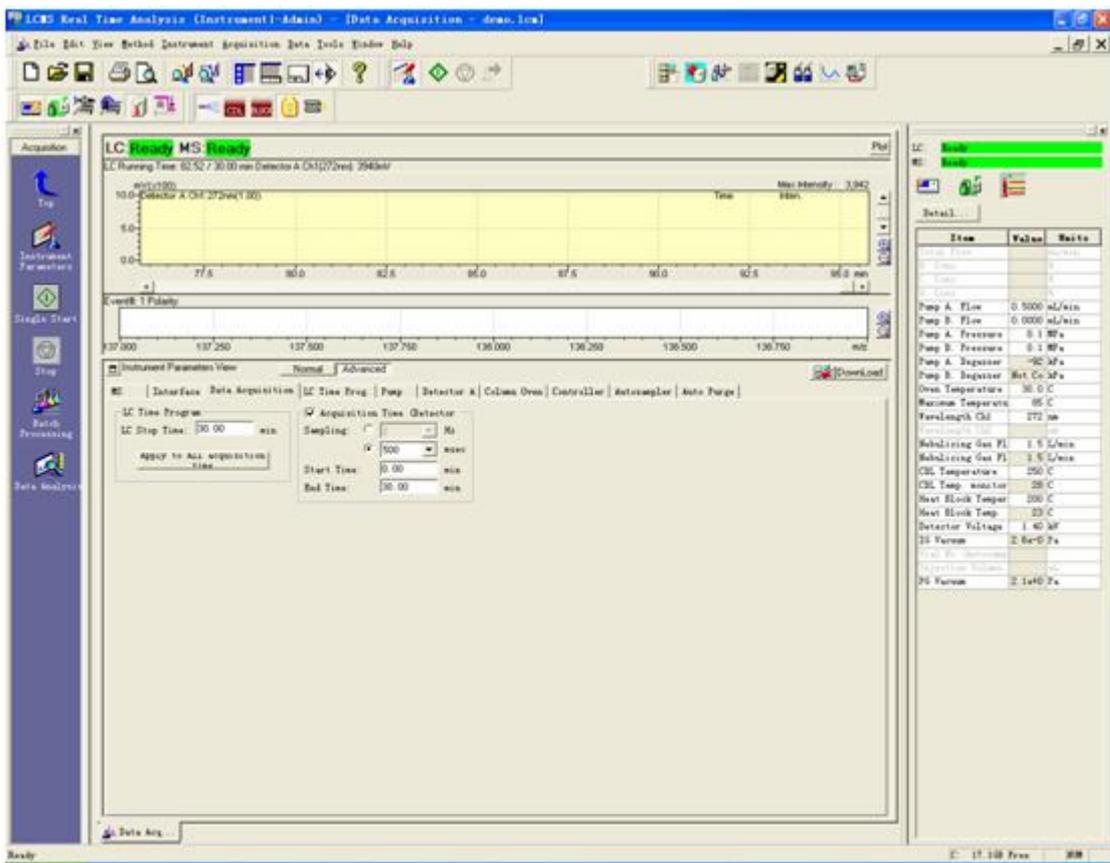
4.3.1 点击 Data Acquisition:



4.3.2 设置Instrument Parameters: 选择Advancedms部分 (MS 和 Interface):



LC部分



4.3.3 各部分均设置完成后保存方法.

点击 Download 下载参数。然后点击 Instrument on, GAS, CDL, Heat Block, IG, High Voltage, 观察基线, 稳定后即可进样分析。

4.3.4 点击 Single Start:或者建立批处理表 Batch, 批处理运行分析。

仪器五、GCMS-QP2010 Ultra型及GCMS-QP2010型气质联用质谱仪

5.1 开机

5.1.1 检查 GC 部分、MS 部分和电脑的电是否接通。打开载气钢瓶阀门将减压阀调到 0.3MPa。打开电脑使电脑停留在桌面状态。

5.1.2 打开 GC 电源键等待约 1 分钟左右再打开 MS 电源键此时会听到“嘀”的一声, 表示 GC 与 MS 部分已顺利连接好。接着双击桌面上的“GCMS



GCMS Real Time Analysis. lnk

Real Time Analysis .lnk”图标启动仪器控制软件, 同时会发出“嘀、嘀”的两声表示仪器和电脑已经顺利连接好。

5.1.3 单击软件左边竖排快捷键中的“Vacuum Control”图标随即



弹出一个窗口，单击窗口左上角的“Auto Startup”按钮，这时仪器正式启动。窗口中的绿色安装条会慢慢的向右推进，当安装条走到右边时，仪器全部启动，单击窗口中的“Close”按钮关闭“Vacuum Control”窗口。

5.1.4 点击界面右下脚的“Detail”按钮，将进样口温度（SPL1 Temperature）调到 250℃，柱前压（SPL1 Pressure）调整为 70-80KPa，总流量（Total Flow）10ml/min，吹扫流量（Purge Flow）1ml/min，柱温（Column Temperature）调到 50℃，离子源（Ion Source）200℃，接口（interface）温度调到 250℃调节完点击“OK”关掉窗口，这时界面右上角的 GC 和 MS 监控条为黄色，GC 面板上的“STATUS”和“TEMP”指示灯也为黄色并闪烁，等待这两灯变为绿色并停止闪烁且界面上的指示条也变为绿色并出现“ready”时，仪器整个启动过程完毕。

5.2 调谐

5.2.1 完成上面的开机过程后，等待约两小时左右待仪器真空度达到标准值后（低真空 6 Pa 左右，高真空 4×10^{-4} Pa 左右时）。点击左边快捷键中的“Tuning”打开调谐窗口，单击左边快捷键中的“Start Auto Turning”开始自动调节。



5.2.2 调节完成后，保存调谐文件，关闭窗口。

5.3 关机

5.3.1 当仪器处在待机状态时点击图标“Vacuum Control”弹出窗口，点击窗口中的“Auto Shutdown”仪器开始自动关机蓝色安装条慢慢向右推进，即将结束时仪器会放气随即安装条全部走完后。点击“OK”关闭窗口，关闭控制软件。



5.3.2 关闭 GC 电源

5.3.3 关闭 MS 电源

5.3.4 关闭载气

5.4 分析样品操作方法

5.4.1 GCMS 联用分析

5.4.1.1 点击左边快捷键中的“Data Acquisition”进入分析状态。单击其中的“Sample Login”弹出一个窗口，在窗口的相应栏目中输入“样品信息”、“存储数据文件的文件夹位置”，并调入已存储的调谐文件，点击“OK”关掉窗口。



5.4.1.2 点击左边快捷键中的“Method Detail”弹出一个窗口，在窗口中编辑样品所需的方法文件，编辑成功后存储并退出。

5.4.1.3 单击左边快捷键中的“Standby”按钮将已编辑好的数据文件和方法文件发送给仪器，这时仪器由待机状态变为等待运行状态，在这个过程中仪器的相关参数会由待机参数变为做样时的起始参数，并且 GC 面板上的“STATUS”和“TEMP”指示灯会变成黄色闪烁，软件界面上的 GC 和 MS 状态指示条也会变成黄色。当指示灯和指示条都变成绿色时说明仪器的相关参数已经调整好可以开始进样分析了。

5.4.1.4 将已配好的样品用进样器取 1ul 左右，注入仪器的进样口并立即按下 GC 面板上的“Start”键，仪器开始正常运行分析样品。此时 GC 面板上的“STATUS”和“TEMP”指示灯为绿色闪烁。

5.4.1.5 仪器运行完毕后会自动返回待机状态。可再重复上面操作进行下一个样品的分析。

5.4.2 EI 直接进样分析

5.4.2.1 当仪器打开以后，在待机状态下单击上面任务栏中的“Method”按钮，在下拉菜单中点击“Sample Inlet Unit”，在随即打开的窗口中选择“DI”后点击“OK”关闭对话框。

5.4.2.2 制作数据文件和方法文件与做 GCMS 相同。

5.4.2.3 安装好进样杆滑道，将样品置于直接进样杆中，顺滑道慢慢进入仪器。点击“Start”仪器开始分析。

5.4.2.4 样品分析结束，等温度降到 100℃ 以下将杆慢慢拔出。

5.4.3 CI 分析样品

将离子源换成 CI 源，连接好反应气，其他操作与 GCMS 相同。

仪器六、Exactive GC 高分辨气质联用仪

6.1 开机

6.1.1 开启气瓶（氦气和氮气），氮气出口压力为 0.8 Mpa，氦气出口压力为 0.6 Mpa。

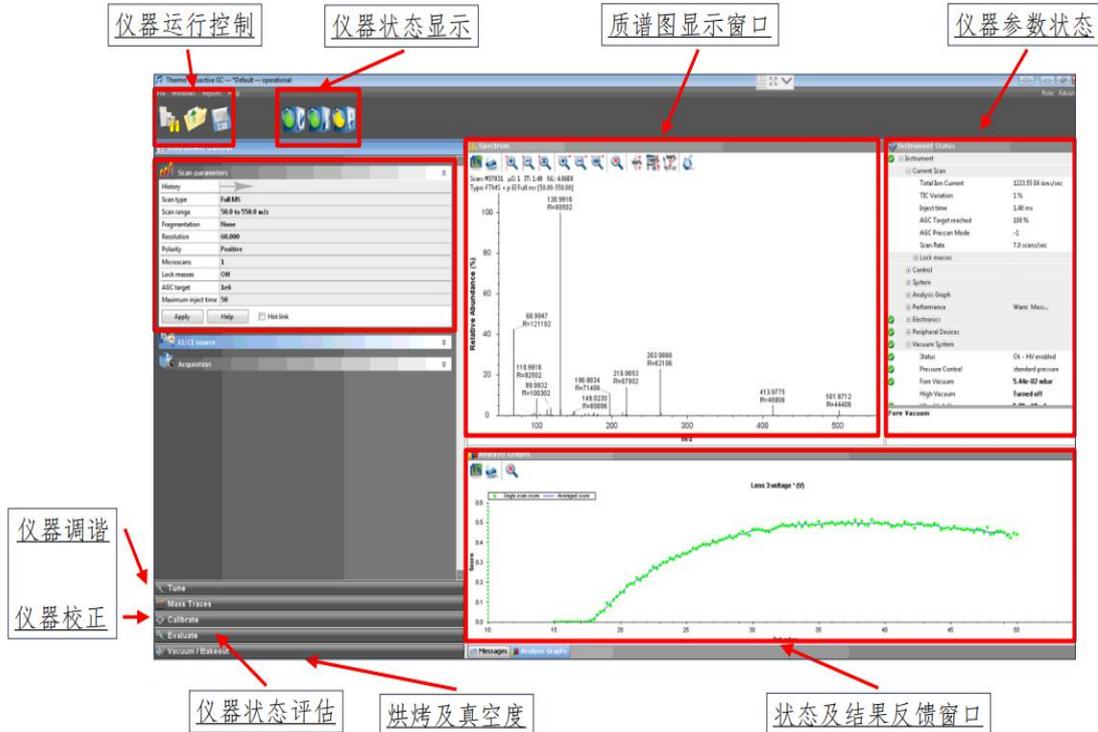
6.1.2 打开 GC、自动进样器电源；开启载气流速。

6.1.3 打开质谱电源开关；约 3 小时候后开启电子开关。

6.1.4 UHV 真空度到达 1E-9 后，需进行 bakeout，建议时长 12 小时

(加 3 小时平衡时间共 15 小时，真空度读数参考范围：Fore Vacuum: 3-6E-9; High Vacuum: 3.1E-5; Ultra High Vacuum: 2-6E-10。)

6.2 调谐校正



6.2.1 打开 ，打开仪器运行按钮。

软件功能：质谱日常调谐、校正；参数设置和查看；状态显示和评估。

6.2.2 打开 Evaluate 仪器检漏，再打开 Calibrate 仪器校正，然后打开 Tune 进行仪器调谐。

6.3 分析样品操作方法

6.3.1 选择 “Method Development” 模块，选择 “Instrument View” 选项，选择 “新建”。

6.3.2 先设置  自动进样器方法、 气相方法，再设置  质谱方法

自动进样器

选择进样口
进样量 1 μL
柱塞冲程
排气, 5次以上
底部感应
RSH功能

推荐默认值

洗针溶剂
进样前
润洗
进样后
洗针

建议

1. 选择两种不同极性的溶剂;
2. 其中一种溶剂与样品溶剂相同

气相色谱仪

升温程序设置

Rate: 升温速率 (°C/min), 越慢分离效果越好, 耗时越长;
Temperature: 终止 (起始) 温度;
Hold Time: 终止温度持续时间;

传输线温度设置

注意: 请根据色谱柱类型和应用具体设定

注意: 方法必需设定三段传输线温度; 其中两段为GC控制; 一段为MS控制

进样口温度

进样模式: 通常选用不分流模式 (Splitless)

载气模式: 通常恒流模式

分流模式: 分流流进

真空补偿 (必须)

两盘吹扫 (推荐开启)

PTV程序升温进样口

程序升温

Injection phases

Evaporation phase: Transfer temp. delay: 1.00 min

Cleaning phase: Post-cycle temperature

Experiments

- Full MS-SIM 全扫描模式
- Targeted-SIM 选择离子扫描模式
- Full MS/dd-MS²(TopN) 全扫描/数据依赖二级扫描
- PRM 平行反应监测
- Targeted-SIM/dd-MS² 选择离子/数据依赖二级扫描

EGC

QEGC

Experiments

Full MS - SIM

拖拽选择

① 选择调谐文件

② 离子源参数

③ 质谱参数

用户角色
质量校正
方法运行时间 (GC)
溶剂延迟
质谱端传输线温度
离子源温度 (>200°C)
离子化模式

数据采集时间

分辨率选择
AGC阈值
注入时间
扫描范围

推荐值

6.3.3 建序列, 选择建好的新方法, 开始测试样品。

Thermo Scientific Xcalibur - D:\DIP\SEQUENCE\20210819.jld (Open)

| Sample Type | File Name | Comment | Sample ID | Path | Inst Meth | Proc Meth | Position | Injection | Level |
|-------------|---------------------|---------|-----------|-----------------|---|-----------|----------|-----------|-------|
| Unknown | 20210819-01 | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\Xcalibur\methods\Lipide GC-MS 22MIN | | 1 | 1.00 | |
| Unknown | 20210819-02 | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\Xcalibur\methods\Lipide GC-MS 22MIN | | 2 | 1.00 | |
| Unknown | 20210819-03BLUE | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\TraceFinder\Data\InstrumentMethods\SPME-MASK | | 163 | 1.00 | |
| Unknown | 20210819-04YELLOW | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\TraceFinder\Data\InstrumentMethods\SPME-MASK | | 164 | 1.00 | |
| Unknown | 20210819-05BLACK | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\TraceFinder\Data\InstrumentMethods\SPME-MASK | | 165 | 1.00 | |
| Unknown | 20210819-06C24F45N3 | | 1 | D:\GC-MS\202108 | C:\TraceFinder\Data\InstrumentMethods\Lipide GC-MS20MIN | | 2 | 1.00 | |

6.5 关机

6.5.1 降温-关闭/降低传输线、离子源、进样口和柱温箱的温度。

进样口、柱温箱、传输线（GC段）设置

Oven: Temperature → 50°C
 PTV: Temperature → 50°C
 SSL: Temperature → 50°C (通常只使用一个)
 Auxiliary Aux1 and Aux2 → 50°C
 ⚠️ 注意：无需关闭载气

在Tune软件中离子源和质谱端传输线温度降温

6.5.2 质谱关机：先关闭电子开关，等 20min 后关闭电源开关。

② 质谱关机

① 关闭电子开关（质谱指示灯会熄灭）
 ② 20min后关闭电源开关（此时GC会出现报警，属正常情况）

6.5.3 关闭 GC、自动进样器（RSH）电源和气瓶（氦气和氮气）。

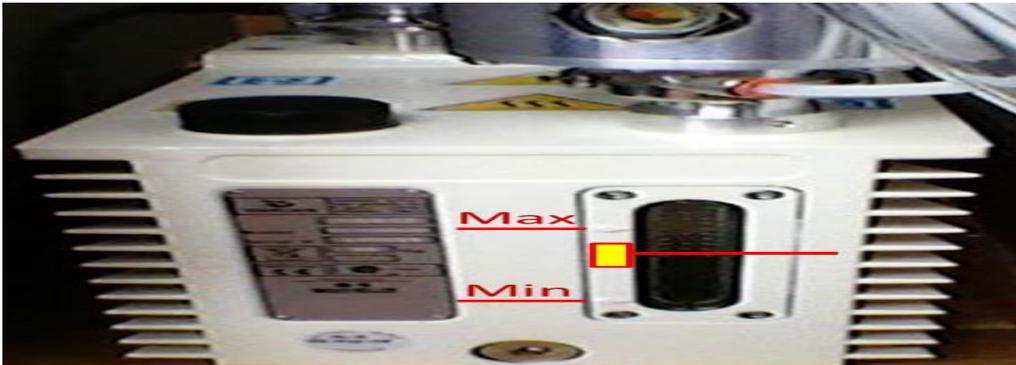
仪器七、 Bruker Q-TOF 质谱仪

7.1 开机

7.1.1 检查并打开干燥气 (Dry gas) 和雾化气 (Nebulizer Gas) 所需的氮气源；如配备液氮罐，则需打开增压阀及供气阀阀门，使罐体压力保持在 100 psi 以上，并调节减压阀出气口压力至 0.6 Mpa；

7.1.2 检查并打开碰撞气 (Collision Gas) 高纯氮气 N₂ 或高纯氩气 Ar 钢瓶 (纯度要求 99.999%)，并调节减压阀出气口压力至 0.4 Mpa；

7.1.3 检查机械泵泵油的水平线，需在小窗口的 1/2~2/3 之间；



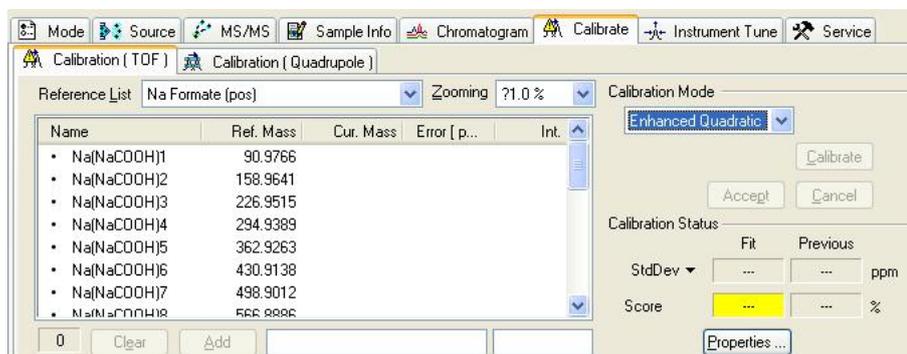
7.1.4 打开计算机，显示器电源；

7.1.5 打开质谱仪主机电源（仪器左侧最下方）；

7.1.6 启动 micrOTOFcontrol 控制软件，务必保持仪器一直 shutdown 状态，待真空度达到 $\leq 1 \times 10^{-6}$ mbar 后，才可切换至 standby 状态待机；为了保证良好稳定的实验结果，待真空度下降至 10^{-7} mbar 以下后，再 operate 仪器开始测试。

7.2 仪器校正

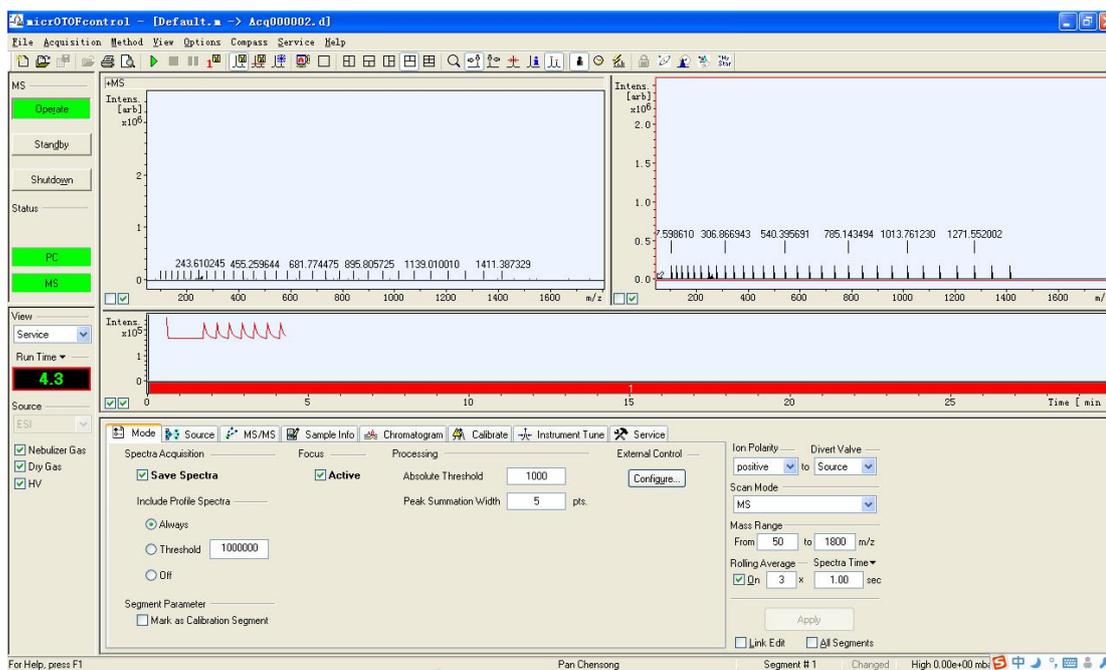
7.2.1 选择安装适当的离子源（ESI, CSI, APCI），仪器 Operate 半小时后，选 Calibrate 页面。

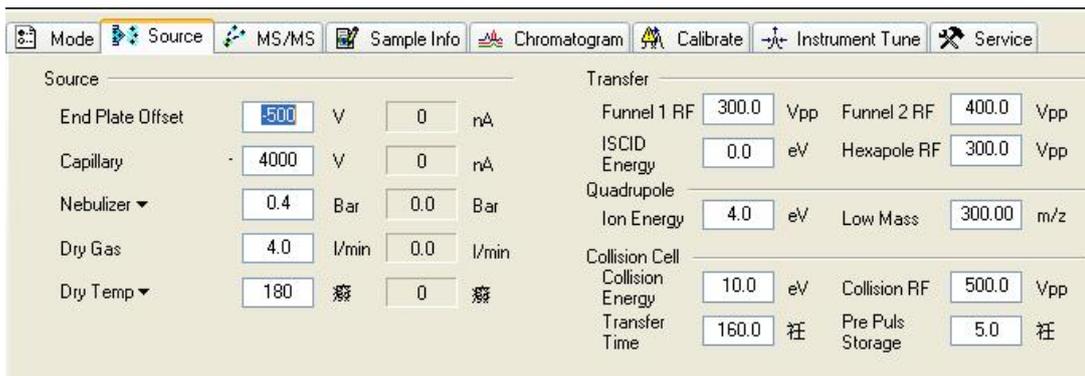


7.2.2 建议使用 10mM 甲酸钠或三氟乙酸钠标准品进行校正，在接受校正前，请仔细确认所有离子没有误匹配。

7.3 测试样品

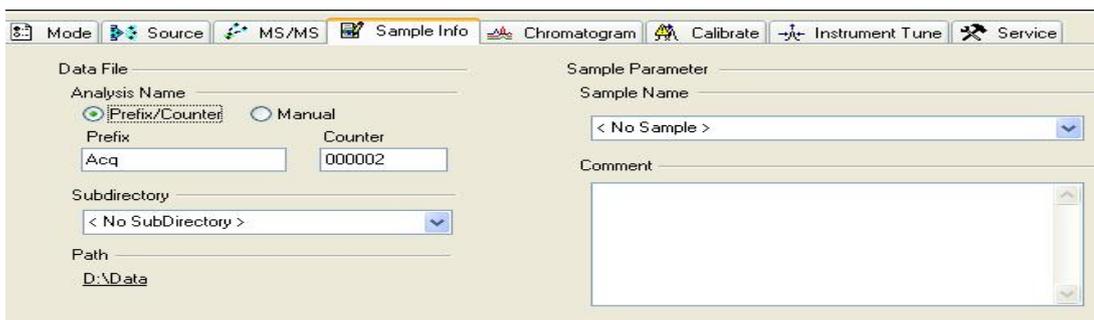
7.3.1 双击 oTOFcontrol 软件；





7.3.2 点击方法编辑区 Source 激活相应的离子源，Source 页面包括 Source 和 Transfer 两部分，Source 部分参数影响样品的离子化，即信号的强度，Transfer 部分参数影响离子传输过程中的选择性，是方法编辑的重点。

7.3.3 点击 Sample information 输入样品名称，点击 Operate 开始样品采集，获得质谱图。

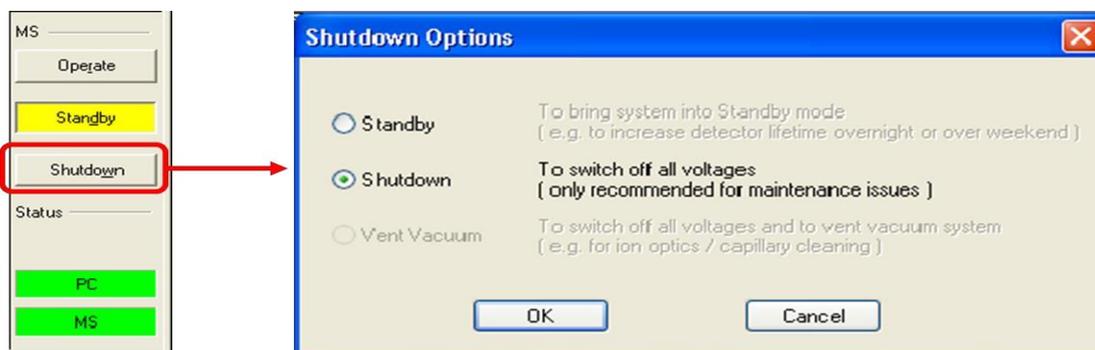


7.3.4 点击 Stop 停止采集数据。

7.5 关闭仪器

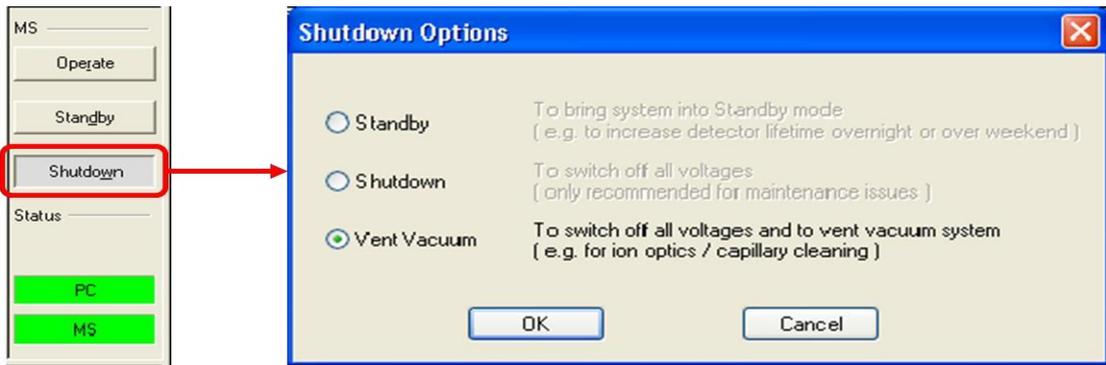
7.5.1 先使仪器恢复 standby 待机状态，点击 micrOTOFcontrol 软件左侧 <Shutdown>，出现以下【Shutdown Option】窗口，选择<shutdown>

(To switch off all voltages) 后，点击 OK。



7.5.2 再次点击 micrOTOFcontrol 软件左侧 <Shutdown>，出现以下【Shutdown Option】窗口，选择<VentVacuum> (To switch off all voltage and to vent

vacuum system) 后，再次点击 OK。

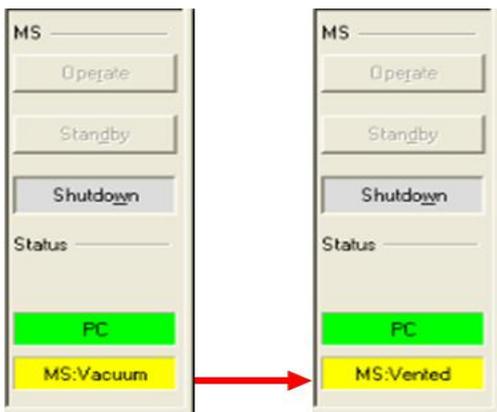


7.5.3 软件系统会再次确认是否需要释放真空，如下界面，点击 YES。



7.5.4 开始释放真空（venting process is active），蓝色进度条示意，耐心等待 10-15 分钟，氮气将充满整个仪器系统，系统完全失去真空；当在蓝色进度条左侧出现【the Venting process finished successfully】，表示释放真空过程完全结束；

7.5.5 释放真空的过程中，也可观察仪器状态栏，待出现【MS:Vented】时，表示释放真空过程完全结束；



7.5.6 关闭质谱仪主机电源。



7.5.7 关闭液氮增压阀及供气阀（或关闭氮气发生器电源），关闭减压阀。

7.5.8 关闭高纯氮气供气阀，关闭减压阀。

7.5.9 关闭计算机，显示器电源。

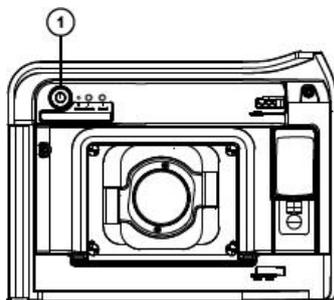
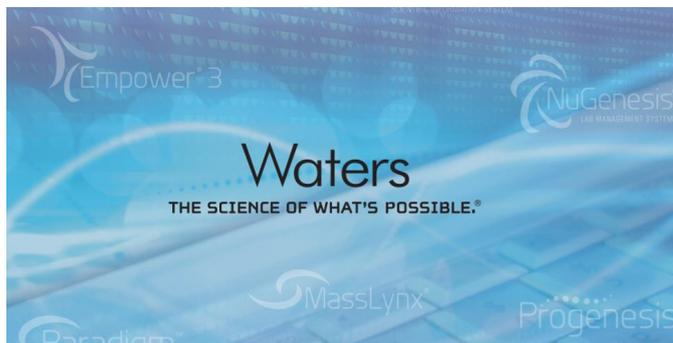
仪器八、Xevo TQ-GC三重四级杆型高灵敏度气质联用仪

8.1 开机前准备

打开载气（He,99.999%）调节压力为0.8MPa，打开碰撞气（Ar, 99.999%）调节压力为0.08MPa。

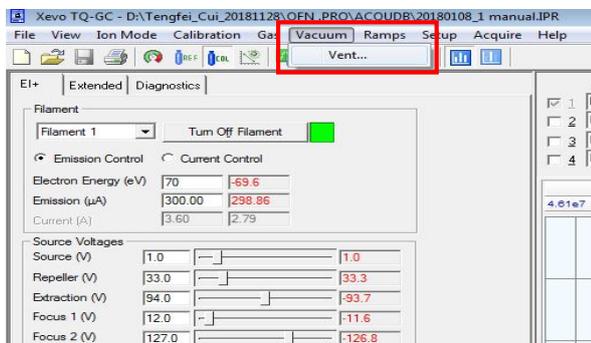
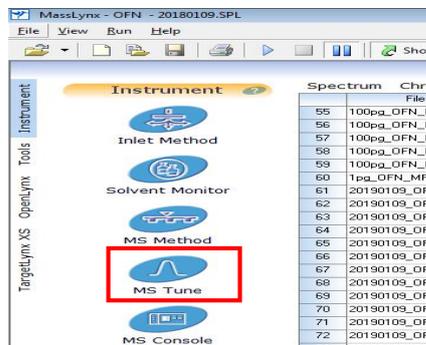
8.2 开机

打开电脑、气相色谱和质谱电源等待5分钟让三者联接并自检。

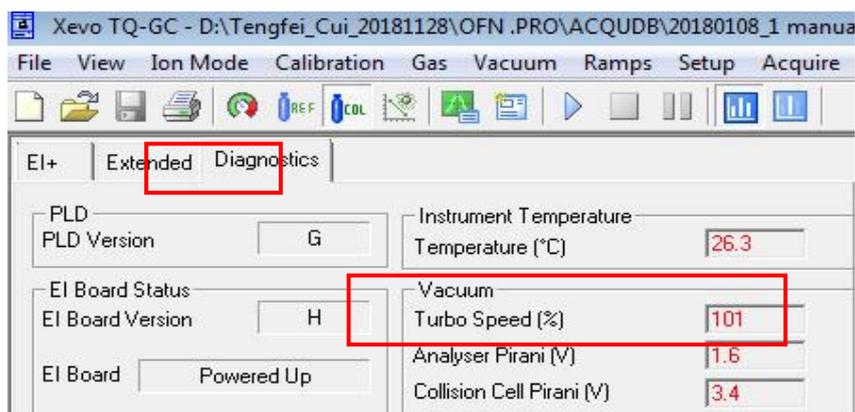


① Power button

打开Masslynx控制软件，进入MS Tune界面>Vacuum>Vent,开始抽真空。

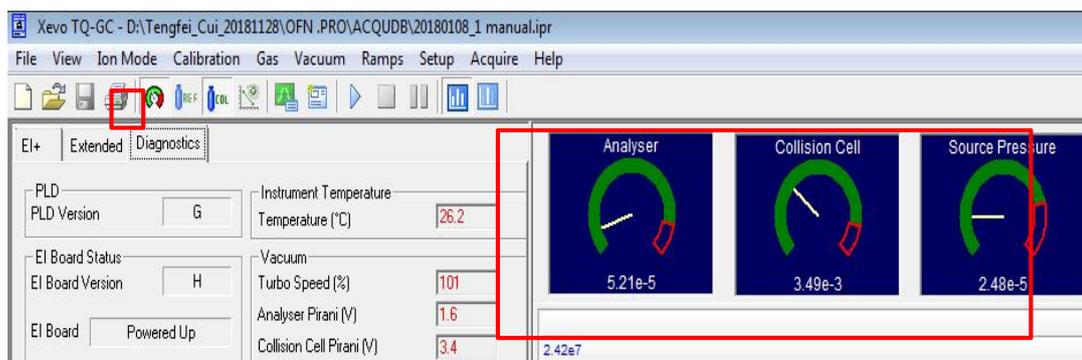


抽真空4小时以上，观察Turbo speed是否达到100%（5-10min左右）。

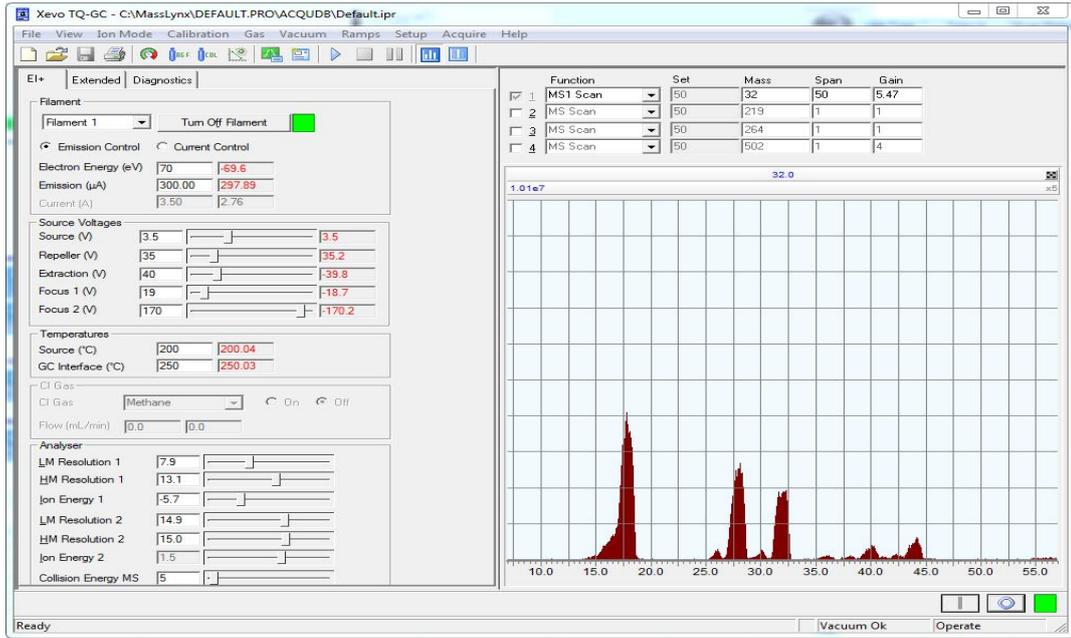


8.3检查真空度

在抽真空至少4小时后，打开碰撞气，检查Analyser, Collision Cell, Source Pressure三个真空规的读数是否正常（三个真空规的正常值大约为 1.2×10^{-5} , 6.0×10^{-3} , 2.8×10^{-5} 左右）。



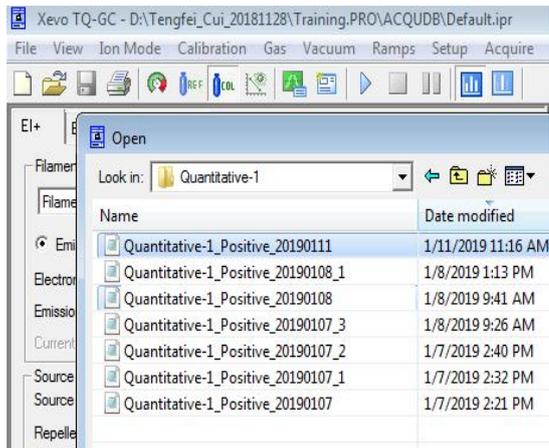
漏气检查：在正常状态下， H_2O 的峰高大于或者接近 N_2 峰高的2倍，但不能小于 N_2 峰的1/4，当漏气时， N_2 峰高远大于 H_2O 峰的4倍，此时就要检查钢瓶、联接管路、气相色谱和质谱等处是否漏气。

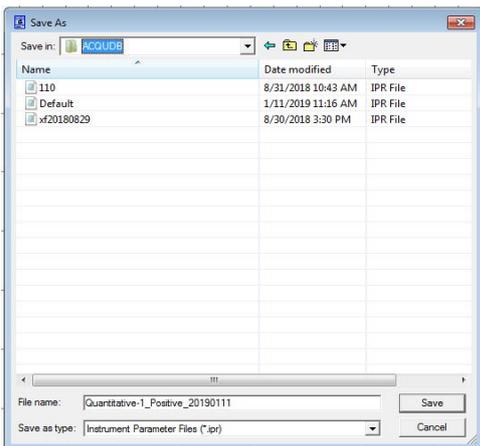


8.4调谐仪器的分辨率和质量数

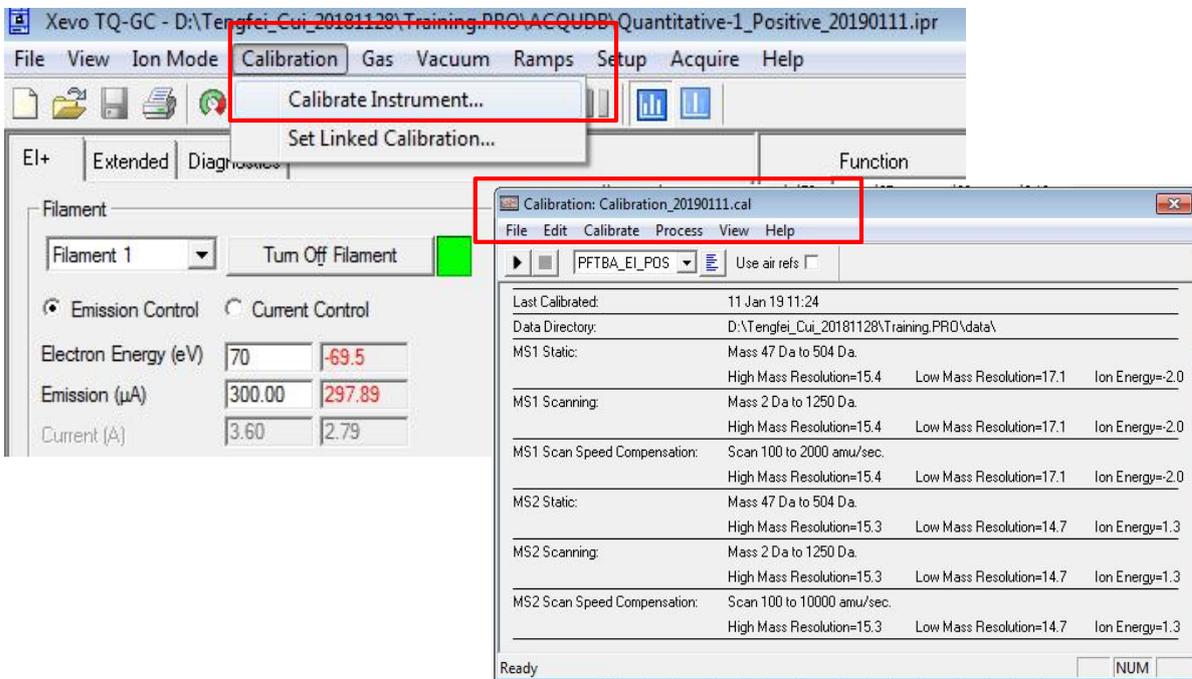
8.4.1手动调谐

在 MS Tune 界面打开最新的调谐文件，路径为 C:\Masslynx\Intellistar\Results\Quantitative Resolution。此时 MS Tune 界面保持打开状态

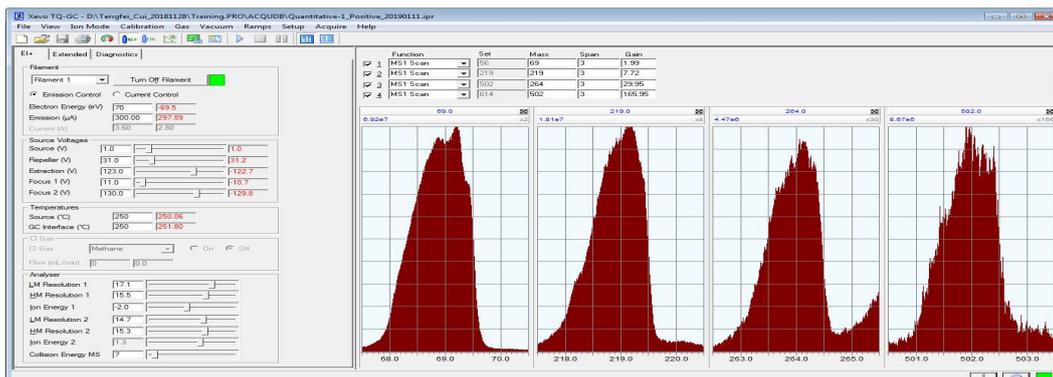




调用最新的调谐文件（质量轴），最新 Calibration 文件会自动连接。



MS Tune 方法优化：观察 69/219/264/502 四个参考离子，检查参考标品半峰宽和质量数准确性。关闭碰撞气，打开内置标品（Reference），确保仪器为 Operate 状态，查看其半峰宽和峰质心质量数，半峰宽 1 左右，峰质心偏差小于 ± 0.2 Da。

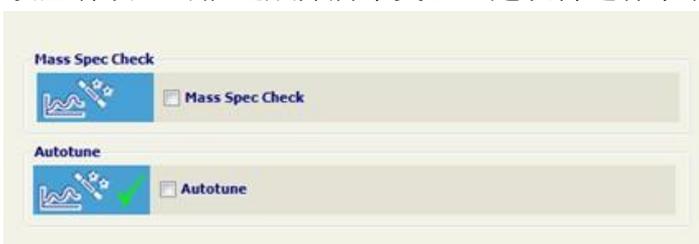


调节 Ion Energy1/Source/Repeller/Extraction/Focous1/Focous2 的数值，在保证峰形和半峰宽的前提下，让响应值达到最高。调整后，把修改后的文件另存为最终要使用的方法。

8.4.2 自动调谐峰响应

为使仪器响应达到最佳，可进行 Auto Tune，在保证分辨率的前提下，优化响应至最佳。在 MS Console 界面>Intellistart 中，选择 Auto Tune，start。

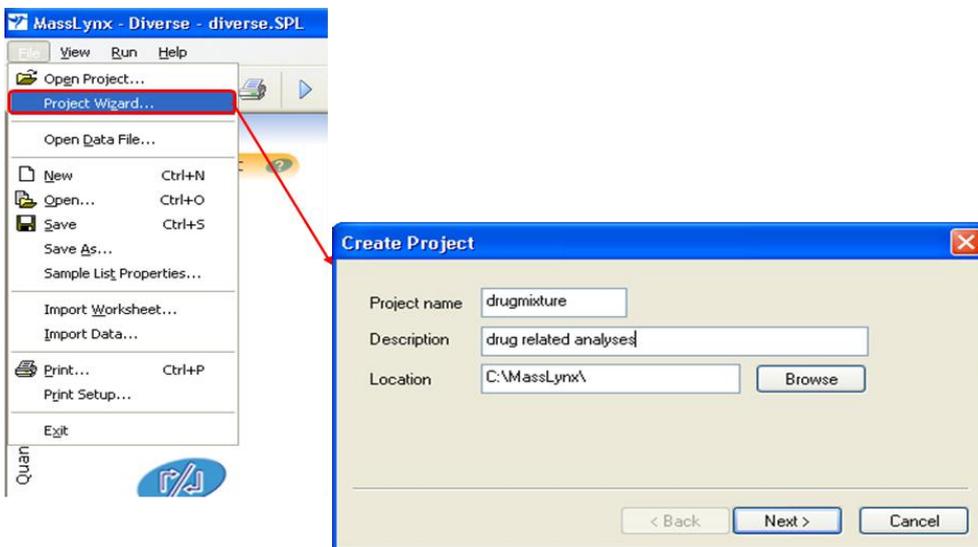
注意：自动的 Auto Tune 是按照既定的程序进行检查，若仪器状态不佳或者仪器设置有误，可能造成分辨率变差，建议再进行手动调谐。



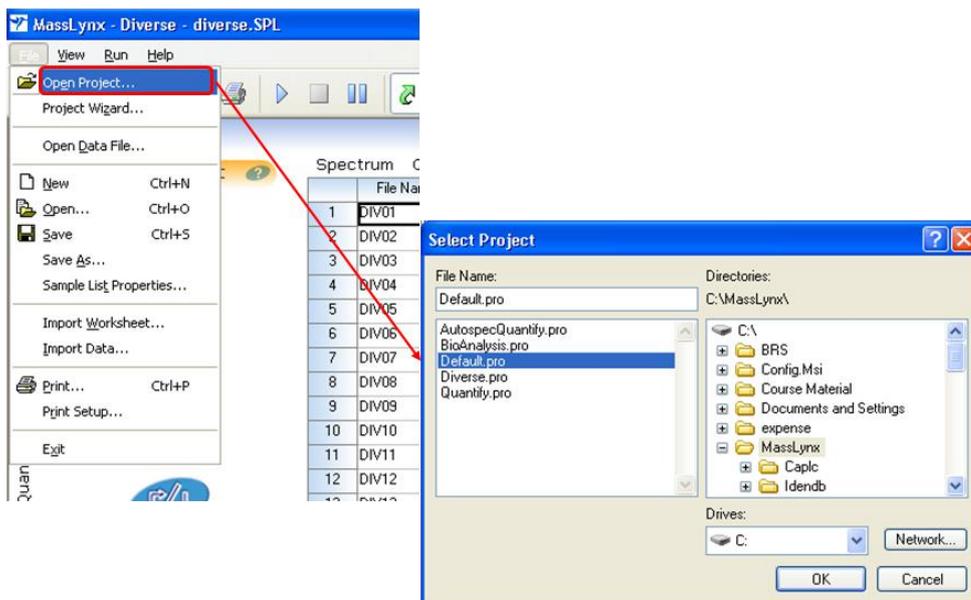
8.5分析样品

用移液枪把1ml样品溶液转移到1.5ml样品瓶中，把样品瓶放到进样盘中。

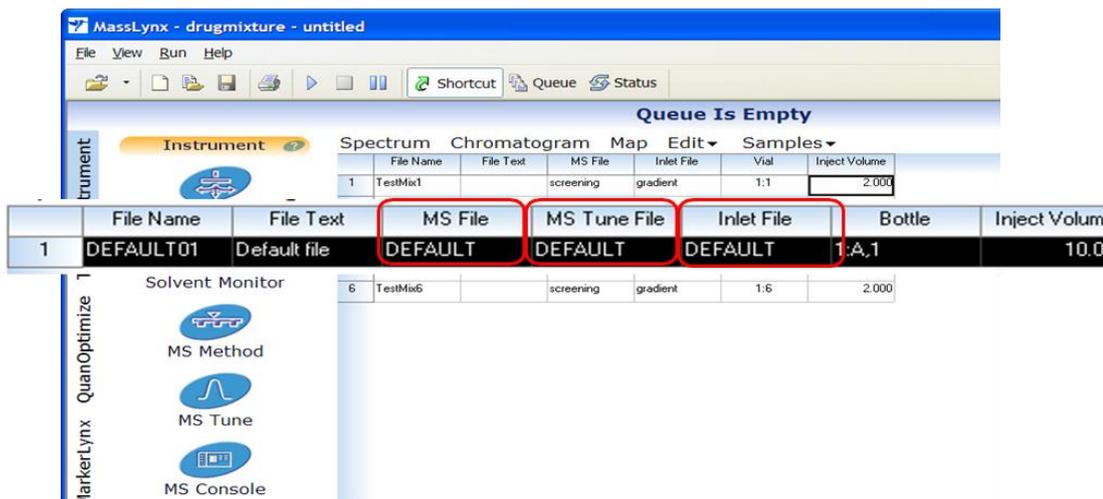
8.5.1打开File>Project Wizard建立一个新的Project



8.5.2打开刚刚建好的Project



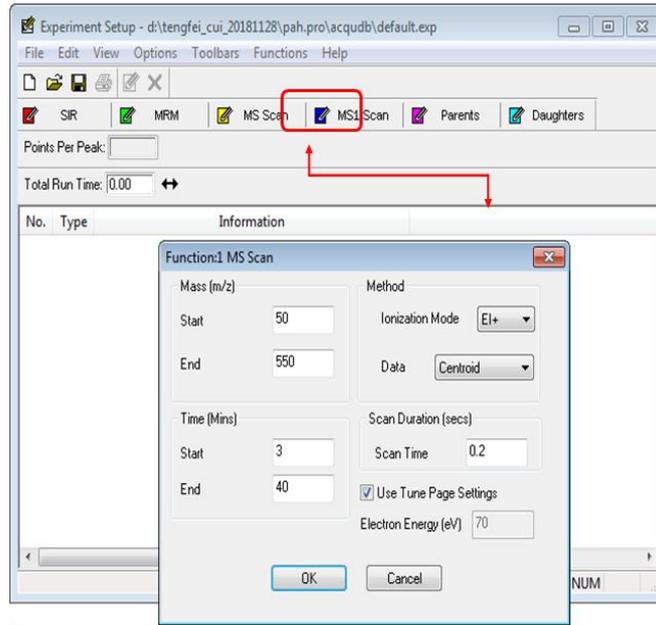
8.5.3在 Sample list中填入“file name”、“file text”、“MS File”、“MS Tune File”、“Inlet File”、“Bottle”和“Inject Volume”的信息，信息填好后存盘。



8.5.3.1“file name”为数据的存档名，注意不能重名，建议以日期命名。

8.5.3.2“file text”为样品名字可以随意命名。

8.5.3.3“MS File”为质谱检测方法，用鼠标右键单击此窗口会弹出下拉菜单，左键单击下拉菜单中的“Ddit”会弹出质谱方法编辑窗口，根据具体的样品分析要求选择单级检测，MRM检测等不同的质谱检测方法。设定好后单击左上角的File>Save存储方法文件。

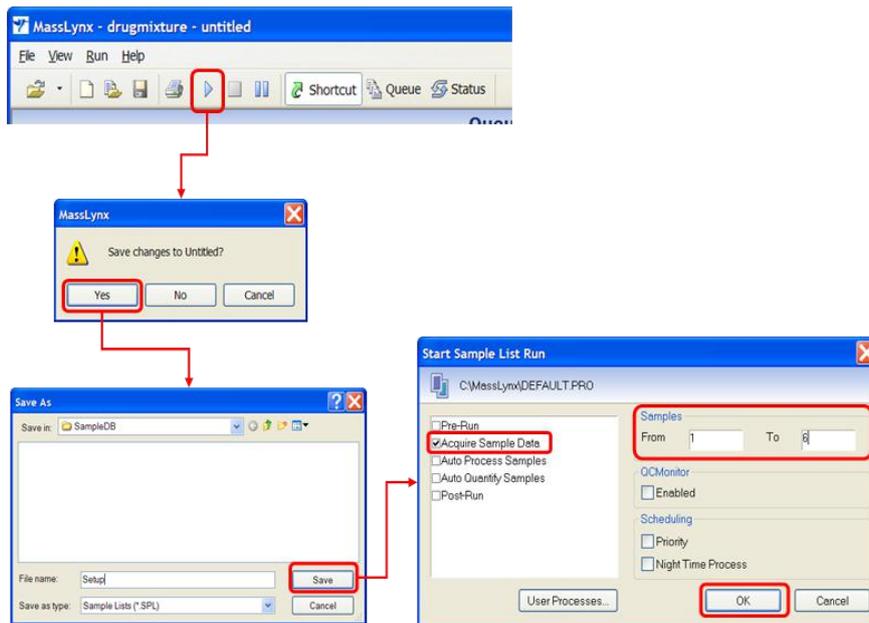


8.5.3.4 “Inlet File”为创建色谱方法。右键单击Inlet File窗口在下拉菜单中单击Edit进入气相色谱方法编辑窗口，单击左侧的Inlet进入气相色谱升温方法编辑窗口，根据分析样品的具体情况，输入色谱升温条件然后单击File>Save存储方法。

8.5.3.5在“Bottle”一栏中输入样品瓶在样品盘中的具体位置。

8.5.3.6在“Inject Volume”一栏中输入进样量，一般样品进样量为1ul
完成上面操作后，单击上面窗口快捷菜单中的存盘按钮。

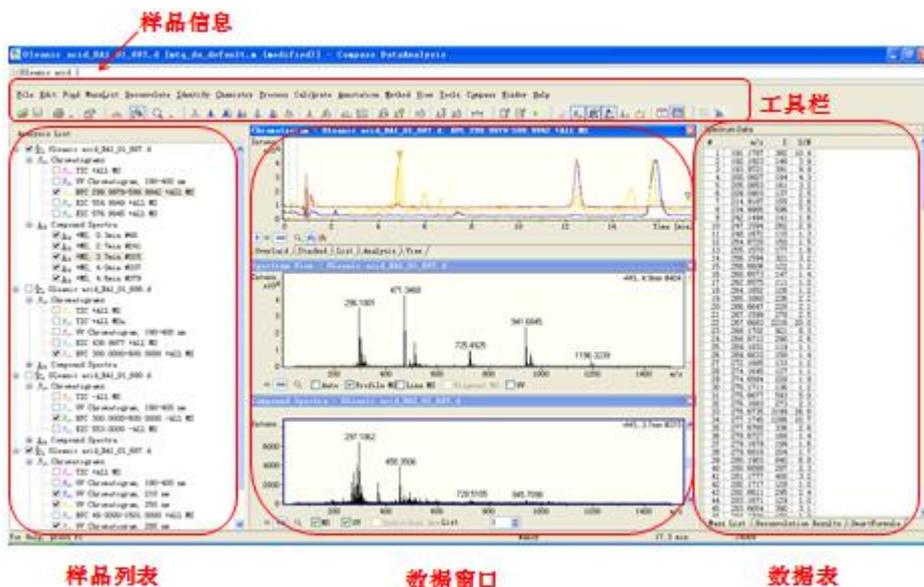
8.5.4单击界面上的三角按钮开始分析样品



第四部分、数据处理

仪器一、 solarix型傅里叶离子回旋共振质谱仪

1.1 DataAnalysis 基本界面



1.1.1 打开数据File>Open. 文件格式Compass Analyses (*.d)。

1.1.2 Method>Parameters>Display推荐小数位数Mass 5Retention time 1。

1.2 标峰

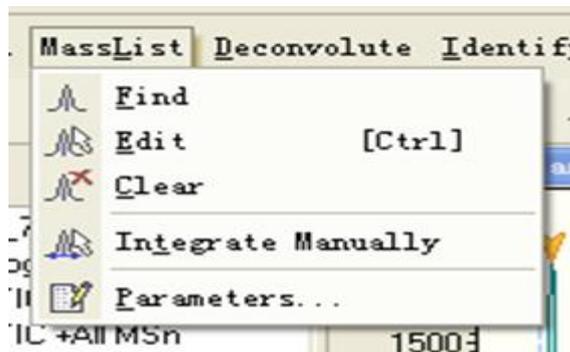
1.2.1 Find: 根据参数设置对质谱图进行自动标峰。

1.2.2 Edit: 手动标记或清除质谱峰。

1.2.3 Clear: 清除所有峰。

1.2.4 Intergrate Manually: 手动强制标峰。

1.2.5 Parameters: 定义标峰方法及参数。



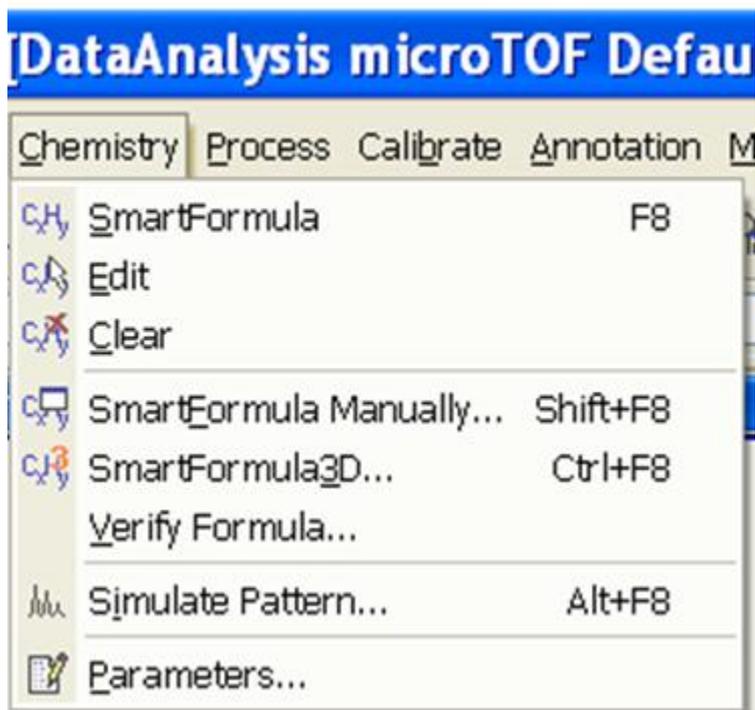
1.3 分子式预测菜单<Chemistry>

1.3.1 SmartFormula计算所选定的质谱图中所有出峰组分的分子式。

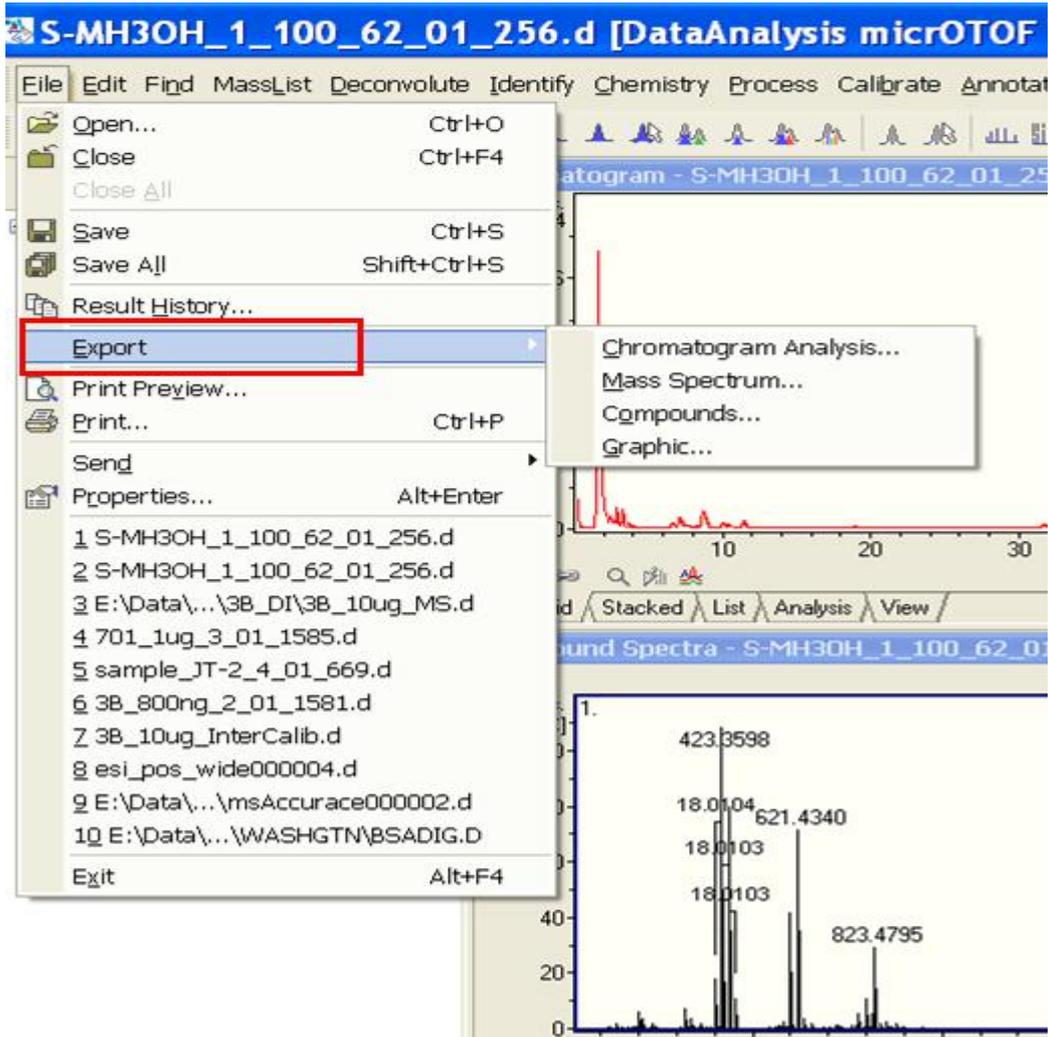
1.3.2 Edit 编辑所选定质谱图的SmartFormula List。

1.3.3 Clear 清除所选定质谱图的SmartFormula List。

- 1.3.4 SmartFormula Manually 计算某一指定质量 (m/z) 峰的分子式。
- 1.3.5 SmartFormula3D 根据母离子和碎片离子的质量峰计算分子式。
- 1.3.6 Verify Formula 验证质谱图中某一指定的分子式。
- 1.3.7 Simulate Pattern 根据分子式，模拟指定分子式的理论同位素峰形。
- 1.3.8 Parameters 定义<Chemistry>方法的参数。

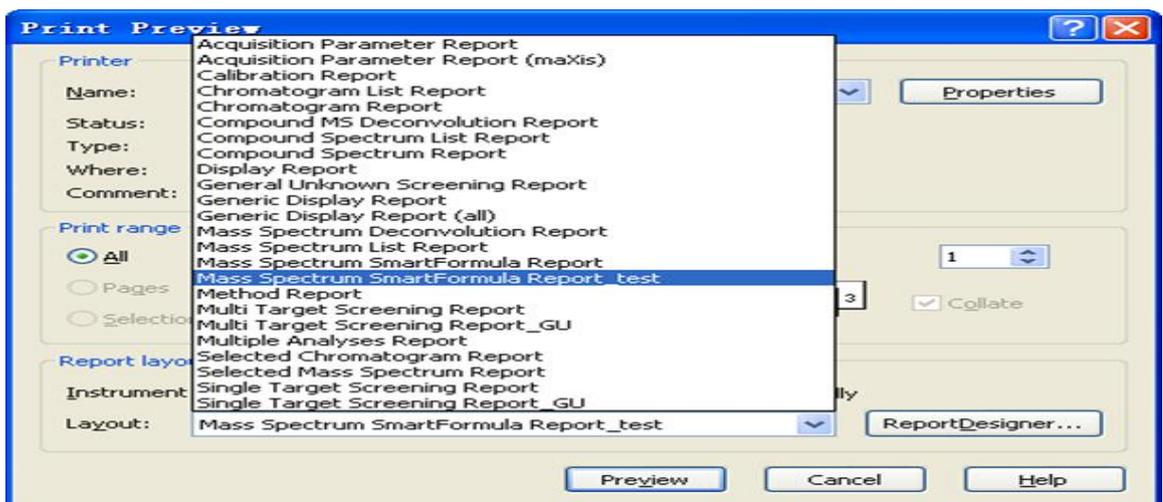


- 1.4 导出数据
 - 1.4.1 <Chromatogram Analysis>输出所选定的色谱图。
 - 1.4.2 <Mass Spectrum>输出所选定的单一质谱图。
 - 1.4.3 <Compounds>输出所选定的某一个compound质谱图。
 - 1.4.4 <Graphic>将所显示的色谱图和compound质谱图同时以.emf 形式输出。



1.5 打印报告

选择适合的报告格式>预览>打印。

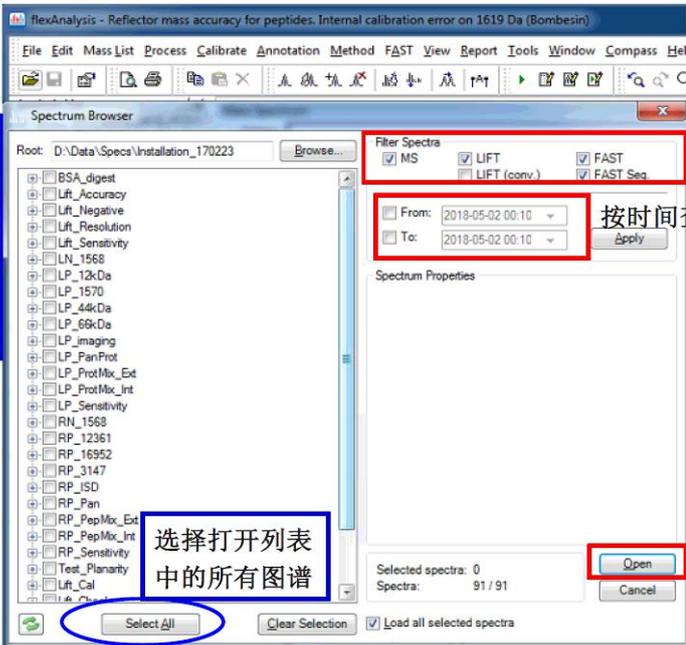


仪器二、Autoflex & Ultraflex型基质辅助激光解吸质谱仪

2.1. 打开待分析的数据

可以通过 **StartAll ProgramsBrukerDaltonicsflexAnalysis** 启动也可以通过双

击桌面上的快捷方式  启动。



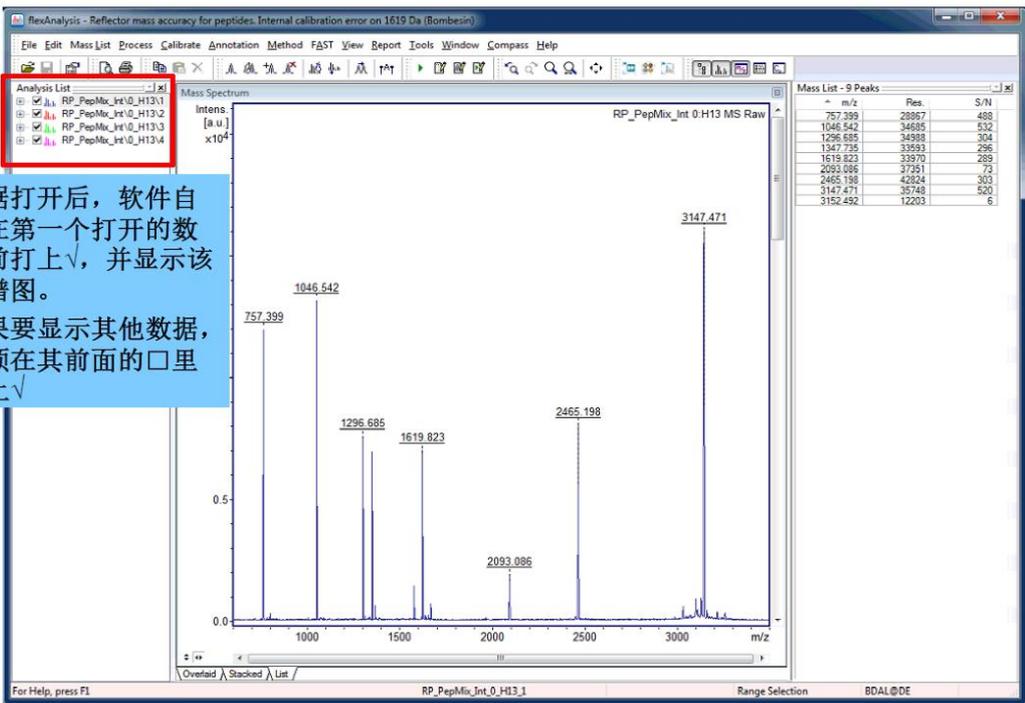
用鼠标点击+号，进一步打开该文件夹。用鼠标点击方框，选取要打开的数据。

按图谱类型选择

按时间查找

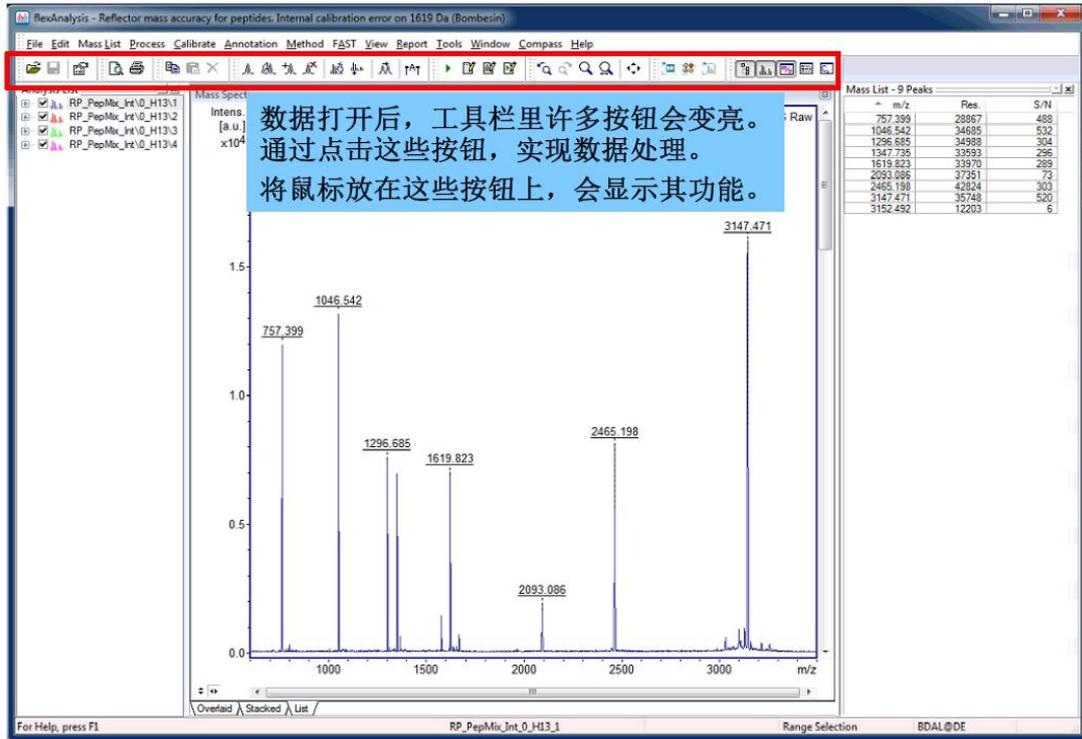
选择打开列表中的所有图谱

选取好数据后，Open按钮会变亮，点击Open，将会打开所有选取好的数据

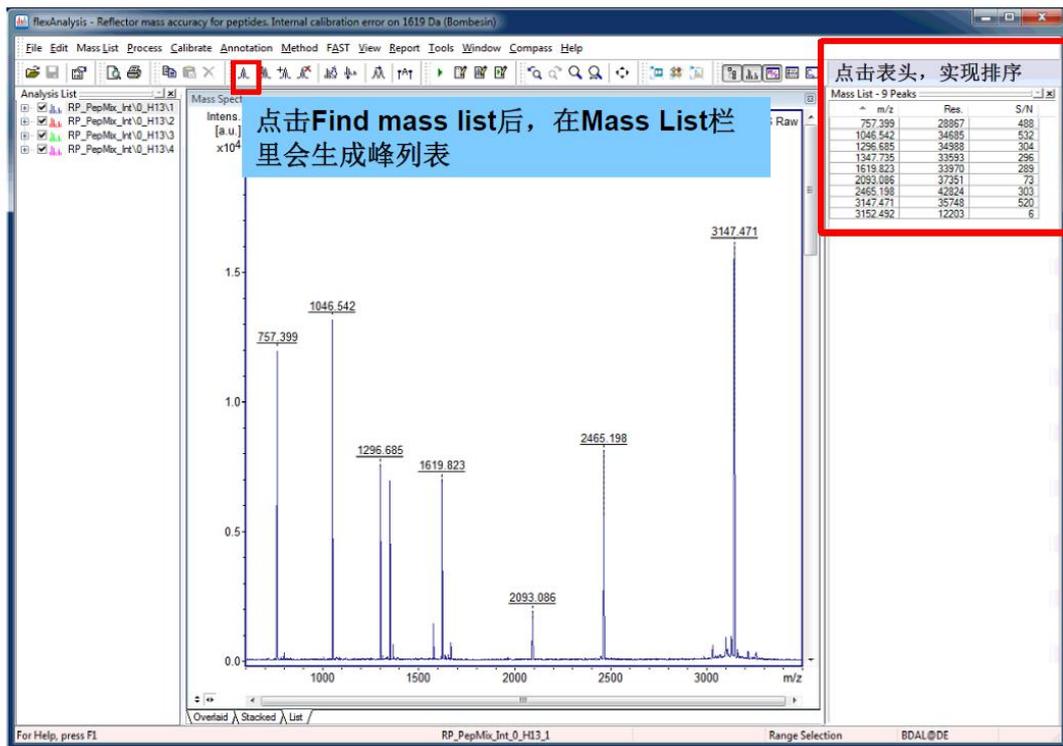


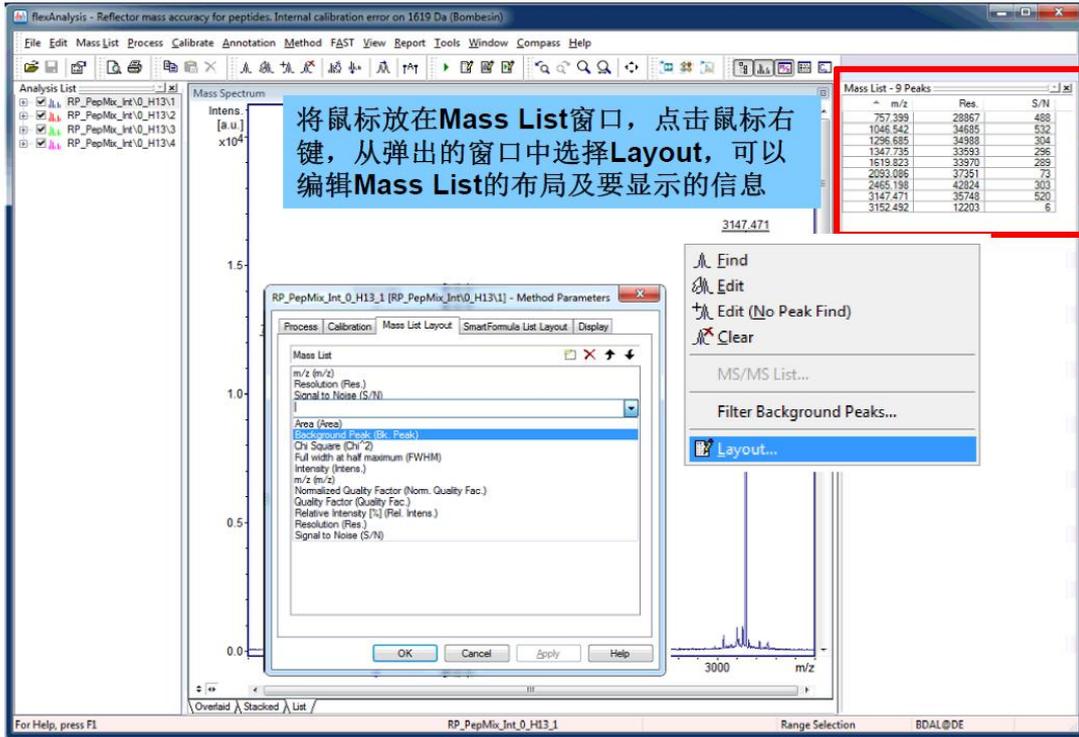
数据打开后，软件自动在第一个打开的数据前打上√，并显示该质谱图。如果要显示其他数据，必须在其前面的口里打上√

| m/z | Res. | S/N |
|----------|-------|-----|
| 757.399 | 28867 | 488 |
| 1046.542 | 34685 | 532 |
| 1296.685 | 34988 | 304 |
| 1347.735 | 33993 | 296 |
| 1619.823 | 33970 | 289 |
| 2093.086 | 37251 | 73 |
| 2465.198 | 42824 | 303 |
| 3147.471 | 35748 | 520 |
| 3152.482 | 12203 | 6 |



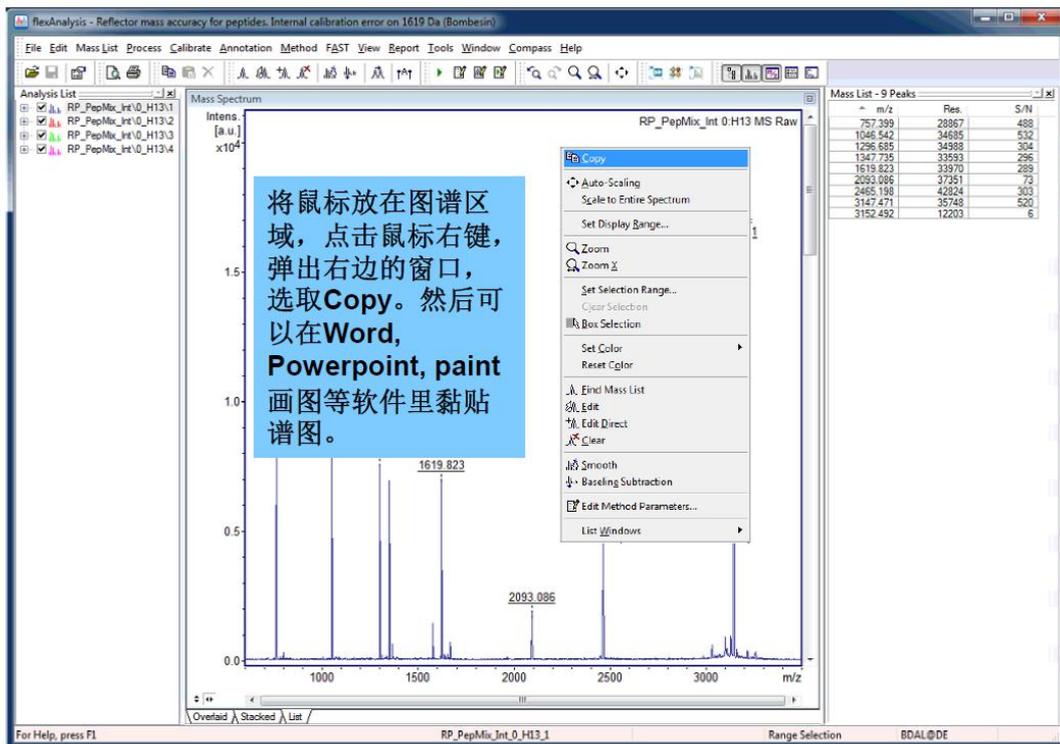
2.2 标峰



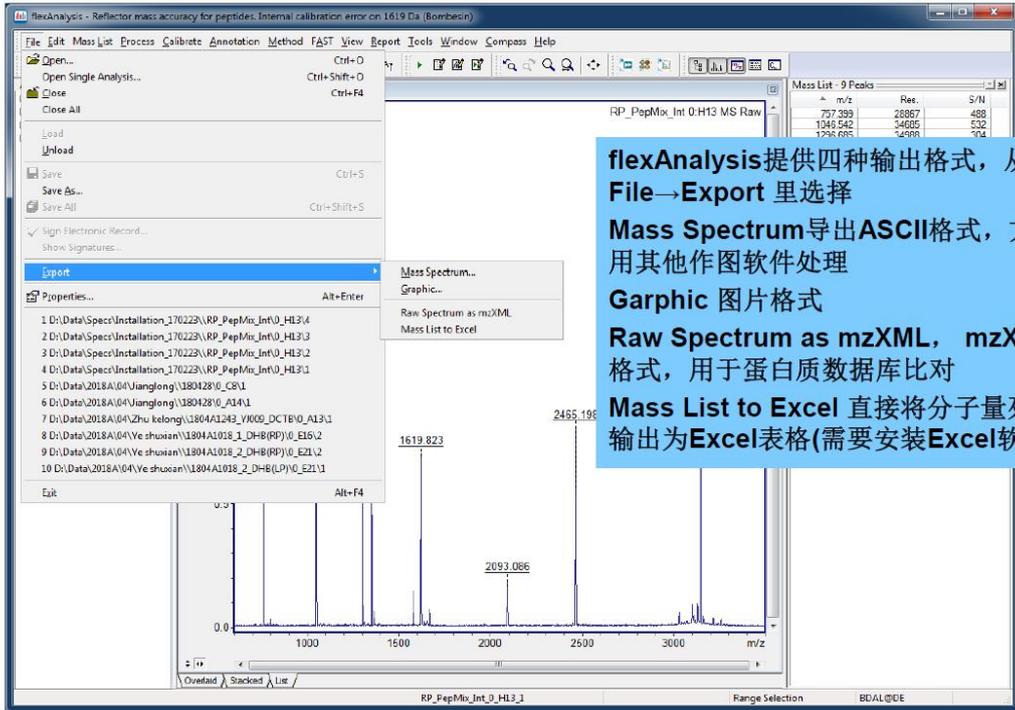


2.3 谱图导出

2.3.1 导出图片



2.3.2 导出文本数据

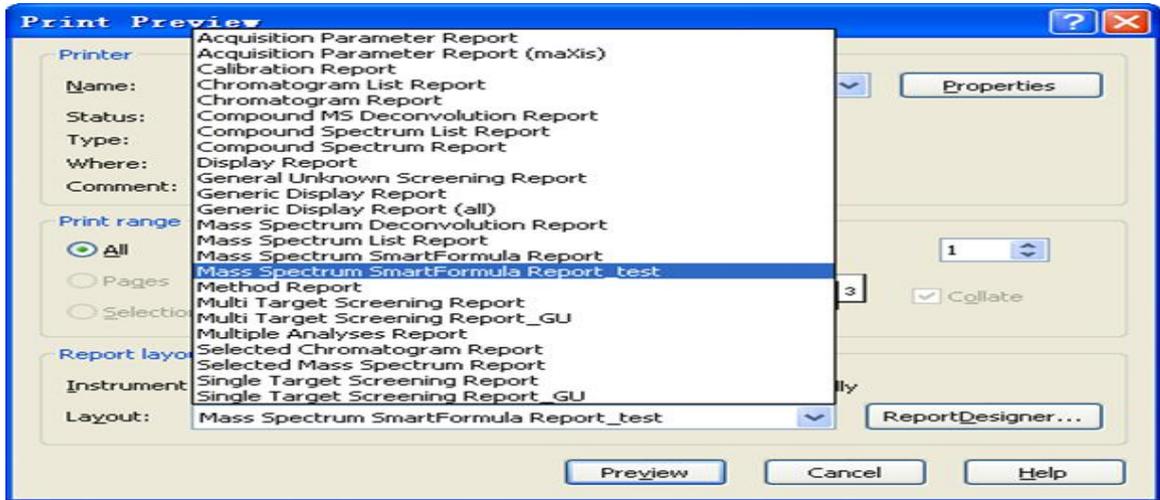


flexAnalysis提供四种输出格式，从File→Export里选择
Mass Spectrum导出ASCII格式，方便用其他作图软件处理
Graphic 图片格式
Raw Spectrum as mzXML, mzXML 格式，用于蛋白质数据库比对
Mass List to Excel 直接将分子量列表输出为Excel表格(需要安装Excel软件)

11

2.4 打印

选择适合的报告格式>预览>打印。

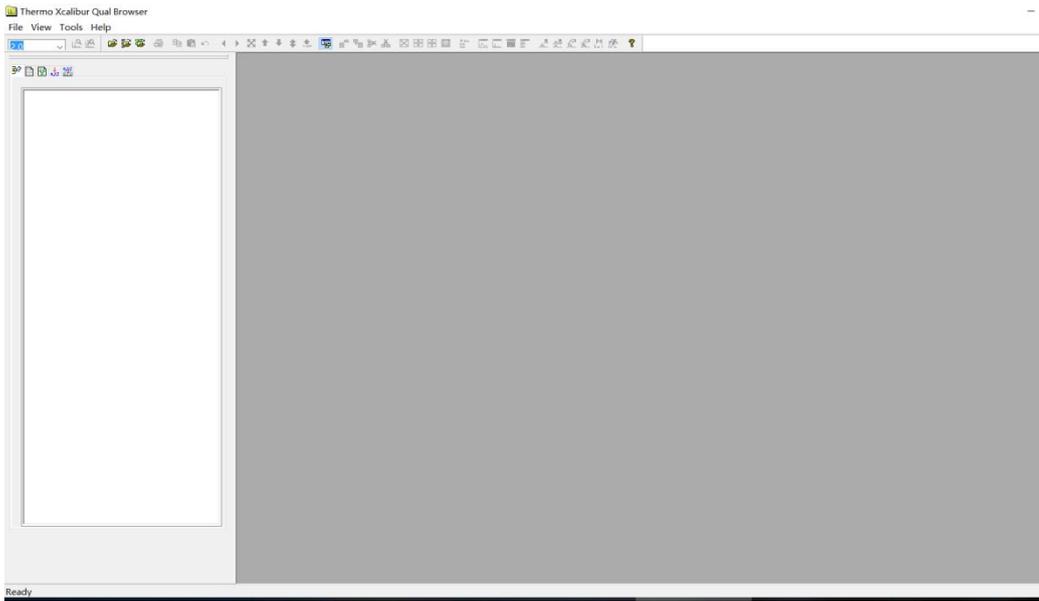


仪器三、Orbitrap Fusion Lumos型液质联用质谱仪

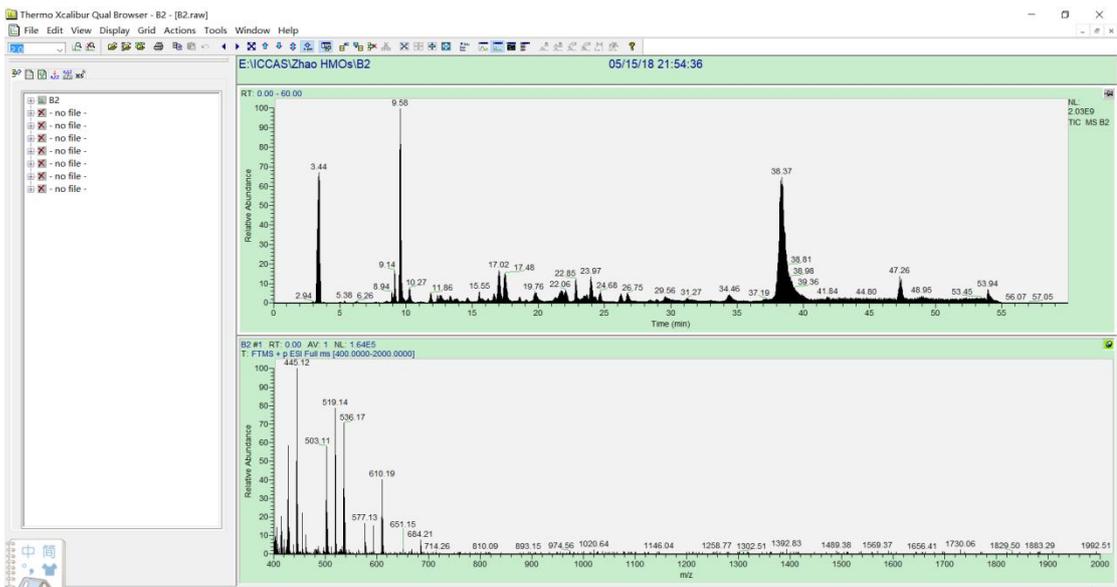
3.1 打开Xcalibur，显示如下界面：



3.2 点击Qual Browser 。

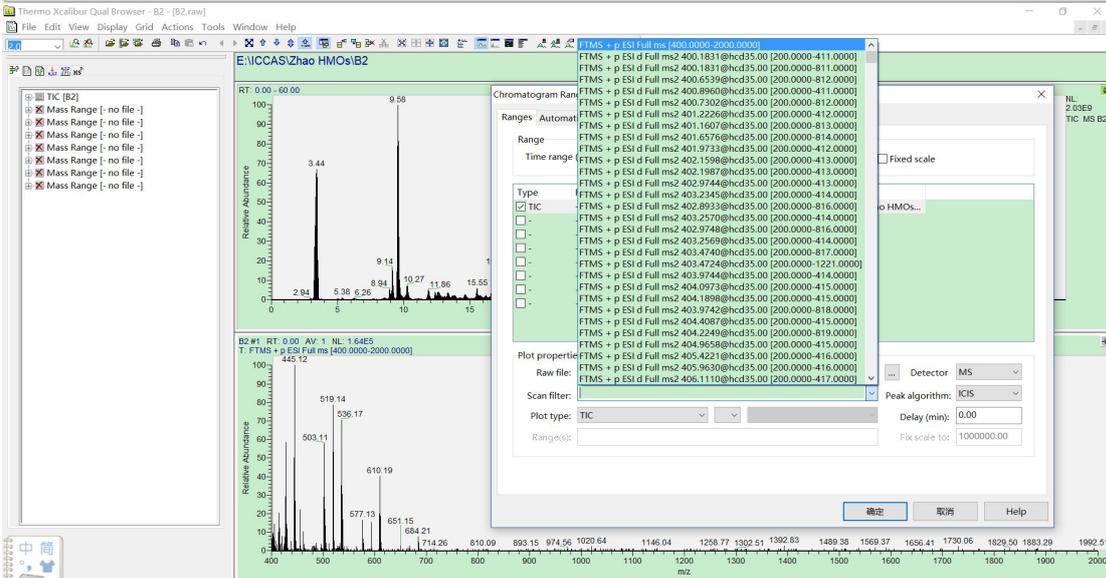
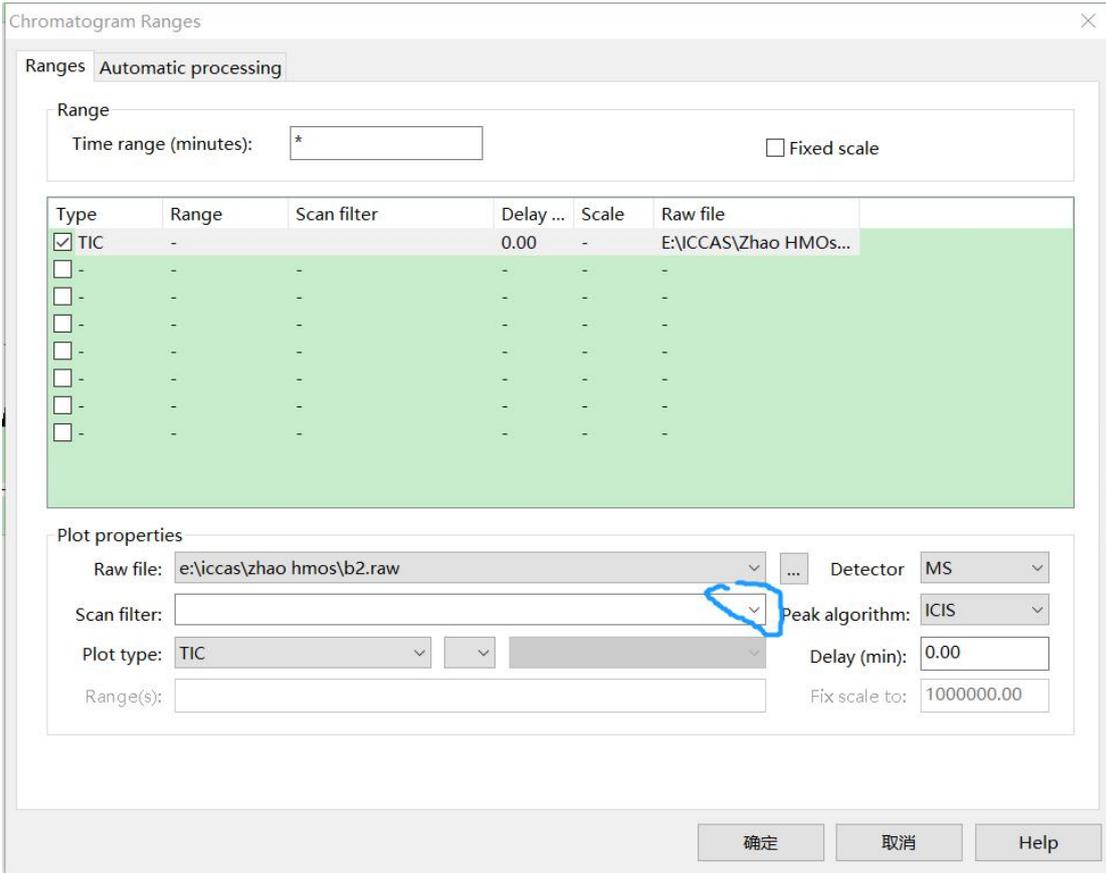


选择左上角打开 ，在相应文件夹中选择数据文件(raw格式)。

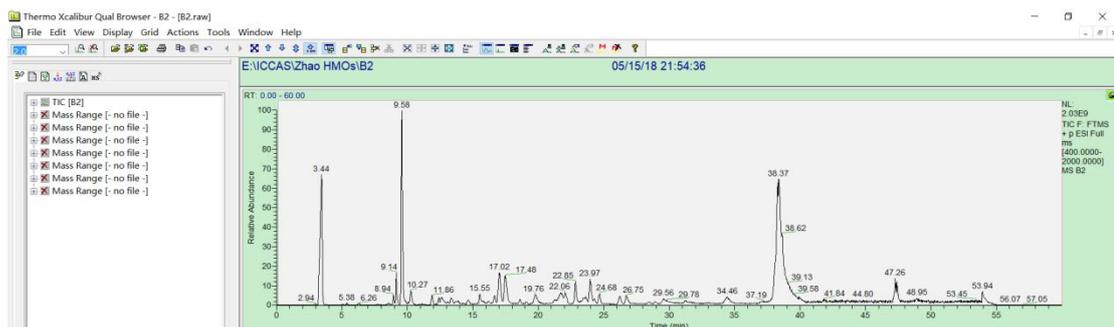


打开后得到的谱图如上图，谱图分为色谱图(上)和质谱图(下)，左边工具条为化合物元素组成模拟。如果所做测试带有二级质谱测试(MS2)，则色谱图如上图，需进行如下设置：

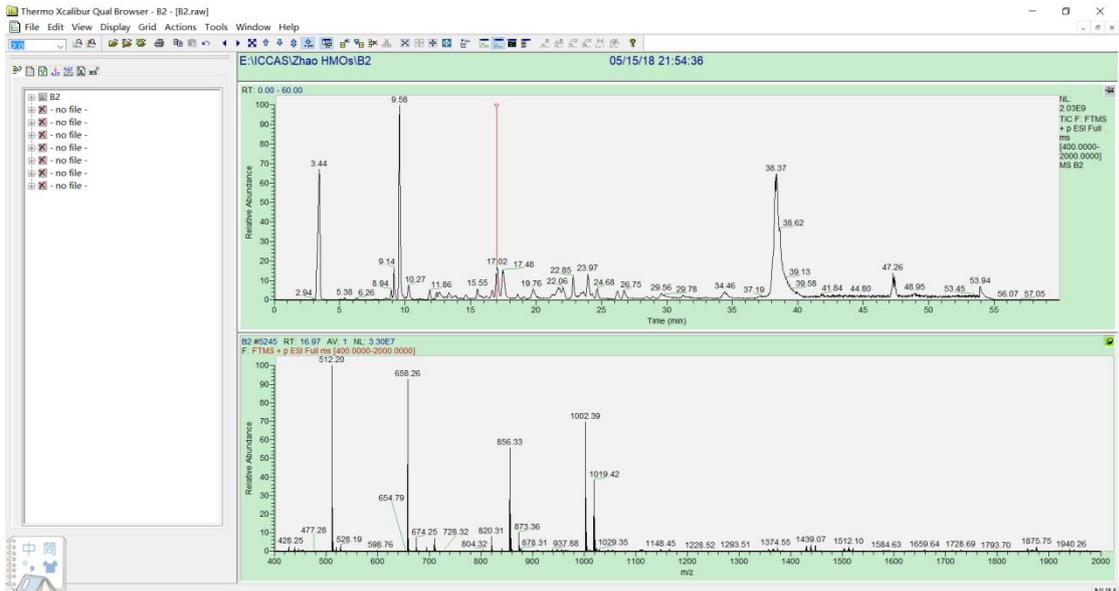
- (1) 激活色谱图 ，在色谱图上点击右键并选择 ranges。



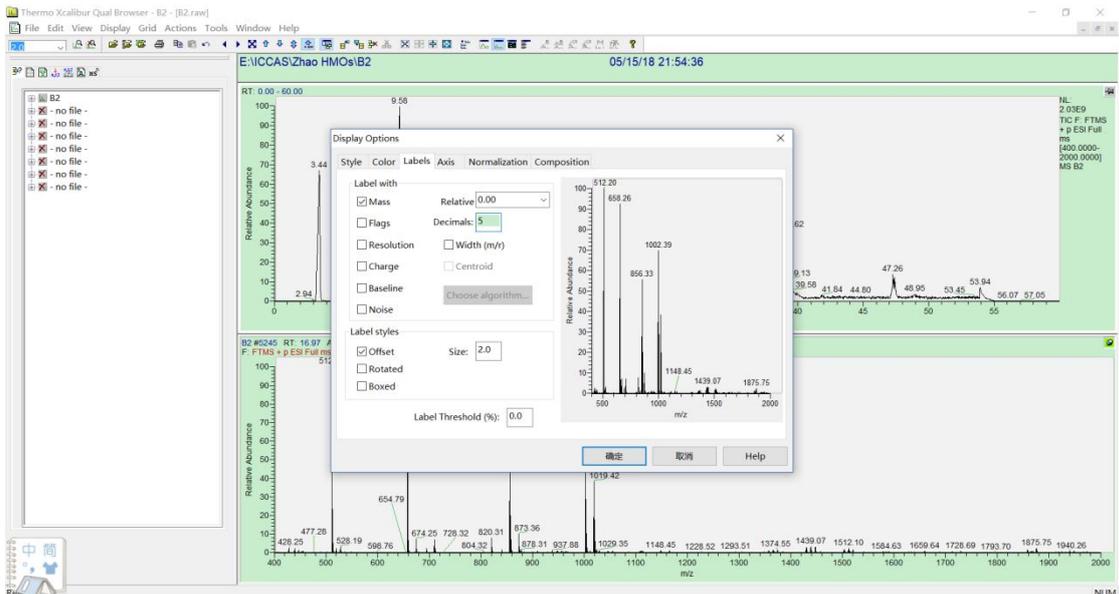
选择上面选项(full ms), (@hcd代表二级数据)。色谱图会变为下图:



激活质谱图，用鼠标左键在色谱图上点击即可选择不同保留时间对应的质谱图。

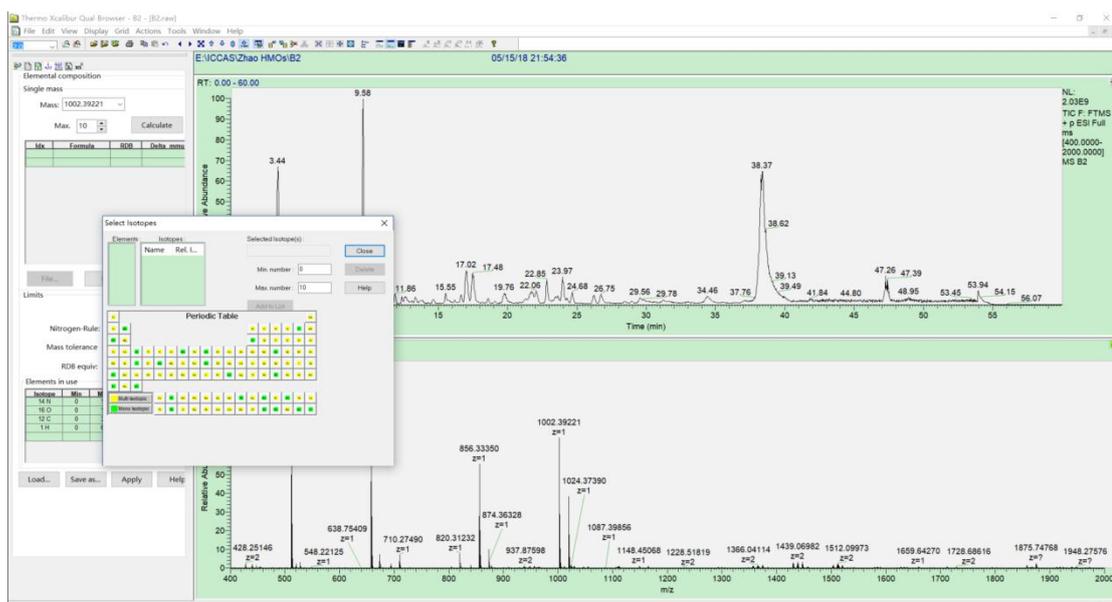


如需改变质谱图中质量数的显示位数，则在质谱图激活的情况下，空白处点击右键-display options-label-decimal-（输入位数）。



3.3 用精确分子量对化合物的元素组成进行计算

在需要进行计算的峰(质谱图)上点右键-generate formula from mass会在左边窗口显示搜索的结果：



Single mass

Mass:

Max.

| Idx | Formula | RDB | Delta mmu |
|-----|---|------|-----------|
| 1 | C ₅₇ H ₅₆ O ₁₂ N ₅ | 32.5 | 0.212 |
| 2 | C ₄₃ H ₅₈ O ₁₈ N ₁₀ | 20.0 | -0.296 |
| 3 | C ₄₄ H ₆₄ O ₂₃ N ₃ | 14.5 | -0.301 |
| 4 | C ₇₂ H ₅₀ O ₂ N ₄ | 50.0 | -0.618 |
| 5 | C ₇₁ H ₅₄ O ₆ | 45.0 | 0.719 |
| 6 | C ₇₀ H ₄₈ O ₇ N ₇ | 50.5 | 0.724 |
| 7 | C ₃₀ H ₆₆ O ₂₉ N ₈ | 2.0 | -0.809 |
| 8 | C ₄₂ H ₆₂ O ₂₂ N ₆ | 15.0 | 1.041 |
| 9 | C ₅₈ H ₅₂ O ₈ N ₉ | 37.5 | -1.126 |
| 10 | C ₅₉ H ₅₈ O ₁₃ N ₂ | 32.0 | -1.131 |

Limits

Charge:

Nitrogen-Rule:

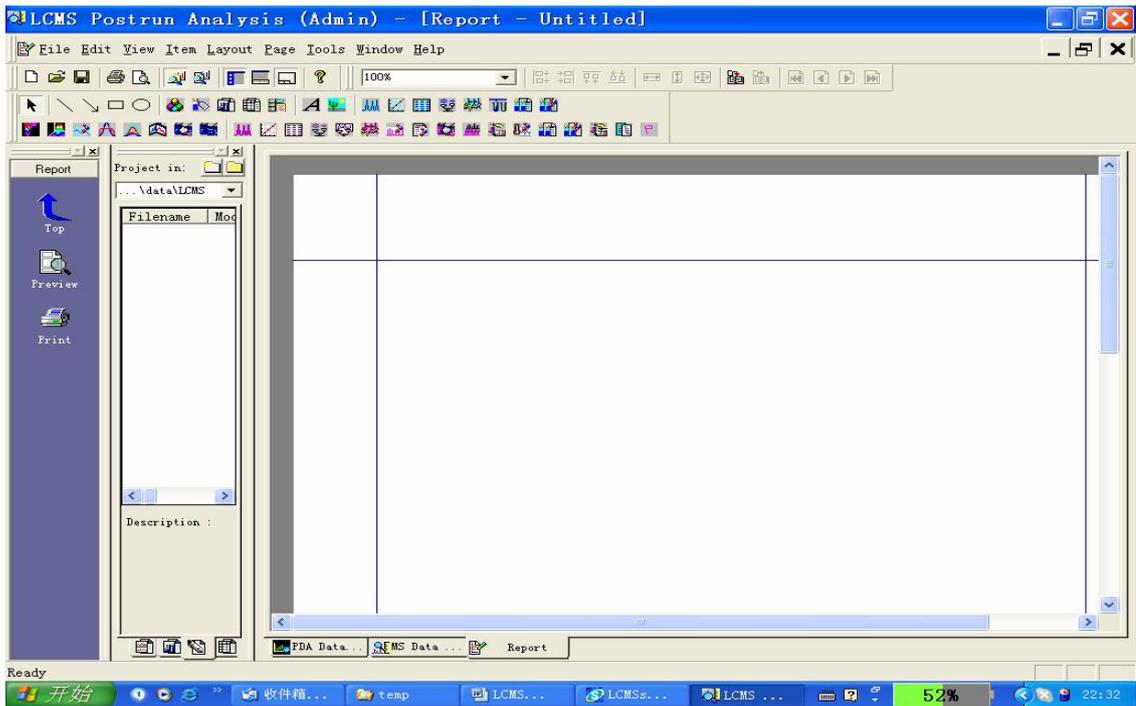
Mass tolerance

RDB equiv:

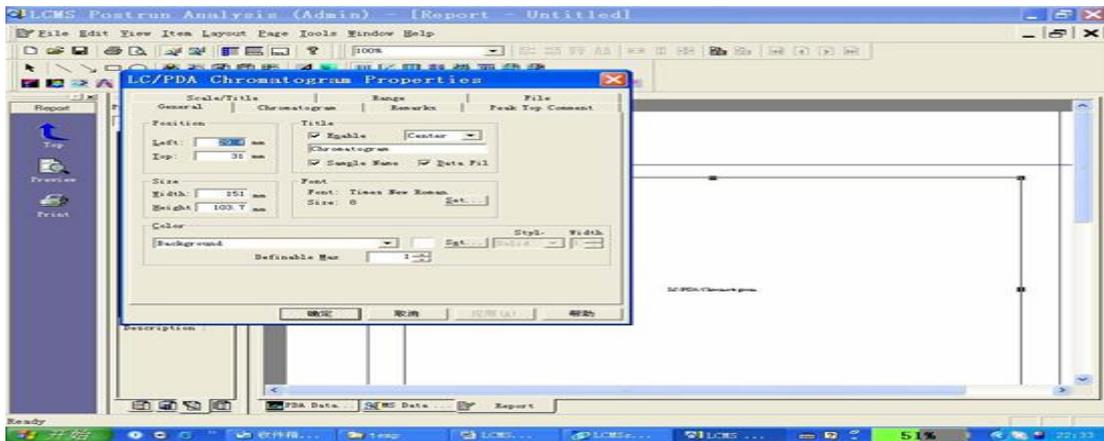
重新设置后可获得相应的分子组成表，其中Delta表示理论值和实测值之间偏差，越小越准确(可以通过masstolerance调节偏差的单位，常用为ppm)。Charge表示化合物所带电荷数，根据实际情况进行更换。

仪器四、 LC-MS2010型液质联用质谱仪

4.1 点击Report Format进入界面



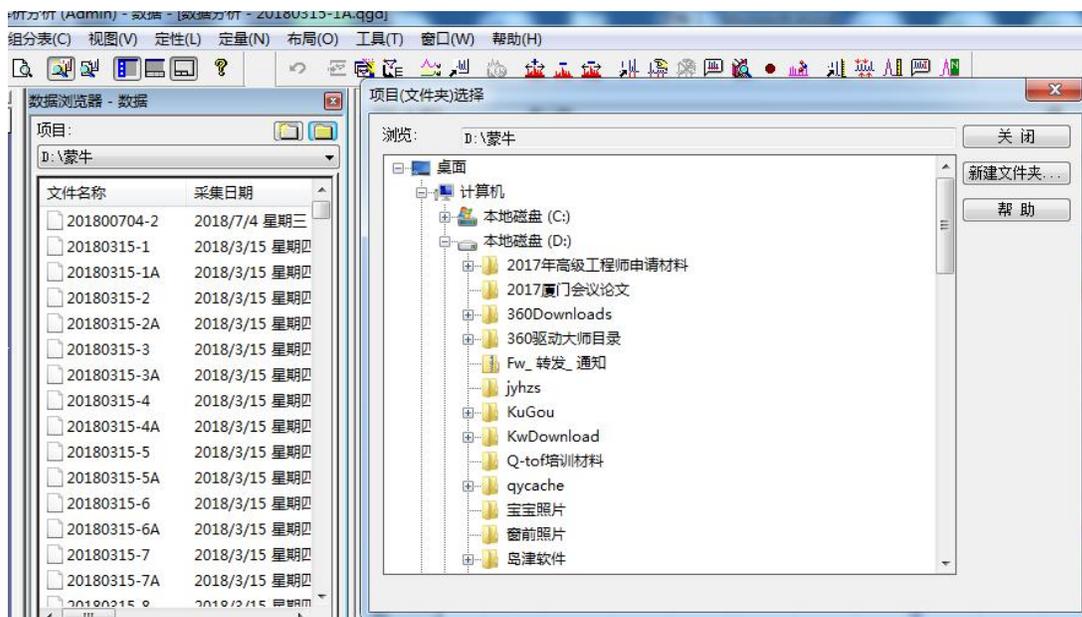
4.2 点击菜单 Item 选项，有 Common, General, LC/PDA Common, PDA, MS Items, Figure 等,根据需要选中后在报告模板中拉出一框进行设定。



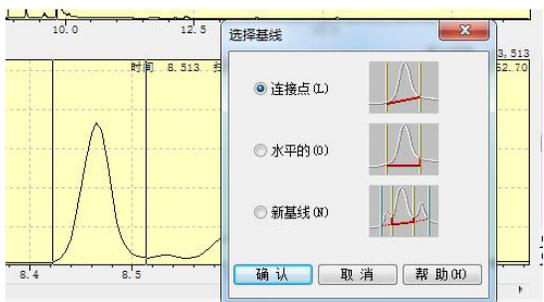
仪器五、 GCMS-QP2010 Ultra型及GCMS-QP2010型气质联用质谱仪

5.1 目前 GCMS 气相色谱质谱联用仪主要用于半定量分析小分子混合物样品，测试数据也采用半定量处理方式。

5.2 单机图标  打开 GCMS 数据分析软件，在项目一栏中打开存有数据的文件夹，在目录中找到相应的文件，左键双击文件名即可打开文件。



5.3 用手动积分法积分被处理数据的色谱图。左键单机图标  后，鼠标光标在色谱图对话框内变为一条竖线，用鼠标将这条竖线移动到要积分的色谱峰左边峰底，按住鼠标左键拖动光标至色谱峰右边峰底，松开鼠标左键此时弹出对话框

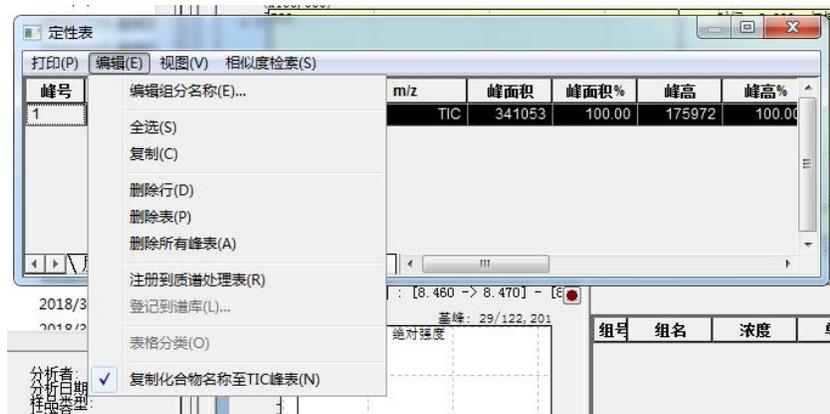


根据具体情况选取相应的积分模式，然后单击确定积分色谱峰。重复此项操作直到将所有色谱峰全部积分完毕。

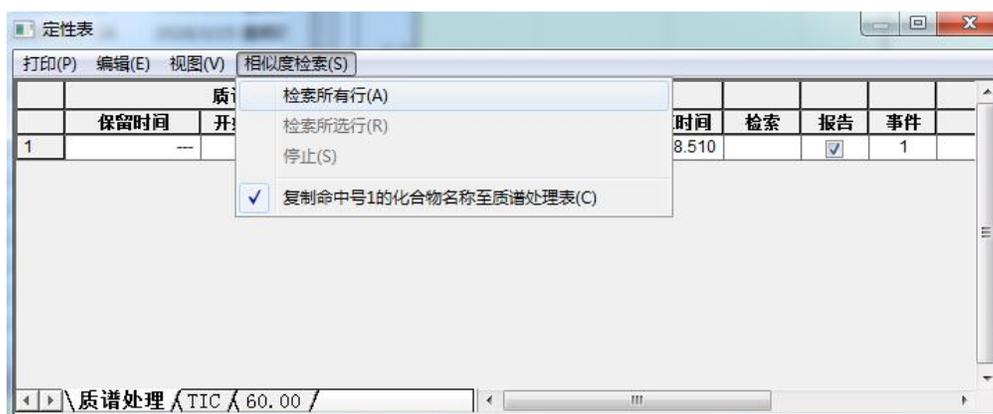
5.4 单击左边快捷键栏中的定性表图标，弹出定性表对话框。在定性表对话框下边单击 TIC 选项，此时对话框中显示的就是刚刚手动积分的色谱峰信息。



用鼠标左键单击左上角“峰号”将所有色谱峰积分信息选定。接着单击表头项目栏中的编辑选项并单击注册到质谱处理表。这时所有被积分的色谱峰信息全部被发送到质谱处理表中。



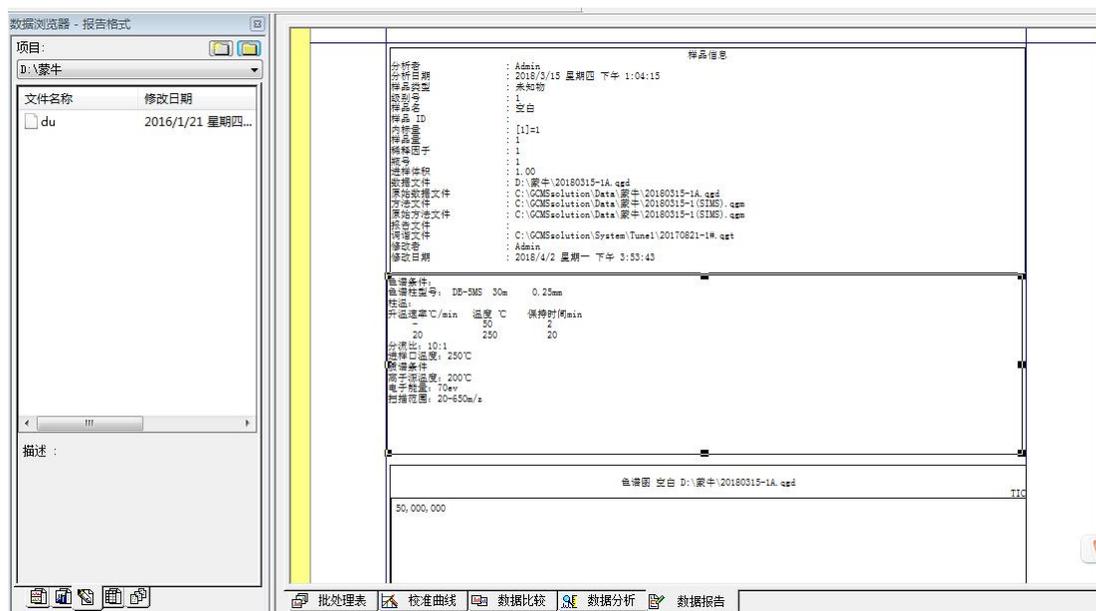
5.5 在定性表最下面一行选项中单击“质谱处理”选项，此时定性表中显示所有被分析的色谱峰所对应的质谱图数据。单击表格“左上角”选定所有数据，然后单击表格最上面一行中的相似度检索选项中的检索所有行。



此时即对每个色谱峰所对应的化合物进行标准谱库检索。检索完毕后，关掉此对话框。

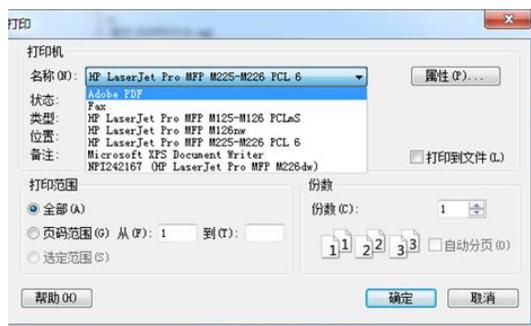
5.6 单击定性对话框中报告图标 。此时软件会转到数据报告界面，双

击左边项目栏中的数据报告模板，此时数据报告栏中弹出相应的数据报告。



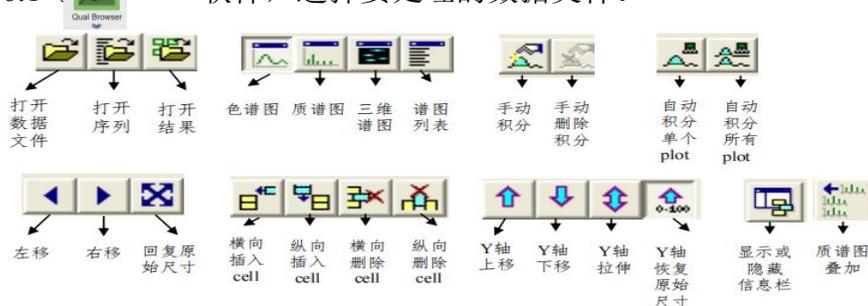
如果，数据报告中有排版不美观或者有错误的地方可以用鼠标直接双击报告中的相应栏目弹出编辑对话框，对该对话框进行重新编辑修改。

5.7 报告编辑完成后，单击文件中的打印选项进行打印操作。如果，想得到 PDF 格式的电子版数据，则需要在打印机选项中选取 Adobe PDF 选项，就可以将数据直接打印成 PDF 文本文件了。

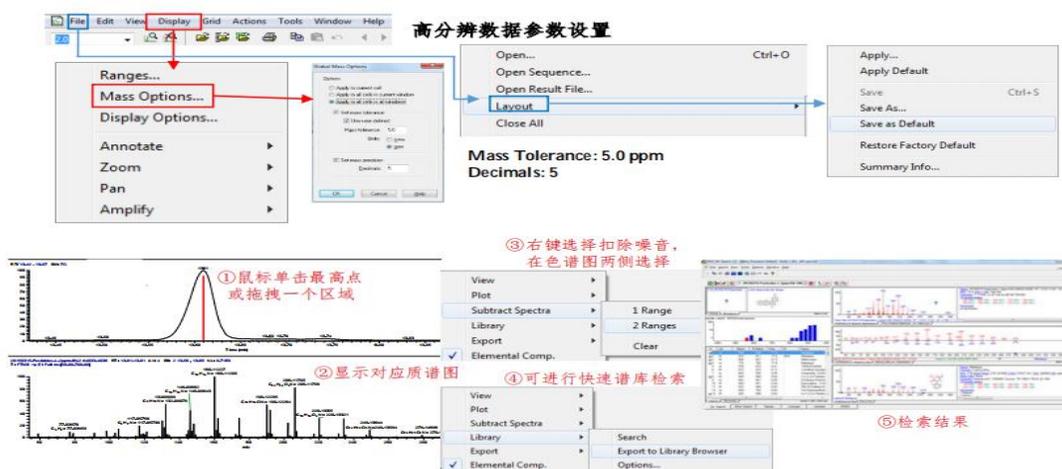


仪器六、Exactive GC 高分辨气质联用仪

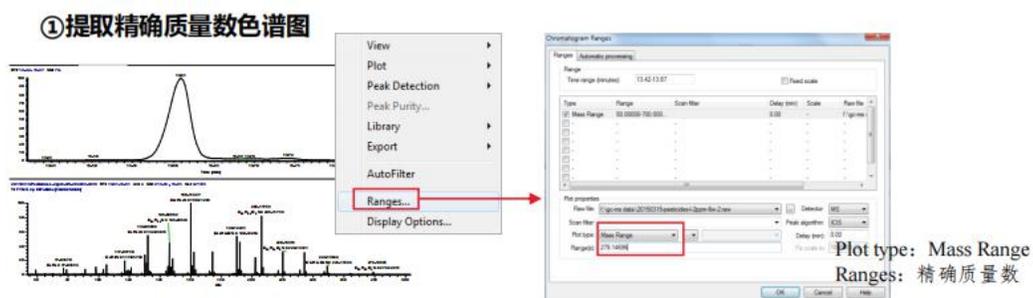
6.1 :  软件，选择要处理的数据文件。



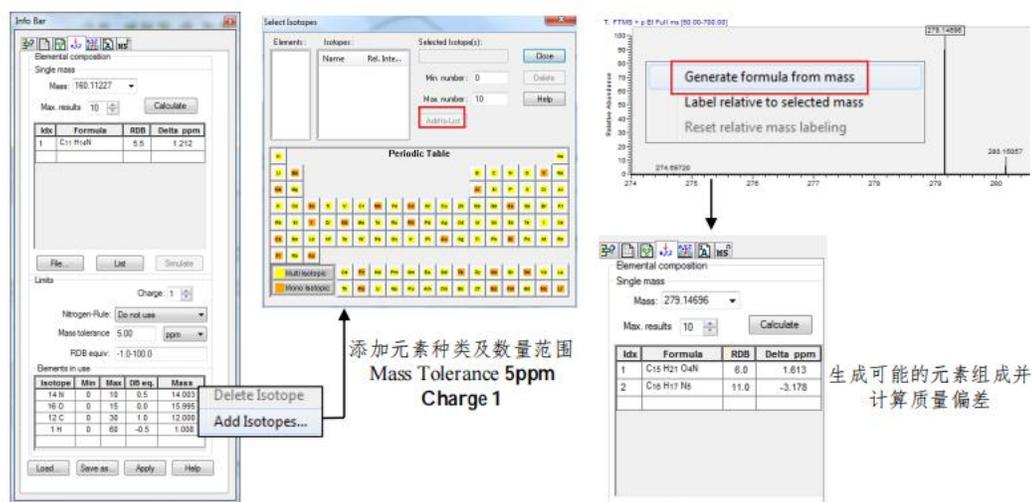
6.2 鼠标单击 TIC 最高点或拖拽一个区域，右键选 Subtract Spectra 扣除噪音，得到对应质谱图，右键选 Library 可以进行快速的库检索。



6.3 右键点击 Ranges，选择 Mass Range，输入精确质量数，可以提取精确质量数色谱图。



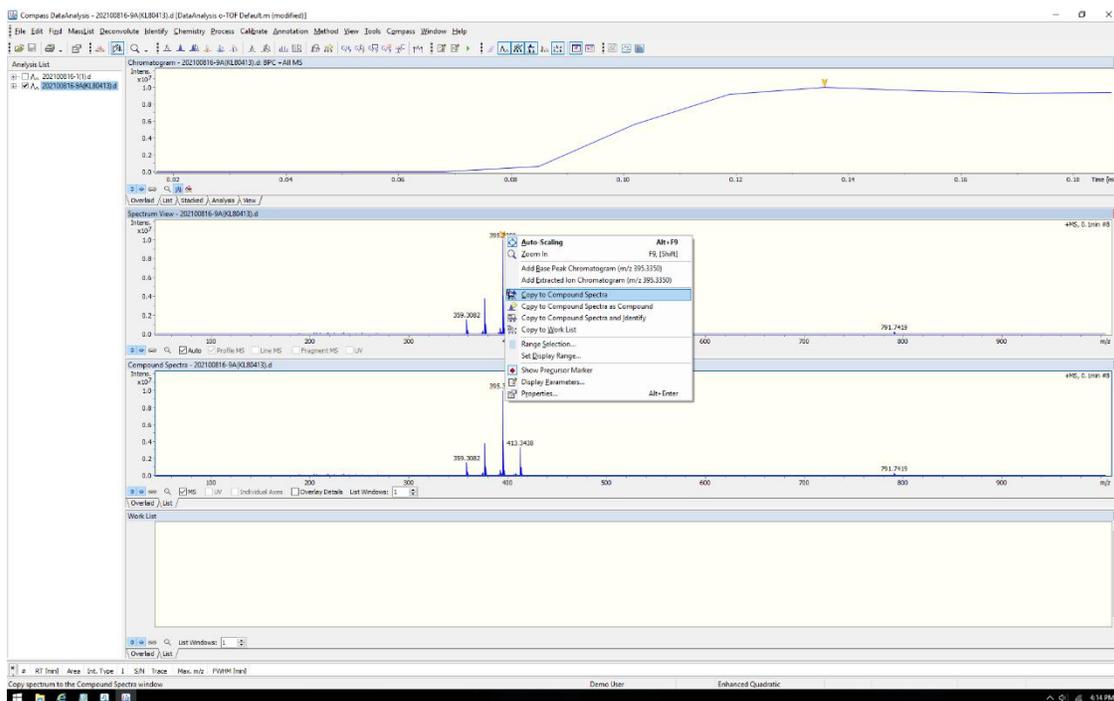
6.4 选择质谱图中任意精确质量数，右键点击 Generate formula from mass 可以推导出分子离子或者碎片离子元素组成。



仪器七、 Bruker Q-TOF 质谱仪

7.1 双击 DataAnalysis 软件，打开要处理的数据文件。

7.2 双击工具栏，单击 TIC 得到对应质谱图，选择 Copy to Compound Spectra，进行质谱图编辑。



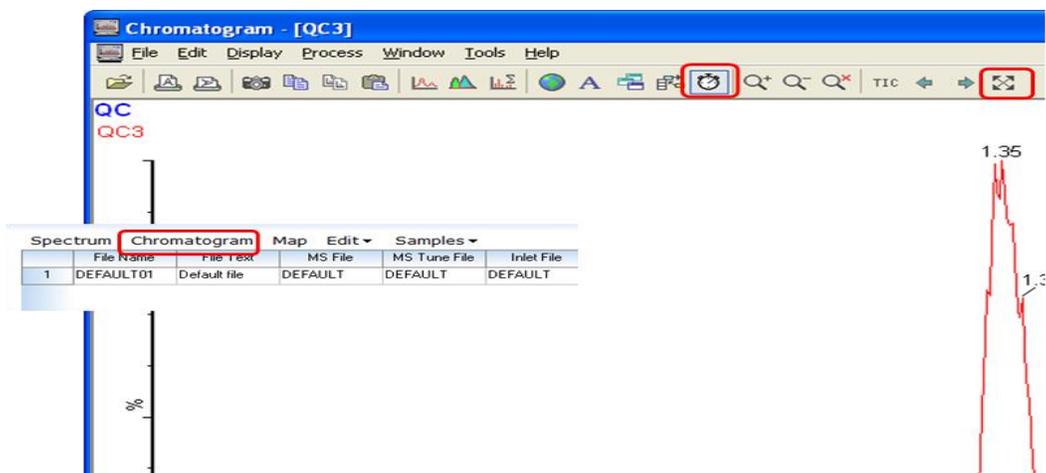
7.3 选定图谱，选择 <SmartFormula Manually>，计算某一指定质量 (m/z) 峰的分子式，得到对应 m/z 化合物的准确分子组成。

7.4 点击 file 中 print 打印谱图。

仪器八、 Xevo TQ-GC三重四级杆型高灵敏度气质联用仪

8.1 查看实时色谱和质谱分析数据

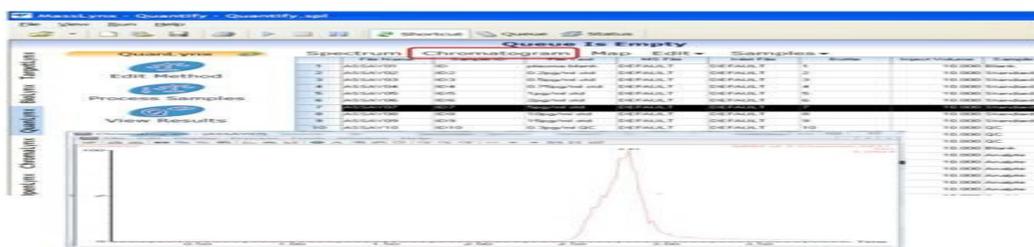
用左键在Sample list中选中正在运行的样品行，然后单击“chromatogram”，显示实时检测的色谱图。



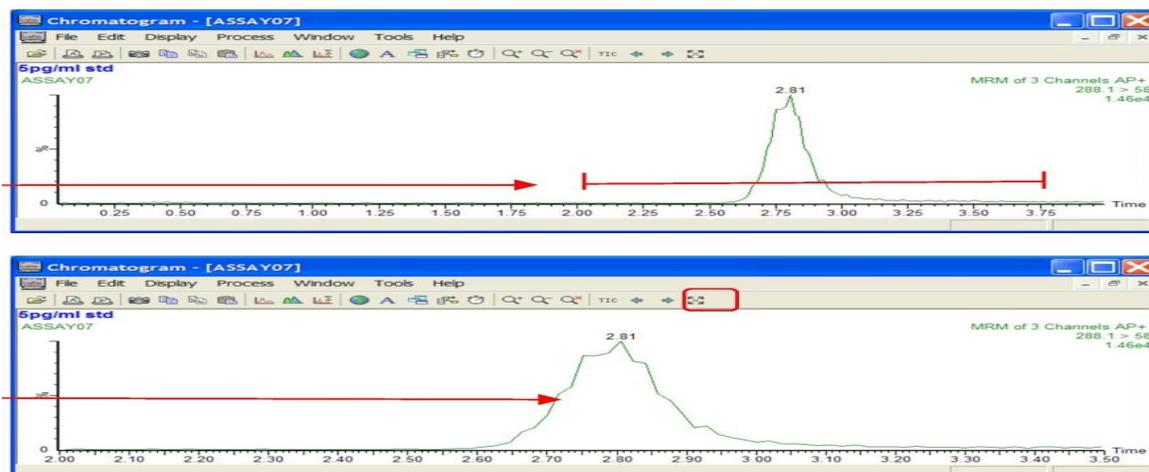
在色谱图中双击左键会显示实时运行的质谱图。

8.2 处理分析数据

8.2.1 在样品表中，选中要打开的色谱图，可以单选也可以多选，然后单击 Chromatogram 显示色谱图。

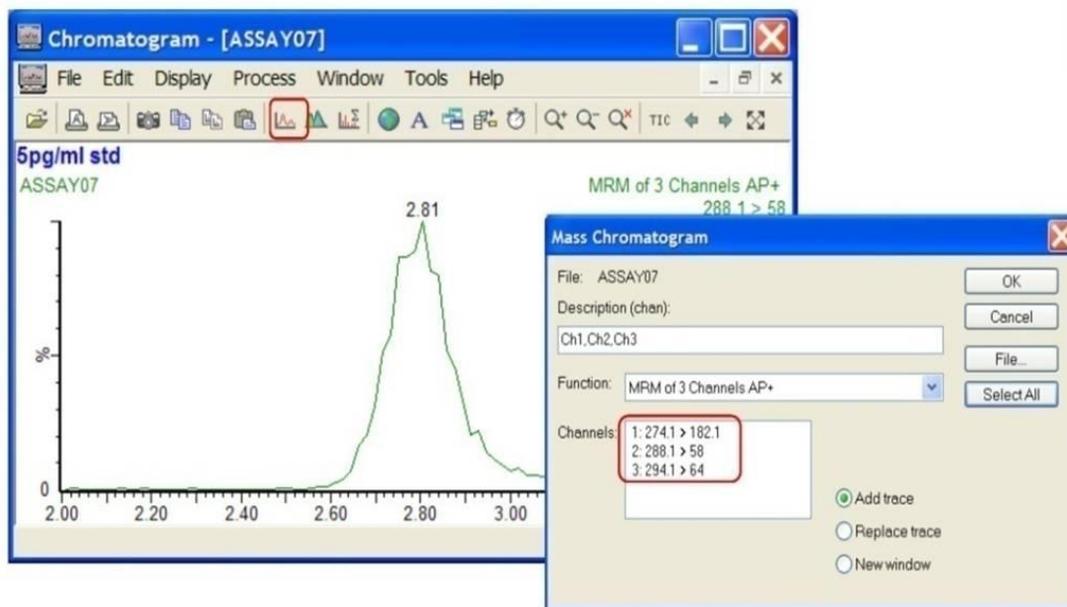


8.2.2 放大、缩小色谱图，按住左键拖动鼠标-放大恢复到原始范围。



8.2.3 提取质量色谱图。

提取质量色谱图，菜单栏 > Display > M a s s 出现质量色谱图窗口，单击 Select All > OK，所有质量色谱图将会显示；或双击欲显示的离子通道。



8.2.4 删除一个色谱图

单击要删除的色谱图，确保图的左侧有一个彩色的小方块（Figure 1），按 Delete 键，单击 Yes，就可将其删除（Figure 2）

8.2.5 显示不同项目下的色谱图

首先打开一张色谱图，File > Open，从文件名列表中选择欲打开的色谱图，单击 Add，点击 OK。

8.2.6 纵轴关联，重叠

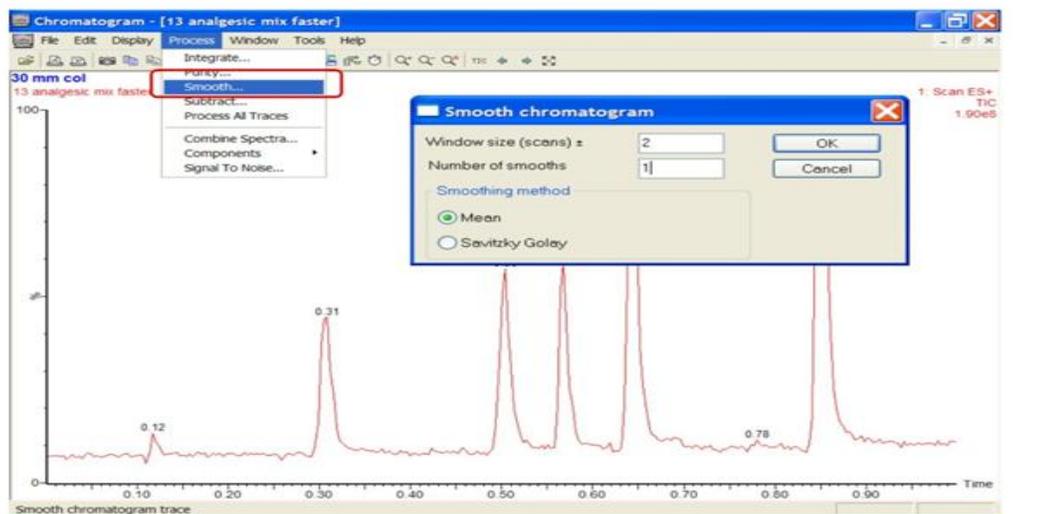
菜单栏>Display>view>勾选 Overlay graphs，不勾 link vertical axes，所有色谱图会重叠，但纵轴不关联。菜单栏>Display>view>勾选 Overlay graphs 和 link vertical axes，所有色谱图会重叠，纵轴关联。

8.2.7 色谱图窗口添加文字

在工具栏单击 A，鼠标左键在色谱窗口中空白区域单击一下，出现 Edit TextString 对话框，在 TEXT 区域输入要输入的内容，在上面部分选择显示方式，

单击 OK。

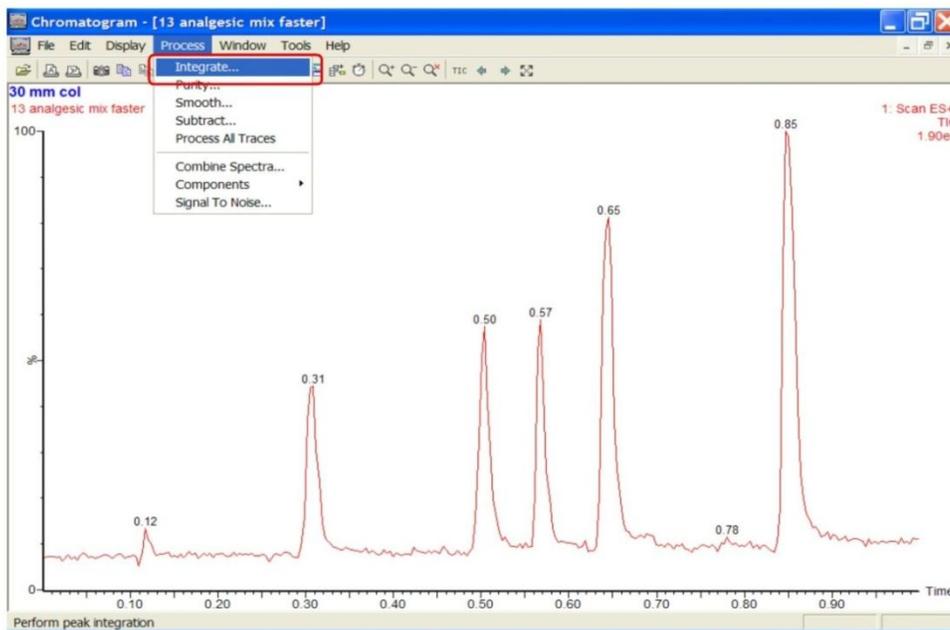
8.2.8 色谱图平滑



选择Process>Smooth，输入平滑参数，单击OK。推荐窗口用2，次数用3。如果平滑效果不佳，可以适当增加次数。

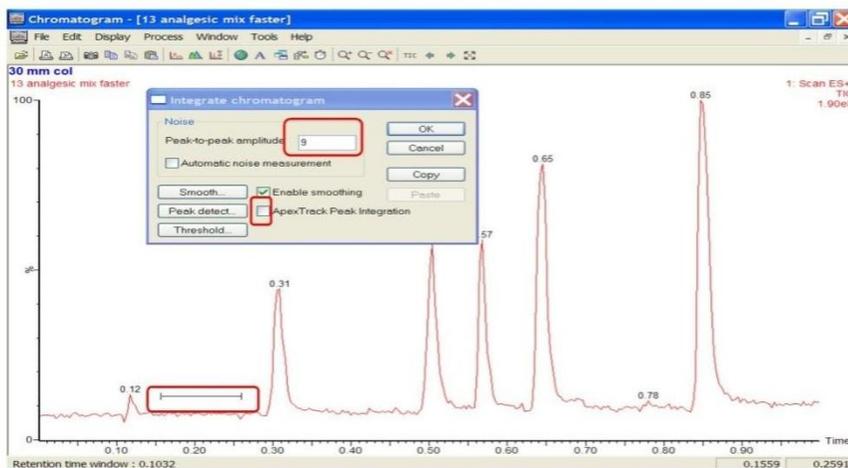
8.2.9 积分方法编辑界面

选择Process>Integrate，进入积分方法编辑界面。MassLynx有两种积分方法：标准积分方法和Apex Track积分方法。色谱峰的积分涉及到计算基线噪音、平滑、峰检测参数、阈值设定。



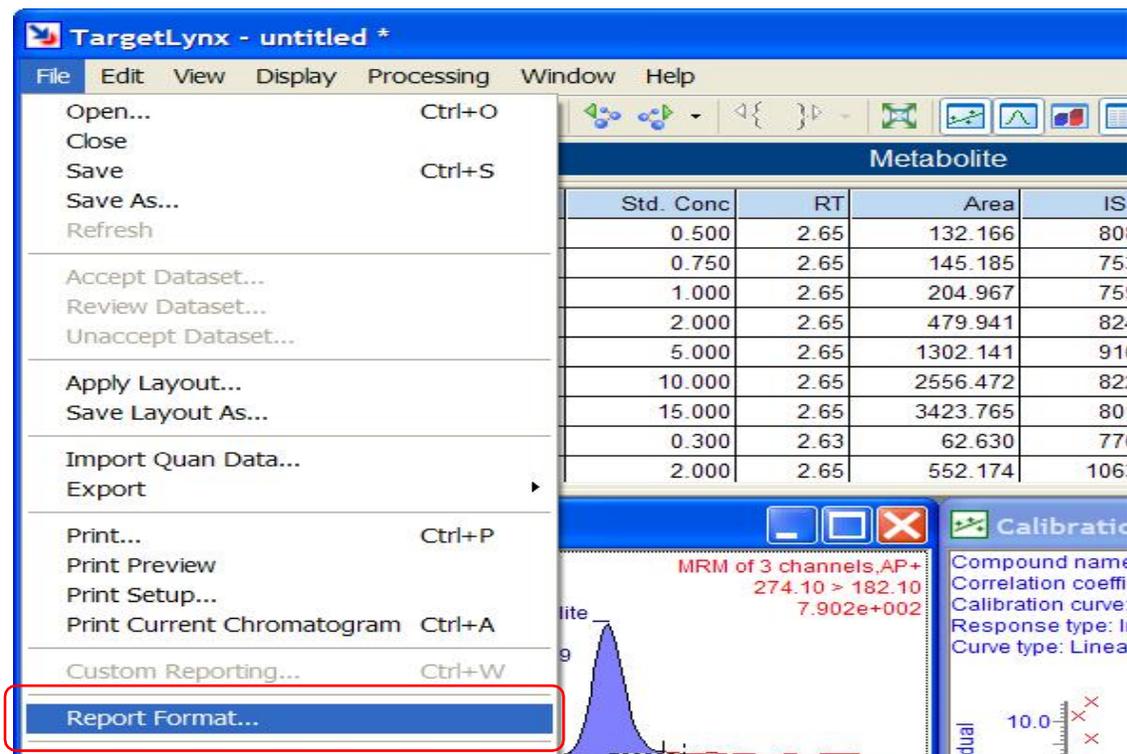
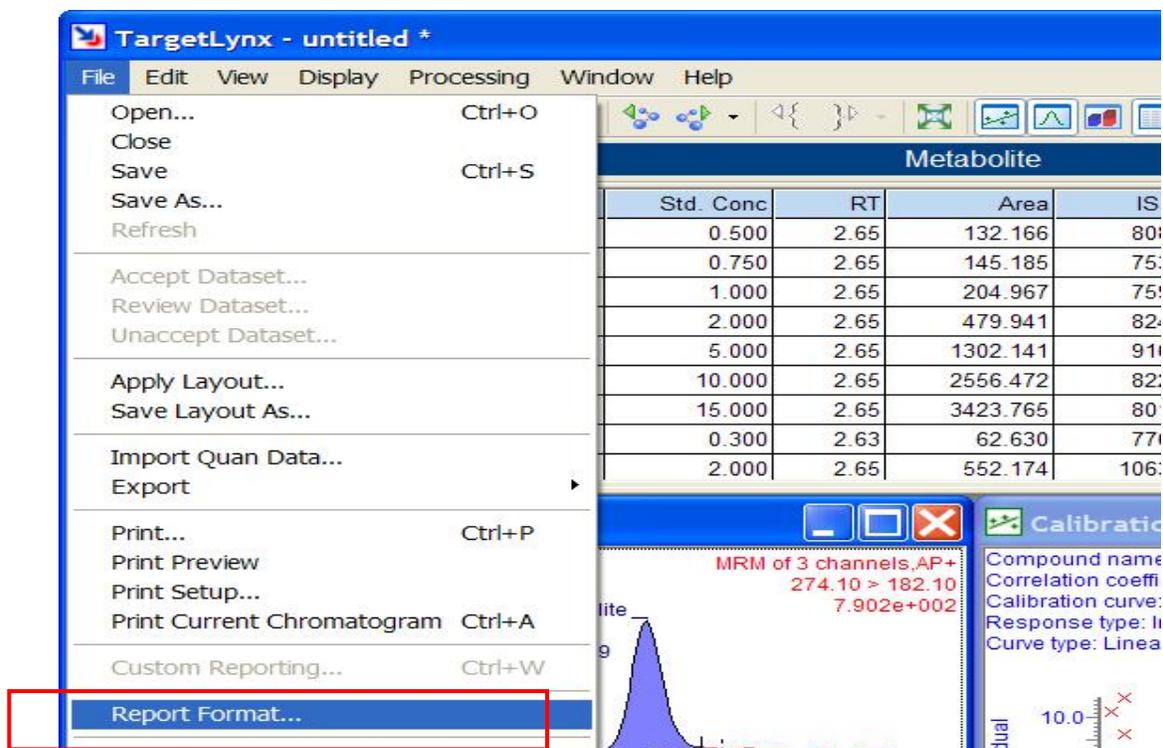
标准积分方法：

如采用标准积分方法，在 Integratechromatogram 窗口中，不勾选 ApexTrackPeakIntegration。Peak-to-peaknoiseamplitude: 可用鼠标的右键在噪音位置拉一段来自动输入，也可以勾选 Automaticnoisemeasurement 让软件自动检测噪音。



8.3 编辑报告

8.3.1 菜单栏选择 File> Report Format 可显示报告模板编辑窗口。



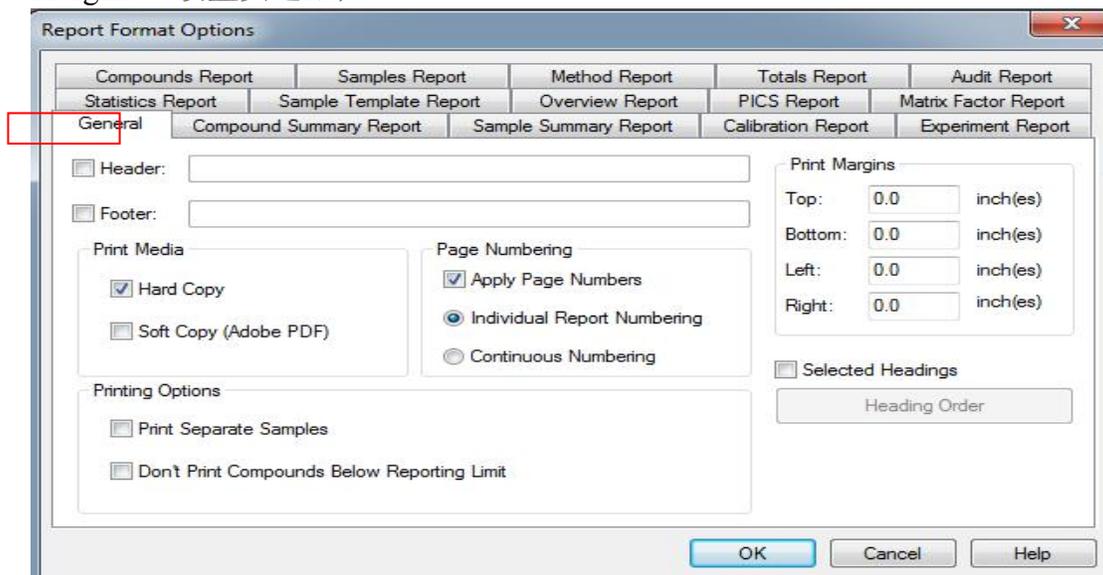
8.3.2 点击 General，编辑报告的通用内容

PageNumbering – 页码；

Header – 页眉，会在每页报告示；

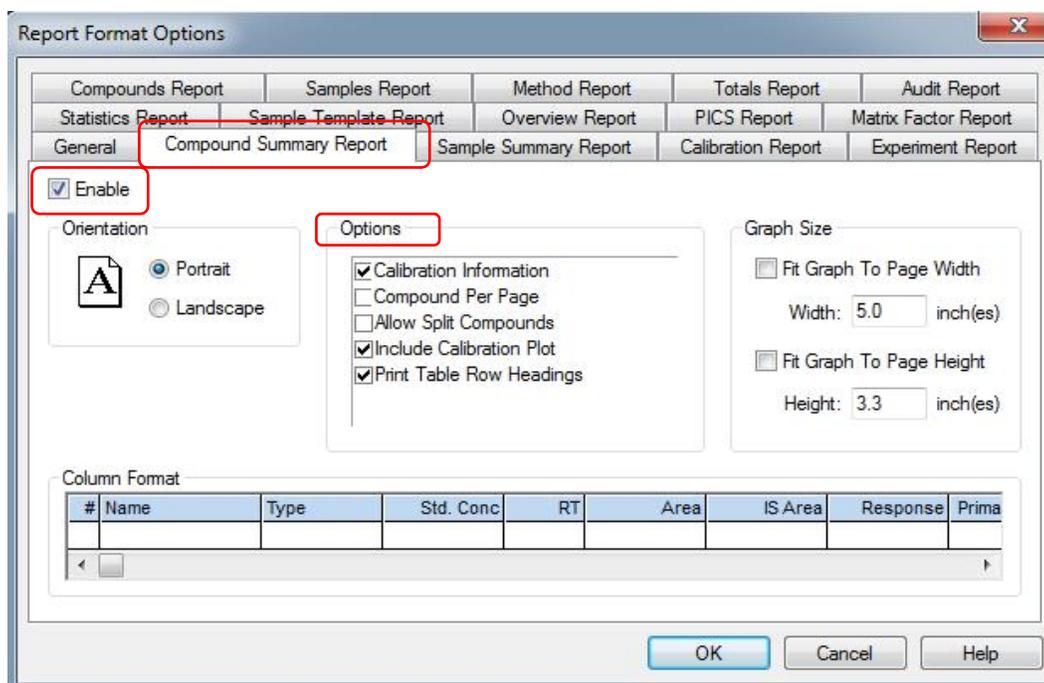
Footer – 页脚，在报告最下内容Print;

Margins – 设置页边距;

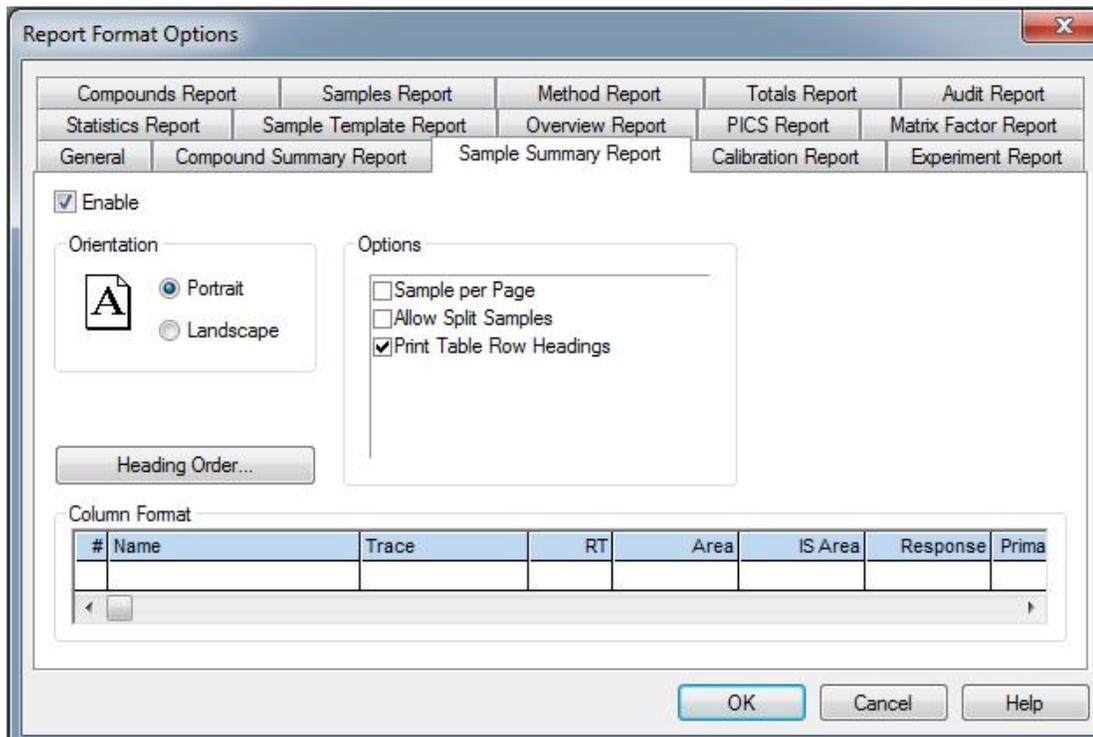


8.3.3 报告模板选项

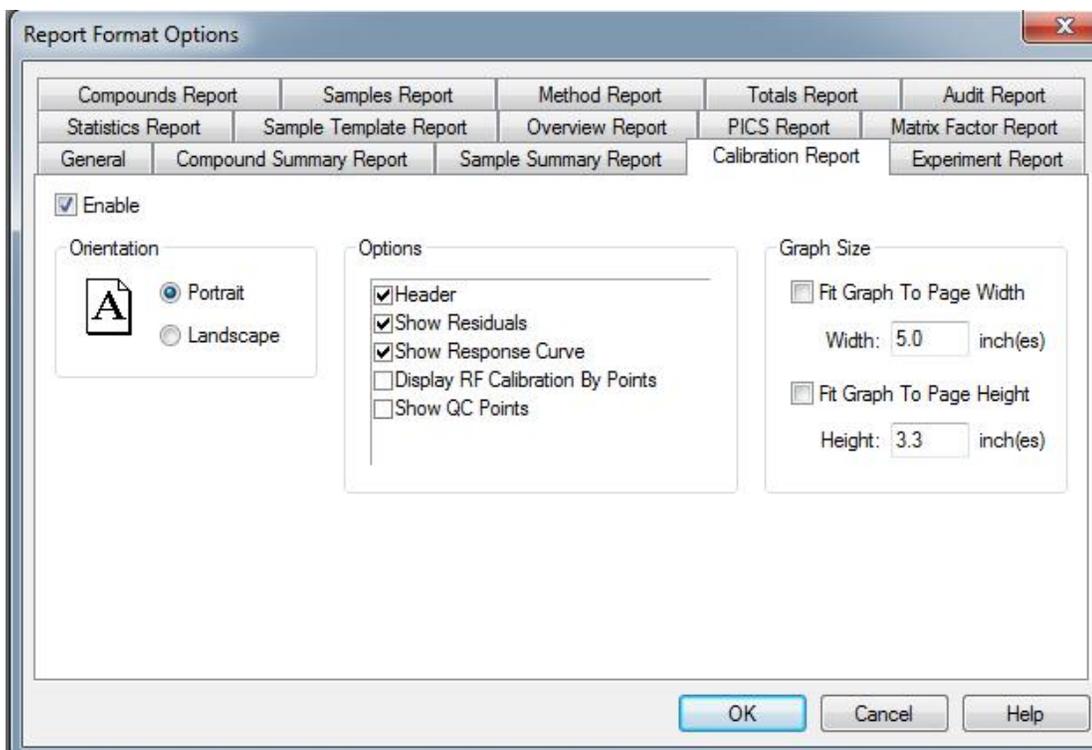
(1) Compound Summary Report-按化合物排列待测物的检测结果Enable –勾选可启用该报告页，否则不启用。Options – 选择需要的项目Calibration Information –引入工作曲线的信息Allow Split Compounds-打印完一个化合物的信息紧接着打印另外一个化合物的信息，而不是新开一页。Column Format-可以编辑，通过change column order 增加或减少列表中的项目，或通过 Edit Column Properties 编辑每一列的显示方式。



(2) Sample Summary Report –按样品排列待测物的检测结果Heading Order-可编辑 title 的内容

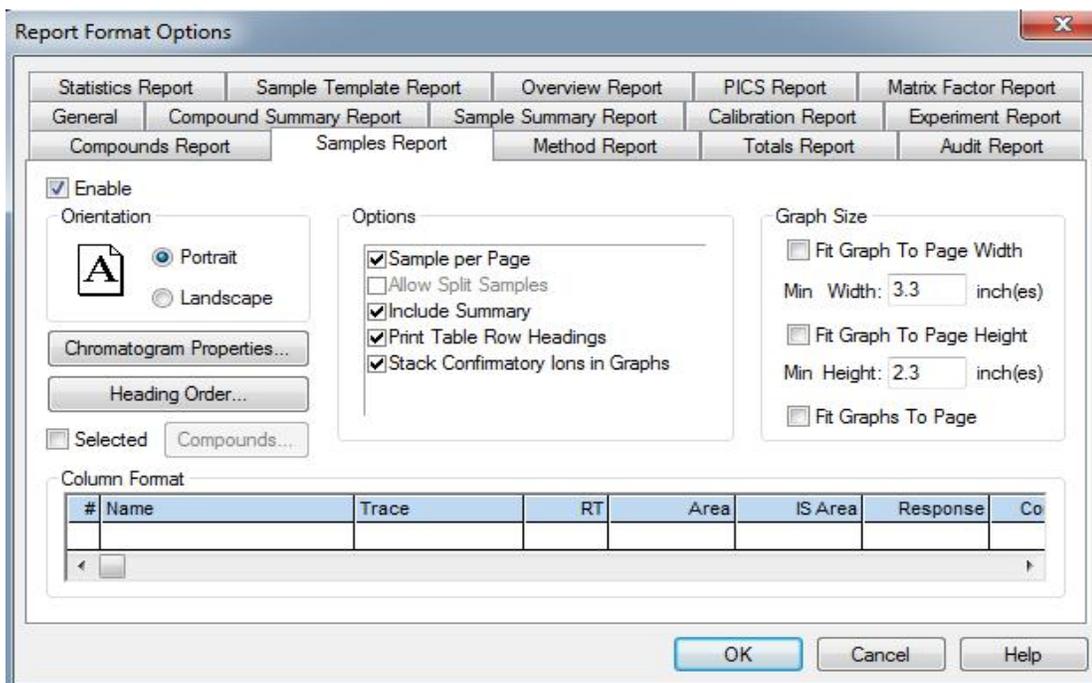


3) Calibration Report-工作曲线报告

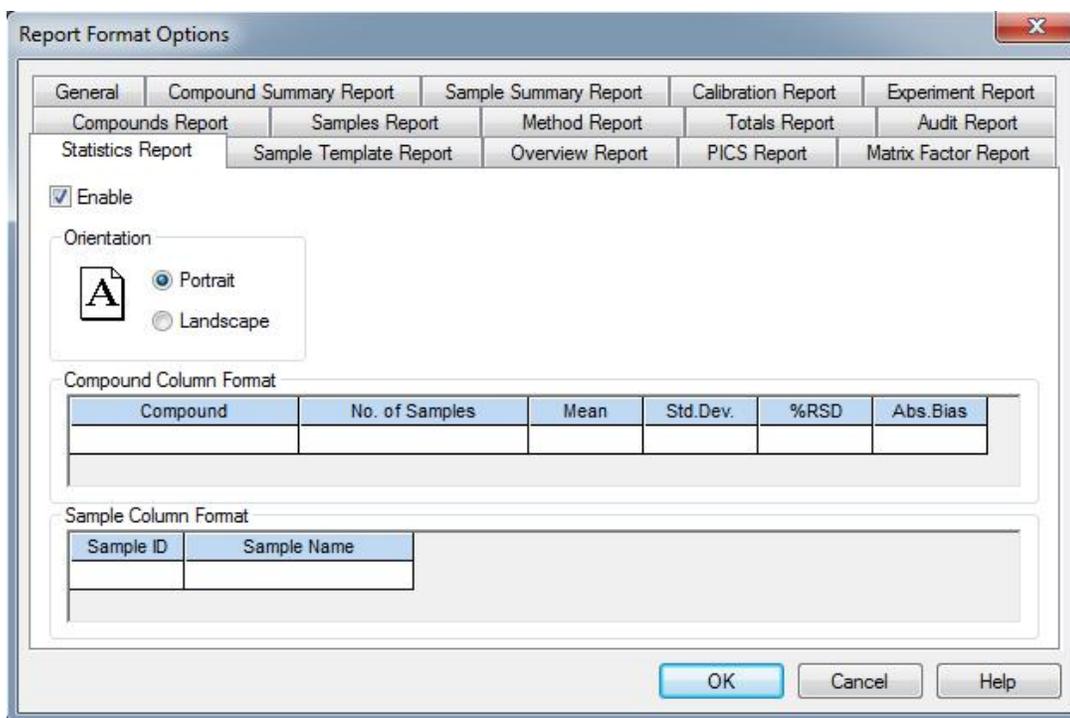


(4) Samples Report-样品报告

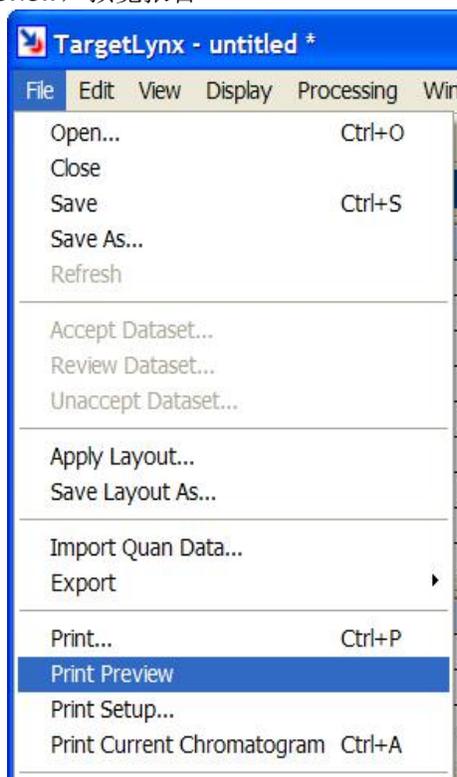
Heading Order –可编辑title，例如日期、时间等。Edit Column Properties or Change Column Order-可编辑列表中内容。Chromatogram-可编辑色谱图的显示方法。



(5) Statistics Report-用来显示重现性等统计结果



8.3.4 菜单栏选择File > Print Preview, 预览报告



untitled *

Print Page Prev Page Two Page Zoom In Zoom Out Close

Quantify Compound Summary Report MassLynx 4.1 Page

Dataset: Untitled

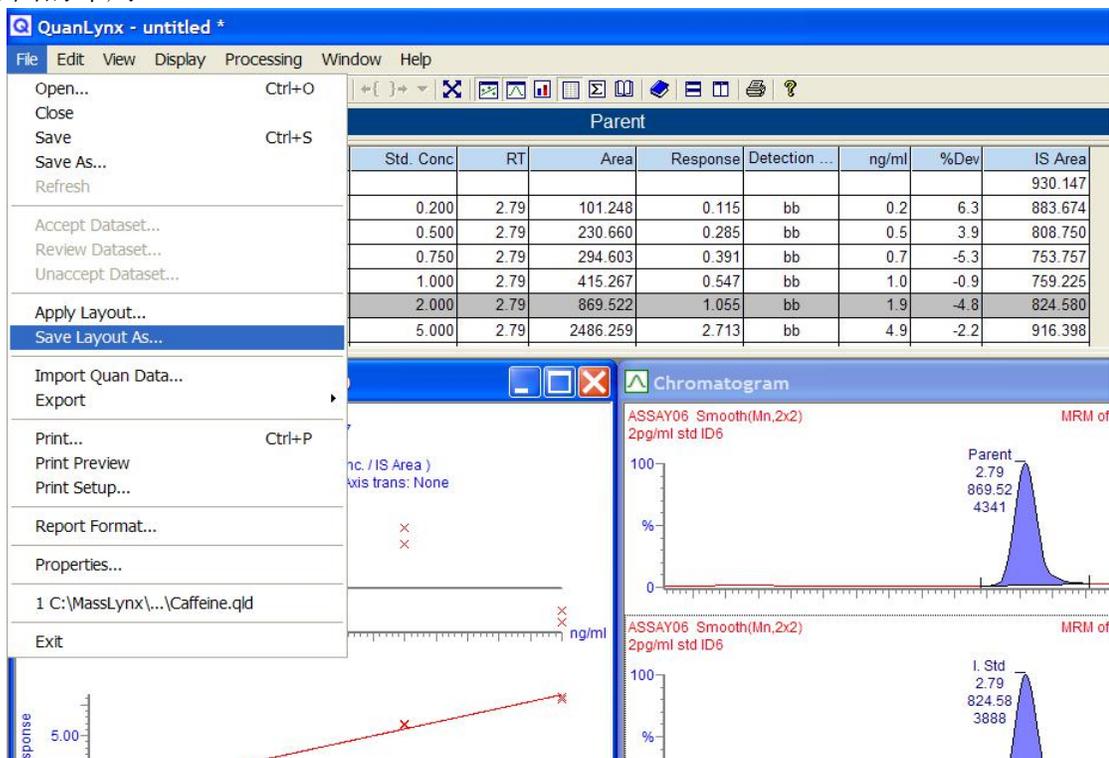
Last Altered: Tuesday, January 09, 2007 09:38:53 Central Standard Time
 Printed: Tuesday, January 09, 2007 09:39:15 Central Standard Time

Method: C:\MassLynx\Quantify.pro\Methdb\Qmeth1.mdb 09 Jan 2007 09:34:26
 Calibration: 09 Jan 2007 09:38:53

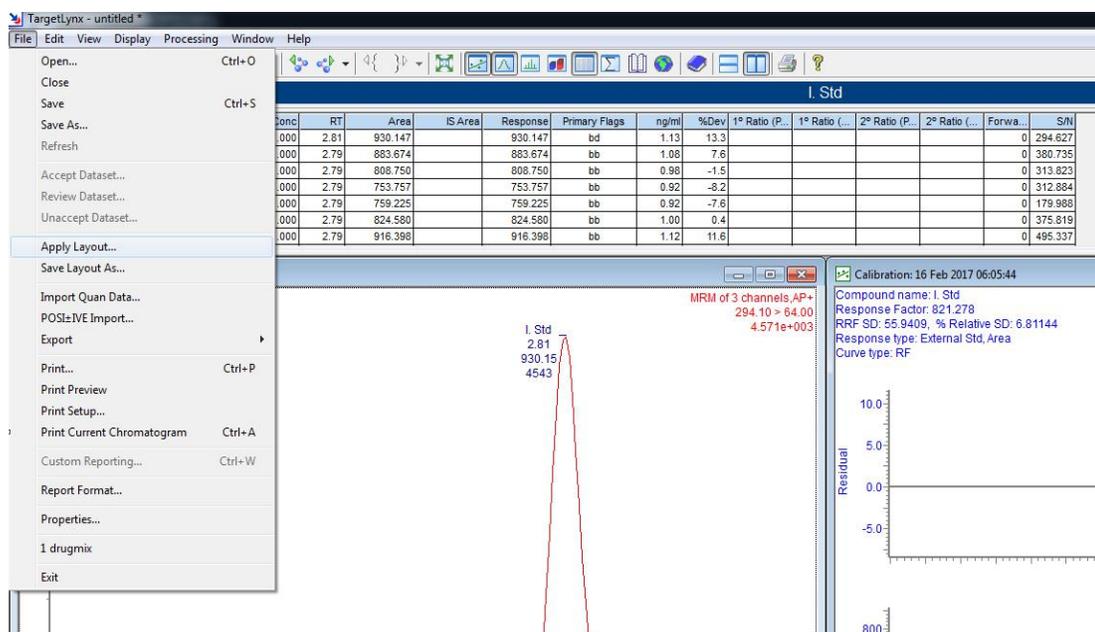
Compound name: I. Std
 Response Factor: 736.594
 RRF SD: 130.095, Relative SD: 17.6617
 Response type: External Std, Area
 Curve type: RF

| # | Name | Type | Std. Conc | RT | Area | IS Area | Response | Detect... | ng/ml | %Dev |
|----|---------|----------|-----------|------|----------|---------|----------|-----------|-------|-------|
| 1 | ASSAY01 | Blank | 1.000 | 2.81 | 930.147 | | 930.147 | bd | 1.3 | 28.3 |
| 2 | ASSAY02 | Standard | 1.000 | 2.79 | 883.674 | | 883.674 | bb | 1.2 | 20.0 |
| 3 | ASSAY03 | Standard | 1.000 | 2.79 | 808.750 | | 808.750 | bb | 1.1 | 9.8 |
| 4 | ASSAY04 | Standard | 1.000 | 2.79 | 753.757 | | 753.757 | bb | 1.0 | 2.3 |
| 5 | ASSAY05 | Standard | 1.000 | 2.79 | 759.225 | | 759.225 | bb | 1.0 | 3.1 |
| 6 | ASSAY06 | Standard | 1.000 | 2.79 | 824.580 | | 824.580 | bb | 1.1 | 11.9 |
| 7 | ASSAY07 | Standard | 1.000 | 2.79 | 918.398 | | 918.398 | bb | 1.2 | 24.4 |
| 8 | ASSAY08 | Standard | 1.000 | 2.81 | 822.216 | | 822.216 | bb | 1.1 | 11.6 |
| 9 | ASSAY09 | Standard | 1.000 | 2.79 | 801.626 | | 801.626 | bb | 1.1 | 8.8 |
| 10 | ASSAY10 | QC | 1.000 | 2.79 | 776.791 | | 776.791 | bb | 1.1 | 5.5 |
| 11 | ASSAY11 | QC | 1.000 | 2.79 | 1063.683 | | 1063.683 | bb | 1.4 | 44.4 |
| 12 | ASSAY12 | QC | 1.000 | 2.81 | 804.075 | | 804.075 | bb | 1.1 | 9.2 |
| 13 | ASSAY13 | Blank | 1.000 | 2.82 | 972.523 | | 972.523 | bb | 1.3 | 32.0 |
| 14 | ASSAY14 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 868.267 | | 868.267 | bb | 1.2 | 17.5 |
| 15 | ASSAY15 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 571.241 | | 571.241 | bb | 0.8 | -22.4 |
| 16 | ASSAY16 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 817.599 | | 817.599 | bb | 1.1 | 11.0 |
| 17 | ASSAY17 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 817.181 | | 817.181 | bb | 1.1 | 10.5 |
| 18 | ASSAY18 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 727.503 | | 727.503 | bb | 1.0 | -1.2 |
| 19 | ASSAY19 | Analyte | 1.000 | 2.82 | 924.296 | | 924.296 | bb | 1.3 | 25.4 |

8.3.5菜单中选择File > Save Layout As，保持报告模板，同时也保存了结果显示界面的布局。



8.3.6菜单中选择File > Apply Layout... 加载报告模板和页面布局。



8.3.7 打印报告即可

第五部分、测试注意事项

仪器一、 solariX 型傅里叶离子回旋共振质谱仪

- 1.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。
- 1.2 每天测试完毕后要清洗管道，喷雾针和离子源。
- 1.3 每测试完一个样品后需清洗管道和喷雾针。

仪器二、 Autoflex & Ultraflex 型基质辅助激光解吸质谱仪

- 2.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。
- 2.2 在制样时避免使用DMF, DMSO等高沸点，难挥发有机溶剂。
- 2.3 需等靶点溶剂完全挥发，靶点结晶之后才可进靶，进行测试。
- 2.4 不可测试导电性粉末状样品(碳纳米管等)，会引发离子源位置放电。
- 2.5 测试时激光强度以刚好激发样品信号为好，过强则会损失分辨率。
- 2.6 在更改实验方法后请另存为其他名字，不要覆盖原始方法。
- 2.7 测试之后退靶，并将托盘顺利送回仪器参数正常后方可下机。

仪器三、 Orbitrap Fusion Lumos 型液质联用质谱仪

- 3.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。
- 3.2 每日开始首次分析测试之前，检查系统模式；检查真空值；检查气源压力。

3.3 每日分析测试完成后，执行以下预防性维护步骤。

3.3.1 冲洗进样组件。

3.3.2 净化前级泵油。

3.3.3 清空溶剂废液瓶。

3.3.4 将系统置于待机模式。

仪器四、 LC-MS2010型液质联用质谱仪

4.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。

4.2 流动相需用高纯试剂，易挥发试剂，切勿用不挥发性无机盐。

4.3 样品经 0.45 μ m 滤膜过滤。

4.4 在没有分流阀情况下，ESI 源建议流速 0.1-0.2 mL/min；不超过 1.0 mL/min。

4.5 一般状况下质谱电源不关，如需关闭质谱电源，先将真空卸载。方法如下：进入抽真空界面，点击 Auto shutdown.。

4.6 定时清洗离子源，尤其分析实际样品。

仪器五、 GCMS-QP2010 Ultra型及GCMS-QP2010型气质联用质谱仪

5.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。

5.2 GCMS质谱仪适合分析小分子弱极性易挥发的样品。被测试化合物的分子量一般不大于500Da。

5.3 被分析的溶液样品浓度不能太高（一般浓度不高于10mg/ml），金样品一般控制在0.2ul左右。

5.4 质谱的分子量检测范围一般设置在20~650Da之间，使用常用的DB-5 MS毛细管色谱柱分析时，最高温度不超过250℃。

仪器六、 Exactive GC高分辨气质联用仪

6.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。

6.2 Exactive GC质谱仪适合分析小分子弱极性易挥发的样品。被测试化合物的分子量一般不大于500Da，直接进样分子量不大于800Da。

6.3 被分析的溶液样品浓度不能太高（一般浓度不高于10mg/ml），进样量一般控制在0.2ul左右。

6.4 定期清洗离子源（三个月清洗一次内源，6个月清洗一次外源）。

仪器七、Bruker Q-TOF质谱仪

7.1 建立登记制度（仪器状态、样品记录）。

7.2 每日开始首次分析测试之前，检查系统模式；检查真空值；检查气源压力。

7.3 每日分析测试完成后，冲洗进样组件，将系统置于待机模式。

仪器八、Xevo TQ-GC三重四级杆型高灵敏度气质联用仪

8.1 在分析样品前要认真了解样品的极性大小，分子量大小和沸点情况，根据这些情况选择对应的色谱柱，设置恰当的质谱和色谱分析参数。

8.2 在使用三重四级杆高灵敏度质谱仪MRM模式分析样品前，一定要用子离子检测模式做预实验，优化碰撞能量，找出丰度最高的子离子作为定性离子。

8.3 三重四级杆高灵敏度质谱仪每个月要定期调谐，以确保仪器的准确度和灵敏度。

8.4 在使用三重四级杆高灵敏度质谱仪做定量分析前要做溶剂空白实验，检测仪器的背景是否干净，灵敏度和准确度是否正常。

X 射线衍射组

第一部分、样品制备

参看培训电脑中的相关视频文件。

第二部分、上机操作

仪器一、P1 多晶 X-射线衍射仪



1. 准备好样品后，按仪器控制面板上的 DOOR 按钮，等待听到“嘀嘀”的提示音后，打开衍射仪的防护门，将已经准备好的样品放到测角仪的样品卡槽处，将衍射仪的防护门关闭。

2. 到仪器控制电脑前，打开控制软件，设定扫描范围（默认 10 到 90deg）和扫描速度（默认 8deg/min）等参数，然后按“执行”（EXECUTE）键。

3. 测试完毕后，打开软件 JADE 或 HighScore+，依次做平滑，寻峰，输出报告，打印，然后保存为文本文件 (*.txt)。

仪器二、P2 多晶 X-射线衍射仪



1. 请先按 UNLOCK 按钮，再打开仪器门。
2. 点击 File，单击 Open Program 按钮打开 Open Program 对话框；然后选中第一个测量程序，点击 Open。
3. 点击 Open 后，打开 Prepare Absolute Scan 对话框。设置起始角 Start angle、终止角 End angle 和每步停留的时间 Time per step，（数值越大，测试总时间 Total time 越长，根据测试要求，自行设置更改），step size 数值一般无需更改，设置好后程序可自动计算测试所用的时间。然后关闭 Prepare Absolute Scan [1]对话框并保存。
4. 点击 Measure Program，打开 Execute Program 对话框，选中第一个测量程序，点击 Open。
5. 点击 Open 后，打开 Start 对话框。在 Start 对话框里的 file name 处填写好数据生成文件的名称 file name 按记录本上的顺序统一编写，请勿添加自己的标记，例：P2-19-122，P2 代表仪器代号，19 代表 2019 年，122 代表 2019 年的第 122 个样品，序号顺延）。在 Sample ID 里填写好样品名称。填写好后，点击 Ok，开始测试。

仪器三、P3 多晶 X-射线衍射仪



1. 请先按 UNLOCK 按钮，再打开仪器门。
2. 点击 File，单击 Open Program 按钮打开 Open Program 对话框；然后选中第一个测量程序，点击 Open。
3. 点击 Open 后，打开 Prepare Absolute Scan 对话框。设置起始角 Start angle、终止角 End angle 和每步停留的时间 Time per step，（数值越大，测试总时间 Total time 越长，根据测试要求，自行设置更改），step size 数值一般无需更改，设置好后程序可自动计算测试所用的时间。然后关闭 Prepare Absolute Scan [1]对话框并保存。
4. 点击 Measure Program，打开 Execute Program 对话框，选中第一个测量程序，点击 Open。
5. 点击 Open 后，打开 Start 对话框。在 Start 对话框里的 file name 处填写好数据生成文件的名称 file name 按记录本上的顺序统一编写，请勿添加自己的标记，例：P3-19-222，P3 代表仪器代号，19 代表 2019 年，222 代表 2019 年的第 222 个样品，序号顺延）。在 Sample ID 里填写好样品名称。填写好后，点击 Ok，开始测试。

仪器四、单晶 X-射线衍射仪-2



1. 按 DOOR 按钮，等待听到“嘀嘀”的提示音后，打开衍射仪的防护门，取出侧角头。
2. 到显微镜下挑选单晶样品，并将其粘在侧角头的尖端。
3. 将粘有晶体的侧角头放到侧角头的基座上，旋紧螺丝。
4. 到仪器控制电脑前，打开控制软件，把晶体的中心调整到与摄像头的十字架丝中心重合，关闭衍射仪的防护门。
5. 进入控制软件，先做指标化 (INDEX)，选中合理的晶胞参数。
6. 根据 LAUE 群，设定合理的数据收集策略，保证完全度 (completeness) 在 95%以上，冗余度 (redundancy) 在 2-3 之间，开始收集数据。
7. 结束后，对数据作积分，吸收校正和还原，最后得到 hkl 文件。

仪器五、单晶 X-射线衍射仪-3



1. 按 DOOR 按钮，等待听到“嘀嘀”的提示音后，打开衍射仪的防护门，取出侧角头。
2. 到显微镜下挑选单晶样品，并将其粘在侧角头的尖端。
3. 将粘有晶体的侧角头放到侧角头的基座上，旋紧螺丝。
4. 到仪器控制电脑前，打开控制软件，把晶体的中心调整到与摄像头的交叉丝中心重合，关闭衍射仪的防护门。
5. 进入控制软件，先做指标化 (INDEX)，选中合理的晶胞参数。
6. 根据 LAUE 群，设定合理的数据收集策略，保证完全度 (completeness) 在 95%以上，冗余度 (redundancy) 在 2-3 之间，开始收集数据。
7. 结束后，对数据作积分，吸收校正和还原，最后得到 hkl 文件。

仪器六、单晶 X-射线衍射仪-4



1. 双击电脑桌面的仪器控制软件（online 版），等待仪器自检，当窗口显示 CCD Ready 和 RED Ready，表示仪器自检完成，可以上样。

2. 点击软件窗口中的 START/STOP 按钮，然后点击 Start new，在弹出的窗口中点击 Mount 按钮，将弹出 Crystal video 窗口，打开仪器屏蔽舱门，开始上样，进行晶体对心，晶体对心完毕，关屏蔽舱门，按 Door Ok 按钮。

3. 点击 Crystal Video 窗口中 Exit 按钮，再点击 SM Screening 下的>按钮，打开 Tab based screening options 窗口，设置曝光时间，点击 OK Screen。

4. 点击 Pre-experiment 按钮，开始预实验，预实验结束自动弹出数据收集策略的窗口，既可使用此策略进行数据收集，也可根据情况自己设置参数，按 Start experiment 按钮进行数据收集。

5. 数据收集的过程中软件自动进行数据还原和自动结构解析，复杂数据仍需人工干预，找工作人员帮助。

第三部分、数据处理

多晶测试数据原始格式为 raw 或 xrdml，用软件 Jade 或 HighScorePlus 转换成文本 txt 格式后，再通过邮件发送，格式转换如果遇到困难，可以参看多晶培训视频文件。单晶数据会自动处理为 hkl 和 p4p 两个原始文件，多数情况有我组工作人员做结构解析，如果自己有能做结构解析，可以将这两个文件发送邮箱，

如果需要存留原始衍射照片（通常一套数据包含上百张衍射照片，因此文件容量较大），可以使用大容量 U 盘或移动硬盘将原始衍射照片复制带走。对有兴趣做单晶结构解析的人员，我组定期举办培训班。

第四部分、测试注意事项

由于 X-射线属于放射类射线，因此我组的 X-射线衍射仪都具有防护罩和安全保护系统，在放置样品进入样品台前，需要按下安全解锁按钮，待仪器提示安全后，方可开启防护门，然后放入样品，最后关好防护门，然后才可以开启射线进行测试。

第五部分、常见问题及解决

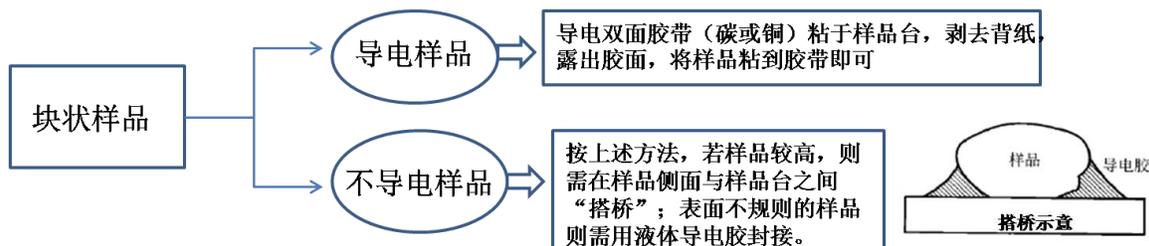
最常见的问题是，在开启 X-射线衍射仪的防护门之前，忘记按下安全解锁按钮，或者关防护门时没有关严，这两种情况都导致仪器直接关闭 X-射线源和相关的高压发生器，从而无法测试。解决方法是，首先将防护门关好，然后重新开启高压发生器，再开启 X-射线，并设置电压和电流到达测试使用的功率，然后才可以进行测试。

电镜组

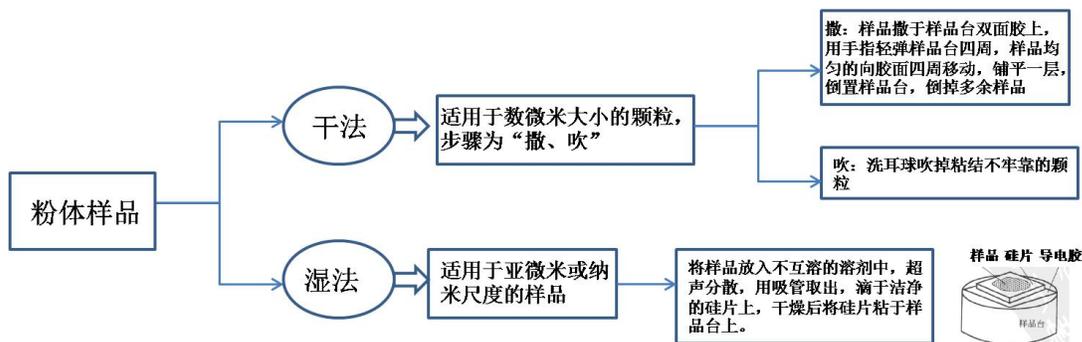
第一部分、样品制备

1. 扫描电镜样品制备流程

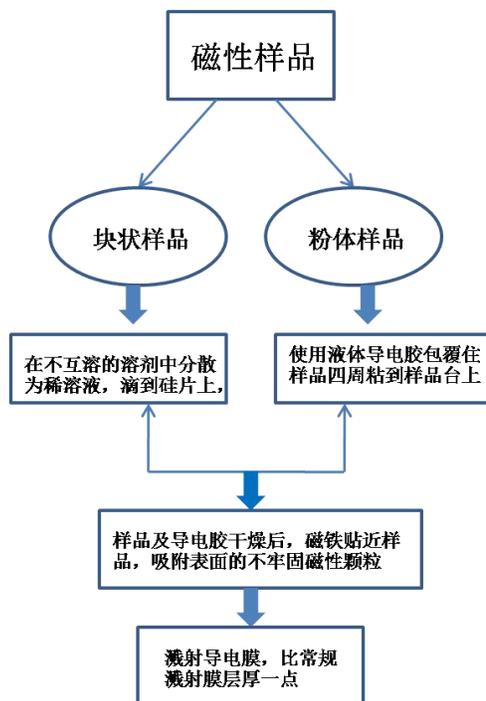
(1) 块状样品



(2) 粉体样品



(3) 磁性样品



2. 透射电镜样品制备流程

(1)对样品的要求

- ①样品一般应为厚度小于 100nm 的固体。
- ② 样品在电镜电磁场作用下不会被吸出，附于极靴上。
- ③ 样品在高真空中能保持稳定。
- ④不含有水分或其它易挥发物，含有水分或其他易挥发物的试样应先烘干。

(2)常见的样品制备方法

①直接分散法

将（研磨后的）粉末放在去离子水或无水乙醇溶液里，用超声波分散器将需要观察的粉末分散成悬浮液。用滴管滴几滴在覆盖有支持膜的电镜载网上，待其干燥(或用滤纸吸干)后,即成为电镜观察用的粉末样品。

TEM 样品常放置在直径为 3mm 的载网上,透射电镜用载网均为直径为 3mm、厚度为 10-30 μm 的圆片，其主要作用是负载样品且在透射电镜观察时电子束能透过样品，因此基本为网格结构，表面未负载膜的载网称为“裸网”，裸网的孔径在微米级，而透射电镜观察的样品尺度通常在 100nm 以下，为了确保样品能负载在载网上，在裸网上面需覆盖一层厚度为 10nm 左右的有机膜，称为支持膜。同时，为了防止载网支持膜和样品在电子束照射下积累电荷，发生样品飘移、跳动，甚至出现支持膜破裂等情况，在支持膜上再覆盖一层导电层，提高支持膜的导电性，通常选用无定型碳，经过镀碳的载网支持膜称为“碳支持膜”，根据样品的观察需求有多种膜，具体包括：

方华支持膜：方华支持膜的化学成分是聚乙烯醇缩甲醛，由于是纯的有机膜，所以膜的弹性好，厚度通常为 10nm 左右，透射电镜观察时背底影响小。但方华膜因导电性不好，在电子束照射下，易因高温或电荷积累，产生样品漂移甚至膜破损，通常在 100kV 电镜和生物样品中使用较多。

碳支持膜：是一种最常用的支持膜，有两层膜结构。从下至上依次为裸网、方华膜和碳膜，由于碳层具有较强的导电性和导热性，弥补了无碳方华膜的荷电效应以及热效应，增强了膜整体的稳定性，适合大多数纳米材料和生物样品的一般形貌观察用于常规样品制样。

微栅：在膜上制作出微孔，以便使样品搭载在微孔边缘，使样品“无膜”观察，提高图象衬度。观察管状、棒状、纳米团聚物效果好，特别是观察这些样品的高分辨像及 mapping 时更是最佳选择。

超薄碳膜：在微栅的基础上叠加了一层很薄的碳膜，一般为 3-5nm，这层超薄碳膜的目的是用超薄碳膜把微孔堵住。主要针对粒度较小的纳米材料。如 10nm 以下分散性很好的纳米材料，如果用微栅可能从微孔中漏出，如果在微栅孔边缘，由于膜厚可能会影响观察。所以用超薄碳膜就会得到很好的效果。

纯碳膜：当样品所用的有机溶剂（氯仿、甲苯等）能够溶解方华膜时，载网膜中就要去除方华膜，只剩碳膜，称为纯碳膜，碳膜的厚度通常为 20nm 左右，在高分辨观察时背底的影响也比较明显。

双联载网支持膜：将两片载网膜连在一起，负载样品后，将样品夹住，形成三明治的结构，加强了对样品的固定，比如应用于磁性材料，可避免其吸附到透射电镜的极靴上。

氮化硅薄膜：采用硅为基本支撑、无定形的氮化硅 Si_3N_4 为观察窗口，相比碳类的载网膜，氮化硅膜耐酸耐高温，且无碳影响，可用于酸性条件下制备样品，及 1000 摄氏度的高温环境。

石墨烯支持膜：石墨烯具有良好的导电性，耐高温，耐腐蚀，耐电子束轰击，并且衬度很低，应用此种膜可显著提高样品观察时的衬度和稳定性，但是由于石墨烯本身结晶，在高分辨下有有序结构，会对高分辨观察晶体结构有影响。

载网膜的选择

由上述介绍的载网膜的结构及特点，可根据样品的特征选择合适的载网膜，汇总如下表所示，需要说明的是一些特殊情况：

a. 用能谱分析铜元素时，不能选用铜载网，要选用镍、钼等其他材质的载网膜，同理分析碳元素时，要用氮化硅膜。

b. 在做高分子、生物样品切片后需要染色时要用裸网或微栅，因为染色剂通常会染方华膜。

c. 在负载一些二维方向尺度较大的薄膜样品时，比如大面积的石墨烯膜、有机膜，如果用碳支持膜背底影响较大用微栅膜在低倍观察时有微栅孔的结构，因

此可选用目数较高的裸网，如 1000 目、2000 目的铜裸网。

| 载网种类 | 膜厚/nm | 微孔 | 适用范围 |
|------|-------|----|---------------------------------|
| 碳支持膜 | 10-20 | 无 | 样品的一般结构观察，高倍率会有较大的背底。 |
| 微栅 | 15-20 | 有 | 适用于线状、片状样品，能够搭载在微栅孔中，高分辨观察时无背底。 |
| 超薄碳膜 | 3-5 | 无 | 分散性好的纳米颗粒，高分辨观察时背底衬度低。 |
| 纯碳膜 | 20-40 | 无 | 分散样品的溶剂是能够溶解方华膜的有机溶剂(氯仿、甲苯等)。 |

直接制备的各种裸网及载网膜通常表面是疏水的，不利于亲水性样品的吸附，而透射电镜观察时，很多样品是亲水的，因此需要对裸网及载网膜进行亲水性处理，通常用含氧的等离子体进行处理，可用射频辉光放电的方法产生氧等离子，其原理如图 1 所示，空气在高频高压的电场中产生放电，氧气被电离成氧等离子体，氧等离子体与载网膜表面反应生成一系列亲水性基团，从而使表面呈亲水性。

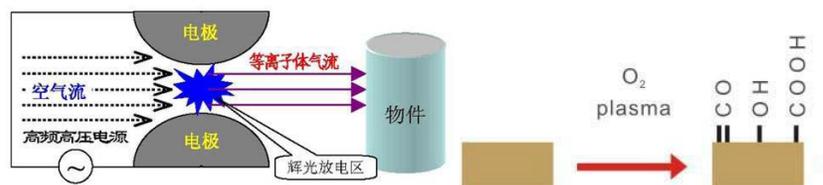


图 1. a)氧等离子产生原理及 b)对载网膜表面的亲水化处理原理

分析测试中心电镜室有一台等离子清洗机，能够在低功率情况下产生柔和的氧等离子，对载网膜表面进行亲水性修饰，且不会破坏膜本身的结构，如图 2 为经等离子处理前后载网膜表面水的接触角，处理前为 117.3° ，明显为疏水性表面，经处理后接触角减小到 39.9° ，呈亲水性。



图 2. a)等离子处理之前和 b)之后的载网膜表面水的接触角

载网膜表面的亲、疏水性对于某些亲水性样品尤其是自组装结构样品的制备有重要的影响，如图 3 所示的是使用未经处理的疏水的载网膜和亲水化处理的载网膜制备的纤维素样品(新材料实验室样品)的透射电镜图，可以看出使用疏水的载网膜在透射电镜下观察的样品不仅少，而且样品的结构发生了改变，而使用亲水化的膜，能够很好的观察到纤维素的结构及聚集状态。

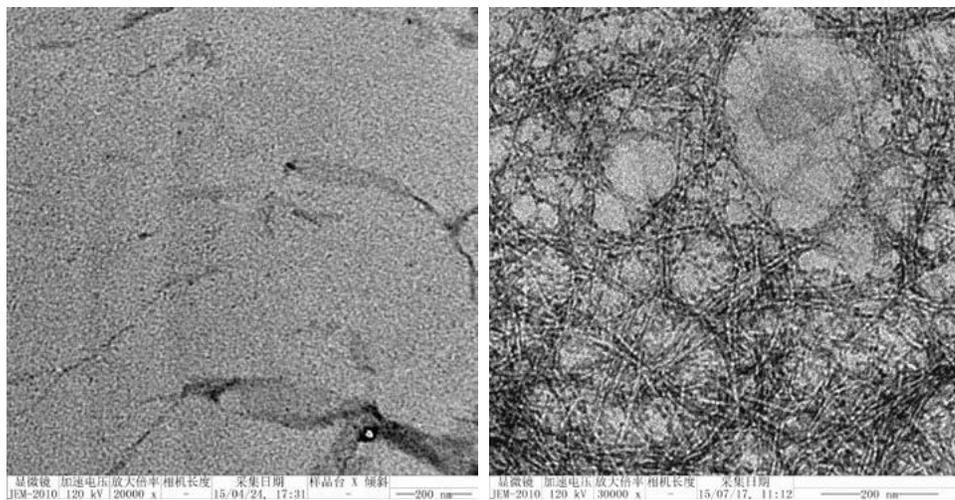


图 3. 使用 **a)**未处理的载网膜和 **b)**亲水化处理后的载网膜制备的纤维素样品的 TEM 图

②树脂包埋-超薄切片法

理想的包埋剂应具有：高强度，高温稳定性，与多种溶剂和化学药品不起反应。目前常用国产环氧树脂 618、Epon812 环氧树脂、及低黏度包埋 Spurr。

包埋剂配制及使用过程中的注意事项：**a.**所有容器及玻璃棒等应是清洁和干燥的；**b.**配制过程中应搅拌均匀，使用过程中应避免异物，特别是水、乙醇、丙酮等混入包埋剂；**c.**配制好的包埋剂应密封保存，避免受潮。剩余包埋剂可密封并储存在-10~-20℃冰箱中，延长其使用期。

包埋方法：

将待观察的样品块放入灌满包埋剂的适当模具（如胶囊）中，恒温箱内加热固化，Spurr70℃烤箱内 8h 即可固化，国产树脂 618、Epon812 环氧树脂需 37℃ 过夜，经 45℃ 12h、60℃ 24h 可固化。将包埋固化后的样品取出，用超薄切片机切片后，分散于载网上，即可制得透射观察所需要的样品。

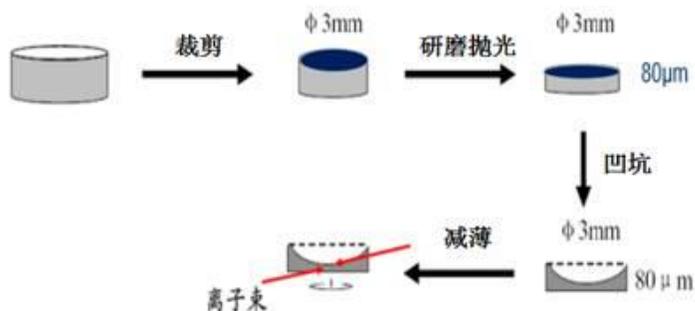
③离子减薄法

特点：不受材料电性能的影响，即不管材料是否导电，金属或非金属或者二

者混合物，不管材料结构多复杂均可用此方法制备薄膜。

- a. 样品裁剪：将样品冲压成直径 3mm 的圆片。
- b. 研磨抛光：将样品圆片用手动研磨盘手动研磨至厚度低于 80 微米的圆片。
- c. 凹坑：凹坑仪单面凹坑至圆片中心厚度为 10-30 微米。
- d. 离子减薄：设置好离子枪角度、减薄时间、加速电压将样品减薄至出现足够薄区

足够薄区



④电解双喷法

特点：受材料电性能的影响，只能用于金属样品，并且耗时短成本低。

- a. 样品裁剪：将样品冲压成直径 3mm 的圆片。
- b. 研磨抛光：将样品圆片用手动研磨盘手动研磨至厚度低于 100 微米的圆片。
- c. 凹坑：凹坑仪单面凹坑至圆片中心厚度为 10-30 微米。
- d. 电解双喷：设置好电解液、电压、温度将样品减薄至出现足够薄区

⑤聚焦离子束法

应用聚焦离子束-电子束双束电镜可实现定点制备透射电镜样品。

第二部分、上机操作

仪器一、扫描电镜S-4800

1.1 日常开机

打开 Display 开关，电脑自动开机进入 S-4800 用户界面，PC_SEM 程序自动运行，点击确认进入软件界面。

1.2 装样品

- (1)将样品台装在样品座上，根据高度计调整高度及确认样品位置后旋紧。
- (2)按下 AIR 键，当 AIR 灯变绿时拉开样品交换室，水平向前推出交换杆，

把样品座插在交换杆上，逆时针旋转交换杆（即按照杆上的标示转至 LOCK）锁定样品座后，将交换杆水平向后拉回原处。

(3)关闭交换室，按下 EVAC 键，当 EVAC 绿灯亮时，按 OPEN 键至绿灯亮样品室阀门自动打开。

(4)水平插入交换杆，直至样品座被卡紧为止，顺时针旋转交换杆（即按照杆上的标示转至 UNLOCK）后水平向后拉回原处，点 CLOSE 键至绿灯亮样品室阀门自动关闭。

1.3 图像观察

(1)加高压

点击屏幕左上方的高压控制窗口，弹出 HV Control 对话框。选择合适的观察电压和电流，点击 ON，弹出提示样品高度的对话框，点击确定出现 HV ON 提示条，待图像出现后，关闭 HV Control 对话框。

(2) 在低倍、TV 模式下

找到所要观察的样品，点击 H/L 按钮切换到高倍模式，通过调节样品位置，找到所要观察的视场。

(3)聚焦、消像散

选好视场后，放大到合适的倍数聚焦消像散。先调节聚焦粗调和细调旋钮，使图像达到最佳状态，若图像有拉长现象，则需进行消像散。调节 STIGMATOR/ALIGNMENT X 使图像在水平方向的拉长消失，再调节 STIGMATOR/ALIGNMENT Y 使图像在垂直方向的拉长消失。

(4) 图像采集及保存

用 A.B.C.键或 BRIGHTNESS/CONTRAST 旋钮自动或手动调节图像的对比度和亮度，扫描速度变为慢扫，点击抓拍按钮进行采集。采集后暂时存放在窗口下侧，选中要保存的图像，点击 Save，弹出 ImageSave 对话框，输入文件名，选好存储位置保存即可。

(5) 对中调整

改变加速电压和电流时，或图像在高倍聚焦发生漂移时，需要进行对中调整，方法如下：

①选取样品上一个具有明显特征的位置放在视场中心。

②点击 Aling 键，出现 Alignment 窗口，在 Beam 项，视场中出现圆形光斑，用 STIGMATOR/ALIGNMENT X Y 将圆形光斑调至视场中央。

③在 Aperture, STIGX 和 STIGY 档，将图像放大至 10 万倍以上，若图像发生晃动，调节 STIGMATOR/ALIGNMENT X 使图像在水平方向的晃动消失，再调节 STIGMATOR/ALIGNMENT Y 使图像在垂直方向的晃动消失。

1.4 取样品

(1)打开高压控制窗口，点击 OFF 关掉高压。点击 HOME 样品台自动归位至中心，同时确认 $Z=8\text{mm}$ ， $T=0^\circ$ 。

(2)按下 OPEN 键，绿灯亮时，样品室阀门自动打开，插入交换杆将样品座卡在杆上，旋转交换杆至 LOCK 锁定样品座后，将杆水平向后拉回原处，按 CLOSE 键，绿灯亮时阀门自动关闭。

(3)按下 AIR 键，待绿灯亮时，拉开交换室，水平向前推出交换杆，旋转杆至 UNLOCK 把样品座从杆上取下后，将杆水平向后拉回原处。

(4)关闭样品交换室，点 EVAC 键抽真空。

1.5 数据获取

打开电脑桌面上的 Date upload 快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 $\text{ftp}://10.3.1.98$ 后，打开 S-4800 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

1.6 日常关机

依次关闭 PC_SEM 软件、电脑、Display 开关。

仪器二、扫描电镜 SU8020

2.1 日常开机

打开循环水箱开关。打开主机 Display 开关，电脑自动开机进入 SU8000 用户界面，PC-SEM 程序自动运行，点击确认进入软件界面。

2.2 装样品

(1)将样品台装在样品座上，根据标尺调整高度及确认样品位置后旋紧。

(2)按下 AIR 键，当 AIR 灯变绿时拉开样品交换室，水平向前推出交换杆，

把样品座插在交换杆上，逆时针旋转交换杆（即按照杆上的标示转至 LOCK）锁定样品座后，将交换杆水平向后拉回原处。

(3)关闭交换室，按下 EVAC 键，当 EVAC 绿灯亮时，按 OPEN 键至绿灯亮样品室阀门自动打开。

(4) 水平插入交换杆，直至样品座被卡紧为止，此时 XC 键亮，顺时针旋转交换杆（即按照杆上的标示转至 UNLOCK）后水平向后拉回原处，此时 XC 键灭，点 CLOSE 键至绿灯亮样品室阀门自动关闭。

2.3 图像观察

(1)加高压

点击屏幕左上方的高压控制窗口，弹出 HV Control 对话框。选择合适的观察电压和电流，点击 ON，弹出提示样品高度的对话框，点击确定出现 HV ON 提示条，待图像出现后，关闭 HV Control 对话框。

(2)在软件界面低倍 LM、TV 模式下，通过轨迹球找到要观察的样品，点击 H/L 按钮切换到高倍模式，通过调节样品位置，找到所要观察的视场。

(3)聚焦、消像散

选好视场后，放大到合适的倍数聚焦消像散。先调节操作面板聚焦粗调（Coarse）和细调(Fine)旋钮，使图像达到最佳状态，若图像有拉长现象，则需进行消像散。调节操作面板 STIGMATOR/ALIGNMENT X 使图像在水平方向的拉长消失，再调节 STIGMATOR/ALIGNMENT Y 使图像在垂直方向的拉长消失。

(4) 图像采集及保存

用 A.B.C.键或 BRIGHTNESS/CONTRAST 旋钮自动或手动调节图像的对比度和亮度，扫描速度变为慢扫，点击抓拍按钮（Capture）进行采集。采集后暂时存放在窗口下侧，选中要保存的图像，点击 Save，弹出 ImageSave 对话框，输入文件名，选好存储位置保存即可。

(5) 对中调整

改变加速电压和电流时，或图像在高倍聚焦发生漂移时，需要进行对中调整，方法如下：

①选取样品上一个具有明显特征的位置放在视场中心。

②点击软件界面 Align 键，出现 Alignment 窗口，在 Beam 项，视场中出现圆形光斑，用 STIGMATOR/ALIGNMENT X Y 将圆形光斑调至视场中央。

③在 Aperture, STIGX 和 STIGY 档，将图像放大至 10 万倍以上，若图像发生晃动，调节 STIGMATOR/ALIGNMENT X 使图像在水平方向的晃动消失，再调节 STIGMATOR/ALIGNMENT Y 使图像在垂直方向的晃动消失。

2.4 取样品

(1)打开高压控制窗口，点击 OFF 关掉高压。点击 HOME 样品台自动归位至中心，同时确认 $Z=8\text{mm}$ ， $T=0^\circ$ 。

(2)按下 OPEN 键，绿灯亮时，样品室阀门自动打开，插入交换杆将样品座卡在杆上，此时 XC 键亮，旋转交换杆至 LOCK 锁定样品座后，将杆水平向后拉回原处，此时 XC 键灭，按 CLOSE 键，绿灯亮时阀门自动关闭。

(3)按下 AIR 键，待绿灯亮时，拉开交换室，水平向前推出交换杆，旋转杆至 UNLOCK 把样品座从杆上取下后，将杆水平向后拉回原处。

(4)关闭样品交换室，点 EVAC 键抽真空。

2.5 数据获取

打开电脑桌面上的“data upload”快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 `ftp://10.5.22.168` 后，打开 SU8020 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

2.6 日常关机

依次关闭 PC_SEM 软件、电脑、Display 开关、循环水箱开关。

仪器三、透射电镜 JEM-1011

3.1 日常开机

(1)加高压

打开 Lens 开关，按下左面板上的 HT 键，待电流指示从 0 上升至 38~39，通过右抽屉的键盘输入 load ht 后回车，显示屏上提示输入起始电压，输入 60 后回车，提示输入终止电压，输入 100 后回车，提示输入加压步长，输入 5 后回车，提示输入所用时间，输入 5 后回车，则开始自动升压直到 100kV，整个加压过程需 5min。

(2)打开电脑进入用户界面后，运行 CCD 的软件 i-Tem。

3.2 装样品

(1)向外拉样品杆至一固定位置后逆时针旋转 90°，在此位置稍停顿几秒后继续向外拉，取出样品杆。

(2)利用镊子拨开样品杆头上的压片，将欲观察样品放入，拨回压片。其中靠近尖端的为一号样品，另一个为二号样品。

(3)使样品杆上的定位销钉对准测角台上的孔插入样品杆并压紧(此处严禁旋转样品杆)，此时指示灯变亮，待灯变灭后，将样品杆顺时针旋转 90°后推入。

3.3 图像观察

(1)待 FILAMENT 指示灯变亮后，按下相应的开关 ON，观察屏上出现光斑。

(2)在 Low Mag 模式下，找到所要观察的位置，切换到 Mag1 模式，放大到合适的倍数，调节 SHIFT X, SHIFT Y, BRIGHTNESS 旋钮使光斑大小合适、位置适中，利用 IMAGE X, IMAGE Y,测角台上的调高旋钮和 OBJ Focus 调焦得到样品的结构。

(3)点击 i-TEM 软件上的动态采集，在电脑屏幕上获得样品的结构图像，点击冻结完成抓图，所得图片暂存在窗口左侧，选中要保存的图像，点击 Save，弹出 Save 对话框，输入文件名，选好存储位置保存即可。

(4) 仪器状态调整

①联动比

在放大倍数为 4k 下，将束斑调整至最小，同时按下 image X 和 image Y, 用 OBJ Focus 将中心调成一个圆，调完后关掉 image X 和 image Y。

②聚光镜像散

在放大倍数为 4k 下，将束斑调整至最小，若束斑不圆，表明聚光镜有像散，按下 COND STIG,用 DEF X 和 DEF Y 将束斑调圆，调整完后关掉 COND STIG。

③一五合轴

在放大倍数为 4k 下，将束斑调整至最小，调 spot size 至 1，打开 GUN SHIFT, 用 DEF X 和 DEF Y 将束斑调至荧光屏中心，再调 spot size 至 8，打开 BRT TILT, 用 SHIFT X 和 SHIFT Y 将束斑调至荧光屏中心，反复重复以上步骤直到束斑从

spot size 1 到 spot size 8 变换时，束斑都在荧光屏中心，调整完毕将 spot size 调回 1。

④)电压中心

将放大倍数调至 100K 以上，寻找样品上衬度较好的点作为参照物，调整位置使其与荧光屏中心的小黑点重合，打起小荧光屏，按下右下角抽屉上的 HT，此时图像开始晃动，再按下 BRT TILT，调整 DEF X 和 DEF Y 使得参照物和小黑点的相对位置不发生变化，调整完后关掉 BRT TILT 和 HT。

3.4 取样品

关闭 FILAMENT，采取与步骤二装样品相同的方法，取出样品杆后取下样品，再将空样品杆放入测角台。

3.5 数据获取

打开电脑桌面上的“上传数据”快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 ftp://159.226.32.30 后，打开 Jem-1011 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

3.6 日常关机

手动将电压从 100kV 降至 60kV，关掉右面板上的 HT，关掉 Lens 开关。关闭 i-TEM 软件和电脑。

仪器四、透射电镜 JEM-2010

4.1 日常开机

(1)加高压

打开 Lens 开关，按下左面板上的 HT 键，待电流指示从 0 上升至 65，通过右抽屉的键盘输入了了 load ht 后回车，显示屏上提示输入起始电压，输入 120 后回车，提示输入终止电压，输入 200 后回车，提示输入加压步长，输入 5 后回车，提示输入所用时间，输入 15 后回车，则开始自动升压直到 200kV，整个加压过程需 15min。

(2)打开电脑进入用户界面后，运行CCD的软件i-Tem。

4.2 装样品

(1)向外抽样品杆至一固定位置后逆时针旋转 75°，继续向外抽一小段距离到

第二固定位置后(注意不要用力过大直接将样品杆抽出)逆时针旋转 15°,扶住样品杆,将真空开关拨至 AIR,待放气结束后取出样品杆。

(2)利用弯镊子和专用工具,轻轻取下样品杆头,放于样品支架上,用相应尺寸的钟表螺丝刀松开紧固螺丝(注意不要将螺丝全部拧下),拨开压簧将欲观察样品放入,拨回压簧,紧固螺丝后将样品头装回样品杆。

(3)使样品杆上的定位销钉对准测角台上的孔插入样品杆并压紧(此处严禁旋转样品杆),将真空开关拨至 PUMP,指示黄灯亮,待真空泵启动后方可松手。等高真空指示灯(绿灯)亮后,先顺时针旋转样品杆 15°并推入到一固定位置后,继续顺时针旋转 75°后推入样品杆。

4.3 图像观察

(1)待 FILAMENT 指示灯变亮后,按下相应的开关 ON,等 20 s 左右观察屏上出现光斑。

(2)在 Low Mag 模式下,找到所要观察的位置,切换到 Mag1 模式,放大到合适的倍数,调节 SHIFT X, SHIFT Y, BRIGHTNESS 旋钮使光斑大小合适、位置适中,利用 IMAGE X, IMAGE Y, Z \wedge , Z \vee 和 OBJ Focus 调焦得到样品的结构。

(3)点击 i-TEM 软件上的动态采集,在电脑屏幕上获得样品的结构图像,点击冻结完成抓图,所得图片暂存在窗口左侧,选中要保存的图像,点击 Save,弹出 Save 对话框,输入文件名,选好存储位置保存即可。

(4) 仪器状态调整

① 联动比

在放大倍数为 40k 下,将束斑调整至最小,同时按下 image X 和 image Y,用 OBJ Focus 将中心调成一个圆,调完后关掉 image X 和 image Y。

② 聚光镜像散

在放大倍数为 40k 下,将束斑调整至最小,若束斑不圆,表明聚光镜有像散,按下 COND STIG,用 DEF X 和 DEF Y 将束斑调圆,调整完后关掉 COND STIG。

③ 一五合轴

在放大倍数为 40k 下,将束斑调整至最小,调 spot size 至 1,打开 GUN SHIFT,用右手键盘下德 SHIFT X 和 SHIFT Y 将束斑调至荧光屏中心,再调 spot size 至 5,

打开 BRT TILT，用左面板上 SHIFT X 和 SHIFT Y 将束斑调至荧光屏中心，反复重复以上步骤直到束斑从 spot size 1 到 spot size 5 变换时，束斑都在荧光屏中心，调整完毕将 spot size 调回 1。

④ 电压中心

将放大倍数调至 100K 以上，寻找样品上衬度较好的点作为参照物，调整位置使其与荧光屏中心的小黑点重合，打起小荧光屏，按下右面板上的 HT，此时图像开始晃动，再按下 BRT TILT，调整 DEF X 和 DEF Y 使得参照物和小黑点的相对位置不发生变化，调整完后关掉 BRT TILT 和 HT。

⑤ 物镜消像散

放大倍数 400K，找一非晶边缘，打开 CCD 的 LIVE FFT，若 FFT 中心斑不圆则表明有物镜像散，按下 OBJSTIG，调节 DEF，将中心斑调圆。

重复调节以上步骤，直至各个状态调整好。

4.4 取样品

关闭 FILAMENT，点击 N 将样品归位后，采取与步骤二装样品相同的方法，取出样品杆后取下样品，再将空样品杆放入测角台。

4.5 数据获取

打开电脑桌面上的“上传数据”快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 ftp://159.226.32.30 后，打开 Jem-2011 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

4.6 日常关机

手动将电压从 200kV 降至 120kV，关掉左面板上的 HT，关掉 Lens 开关。关闭 i-TEM 软件和电脑。

仪器五、透射电镜 JEM-2100F

5.1 日常开机

(1) 加高压

打开 Lens 开关，点击电镜控制软件上高压控制窗口的 Normal 键，则开始自动升压直至 200kV，整个加压过程需约 15.3min。

(2) 打开 CCD 电脑进入用户界面后，运行 CCD 的软件 i-Tem。

5.2 装样品

(1)向外拉样品杆至一固定位置后逆时针旋转 75°，继续向外拉一小段距离到第二固定位置后(注意不要用力过大直接将样品杆拉出)逆时针旋转 15°，扶住样品杆，将真空开关拨至 AIR，待放气结束后取出样品杆。

(2)利用镊子和专用工具，轻轻取下样品杆头，放于样品支架上，用相应尺寸的钟表螺丝刀松开紧固螺丝(注意不要将螺丝全部拧下)，拨开压簧将欲观察样品放入，拨回压簧，紧固螺丝后将样品头装回样品杆。

(3)使样品杆上的定位销钉对准测角台上的孔插入样品杆并压紧(此处严禁旋转样品杆)，将真空开关拨至 PUMP，指示黄灯亮，待真空泵启动后方可松手。等高真空指示灯(绿灯)亮后，先顺时针旋转样品杆 15°并推入到一固定位置后，继续顺时针旋转 75°后推入样品杆。

5.3 图像观察

(1)检查离子泵真空（确保 $<8 \times 10^{-5}$ Pa），开 BEAM。

(2)先在低倍放大模式 Low Mag 下检查样品，再换至高倍模式 Mag1。按下 STD Focus 键，放大到合适倍数，调节 SHIFT X, SHIFT Y, BRIGHTNESS 旋钮使光斑大小合适、位置适中，利用 IMAGE X, IMAGE Y, Z \wedge ，Z \vee 和 OBJ Focus 调焦得到样品的图像。

(3) 将光圈散开至合适亮度，点击 i-TEM 软件上的动态采集，在电脑屏幕上获

得样品的结构图像，点击冻结完成抓图，所得图片暂存在窗口左侧，选中要保存的图像，点击 Save，弹出 Save 对话框，输入文件名，选好存储位置保存即可。

(4) 仪器状态调整

① 0STD Focus 键，将物镜电流置于标准电流值。

② 聚光镜光阑对中及消像散：先逆时针旋转 BRIGHTNESS 使光斑最小，并用 SHIFT 键将光斑调至屏中心；加 1 档聚光镜光阑，顺时针旋转 BRIGHTNESS 使光斑散开，调节光阑旋钮上的 X/Y 方向使光阑处于屏中心；反复调节使光斑同心扩大缩小。放大倍数至最大，用 BRIGHTNESS 聚拢电子束，束斑中心呈三叉

形状("奔驰"标志的形状)，表明无聚光镜像散，若不是三叉形状，则按下 COND STIG，调节 DEF，使其为三叉形状。

③ 电压中心调整：放大倍数 400K，找样品上一特征位置放于荧光屏中心黑点处，束斑调至中心，用 BRIGHTNESS 将其散开，按下 HT WOBBLER 和 BRIGHT TILT，调节 DEF 使光斑同心收缩，即参照的特征位置不变（可用目镜观察得更清楚）。

④ 物镜消像散：放大倍数 400K，找一非晶边缘，打开 CCD 的 LIVE FFT，若 FFT 中心斑不圆则表明有物镜像散，按下 OBJSTIG，调节 DEF，将中心斑调圆。

⑤ 重复调节以上步骤，直至各个状态调整好。

⑥ 调整灯丝对中：放大倍数 40K，首先将电子束居中，打开 Maintenance 菜单中的 Alignment，点击 Anode Wobbler，点击其中的 GUN 将其选中，按下 GUN，调节 DEF，使光斑同心收缩；按起 Anode Wobbler，光斑应该居中，若不居中，用 SHIFT 将其调居中；重复上面操作。

⑦ 1-5 合轴：用 BRIGHTNESS 将束斑缩至最小，SPOT SIZE 调为 1，打开 Maintenance 菜单中的 Alignment，点击其中的 GUN 将其选中，用 SHIFT 将束斑调到屏幕中心，再次点击 GUN 将其置于未选中状态；调 SPOT SIZE 为 5，按下 BRIGHT TILT 用 SHIFT 将电子束调到屏幕中心，关闭 BRIGHT TILT；反复调节，直至 SPOT SIZE 1-5 时，电子束都在屏幕中心。

5.4 取样品

关闭 BEAM，点击 Stage Neutral 将样品归位后，采取与步骤二装样品相同的方法，取出样品杆后取下样品。

5.5 数据获取

打开电脑桌面上的“上传数据”快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 ftp://10.3.1.98 后，打开 Jem-2100F 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

5.6 日常关机

点击高压控制窗口的 stand by，使高压降至 120kV，然后关掉 Lens 开关。若

冷阱中有液氮，将加热棒放入冷阱中，之后在电镜控制软件菜单 maintenance 中选择 ACD on，开始加热将液氮烘烤干。关闭 i-TEM 软件和电脑。

5.7 仪器维护

仪器 bake 需要将电压降为 0，LENS 保持开启，机械关 V1 阀，样品杆和所有光阑均退出，之后在电镜控制软件菜单 maintenance 中选择 Bake out，设定好时间($\geq 48\text{h}$)后点击 start 开始 Bake。做完 Bake 后，需要做 Condition，切换 operate 到 COND， $t > 40\text{min}$ (79min)；然后切换 COND 到 Operate，升场， $t > 110\text{min}$ (143min)，开 V1 阀。

仪器六、透射电镜 HT7700

6.1 日常开机

(1) 加高压

打开循环水箱开关。按下主机 COL 按钮到 ON 状态，PC 会自动进入 Hitachi TEM system control 软件界面。点击 HV/Filament operation 窗口的 HV on 按钮，加速电压开始自动升值到 100kV，整个升压过程需 3min。

(2) 鼠标右键分别单击“Multi view”“Stage”图标，使两者的设定窗口显示出来。

6.2 装样品

(1) 取出样品杆

向外拉样品杆直到拉不动后顺时针旋转 15° ，再次向外拉样品杆直到拉不动后逆时针旋转 45° 。将样品仓放气按钮扳到 Air 一侧，样品仓的红灯点亮，预抽室放气以后，将样品杆慢慢取出。

(2) 装入样品

利用拨钉将样品杆头上的黄片水平后推轻轻卡住，用镊子掀起样品杆头上的白片，将欲观察的样品放入样品放置区，盖上白片，拨回黄片使其顶住白片。

(3) 插入样品杆

使样品杆上的定位销钉对准预抽室上的孔插入样品杆并压紧(此处严禁旋转样品杆)，红灯亮起，将样品仓排气开关扳到 EVAC 一侧。绿灯亮起期间，先将样品杆顺时针旋转到头，慢慢推动样品杆直到推不动，再逆时针旋转样品杆到头，

将样品推入样品仓中（绿灯亮起期间必须完成进样过程）。

6.3 图像观察

(1) 点击 HV/Filament operation 窗口中 Filam.on 和 Beam on 按钮，屏幕相机上出现光斑。

(2) 在 LowMag 模式下，找到所要观察的位置，切换到 Zoom-1 模式，用 Magnification 旋钮放大到合适的倍数，使用操作面板上 Brightness 旋钮将电子束调至斑点状，同时确认 BH 按钮亮着，用 XY 旋钮将光斑移至画面中心。

(3) 在屏幕相机模式下，将放大倍数调至 20k，按下操作面板的 WOB 按钮，图像晃动，利用样品马达台的 Z 旋钮将图像调至静止。调整结束，再次按 WOB 按钮，使其灯灭掉。调节操作面板上 Focus 旋钮，调焦得到样品内部结构，调焦的速度可通过操作面板上 F/C 按钮改变。

(4) 点击 Hitachi TEM system control 软件操作界面上 CCD operation 窗口中的 Run 按钮切换到 CCD 相机模式，点击 Freeze 按钮进行拍摄取图，点击 Save 按钮，弹出 Save 对话框，输入文件名，选好存储位置保存即可。

(5) 点击 CCD operation 窗口中 Stop 按钮重新切换至荧光屏相机，寻找样品的其它观察区域。

(6) 仪器状态调整

① 物镜像散

点击 CCD operation 窗口中的 Run 按钮切换到 CCD 相机模式，将放大倍数调至 200k，寻找样品非晶区（一般选择支持膜的边缘区域），点击“Multi viewer operation”中的“FFT”，观察 Multi viewer operation 窗口中束斑是否圆，若不圆，表明物镜有像散。按下操作面板上的 OS 按钮，用操作面板上的 X、Y 旋钮将束斑调为正圆，调整完后关掉 OS 按钮。

② 电压中心

点击 CCD operation 窗口中的 Run 按钮切换到 CCD 相机模式，将放大倍数调至 50k 以上。按下操作面板上的 MDL 按钮，图像呈放射性闪动，确认 BT 按钮处于亮灯状态，用 X、Y 旋钮将图像的放射中心调至荧光屏的中心。调整结束后，再次按 MDL 按钮，使其灯灭掉。

6.4 取样品

点击 HV/Filament operation 窗口的 Filam.off 和 Beam off 按钮，采取与步骤二装入样品相同的方法，取出样品杆后取下样品，再将空样品杆放入样品仓中。

6.5 数据获取

打开电脑桌面上的“data upload”快捷方式，将数据拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 ftp://10.3.1.98 后，打开 HT7700 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

6.6 日常关机

点击 HV/Filament operation 窗口中 HV off 按钮，关闭加速电压，关闭电脑。将主机的 COL 到 OFF 状态，待操作面板上 COL ON 指示灯灭，再关闭循环水箱开关。

仪器七、透射电镜JEM—F2001

7.1开始工作

(1) 早上第一个测试人员需要先往冷阱中加满液氮！

(2) 装样及进样操作

松开螺丝，不要卸下螺丝；抬起固定压片、并将其横向移动；将样品放入凹槽；将样品固定压片复位；拧紧螺丝（特别小心：不要拧得太紧）。检查样品是否装好，杆密封圈是否有污染，务必每次检查!!!（如果发现碎屑等污染，需及时清理，并涂抹真空脂），将样品杆定位销钉对准测角台的孔洞插入测角台，自动开始预抽，预抽时间为4min（计时器贴在门上），预抽时间结束之后，在软件中选择对应的样品杆（Standard Holder）样品杆即自动进入，待进样完成之后，关上测角台外盖，电镜控制显示器上“Open Project”对话框点击 OK。

(3) 检查真空状态

主机控制电脑 TEM Center 软件，点击 Vacuum，检查各真空状态处于 Ready 状态，SIP 3 数值为 4×10^{-5} 以下。

(4) 检查高压状态（HT、Emission、Flash）

HT~200kV、Emission 显示正常。每天上午第一位测试人员需要在点击 Auto Emission on 之前，先点击 Flashing High，下午第一位测试人员在点击 Auto

Emission on 之前先点击 Flashing Low。

7.2测试操作

TEM 成像

(1) 确认 Operation 以及 Illumination 已设为 TEM。

(2) 打开 beam 并切换至 low mag 模式，移动轨迹球找到要观察的样品区域。切回 Mag，继续观察，使用 Brightness 和 Beam shift 调节电子束的位置。(打开 beam 没有光时，可以检查：物镜光阑和选区光阑是否已退出； Brightness 是否把电子束散得太弱；样品是否位于薄区附近。)

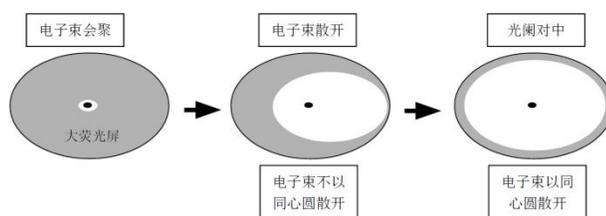
(3) 确定 Spot size 1 和 Angle 5，倍率为 40k。

(4) 聚焦

连续按两次 STD Focus 键使物镜电压处于标准值，用 Z 调节样品高度，使样品接近正焦位置；按 image wobb 后，调节 Z 使得图像不再抖动

(5) 聚光镜光阑对中

通常用 1 号聚光镜光阑，用 Brightness 聚光成点，再用 shift 把电子束移动到中心，接着用 Brightness 散开电子束，通过移动光阑将电子束移至中心，反复几次使电子束同心放大缩小即可，如下图所示。

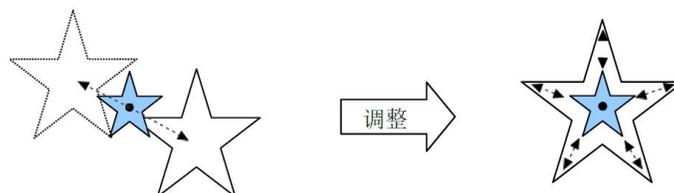


(6) 消聚光镜像散

粗调：40K，当电子束为椭圆时，打开 CL STIG，使用 DEF/STIG 把电子束调节成圆形；细调：倍数放到最大，用 Brightness 将电子束聚到最小，调节荧光屏相机的曝光时间为最小 (0.001s)，将电子束斑中心调节为“奔驰标”形状。

(7) 调节电压中心

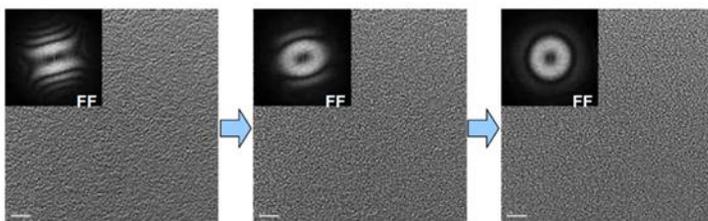
放大倍数调节至 100k 以上。电子束对中后散至荧光屏大小，打开 HT Wobb，



用 DEF/STIG 从荧光屏中心调节图像的缩放使其呈同心圆放大收缩，如下图所示。高倍观察时 (>400k)，可以在 400k 下再次调节电压中心。

(8) 消物镜像散

移动到样品的非晶区域（例如碳支持膜或者微栅的膜边缘），倍数设为 400k，按下 OBJ STIG，使用底插 oneview 相机拍摄实时图像，对图像做傅立叶变换，即在软件中按 FFT 按钮，用 Z 调节样品高度，使样品稍稍欠焦，然后观察 FFT 图像，用 DEF/STIG 旋钮，使 FFT 图像成为正圆。（注：调节物镜像散时，先旋转左侧 DEF/STIG 按钮，使椭圆向正圆变化，当旋转按钮时椭圆发生旋转，则需要调节右侧旋钮，如此反复，使椭圆成为正圆。若 FFT 图上有很多环，则调圆后还需要用 Z 或者 OBJ Focus 把环扩大，减少 FFT 上的圆环，若此时圆环又呈现椭圆时，仍要继续消像散。此外，当物镜像散偏差较大时，FFT 上可能不是椭圆



环，而是双曲线。这时可采用两个办法：一、用 OBJ Focus 大量欠焦，使 FFT 上双曲线变为椭圆，然后调节；二、先调节左侧旋钮，使双曲线中心放大，当 FFT 旋转时，再调节右侧旋钮，反复进行，如下图所示。）

(9) 拍摄图像

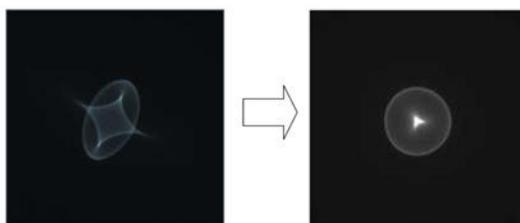
移动至观察位置后，需要用 Brightness 调节亮度，并用 Z 和 OBJ Focus 调节聚焦，拍摄时注意在略微欠焦的位置拍摄即可。欠焦量和倍率以及样品厚度有关。（过焦时样品边缘呈现出黑色衬度条纹（菲涅尔条纹），若在此时拍照，将可能误导他人以为是样品结构导致边缘出现黑色条纹。因此，拍摄时需要在略微欠焦条件下进行，此时样品边缘出现白亮的边缘。）

选区电子衍射（SAED）

(10) 做选区电子衍射之前，需要先调节中间镜像散

倍数设为 40k，切换至 DIFF 模式，相机长度设为 2000mm。把 Brightness 右旋到底，调节 OBJ Focus，使电子束出现 Caustic spot。打开 PLA，用 DEF/STIG 把

束斑移动到中心。调节右侧操作面板上的 IL STIG 使束斑为圆形，Caustic spot 呈现奔驰标的形状，如下图所示。



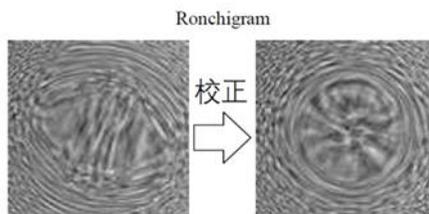
(11) 移动到需要做衍射花样的区域，按 STD Focus 后，用 Z 调整样品高度，插入合适尺寸的选区光阑，调节光阑对中。按 DIFF，并按 STD Focus，用 MAG/CAM L 设定相机常数。用 Brightness 右旋到底，仪器会发出警报响声。按 PLA，用 DEF/STIG 把直射电子束斑移动到中心。用 Focus 把衍射点调节到最小，即具有最明锐的特征。拍摄图像必须加入挡针，防止透射电子束损坏相机。

STEM 成像

(12) 将 Operation Mode 改为 Scanning，选择合适的 Probe size，需要高分辨率成像选择较小的 Probe size 例如 8，做 EDS 分析选择较大的 spot size，例如 5, 4，当样品不耐损伤时，需要选取较小的 probe size。

(13) 利用 Ronchigram 消聚光镜像散

移动样品至非晶区域，可以是样品边缘的薄区，放大倍数设为 1M 以上，在屏幕左上角 Scan 菜单栏中点击 Ronchigram 按钮。用荧光屏相机观察 Ronchigram 时，为了方便观察，可以把相机常数设定的大一些，例如 500mm，按 STD Focus，调节 Z 和 Focus，显示 Ronchigram（圆形摆动图像）。按 PLA，用 DEF/STIG，将 Ronchigram 移动到中心。按 CL STIG，用 DEF/STIG 把 Ronchigram 调节为正圆，插入 3 号聚光镜光阑（若要做能谱分析，则加入 HX 光阑并调节至中心，若想提高 BF 像的衬度，可加入 BF 光阑并调节至中心），把相机常数改回 250mm，若光有偏移，用 PLA 将 Ronchigram 调至中心，关掉 Ronchigram，切至 scanning 模式。



(14) STEM 明场 (Bright Field) /暗场 (Dark Field) 图像观察

通常选择相机长度 250mm, 此时暗场像为 HAADF 像, 选择 Scan BFI / DFI Upper, 点击屏幕上方菜单栏 “Auto” 中的 “Auto Gain” 自动调整图像对比度, 再使用 BF / DF Upper offset / Gain 的 offset 和 Gain 进行微调, 调节 Z 或者 OBJ Focus 聚焦使图像清晰, 点击屏幕右下方的 “Scan Control” 中的拍照选项获取 STEM 明场或者暗场像。存储路径可在屏幕下方的 “File Format” 中以课题组为单位自行创建修改。

(15) HRSTEM 图像观察:

在低倍聚焦, 可以选择样品边缘区域。移动到感兴趣的区域, 放大图像, 并聚焦。倍数放大到 10~20M 后, 大致能看到原子像。若此时看不到原子像, 或者因为带轴不正, 或者因为像散过大。若能看到原子像, 则跳至第 7 步。点击 Scan 一栏中的 Spot 按钮, DFI Upper/BFI Upper 窗口显示十字交叉线, 交点位置为电子束的位置。此时从荧光屏相机上可以看到菊池花样, 根据菊池花样倾转样品。倾转样品时样品会发生平移, 故返回 Full Scan 模式, 把样品移动回中心, 再点 Spot 继续倾转样品。反复进行直到样品转至正带轴。若菊池花样不明显, 可以用 Log Scale 显像方式在荧光屏相机上显现菊池花样。带轴正而不出原子像是像散过大, 返回 Ronchigram 模式调节聚光镜像散。看到原子像后, 按 CL STIG, 把 DEF/STIG 改为细调, 调节聚光镜像散使原子明锐。调节 CL STIG 时, 也需要用 Focus 来回调节以判断图像聚焦状态。

Beam Shower

STEM 模式样品有机物的污染会严重干扰成像, 其中有效的一个方法是做 Beam shower, 具体操作如下:

一、Ronchigram 模式

- ① 切换到 Ronchigram 模式。
- ② 在即将拍摄的样品区域做大幅度地离焦, 方法是按 Z 调节样品高度, 调节距离为 150 μm 左右, 例如开始为 30 μm , 则调节至-120 μm 。
- ③ 将 probe size 设为 1-4 (块体材料 1-2, 粉末样品 3-4), 退出聚光镜光阑 (CL1), 加入选区光阑 4 号 (也可同时加入物镜光阑 4 号, 目的是

防止强电子束损伤大荧光屏)，相机常数设为最大。

④ 等待约 15-30 分钟。时间视样品污染程度而定。结束后 probe size 切回正常拍照所用的状态。

注：如果用 Spot 模式，必须手动把 ADF 探测器退出，如果没有退出，则会导致探测器受强光照射而损伤。

二、Scanning 模式

① 在正焦时设置 probe size 为 1-4。

② 放大倍数将至最低（约 20K）。

③ 退出 BF/DF 探头（特别注意此步骤），加入选区光阑 4 号和物镜光阑 4 号，相机常数设为最大。

④ 大幅度地离焦，方法是按 Z 调节样品高度，调节距离为 150um 左右，如开始为 30um，则调节至-120um。等待 20-40 分钟左右即可。

注：选择此模式扫描范围更大，但相对等待时间更长。

EDS 能谱测试

（16）在上述第 13 步获取 STEM 图像后，选择要测试的区域，在能谱电脑上打开能谱探头的控制小程序“SDD1”和“SDD2”，由 S-CHANGE（未插入未制冷状态）切换到 RETRACT（制冷未插入状态）再切换到 INSERT（插入分析模式），【注：点击 RETRACT 时，能谱探测器首先开始冷却，此时会发生颜色变化，当颜色变成浅绿时，方可点击 INSERT，插入能谱探头。切记：探头插入状态下，不可插入或者拔出样品杆以及大幅度移动样品，如果要大幅移动样品则需要将能谱探头先 RETRACT（F200 自动进出样品杆时，能谱探头会自动退出，但是切换成手动模式时需要谨慎）】。打开能谱软件 AZtec，选择对应的分析模式（以面扫描 Map 为例），点击 Scan Image，点击 setting 设置中的 Custom 选择漂移矫正功能，点击 start 获取电子图像，然后点击“Acquire Map Data”中的 start 开始采集 EDS 分布图像，在“Construct Maps”中可以对图像颜色等信息进行修改。

三、结束工作

（1）退出各级光阑，退出能谱 EDS 探头（如使用），关闭 beam value。（上午和下午最后一个测完需要点击 AutoEmissionOFF 关闭发射电流）

(2) 退出样品杆

点击 StageNeutral 使测角台归位, 打开测角台保护盖, 确定测角台按键为 auto, 按 Remove Ready, 或者双击屏幕上的样品杆即可自动退出样品杆。(如果测角台的保护盖没有充分打开, SPECPORTER 的程序不会启动。)

(3) 晚上最后一个测试的同学需要将冷阱中的液氮加满!

仪器八、聚焦离子束-电子束双束电镜

8.1 日常开机

打开电脑点击 FEI System Control 进入用户界面, 点击 Start 等待用户操作界面自动启动, 输入密码 Supervisor 点击确认进入操作界面。

8.2 进样

(1) 将样品台装在样品座上, 样品不可超过样品台大小, 高度不可超过测量台, 确认完样品大小后拧紧样品底座上的螺丝。

(2) 按下 V 键, 听到放气声待指示灯亮后, 打开样品室仓门, 把样品固定在样品杆上后关上仓门。

(3) 按下 P 键, 样品交换室开始抽真空, 待指示灯亮后真空抽好, 将交换室仓门杆由 LOCK 旋至 UNLOCK, 往后拉到头, 再由 UNLOCK 旋至 LOCK 将样品室门固定后, 即可将样品送入样品室, 之后抽出样品杆, 再把交换室仓门杆由 LOCK 旋转至 UNLOCK, 再往前推到头, 由 UNLOCK 旋转至 LOCK 旋至 LOCK 关闭交换室仓门, 等真空抽好即可加高压。

8.3 图像观察

(1) 样品导航图

打开 Stage 菜单选择 Take Nav-Cam Photo 选项, 仪器开始自动做导航图像。

(2) 加高压、图像暂停或开始扫描

① 在 Beam Control 菜单中, 点击 System 中的 Wake Up 开始加电子束和离子束高压; 选中电子束窗口调整合适的电压和电流(通常为 2kV, 43pA), 再选中电子束窗口调整合适的电压和电流(通常为 30kV, 1.1pA)。

② 加上高压后, 用 Start Image Acquisition 键或 F6 来控制图像窗口的暂停或开始扫描。

(3) 电子束、离子束图像的调整

① 首先点击 Link 关联工作距离和样品台实际高度，再调整样品台高度为 4mm。

② 在电子束图像窗口，用 Ctrl+鼠标右键（或者 UI 上的 Brightness/Contrast 旋钮）手动调节图像的对比度和亮度（或用 F9 快捷键自动调节）；在电子束窗口，应用 Mode I 模式和 ETD 探头，找到所要观察的样品，在电子束窗口下选好视场后，放大至合适倍数通过鼠标右键（或 UI 上的 Focus 旋钮）进行调焦；在调焦过程若发现图像有拉长现象，则需消像散，用 Shift+鼠标右键（或 UI 上的 Stigmator X 和 Stigmator Y 旋钮）进行调节，先调节 Stigmator X 使图像在水平方向的拉长消失，再调节 Stigmator Y 使图像在垂直方向的拉长消失。

③ 在离子束图像窗口，一般选用 ETD 探头或者 ICE 探头进行成像，可用同样的方法调整离子束图像。

8.4 图像采集及保存

(1) 电子束窗口，切换至 Mode II，再微调亮度、对比度、焦距、像散等，达到图像最清晰，点击 Photo 进行图像采集，弹出 File name 对话框，选择要保存图像的文件夹，输入文件名点击 Save 保存。

(2) 离子束窗口，点击 Photo 进行图像采集，弹出 File name 对话框，选择要保存图像的文件夹，输入文件名点击 Save 保存。

5. 微纳加工

(1) 调共高点

① 在电子束窗口，较低的倍数下，选一个参照物置于窗口中间，调节样品台倾斜 5°，观察电子束窗口的参照物位置是否有变化，若有变化，通过调样品台高度把参照物的位置调回，然后将样品台调至 52°，若参照物的位置有变化时，再通过调整样品高度调回。

② 再选中离子束窗口，调整和电子束同样的倍数观察离子束的参照物图像是否和电子束的图像在同一样品位置。如果不在同一位置用 Shift+鼠标左键调整至同一位置。

③ 应用电子束沉积时一般样品台角度为 0°，应用离子束沉积或刻蚀时样品

台角度一般为 52° 。

(2) 定点沉积

① 可用电子束或者离子束进行 Pt 的沉积。

② 电子束沉积是在电子束窗口选择合适的电压和束流，首先进行图像调整，用 Rectangle Pattern 在要沉积的区域画矩形框，在右侧 Pattern 的 Properties 窗口里调整 application 选项，选择 Pt e-dep structures 模式，也可通过改变 X Size, Y Size, Z Size 数值改变沉积区域的尺寸及沉积的厚度；设置完参数后，在 Gas Injection 窗口中点击 Pt 的 Warm 键，开始加热 Pt 气体，待加热完成，点击 Start Patterning in Display，提示是否要插入气体针，选择是，则 Pt 气体针插入到沉积位置开始沉积，等沉积完成后手动退出沉积针、关闭 Pt 加热并删除 Pattern 矩形框。除了矩形框外，还沉积其他形状的 Pattern，如 Line Pattern, Circle Pattern, Polygon Pattern, Bitmap Pattern 等。

③ 离子束沉积是在离子束窗口选择合适的电压和束流后，首先进行图像调整，之后的沉积流程与电子束沉积相似，区别是离子束沉积选择 Pt dep 模式。

④ 若有其他气体源也可进行其他元素的沉积，如 C, SiO₂ 等。

(3) 定点刻蚀

选中离子束窗口，选择合适的刻蚀电压和束流，首先进行图像调整，用 Rectangle Pattern 在要沉积的区域画矩形框，在右侧 Pattern 的 Properties 窗口里调整 application 选项，选择 Si 模式，也可通过改变 X Size, Y Size, Z Size 数值改变刻蚀区域的尺寸及刻蚀的深度，设置完参数后，点击 Start Patterning in Display 开始刻蚀。除了矩形框外，还可刻蚀其他形状的 Pattern，如 Line Pattern, Circle Pattern, Polygon Pattern, Bitmap Pattern 等，根据需求刻蚀模式也可选择 Si-RCS, Si-CCS 等。

(4) TEM 样品制备

① 进行 TEM 制样时，除了将样品台放置于样品座外，还需同时将装载网的托（一般选用预倾 38° 的载网托）置于样品座。

② 电子束沉积 Pt：选好拟制备的样品位置，按照电子束定点沉积 Pt 的流程，沉积大小约为 $8\mu\text{m} \times 1.5\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$ 的 Pt 条，可根据要制备的样品大小进行调整。

③ 调整共高点：以电子束沉积的 Pattern 为参考物，按照前述调共高点的方法，调样品台在 52°时图像位置与 0°时相同，且离子束与电子束图像位置相同。

④ 离子束沉积 Pt：在电子束沉积的 Pt 上再画 Rectangle Pattern 矩形框（ $8\mu\text{m}\times 1.5\mu\text{m}\times 1\mu\text{m}$ ）将其覆盖，应用前述离子束定点沉积的方法进行 Pt 沉积。至此形成一条经过两层沉积的 Pt 条来保护要进行 TEM 制样的区域。

⑤ 挖大坑：在离子束窗口，在沉积的 Pt 条两侧应用 RCS 画两个矩形框，大小通常为 $14\mu\text{m}\times 10\mu\text{m}\times 10\mu\text{m}$ ，根据 Pt 条的大小可适当调整，两个框之间留 3-4 μm 距离，选择由外往 Pt 条方向刻蚀，刻蚀完毕后在 Pt 条两侧形成两个大坑。

⑥ 精减薄：在离子束窗口，将样品台旋至 54°，用 CCS 在 Pt 条上方画矩形框至 Pt 条上边缘，选用 Si-ccs 模式进行刻蚀；将样品台旋转至 50°，用 CCS 在 Pt 条下方画矩形框至 Pt 条下边缘，选用 Si-ccs 模式进行刻蚀，最后留下厚度为 1.5 μm 、深度约为 10 μm 的覆盖 Pt 条的样品。

⑦ U-cut：旋转样品台至 0°，在离子束窗口，用 Rectangle Pattern 在样品的底部和左侧各画一个矩形框，应用 Si 模式将底部和左侧切断。

⑧ 提取样品：伸入机械臂 Easy Lift 和 Pt 气体针，将 Easy Lift 调整到样品悬空的一端使其接触到样品左上角，应用前述 Pt 沉积的流程将样品端粘至 Easy Lift 上，再将样品右侧应用刻蚀流程切断，然后用 Easy Lift 把样品提至安全距离，收回 Easy Lift 和 Pt 气体针。

⑨ 转移样品至铜网：将样品台倾斜 52°，调整铜网的位置和共高点，使网的手臂平行于电子束，选择拟沉积的网臂，在离子束窗口，伸入 Easy Lift 和 Pt 气体针，调整 Easy Lift 位置使样品与网臂接触但无应力，应用前述 Pt 沉积的流程将样品与网臂粘接，再用前述的刻蚀流程将样品与 Easy Lift 切断，收回 Easy Lift 和 Pt 气体针。

⑩ 减薄样品：将样品台归到 0°，使样品平行于离子束，调整好电子束和离子束的图像状态和共高位置。将样品台倾斜 1°，在离子束窗口画 Rectangle Pattern 画矩形框，用 Si 切样品下表面，设置 Z 为 300nm；将样品台倾斜-1°，在离子束窗口画 Rectangle Pattern 画矩形框，用 Si 切样品上表面，设置 Z 为 300nm。应用以上流程依次减小离子束束流和刻蚀厚度继续对样品进行减薄，至束流为 40pA、

样品厚度约为 200nm 时，换离子束电压为 16kV、束流为 11pA 继续减薄，当厚度减至约为 100nm 时，换 8kV, 5.7pA, 进一步将样品减薄并去除表面的损伤层(如非晶层等)，至此 TEM 制样完成，可用 STEM 探头检查所制备的样品。

8.6 出样品

(1)摁下 P 键，等待样品自动归位，待指示灯亮后，将交换室仓门杆由 LOCK 旋至 UNLOCK，再往后拉到头打开交换室仓门，由 UNLOCK 旋至 LOCK。放入样品杆至样品室，把样品拉出来。再把交换室仓门杆由 LOCK 旋转至 UNLOCK，再往前推到头关闭交换室仓门，由 UNLOCK 旋转至 LOCK 旋转至 LOCK 。

(2)摁下 V 键，待指示灯亮后放气完成，把样品室的门打开取出样品，然后把样品室的仓门关好，摁下 P 键抽样品交换室的真空。

8.7 数据获取

将数据传输至 ftp://10.3.1.98，在所内的电脑上登录 ftp://10.3.1.98 后，打开 2011-eds 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

8.8 日常关机

点击 Beam Control 菜单中 System 窗口的 Sleep 关闭电子束和离子束；打开 FEI System Control 程序，在 Microscope 功能框中点 Stop，用户界面自动关闭，之后关闭 FEI System Control 程序界面及电脑。

仪器九、SU8020 Oxford能谱

9.1 日常开机

打开能谱电脑的主机，打开电脑桌面的能谱操作软件“Aztec”，创建“新项目”，选择保存数据的文件夹。点击右下方“EDS 探头控制”，温度栏点击运行状态中“运行”按钮，插入栏点击“入”。

9.2 图像观察

(1) 电镜调至能谱的操作条件：

将电镜调至能谱操作条件：Z 轴高度可 4~10 mm 之间，设置具体数值后点 Go 按钮，Z 轴高度稳定后，调节焦距后再进行合轴调整，至少调对中 Alignment 中的第一项 Beam Align。

(2) 设定能谱软件的参数：

点击右下角“电镜控制”按钮，将放大倍数、工作距离和加速电压调整至与 SEM 软件界面一致，每一项更改完参数后点击“设定”，使得“当前”数值与“新建”数值一样。

(3) EDS 测试

①点扫描

在左上角测试种类中选择“Point&ID”；

点击上方测试进度条的“扫描图像”，进入该界面后点击“开始”，此时从电镜获取图像；

点击测试进度条“采集谱图”，点击“开始”，即开始采集谱图（如果该步骤的“开始”按钮为暗色，显示温度还未达到，请耐心等待探头的温度降温，约需 5 分钟，温度到达测试温度后“开始”按钮会自动变为绿色）；

点击测试进度条“确认元素”，可以在元素周期表中双击手动添加或删除元素，绿色为添加，红色为删除；

有两种模式，一种是固定时间的，一种是非固定时间的，分别说明一下，要停止测试，点击“采集谱图”，点击“停止”按钮，结束谱图采集，再点击上方的“计算成分”，得到各元素的重量百分比；

点击“报告结果”，得到 Word 版本的数据，也可以根据自己的需要在“报告结果”中选择合适的“报告模板”，输出需要的数据；谱图的原始数据输出流程：右键单击谱图区域，点击“导出”，选择“EMSA”格式，此格式可以直接用 origin 或 excel 打开；

如果测试同一样品的不同区域，可以在“扫描图像”界面，选择“新区”，测试步骤同上，最后对每一个区分别输出报告，整个项目的保存是点击左上方“文件”——“保存”，方便后期查看原始数据及对数据进行处理。

②线扫描

在左上角测试种类中选择“线扫描”；

点击上方测试进度条的“扫描图像”，进入该界面后点击“开始”，此时从电镜获取图像；

点击测试进度条“采集线扫描数据”，点击左侧工具栏中的“直线”标志，可在

图像关心区域做任意方向直线，点击“开始”，即开始采集谱图；

点击测试进度条“构建线扫描”，在元素周期表中双击手动添加或删除元素；

停止测试，点击“采集线扫描数据”——“停止”，结束谱图采集；

数据输出方法同点扫描。

③面扫描

在左上角测试种类中选择“面扫描”；

点击“扫描图像”——“开始”；

点击测试进度条“采集分布图数据”，点击“开始”，即开始采集谱图，也可以选择左侧工具栏“矩形”标志，选择需要测试的区域；

点击测试进度条“构建分布图数据”，在元素周期表中双击手动添加或删除元素；

停止测试，点击“采集分布图数据”——“停止”，结束谱图采集；

数据输出方法同点扫描。

9.3 数据获取

先将数据拷"eds data"中吧打开 SEM 电脑桌面上的“Date upload”快捷方式，将共享数据“eds data”拷贝到以课题组长为名的文件夹中。在所内的电脑上登录 ftp://10.5.22.168 后，打开 SU-8020 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

9.4 日常关机

(1) SEM 恢复：将 SEM 的 Z 轴高度参数恢复。

(2) 能谱关机：点击右下方“EDS 探头控制”，插入栏点击“出”，温度栏点击运行状态中“待机”按钮（注意：如果拍摄 SEM 和能谱测试同时进行，即不连续测试能谱数据时，每次测完能谱就必须出探头，最后测完所有数据仪器待机），最后关闭能谱软件和电脑。

仪器十、冷冻传输装置PP3010T

10.1 日常开机

打开自增压氮气瓶开关气流调节到 0.15-0.25Mpa，打开氩气并调节到 0.03-0.05Mpa。打开 PrepDek®下面的总电源开关，打开触摸屏后面的开关，系统开始启动。启动后，通过双击屏幕上 PP3010T 程序打开系统控制软件。在软件控

制界面中点击“START UP”，勾选 Log vacuum and temperature values 项，确保电镜状态正常（冷台已安装+电镜真空正常+BEAM OFF 状态），选择“Auto Mode”显示，点击 OK。（也可选择“Manual Mode”，此模式下仪器不会自动提醒后续步骤）。

10.2 前期准备

（1）VIL 抽真空

把 the pumpout valve 安装到 CHE3000 上（扣上阀门，黑色旋钮顺时针旋转到底），点 OK 后机械泵对 Isolated line 抽真空，打开 pumpout valve（将黑色旋钮及活塞慢慢的拉出），点击 OK。等待 BTank 和 VIL 真空达到要求。

（2）VIL 氮气吹扫

当真空达到时系统自动的以较小（1L/min）的氮气流量对管路进行 20 分钟的吹扫清洁。在 20 分钟倒计时的同时，机械泵通过 Isolated line 一直对 CHE3000 真空管抽真空。20 分钟结束后关闭 pumpout valve（将黑色旋钮推到底，然后顺时针“旋推”将活塞部分卡入方槽内，此时应有“咔哒”的感觉），点击 OK 移去 pumpout valve。将黑色旋钮逆时针旋转 8 圈以上，然后慢慢向上提起（此时应该听到轻微的放气声），然后再拔掉 pumpout valve，点击 OK。

（3）SEM 腔室和制备腔室降温

等待备腔室达到高真空（ 8×10^{-4} mbar），此时显示“Please insert CHE3000 into 12L dewer”，把 CHE3000 插入装有液氮的 21L 杜瓦中。点击 OK 后三路氮气流量会立即自动变大，这时点击 Gas flowAuto 使用自动流量控制，点击 OK，等待温度达到设置的温度，温度下降大约需要 20 分钟。（温度建议：SEM 冷阱 $\leq -175^{\circ}\text{C}$ ，SEM 冷台 -140°C ；制备腔室冷阱 $\leq -175^{\circ}\text{C}$ ，备腔室冷台 -140°C 。）

（4）制作液氮泥

将液氮泥罐的聚苯乙烯杯中加满液氮。盖好盖子并摁住，点击屏幕上的“Slush Pump”按钮。当看到液氮全部变成雪泥时（雪泥体积会膨胀），再点击“Slush Pump Cancel”按钮停止抽真空。

10.3 样品制备

（1）样品装载

把样品座装载到样品梭上（液体样品：使用多孔样品梭或铆钉装载），再将样品装到样品座上，最好把样品梭装载到传输装置的传输杆上。

（2）样品预冷

点击“Slush Vent”按钮对制备好雪泥的处理罐放气，当真空破开后点“Slush Vent Cancel”按钮取消放气。雪泥将变成“过冷”液氮（-210℃）。

把已装载好样品的传输装置头部迅速插入“过冷”液氮中，同时把传输装置与雪泥制造罐对接好，点击“Slush Pump”按钮。

点击触摸屏上的灯（Desk Lamp），观察液氮，在液氮变成雪泥前把样品提拉到传输装置的真空保持腔体装置中，然后关闭锁紧旋钮，使样品保存在传输装置真空环境中。

点击“Slush Vent”按钮对该雪泥制造罐放气破真空。取下传输装置。点“Slush Vent Cancel”按钮取消放气。

（3）转移样品到制备腔室

把传输装置迅速转移到制备腔室 Airlock 处与之对接好。

按 PUMP 按钮后“PUMP LED”变为闪烁，机械泵开始对 Airlock 抽气，并旋开传输装置上的锁紧旋钮。

当 Airlock 处真空达到时，其阀门变为绿色，此时打开阀门（顺时针旋转下方阀门 90°，然后下拉）。

如果阀门在 30 秒内没有打开，此阀门将重新互锁，需要重复②和③的步骤。

传输样品梭到制备腔室中的冷台上（传输杆不要退出，这样可保持传输杆在低温状态）。

（4）断裂

活动断裂刀和固定断裂刀工具，根据不同的样品形状来选择使用哪种断裂工具。若观察的位置是样品表面，可不用断裂，此步骤可省略。断裂之后，可将样品抽出，轻磕，以便将碎屑抖掉再做升华等后续工作。断裂刀使用后请放回原来的位置冷却。

（5）升华

点击屏幕左侧的“Sublime”按钮会显示升华窗口。在升华窗口可选择已有的或自己编辑升华程序进行升华。点击“START”按钮升华开始，升华结束后，制备腔室冷台的温度会回到原来的温度（-140℃），点击“Close”按钮关闭升华窗口。升华温度和时间取决于样品的性质和观察目的，通常对水的升华选用-90℃，5min，针对不同的样品需要进行条件摸索。升华后，先不对样品镀膜，把样品送入 FIB-SEM 中观察升华条件是否合适，若不合适可再次升华。

（6）镀导电膜(Pt)

点击屏幕左侧的“Sputter”按钮会显示镀膜窗口。在镀膜窗口可选择已有的或自己编辑镀膜程序（设置镀膜电流和时间）进行镀膜。点击“START”按钮镀膜开始。镀膜结束后，点击“Close”按钮关闭镀膜窗口。

（7）传输样品到 FIB-SEM 腔室

样品在传送到 FIB-SEM 腔室样品台前，检查确认：

a. SEM 电子枪已关闭(Beam off)，且 SEM 冷台位置正确。

b. SEM 和制备腔室台子的温度应一致（例如：均为-130℃），为了更精确的控制温度，系统在制备腔室冷台和 SEM 冷台都设有加热器,可通过点击“Heater”进行控制。

点击“Transfer”按钮，SEM 阀门处的灯变为绿色。

打开阀门，顺时针旋转 SEM 阀门 90°，然后下拉（拉到底），阀门打开后 SEM 腔室内的灯自动打开。

通过传输装置把样品从制备腔室传送到 SEM 腔室的冷台上。

样品传输杆从 SEM 腔室退到制备腔室，脱开时注意来回轻拧传输杆以确保不带出样品梭导致掉落在 SEM 腔室中，再将传输杆完全拉出。关闭 SEM 阀门(向上推，然后逆时针旋转 90°)，SEM 腔室的灯自动关闭。当样品送入 SEM 腔室观察时，可关闭加热器，以节省液氮。

10.4 图像观察

将样品台位置由 position 1 调整至 Z 为 4mm，进行 SEM 观察。若镀膜太薄，需要取出样品并重新镀膜。

10.5 数据获取

将数据传输至 ftp://10.3.1.98，在所内的电脑上登录 ftp://10.3.1.98 后，打开 2011-eds 文件夹，将数据直接拖出即可下载。

10.6 取样品

关闭 SEM 电子枪，SEM 冷台位置调整至 position 1，调节气流使 SEM 和制备腔室样品台的温度应一致。点击“Transfer”按钮，SEM 阀门的 LED 灯变成绿色，打开 SEM 阀门。通过传输杆把样品从 SEM 制备腔室取出放入 Airlock 处，关闭 SEM 阀门，关闭 Airlock 阀门。按“VENT”放气卸去 Airlock 处真空，取下传输装置并移去样品梭。如需再做下一个样品，需使用吹风机暖风吹干传输杆的顶端。

10.7 日常关机

把 CHE3000 从 21L 杜瓦罐中取出，挂在杜瓦罐边上。等待制备腔室和 SEM 的冷台和冷阱回到室温。Gas Flow 都设为 0。Storage 抽真空至-1 毫巴量级，按 Cancel Operation 关。点击屏幕“Shutdown”按钮，等待出现“Shutdown complete”信息。关闭 PP3010T 程序，关闭计算机，关闭 PrepDek®下面的总电源开关。关闭氩气和氮气。

注：平时无需全部关机，只进行①-④即可。

仪器十一、冷冻透射电镜Themis300

11.1 日常开机

冷冻透射电镜需一直保持真空，因此仪器总保持在待机状态，一般不进行关机。除 Cryo-cycle 维护外，需定期在杜瓦瓶中加液氮，保持液氮量在 10%以上。

11.2 常温杆装取样品过程

(1) 常温样品杆装样品及进样品

取下样品杆放置架前端的保护盖，用专用工具将样品杆前端固定样品部分轻轻拨起，将欲观察的载网膜或样品（样品面朝下）放置在圆形凹槽区域，将固定样品部分轻轻放下压住；

使样品杆上的定位销钉对准测角台上的 close 标记，插入样品杆，使其定位销钉滑入测角台的狭缝中，此时，预抽泵启动，预抽时间一般设置为 180s；

预抽完毕，气阀自动关闭，缓慢地逆时针旋转样品杆转回正向垂直位置，匀速将样品杆完全插入测角台内。

(2) 常温样品杆取出

关闭 Col.Valves, 点击 Stage Control 中的 Reset Holder, 将样品杆归位后, 向外拉样品杆至拉不动后顺时针旋直到转不动, 将样品杆慢慢取出。

11.3 冷杆装取样品过程

(1) 冷杆装样品

(2) 从 pump station 中取出样品杆;

(3) 将样品杆轻轻插入样品杆的工作台;

(4) 在样品杆的杜瓦瓶和工作台前端罐体中加入液氮, 待液氮沸腾稳定后再继续加入适量液氮, 直至温度稳定在 -190°C ;

(5) 将使用的镊子和螺丝刀放置在工作站的液氮中冷却, 取出液氮中存放样品的载网盘, 将载网盘快速转移至工作站前端铝支撑块的圆形凹槽中;

(6) 将冷杆前端的压环取下, 打开铜网盘, 将样品取出小心放置于冷杆前端的孔中, 并且用压环将样品固定好;

(7) 在工作台中继续加入液氮, 液氮液面高过冷杆前端, 并将样品杆保护盖推入, 将载网盘快速放回盛放液氮的杜瓦瓶中。

(8) 冷杆装样品

(9) 样品台倾转 -63° , 使样品杆上的定位销钉对准测角台上的 close 标记, 插入样品杆, 使其定位销钉滑入测角台的狭缝中, 此时预抽泵启动, 预抽时间一般设置为 360s;

(10) 在冷杆杜瓦瓶上放置漏斗, 并用手轻托杜瓦瓶, 加入适量液氮;

(11) 预抽完毕, 气阀自动关闭, 缓慢地逆时针旋转样品杆并匀速将样品杆完全插入测角台内, 然后将样品台旋转角度归为 0° , 并在样品杆的杜瓦瓶中补充液氮。(3) 冷杆取出

(12) 关闭 Col.Valves, 点击 Stage Control 中的 Reset Holder, 将样品杆归位后, 向外拉样品杆至拉不动后顺时针旋转直到转不动, 将样品杆慢慢取出。取出后的样品杆需置于 pump station 中进行 warm up。

11.4 TEM模式下仪器合轴调整

(1) 打开 User Interface 界面中 Vacuum 选项, 点击 Col. Valves, 打开电子束;

(2) 点击 TEM User Interface 界面 Workset 中的 Alignments 项, 对其中的 Direct Alignments 的各项进行调整, 具体如以下步骤:

(3) Gun Tilt: beam settings 中选择 Spot number 为 3, 将光斑在荧光屏中心汇聚至合适大小, 打开 User Interface 右下角中的 System Status, 顺逆方向调整 Multifunction X, 恰好使两个方向的光恰好消失, 记下恰好消失时, System Status 中 Gun Deflector 中 Gun Tilt X 方向的两个数值, 取平均值, 使用 Multifunction X 将 Gun Tilt X 的数值调为此平均值, 同样的方法使用 Multifunction Y 调整 Gun Tilt Y 方向, 调整完成点击 Done;

(4) Gun shift 及 Beam shift: 选择 Spot number 为 3, 点击 Gun shift, 将光斑汇聚至最小, 使用 Multifunction X、Multifunction Y 将光斑移至荧光屏正中心, 选择 Spot number 为 9, 点击 Beam shift, 将光斑汇聚至最小, 同样将光斑移至荧光屏正中心。Gun shift 及 Beam shift 需反复调节, 直至光斑在 Spot number 3、9 下均在荧光屏正中心, 调整完成点击 Done;

(5) Beam Tilt pp X 及 Beam Tilt pp Y: 两者均需放大倍数大于 100k, 光斑汇聚至最小, 使用 Multifunction X 调至光斑中心不抖动, 调整完成点击 Done;

(6) Center C2 aperture: 将光斑移至荧光屏中心, 光斑大小适中, 点击 beam settings 中 Free Ctrl, 选择 Mode 中的 C3 off。点击 Center C2 aperture, 使用 Multifunction X, Multifunction Y, 调至光斑闪动过程中光以同心圆方式均匀散开, 光斑闪动快慢可通过 Focus Step size 调整, 调整完成点击 Done。并将 Free Ctrl 中 Mode 换回 TEM 模式;

(7) Condenser center TEM: 将光斑移至荧光屏中心, 点击 Condenser center TEM, 使用 Multifunction X, Multifunction Y, 调至光斑闪动过程中光以同心圆方式均匀散开, 光斑闪动快慢可通过 Focus Step size 调整, 调整完成点击 Done;

(8) Rotation center: 需放大倍数大于 100k, 光斑大小适中且调至中心, 点击 Rotation center, 使用 Multifunction X, Multifunction Y, 使光斑同心收缩, 调整完成点击 Done;

(9) Coma-free Alignment X、Coma-free Alignment Y: 需使用 Sherpa 程序自动调整, 调整放大倍数至 100k 以上, 找一非晶区域, Focus 调焦至 FFT 中非晶环

明显，点击 Sherpa 程序中的 Auto CTF，选择 coma 中的 correct 进行校正；

(10) Coma-free Pivot Point X、Coma-free Pivot Point Y：需放大倍数大于 100k，光斑大小适中且调至中心，点击 Coma-free Pivot Point X，使用 Multifunction X 调整至光斑中心不抖动，调整完成点击 Done，同样的方法调整 Coma-free Pivot Point Y；

(11) 调整完一遍合轴后，需再次确认上述其他状态是否正常，反复调整，直至电镜在 TEM 模式下处于良好的合轴状态。

11.5 STEM 模式下仪器合轴调整

(1) 打开 User Interface 界面中 Vacuum 选项，打开电子束；

(2) 点击 TEM User Interface 界面 Workset 中的 STEM 项，点击 STEM Imaging 中的 STEM，使电镜进入 STEM 模式；

(3) Gun Tilt、Gun shift：调整方法同 TEM 模式下的 Gun Tilt、Gun shift 合轴方法一致；

(4) Rotation center：调整方法同 TEM 模式下的 Rotation center 及 Tomo Rotation center 合轴方法一致；

(5) Diffraction alignment：使用 Multifunction X，Multifunction Y 将光斑移至荧光屏正中心；

(6) 调整完一遍合轴后，需再次确认上述其他状态是否正常，反复调整，直至电镜在 STEM 模式下处于良好的合轴状态。

11.6 使用 Velox 软件进行 TEM 图像观察

(1) 打开 UI 界面中 Vacuum 选项，点击 Col.Valves，打开电子束；

(2) Velox 软件界面有两个窗口，Acquisition 窗口和 Processing 窗口，Acquisition 窗口可设置电子束、相机及探测器参数、数据存储位置，Processing 窗口可预览、处理及存储获取的数据；

(3) 点击 Acquisition-Velox 窗口中 Optics 中的 TEM 模式，选择使用的相机 Ceta II 或 Falcon III 相机；

(4) 选择数据存储位置：点击 Acquisition-Velox 窗口菜单栏中 Edit 中 Preferences，选好文件位置，输入文件名，点击 ok 即可；

(5) 使用操作面板的 L3 快捷键，观察室荧光屏抬起，点击 Acquisition 窗口工具栏中 camera 选项的 ，可观察到样品图像。在低倍放大模式 LM 下找目标样品，再通过操作面板的 Magnification 旋钮切换至高倍模式 SA 或 Mh，放大到合适倍数，注意在切换放大倍数时，关闭相机采集，待切换完放大倍数后，再开启采集；

(6) 调节操作面板的 Multifunction X, MultifunctionY, Intensity 使光斑大小及亮度合适、位置适中，利用操作面板的快捷键 L1, Z axis 及 Focus 调焦得到样品图像；

(7) 聚光镜像散调整：放大倍数大于 100k 下，将光斑调整至最小，若光斑不圆，表明聚光镜有像散，按下操作面板的 Stigmator，点击对话框中的 Condenser，使用 Multifunction X、MultifunctionY 将光斑调圆，调整完后点击对话框中的 None，关掉 Stigmator；

(8) 物镜像散调整：放大倍数大于 100k 下，找一非晶边缘，打开 Acquisition 窗口右侧的 Display Settings 中的 FFT，若 FFT 中心斑不圆则表明有物镜像散，按下操作面板的 Stigmator，点击对话框中的 Objective，使用 Multifunction X, MultifunctionY 将中心斑调圆，调整完后点击对话框中的 None，关掉 Stigmator；

(9) 点击工具栏中 camera 选项，设置  中的图像分辨率及曝光时间，点击  按钮，完成图像采集，所得图片可通过右侧 Processing-Velox 窗口预览。

11.7 使用Velox软件进行STEM图像观察

(1) 电子束开启及数据保存方法与 TEM 模式相同；

(2) 选取样品非晶区域或者载网膜的碳膜区域，调整样品高度及 Focus 出现 Ronchigram 像，若有聚光镜像散，则按下操作面板的 Stigmator，用 Multifunction X, MultifunctionY 进行调整。

(3) 点击 Velox 软件中工具栏中 Optics 项中的 STEM 模式，进入 STEM 界面。选择使用的探头类型：HAADF、DF4、DF2、BF 中一个或者多个探头共用；通过改变 Velox 软件界面右侧的 Detector Layout 中的 ，选择合适的相机长度，HAADF 通常选相机为 190mm；

(4) 点击工具栏中 camera 选项的 ，利用操作面板的 Z axis、Stigmator 及 Focus 调焦得到样品图像，高倍下，使用 Reduced Area  进行细调焦及精细像散调整；

(5) 设置探头的 Gain 和 offset 值：将 Acquisition 窗口界面右侧的 Detector Settings 中的 Scope tool 勾选，关闭束流，调节 offset 的值，使曲线恰好高于下方第二条蓝色线，打开束流，调节 gain 值，使曲线恰好低于图中红色线；

(6) 设置拍照参数，设置 STEM Imaging 中的  的图像尺寸及驻留时间，点击  按钮，完成获取图像，所得图像可通过 Processing-Velox 窗口预览。

11.8 三维电子衍射数据采集过程

(1) 在 Velox 软件 TEM 模式寻找目标样品区域；

(2) 利用操作面板的快捷键 L1、Z axis，将样品的 Z 轴高度调至正焦高度；

(3) 点击 TEM User Interface 界面 Workset 中的 PED 项，点击 Selected Area，根据目标区域尺寸，插入合适的选区光阑，通过 Adjust 将光阑调至屏幕中心；

(4) 确定倾转角度：将目标区域移至选区光阑中心，使用 Stage 中的 Alpha toggle 观察样品不被挡住的前提下，样品台所能倾斜的最大正负角度，确定好角度后，将样品台旋转至最大负角度；

(5) 按下操作面板的 Diffraction，进入衍射模式，若透射斑不在屏幕中心，需选中 Direct Alignments 中的 Diffraction alignment，使用 Multifunction X，MultifunctionY 将透射斑移至屏幕中心；

(6) 插入挡针，将透射斑恰好挡住，打开 Tem Scripting Exemplar 程序中的 stage 项，设置 Position 中 A 值，此值为上述 (4) 样品台所能旋转的最大正角度，勾选此项，根据曝光时间设置样品台旋转的速度；

(7) 点击 Velox 软件 Acquisition 窗口工具栏中 camera 选项的 ，开始录像，拍完第一张衍射图后，点击 Tem Scripting Exemplar 中 stage 项的 Go To。样品台旋转至最大正角度后，再次点击 ，停止数据采集。

11.9 数据格式转化

使用 Velox 软件拍摄图片均为 emd 格式，可通过 Processing 窗口的 File-Export

转化为 png、jpg、tif 及 mrc 格式文件。

第三部分、制样设备操作规程

一、超薄切片机操作规程

1.切片前需要先准备好样品、刀片、钻石刀、载网、超纯水、滤纸、睫毛笔、毛刷、滴瓶、切片机所用工具。

2.打开顶灯和控制面板开关。

3.修块：将样品装在样品夹上，使用刀片在有样品的位置削去周围的包埋剂修成包含样品的梯形、长方形或者三角形，大小约 100 μm （其中一边边长）。

4.将修好的样品将样品夹装在切片机的样品臂上固定好。

5.装刀：将钻石刀安装在刀架上。

6.对刀：装好刀后，调好双目镜的焦距，打开下方的透射灯，缓慢进刀，看到样品切面距离刀刃较近时，调节刀台的角度和位置及样品的倾斜角度，小心缓慢进刀，直至看到刀与样品之间的缝隙呈一条蓝色亮带。

7.升起样品臂向水槽内注入超纯水没过刀刃后再吸出一部分，使水面呈凹液面，若刀刃露出水面可使用睫毛笔润湿刀刃。

8.可先使用手动切出完整的切片，如果这些切片较厚可以使用睫毛笔将其拨开，再设置切片速度和厚度。

9.自动切片控制器面板：左手边控制器上 SPEED 区域为切片速度调节区域，可调节范围在 0.2-90 区间，一般使用区间为 1 以下。FEED 为切片厚度（进刀步长）调节区域，可调节范围在 5nm 至几千 nm。CUT 区域的绿色按钮为自动切片开关。WINDOW 为切片窗口调节区域。若 RESET 灯闪烁，这时是已达到进刀的限位区域，无法进行切片，需要按下 RESET 等待 20s。

10.切片到一定数量后按下绿色按钮停止切片，使用睫毛笔将切片聚拢后，用合适的载网捞出晾干。

11.取下钻石刀使用清洁工具进行清洁后进行保存，取下样品，后使用毛刷将桌面和仪器清理干净，最后关闭顶灯和控制面板开关。

二、PDC-32G-2等离子清洗操作规程

1. 抽清洗舱内空气

打开样品舱门放置样品，关闭舱门上的阀门（阀门箭头向左），握住舱门使其贴紧清洗舱室，开启真空泵电源开关，开始预抽真空。

2. 形成等离子

预抽五分钟后，轻轻打开前端针型阀（逆时针旋转一到两圈），让空气进入清洗舱内，开启等离子清洗机前端左下方开关（POWER ON），将 RF 开关旋至不同档位（Low, Med, Hi 三挡），透过清洗舱窗口观察直到看到辉光，空气的辉光发电呈紫粉色，轻轻调节针型阀，直到等离子密度明显最大化。

3. 等离子清洗

按所需时间处理样品，处理完毕后，把 RF 开关旋至 off。

4. 清洗舱放气

关闭真空泵，等待两分钟后，握住清洗舱门并缓慢打开舱门上阀门（阀门箭头朝上）放气；待放气完成后，打开舱门，取出清洗样品；关闭针型阀（顺时针旋转拧紧）后关闭舱门。

5. 使用注意事项

- ① 定期清洗真空内壁，以免内壁上的污染物成为污染源。
- ② 发现试验效果不佳，请查看泵油颜色是否暗淡，污浊，并及时更换泵油。
- ③ 如设备无法辉光发电，请检查主机电子元器件是否正常，真空管路是否泄漏。

三、慢速精密切割机Techcut 操作规程

开机前检查

- 1.检查刀片是否完好。
- 2.检查润滑液槽是否有足够的油液。
- 3.检查各附件是否齐全。
- 4.检查电源是否处于关闭状态。

开机操作

- 5.用夹具有选择和调节性的夹好待割物，打开电源。
- 6.放下夹有物品的夹具，调节好需要切割的位置。

7.打开切割启动开关，调节好转速。

8.当锯片与物品接触后，通过转速调节旋钮可调节所需要的切割速度。初始切割可将速调节至比较高的值。当切割快完成时，尽量将速度调节至比较低的值。

9.切割完成，取下切除物品。

关机

10.将夹具上的物品取下后，拿起夹具，使之与锯片轴轮不接触，并锁紧夹具。

11.将转速调制最低，关闭电源。用湿布轻轻擦拭锯片。

注意事项

1.开切割刀口不平整：锯片变形或者轴承有问题。

2.切割过程中异响：锯片有缺口（更换新的锯片）。

四、研磨抛光机操作规程

1.检查供水系统是否正常。

2.接通电源，将电源开关打开处于 ON 的状态，面板指示灯工作，说明设备处于通电状态。

3.将研磨室上盖取下，砂纸和抛光布固定环取下，选取合适的砂纸或抛光布放入研磨盘上，再将砂纸和抛光布固定环扣下即安装完成。

4.打开研磨盘驱动控制开关，研磨盘开始转动，根据研磨或抛光物体，旋转转速控制旋钮调节转速。

5.打开水源控制开关，水源开始供应。

6.准备完成后，即可进行研磨或者抛光。若研磨或者抛光中发现砂纸或者抛光布损坏或者效果不佳时，须停机进行更换。

7.工作完成后，关闭电源开关使其处于 OFF 状态，排除管道污水即可。

注意事项

1.工作完成后，必须马上清除研磨盘下、沟槽内的杂物或者碎片。

2.工作中必须时刻注意排水口是否堵塞，以免水流到电气部分损坏设备。

3.保持设备表面清洁。

五、Leica EM RES101 离子减薄仪操作规程

1. 检查实验记录，确定设备运行正常，打开主开关，检查软件运行情况，打

开氦气，调整氦气的压力（550mbar）。

2. 预热完毕后,在 Program Menu 中选择一个样品夹。在 step 菜单中,选择工艺流程或设计工艺参数:推荐双喷过后再采取离子减薄(2kV, 5° /-5° ,30min)。

3. 借助制样工具,将样品固定在样品夹上,将样品夹插入装样工具中。

4. 按下黑色舱门,逆时针拧螺丝打开样品架:利用装样工具将样品放在样品架,然后拧紧螺丝;将黑色按钮再次按下关闭仓门。

5. 按 Sample IN 按钮,将样品送入腔室,确定所有设置无误后,按下 START 键开始对样品进行离子减薄。在减薄过程中,可以实时观察进展情况。

6. 当试样减薄完成后,按 STOP 按钮结束。按 Sample OUT 按钮,打开仓门,将装样工具附加到样品架上,拧松螺丝,取出样品。

7. 若需换样品,重复步骤 3-7。实验结束后,按 Service/ Settings/ Shut down 的顺序退出程序关闭主开关,关闭氦气,关闭电源开关。

8. 整理好桌面和制样工具,填写记录表格,报告实验完成情况和设备状态。

注意事项

1. 离子减薄样品为直径 3mm 圆片，一般厚度为 30-50 μ m，放入机器前一定要反复确认样品在夹具上已夹牢，防止减薄过程中样品掉入机器；

2. 夹具靠卡槽固定，装载或者卸载时只需拧螺丝使卡槽刚开卡住夹具或者松开夹具，谨防螺丝滑丝。

六、EMGP 冷冻制样操作规程

1. 准备样品及工具（制样专用镊子、移液枪、滤纸、新鲜液氮、蒸馏水、载网膜等）打开电源（仪器右后方），制样过程需带实验手套操作。

2. 若操作界面提示更换滤纸，则打开舱门更换滤纸，需保持滤纸洁净平整。

3. 点击操作界面左上角操作步骤，按照提示，打开导管顶端三通阀，向加湿器内注入 60mL 去离子水。注入水量到达所需量时，设备发出滴滴提示声，此时吸出 5mL 左右去离子水，关闭三通阀。

4. 用镊子将液氮杯、乙烷杯、样品盒放入设备制样冷台，添加新鲜无杂质的液氮冷却冷台，注意乙烷杯里面不要溅入液氮。

5. 乙烷杯在液氮中冷却约三分钟，连通乙烷气瓶与乙烷杯盖上的导管开始

制备液态乙烷。打开万向抽气罩，万向罩对准制样冷台。当液态乙烷量达到乙烷杯容积的五分之四后，关闭钢瓶总开关，快速把软管口插入万向罩抽气管道，将其中剩余的乙烷气体抽走，待高压表和低压表完全归零，关掉低压表的调节螺杆。

6. 使用制样专用镊子小心夹取制样所用铜网，将镊子推入制样冷台上方卡槽。移液枪吸取 2-3 μ L 样品，从 GP 舱室右边进入，将样品快速滴在载网膜上（滴样过程枪尖不能触碰载网，以免戳破载网），使用脚踏板，吸取多余样品。

7. 样品吸附结束后，快速将载网膜投入冷台乙烷杯之中。推出镊子，并将载网迅速从乙烷杯转移到液氮中（勿撞弯载网）。推动镊子滑片，保持样品在液氮重放置到样品盒中。

8. 制样结束后，将封存好的样品盒快速投入到液氮中保存。整理实验桌面，镊子吹干且戴上保护套，取出乙烷杯放置在万向罩下抽干为止。

9. 抽出加湿器中残留的去离子水，打开舱门。点击屏幕 Bakeout 选项，提示取出冷冻器皿，确认取出，开始 Bakeout。

七、Vitrobot 冷冻制样操作规程

1. 准备样品及工具（制样专用镊子、移液枪、滤纸、新鲜液氮、蒸馏水、载网膜等）打开电源（仪器右后方），制样过程需带实验手套操作。

打开腔室门更换滤纸，用白色垫圈卡住滤纸，需保持滤纸洁净平整。

3. 取下设备前端下方的加湿器，倒掉残余的去离子水。加湿器安装完毕后。使用注射器向加湿器内注射向软管 60mL 去离子水。在操作界面设定对应于样品的温湿度、制样参数。

4. 将新鲜无杂质的液氮加入制样容具中，降温五分钟。

5. 制样容具降温后，将连接乙烷的软管插入乙烷杯当中。打开万向抽气罩，万向抽气罩对准制样容具。打开乙烷气瓶阀，调节大小合适的气流，加入乙烷过程中，软管接触储存乙烷杯的底部。当液态乙烷量达到铜杯容积的五分之四后，关闭钢瓶总开关，快速把软管口插入万向罩抽气管道，将其中剩余的乙烷气体抽走。

6. 取出乙烷杯上方金属部件，将制样容具放置仪器下方平台环上，使用制样专用镊子小心夹取制样所用载网，将镊子安装在中心轴上的链接凹槽上。随后在

操作界面选择手动或使用脚踏开关控制吸附过程。

7. 移液枪吸取 2-3uL 样品从舱室右边进入舱室，将样品快速滴在载网膜上(滴样过程枪尖不能触碰载网，以免戳破载网)，设备自动或手动使用脚踏板，吸附多余样品。

8. 样品吸附结束后，快速将载网膜投入乙烷杯之中。推出镊子，并将载网迅速从乙烷杯转移到液氮中（勿撞弯载网）。推动镊子滑片，保持样品在液氮下放置到样品盒中。

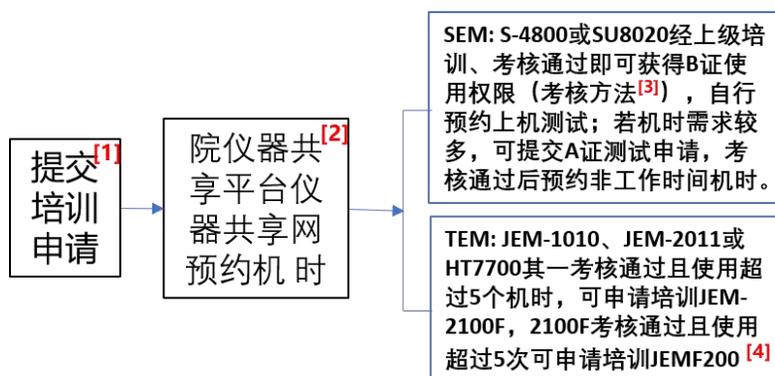
9. 制样结束后，将封存好的样品盒快速投入到液氮中保存。整理实验桌面，镊子吹干且戴上保护套，取出乙烷杯放置在万向罩下抽干为止。点击 Vitrobot 操作界面 Exit 关闭设定界面，关闭仪器电源。

第四部分、电镜组仪器预约流程

一、可自主上机的仪器



1.1测试流程



1.2委托测试流程

提交委托测试申请，预约工作时间段机时。

[1] 申请书/表都在化学所主页—分析测试中心—电镜组资料中下载，打印填写后提交电镜组。

[2] 培训考核预约工作时间段机时，每周三早 8:30 开始预约下一周测试机时，须按照四个时段预约：8:00-10:00,10:00-12:00,13:30-15:30,15:30-17:30，周三上午同一台仪器每人只能预约一个机时，周三下午 13:30 开始可不限预约剩余机时；未约上机时又着急测试可电话或到电镜室预约中午时间（12:00-13:30）；A 证获得者在非工作时间单次预约时间不得少于 4 小时。若要取消预约，至少提前两个工作日。

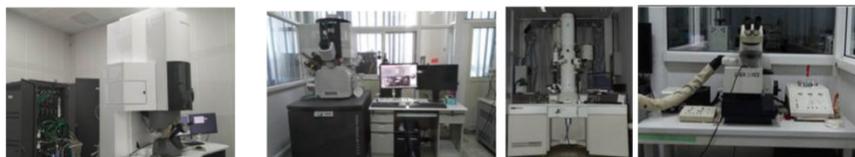
[3] 每台电镜桌面有培训视频，可先自行观看视频学习并动手操作，如有问题随时找管理员询问；考核时，管理员打乱仪器状态，须 30 分钟内完成调试并拍出规定要求的清晰图像。

[4] JEM-1011, JEM-2100F 可根据使用需求申请 A 证；JEM-F200 透射电镜培训包括笔试和上机，笔试(闭卷)通过才可上机培训，具体见 JEM-F200 考核说明。

[5] 每课题组每年委托测试样品不得超过 10 个；按所外价格收费；JEM-200 每周有半天时间为固定送样测试时间，可到电镜组登记。

二、管理员操作的仪器

冷冻电镜 Themis 300 * Helios G3 CX FIB JEM-2011 Leica Ultracut R



- 不耐损伤样品、液相样品高分辨观察、Tomo、SPA、EELS
- 常温微纳加工
- 原位液相
- 常温、低温超薄切片
- Cryo-SEM, Cryo-FIB
- Cryo-TEM 筛样

2.1 测试流程

提交相应的测试申请，管理员根据交表时间安排测试。

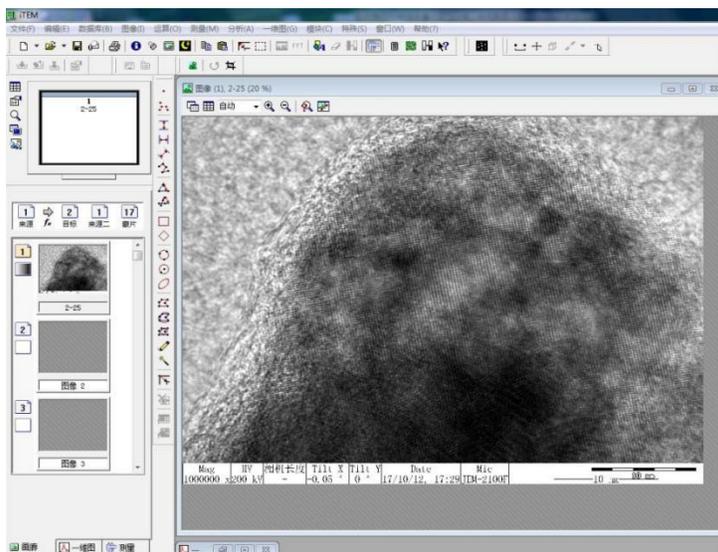
三、无需预约自行上机的仪器

SCD500 和 ACE600 溅射仪、等离子清洗仪等设备，可按仪操作说明自主使用，实验完成后请自行登记。

第五部分、数据处理

一、透射电镜中高分辨成像晶面间距数据处理方法

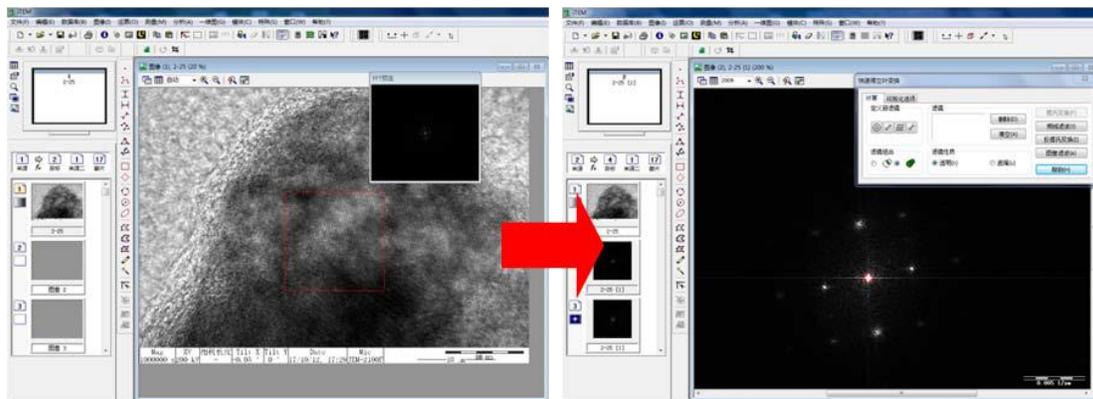
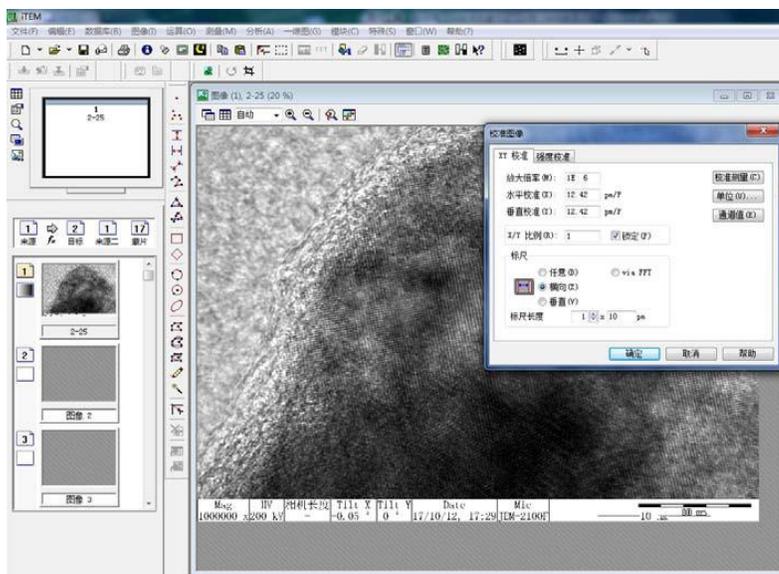
1.打开软件 i-TEM，单击菜单栏“文件”，下拉菜单中单击“打开”，弹出对话框中选中目标,打开，此时界面显示如下图。



2. 确认打开的图片是否可以进行 FFT 变换：单击菜单栏“运算”，下拉菜单中选择“快速傅立叶变换”，在下一级菜单中单击“FFT”，弹出下图所示对话框，若“傅式变换”选项显示为如下图所示蓝色状态，即可以选择区域进行 FFT 处理；若“傅式变换”选项显示为灰色不可选择状态，表示图像不可进行 FFT 处理。此时，需要对图片进行处理：选中图片，单击菜单栏“运算”，下拉菜单中选择“分离色彩”，在下一级菜单中单击“亮度”选项，此时处理过后的图片就可以进行 FFT 处理；

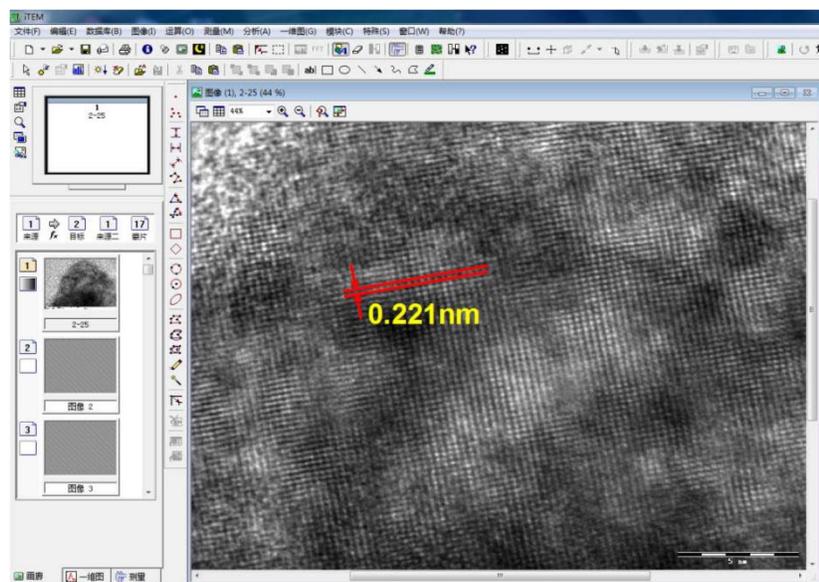
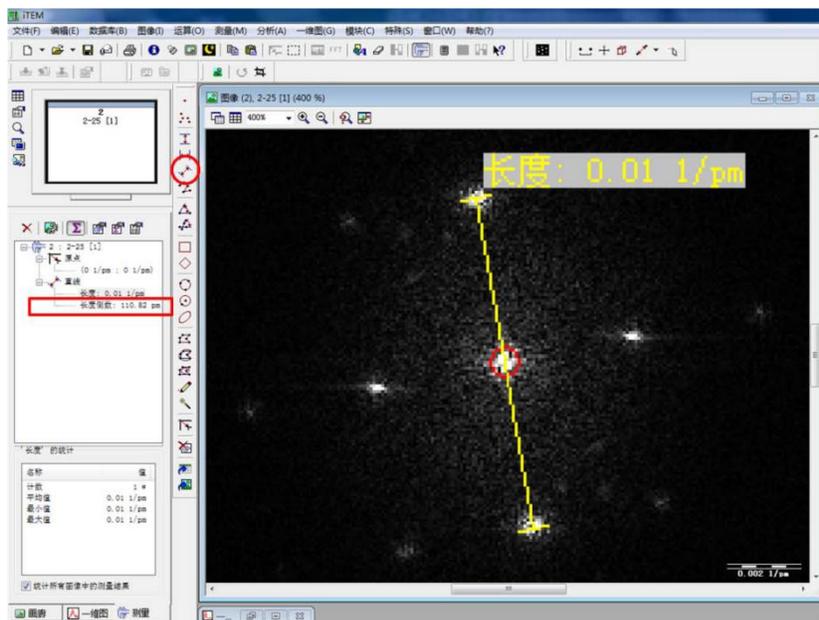
3. 检查图片的标尺是否正确：若图像为.jpg, bmp 等格式，软件不能识别标尺，造成标尺不正确，则需对图片进行标尺校准。选中图片，单击菜单栏“图像”，下拉菜单中单击“校准图像”，弹出下图所示对话框，选择正确的标尺长度和单位，点击“确定”，然后点击对话框中的校准测量，对图片中的标尺进行校准。校准测量时，为确保标尺的精确度，可以将图片放大后再进行校准测量。

4.FFT 处理：菜单栏选择“运算-快速傅立叶变换-FFT-傅式变换”，弹出红色方框，选择需要变换的区域，单击鼠标右键即可对选中的区域进行 FFT 处理，得到如下图右图所示的花样。



5. 测量晶面间距：每一个斑点到中心点的距离就是与其垂直晶面的晶面间距，为了减小测量误差，我们选择测量关于中心点对称的两个斑点的距离，同时为确保测量的精确度，需要将图片放大后再进行测量，点击工具栏中的“任意距离”选项（图中红色圆圈所示），点击关于中心透射斑对称的两个斑点的中心位置，点击软件界面左下方“测量”选项，即可显示测量距离（长度倒数，即图中红色方框所示），然后用这个数值乘以 2，即为晶面间距。

6. 在高分辨图中进行晶面间距的标定：在高分辨像中找出与 FFT 中所测量的斑点直线垂直的晶格条纹，标出该晶面并输入晶面间距值。



第六部分、测试注意事项

一、扫描电镜测试注意事项

(1)样品“污染”现象的判定及减轻方法

污染现象的判断：样品表面的烃类气体分子（可能是样品表面的有机物或者样品室内残留的有机分子），在电子束的轰击下沉积或者化合在样品表面，直观的表现是样品扫描区域表面“变黑”。

减轻方法：①清洗样品，如用溶剂多次清洗表面有机物②等离子清洗，视变黑的程度确定清洗时间；③升高加速电压；④在观察区域附件聚焦消像散，拍照时移动到目标区域。

(2)样品辐照损伤现象的判定及减轻方法。

样品辐照损伤现象的判定：在电子束辐照下，样品表面出现起泡、凹陷、刻蚀甚至破裂。

减轻方法：①使用减速模式；②降低加速电压；③降低探针电流；④镀导电膜。

(3)选择合适的加速电压和电流。

加速电压和电流的选择要依据样品的性质及观察目的来选择：①导电性较差或不导电材料及易受辐射损伤的样品（如塑料、有机材料、薄膜、生物材料等）为减小荷电效应或热损伤尽量选择 10kV 以下的加速电压及低电流；②观察近表面的细节形貌，可选择较低的加速电压，如 1-5kV 甚至小于 1kV 并配合减速模式；③镀导电膜或导电性较好的材料可选择较高的加速电压及电流，以提高二次电子产率。

(4) 荷电效应判定及减小方法。

荷电效应的判定：图像亮度不稳定，拍照的过程图像发生畸变或不规则漂移。

减小方法：①降低探针电流；②降低加速电压或使用减速模式；③改变拍照模式：慢扫 slow 模式改为 CSS 积分拍照模式；④减少 SE 信号，适当增加 BSE 信号；⑤镀导电膜（此方法的缺点是样品表面的细节可能被掩盖，对于高分辨的信息如小于 1 nm 的细节无法观察）。

(5) 软件提示 please flashing 正确的操作方法

冷场发射电子枪，靠电场发射电子。发射电子的阴极需在高真空下工作，因此要求阴极表面必须非常清洁，其表面不洁或吸附气体会影响电子束的发射效率及发射稳定性，因此阴极需要 flashing（轰击）进行表面的清洁，使其表面吸附的气体脱离。Flashing 后初期，发射电流会减小，需再设定电流。

(6) 磁性样品的制备方法及其观察注意事项。

制备方法：①粉末样品：将样品在溶剂中超声分散为稀溶液，滴到硅片上；

②块状样品：使用液体导电胶将样品周围包覆住粘到样品台上；③等样品及导电胶干燥后，用磁铁在贴近样品表面吸一下，去除吸附在样品表面的磁性颗粒；④进行镀导电膜处理。

观察样品：尽量选择低加速电压，同时增加 Z 轴高度。

二、透射电镜测试注意事项

(1) HT7700 开始测试观察时，按下右面板 LENS RESET 按钮，使仪器的物镜电流回到仪器的标准值。

(2)透射电镜测试时，若发现 HV 高压数值为 0，可能是进出样过程中失误导致真空泄露或者灯丝故障，请及时联系仪器管理员。

第七部分、常见问题及解决方法

一、扫描电镜常见问题及解决方法

(1)样品杆卡在样品室与交换室之间，此时电镜发出连续“滴滴”报警声。

解决方法：左侧面板 EVAC POWER 到 OFF 状态，等待约一分钟后，EVAC POWER 到 ON 状态，按下 open 键，抽出样品杆；STAGE POWER 到 OFF 状态，关闭 SEM 软件，等待约一分钟后，STAGE POWER 到 ON 状态，打开 SEM 软件，加高压（若高压加不上，则等电镜真空抽好后加高压）（PS：若出现此故障，请首先联系仪器管理员。）

(2) S-4800 进样过程样品跟随样品杆出来，未卡在样品仓底座上。

解决方法：将样品杆重新推进样品仓中，将样品杆的“unlock”标记线与样品杆的中间螺纹孔对齐（具体为止见下图）。



(3) SU8020 装样过程，按 open 键，发出连续报警声。

解决方法：点击 SEM 软件的 home 键，重新归位后，再进行进样过程。

(4) 开机或进样完成后长时间无法抽好真空，机械泵工作正常，扩散泵不工

作。

解决方法：清洁样品交换仓及样品仓橡胶密封圈上的灰尘，具体方法：用无尘纸蘸取少量高纯度酒精擦拭橡胶密封圈，直到无尘纸上无黑色异物为止，然后将适量真空脂用手（需带手套）均匀的涂抹到密封圈上。

(5) 某一高压下，点击 HV ON 以后，LM 或 HM 模式下没有光斑。

解决方法：打开软件(Alignment)对中调节，点击软件上“ABC”，调节对比度/亮度，观察光斑是否偏离中心，偏离中心，则调回；找不到光斑，关闭软件，重启软件后继续对中调节。若仍然找不到光斑，则需进行机械对中。

(6) 保存的 SEM 图片没有标尺。

解决方法：将 SEM 软件左下角的 Embed into Image 选中，此时保存的图片出现标尺。没有标尺的图片可通过工具栏中 File 中的图片管理软件添加标尺。

(7) 如何对图像及样品进行转动？

①可以通过样品台对样品进行倾转，样品台直径一定时，样品台倾斜角度范围受 Z 值大小限制；②图像转动可以通过水平面旋转样品台实现或者通过旋转电子束的扫描方向，使显示的图像旋转。

(8) SEM 的 STEM 模式相比透射电镜有何不同？

SEM 的 STEM 与透射电镜相比，其加速电压低，可大大减少电子束对样品的损伤，而且可提高图像的衬度，适合于有机高分子、生物等材料的分析。

(9) STEM 模式不同号光阑的区别及使用范围。

扫描电镜光阑孔有四种大小：①NO.0 光阑是完全打开，对电子束无限制，适合于观察原样品及选择观察区域；②NO.1 光阑孔大小 2mm，适合观察厚样品；③NO.2 光阑孔 1.5mm，适用于观察高衬度图像；④NO.3 光阑孔 1 mm，观察较高衬度图像。

对于高分辨明场 STEM 观察，选择 NO.3 或者 NO.2。若是样品太厚，穿过的电子束信号少，则切换到 NO.0 或者 NO.1。

(10) EDS 能谱信号的发生深度，能谱的空间分辨率。

EDS 能谱所采集的特征 X-射线发生深度为 1-几微米，具体与加速电压、样品的原子序数及密度有关，可用蒙特卡洛模拟进行估计，因此，与二次电子像相比

(发生深度小于 10nm)，EDS 的空间分辨率要差很多。

(11) EDS 能谱保存数据一定要保存原始数据，为何？

保存能谱的原始数据十分重要，在后期的处理数据过程中，仍可通过原始数据对数据进行处理，同时如果保存的 word、图片等丢失，可通过原始数据重新生成。

(12) 采集能谱时，如何选择加速电压？

采集能谱所用的加速电压主要考虑合适的过压比和较高的空间分辨率。过压比 $U=E_0/E_c$ ， E_c 为所要分析谱线的临界激发能， $U=2-3$ 的范围比较合适，也就是选用的电压 E_0 为 E_c 的 2-3 倍。但是选择 E_0 时也要考虑空间分辨率，在保证合理的激发特征谱线时， E_0 应选择较小的值，因为过高的加速电压使电子束在样品内部的穿透较深，横向扩散变大，空间分辨率变差，X 射线出射过程被样品吸收衰减程度增加。

(13) 谱图中的 K, L, M, N.....的意义。

谱图中的 K, L, M, N.....分别代表不同的核外电子壳层。当样品受高能电子激发时，某低能态壳层的电子被激发电离出现一个空位，在附近高能态壳层电子跃迁到此空位，电子在跃迁的过程中释放出特征 X 射线。假定 K 层出现空位，即 K 为始态，则谱线为 K 系谱线，以此类推，可获得 L 系谱线、M 系谱线的命名。

(14) EDS 能谱能够精确定量吗？准确度多少？能否进行价态分析？

EDS 能谱分析为定性半定量分析，无法做到精确定量，特别是对于原子序数小于钠的元素在 EDS 能谱中定义为轻元素，轻元素的特征 X-射线产额低、能量低易被样品吸收等特点使其定量分析有较大误差。我们所用的能谱软件定量输出的形式有：元素的质量百分比 (Wt%)、原子百分比 (Atom%)，定量分析的结果中均有相对误差。但是样品内如果有的元素检测不到，定量的结果与样品的实际含量不能一一对应，定量化结果仅做参考。EDS 能谱只能对元素种类进行分析，无法进行价态分析。

(15) A 元素和 B 元素是否能够在 EDS 能谱中区分？判断方法是什么？

EDS 区别两种元素取决于两者的特征 X-射线能量值即出峰位置，EDS 能谱的能量分辨率通常为 123eV。若 A 和 B 有重叠峰，可利用其他线系的谱线，例如 K

线系有重叠可用 L 线系；若某种或两种元素含量都较低，则适当增加采谱时间增加计数率,但是若是两者元素含量均低于检测限，则无法区分。

(16) S-4800 能谱 mapping 过程中 memory used 显示存储已满，mapping 自定义停止。如何解决？

解决方法：memory used 显示存储已满表示电脑内存不足，此时将能谱电脑后台其它程序关闭，重新开始 mapping 过程。

(17) 能谱分析谱峰里面出现样品里面不可能有的元素是怎么回事？

①C 和 O：一般空气中都有等有机物的存在，很容易吸附到样品表面造成污染，无论是 TEM 能谱还是 SEM 能谱，都可能有 C 和 O 的峰。尤其是 TEM，一般使用 C 支持膜，出现 C 元素很正常。

②Al 或者 Si：SEM 因为使用 Al 样品台或者玻璃基底，所以在样品比较薄的区域扫谱，就会有基底的信号出来。

③Cu, Cr, Au：Cu 是透射电镜中使用的载网材质 Cu 导致的，而 Cr 一般是样品杆或者极靴的成分。

④Pt：不导电材料的 SEM 分析通常经过喷涂导电膜，通常喷涂的导电膜材料为金属 Pt，因此扫谱过程中会出现 Pt 元素。

(18) EDS 谱峰图中有很多峰对应于一个元素，是不是说明这个元素含量很高？

EDS 的原理是电子壳层的电子被外来的能量激发，留下一个空位，然后外层的电子跃迁到这个空位，因此不同壳层之间的电子转移导致的能量差就会有不同的谱线。EDS 谱线就是把这些特征 X 射线脉冲的累积分开得到的，谱线越多，说明电子占有的壳层越多。而定量分析是根据不同元素来选择不同线系的谱峰强度以及这个元素的响应值来做计算的，所以谱峰多跟元素含量没有关系。

(19) 能谱采谱过程中计数率低如何解决？

①增加采谱时间；②选择合适的加速电压；③转动样品台，使样品面向探测器；④选择较平坦的区域；⑤减少处理时间。

二、透射电镜常见问题及解决方法

(1) 当电镜 JEM-1011 在进出样时掉真空真么办？

当仪器掉真空时高压的束流会变成 0 值，这时候我们要把 HT 的按键关掉，

打开小键盘输入“P3”小荧光屏就会变形成真空指示页面。观察真空图看“V3”和“V2”两个阀是否是实心还是空心状态。当“V3”是实心状态时“V2”为空心状态时，只需等待几分钟让真空泵把“V2”抽成实心状态，就可以摁下 HT 开关键加上高压等束流值稳定在 65 的时候就可以正常操作，打开小键盘输入“P1”小荧光屏就会变形成正常操作指示页面。

当“V3”和“V2”都是空心状态时，表示整个镜筒的真空都已经被泄露。这时需要把 HT 的按键关掉,等待十分钟左右仪器会自动关机保护。等仪器自动关机完成以后，打开左下方的操作面板找到 LINS POWER 把这个开关关掉。然后找到 POWER 钥匙开关，正常开机时钥匙指示在 START 的位置，需要手动扳到 0 位置等待 2 秒，再把钥匙从 0 位置直接拧到 START 位置，当拧到 START 位置时要保持 5 秒，等待“V3”和“V2”全部变成实心时，再打开左下方面板的 LINS POWER，

然后摁下 HT 开关键加上高压等束流值稳定在 65 的时候就可以正常操作，打开小键盘输入“P1”小荧光屏就会变形成正常操作指示页面。

(2) JEM-1011 在点击动态采集时，荧光屏没有抬起怎么办？

当点完动态采集荧光屏没有抬起，电脑端会跳出来“没有阴影矫正的增益图像，要更新参照图像吗？”这时务必点击“否”，然后关掉动态采集，在电镜的小键盘输入“EXT 1”，这时候再点击动态采集就可进行正常的拍照了。

(3) JEM-2011 移动样品时出现“滴滴”警报声。

当移动样品出现“滴滴”警报声时，表示样品已经移动到限位位置，此时不应继续向该方向移动，应该向相反的方向移动，同时可根据小屏幕 X,Y 坐标值来判断样品位置。

(4) JEM-2011 的 Z 轴高度无论怎么调都调不好

当 Z 轴高度无论怎么调都调不好时，此时表示电镜联动比不对，将放大倍数调至 40K，同时点开“IMAGE X/Y”按钮,用 FOCUS 旋钮配合着“Brightness”旋钮将四个光斑汇聚在最亮最小的同时汇聚成一个点。

(5) 电子衍射图谱中都会发现有一个黑色的影子，是指示杆的影子，影子的一端指向衍射中心。为什么要标记出这个影子在衍射图谱中呢？

beam stopper 主要为了挡住过于明亮的中心透射斑,让周围比较弱的衍射斑也能清晰的显现。

(6) 电子衍射时可否用自动曝光时间,若手动曝光,多少时间为宜?

电子衍射不能用自动曝光,要凭经验。一般 5 秒, 如果斑点比较弱, 要延长曝光时间。

(7) 透射电镜观察时尤其是 STEM 模式下, 图像非常容易变黑?

样品表面吸附有机分子如表面活性剂作为分散剂时, 有机分子在电子束辐照下聚合碳化附着在样品表面, 妨碍观察, 可以通过等离子清洗或者 Beam Shower 解决或减弱这种效应。

(8) JEM-2100F 电镜测试过程中会出现无法点击动态采集?

这是由于相机的软件没有连接, 需要关闭软件, 重启软件、电脑或者将主机后的 CCD 数据连接线重新插拔即可。

(9) JEM-2100F 电镜 Z 轴高度无法调好?

首先, 按下 STD Focus, 回到物镜标准焦距。如果此时仍然无法调节且样品厚度合适, 可能是样品没有装好或者样品台污染造成, 应及时处理。

三、双束电镜常见问题及解决方法

(1) 聚焦离子束与电子束的位置关系?

①电子束: 与水平面垂直成 90° 直角。

②离子束: 在电子束的左侧面, 与电子束成 52° 夹角, 与水平面成 38° 夹角, 在电子束下方 4mm 的位置两束交汇形成共焦点。

(2) 电子束的极限分辨率? 及离子束的极限分辨率?

①电子束的最佳工作距离 4mm 的分辨率 0.8nm @ 30kV。

②离子束的交叉点分辨率: $\leq 4.0\text{nm}$ @ 30kV。

(3) 聚焦离子束能谱吗? 聚焦离子束有冷台吗?

目前电镜室的双束电镜没有能谱, 没有冷台。

(4) 聚焦离子束不能做磁性的样品。

光谱组

第一部分、光谱实验室安全

一、激光安全

飞秒脉冲激光器、激光扫描共聚焦显微镜、显微共焦激光拉曼光谱仪、稳态瞬态荧光光谱仪都会用到激光。激光能量强，操作时务必不可直视激光；激光功率由低到高慢慢调节；当使用飞秒激光、808nm，980nm 激光器时，务必戴上专用防护镜，穿长袖工作服；飞秒实验室无关人员不可进入，经实验室负责人同意后方可入内；如激光灼伤眼睛、皮肤，尽快就医。

二、其他

使用外接电化学装置、磁场装置、光学装置等时，须告知工作人员；非工作时间预约实验，必须经过工作人员严格考核、授权门禁，方可进行实验；拷贝数据时，只可使用 ftp 传输数据或使用光盘，不可使用 U 盘，以防感染病毒。

第二部分、样品制备

仪器一、共聚焦显微镜及荧光显微镜

固体样品置于 0.13-0.17mm 厚盖玻片上，如用较厚载玻片，高倍镜下（40 倍以上，包括 40 倍）将无法聚焦样品，样品尽量平整、薄；细胞一般在 confocal 小皿中培养、观察；液体样品可直接滴在盖玻片上或夹在两个盖玻片中间。

仪器二、紫外可见分光光度计

溶液样品置于两通石英比色皿中；固体粉末样品涂抹在 BaSO₄ 白板中间约 1.5cm 直径圆型区域上，粉末粒度尽量要小，涂抹尽量均匀，否则散射很强，降低光通量；膜类样品视透光情况或直接置于膜样品架上进行透射分析，或通过样品配件用积分球进行漫反射分析。

仪器三、傅里叶红外光谱仪

如为固体粉末，可与 KBr 研磨，然后压片制样，粉末粒度要小于 2 微米。一般 KBr 与样品比例在 100-200 之间，视具体样品而定；

液体样品可直接用 ATR 附件测量，或涂抹在 KBr（水类、醇类样品不可用 KBr）、CaF₂ 盐片上；表面平整的膜类样品视其对红外光的透过情况，直接用透

射或 ATR 测量。

仪器四、显微共焦激光拉曼光谱仪

固体粉末样品可直接放在干净载玻片上，样品稍微分散一些；液体样品可直接滴在载玻片上，或置于合适样品皿中或用毛细管观察。

仪器五、稳态瞬态荧光光谱仪

稳态和寿命测试：液体样品置于四通石英比色皿中（ $\geq 2\text{ml}$ ）；固体粉末样品首先用一片有凹槽的石英片和另一片石英片夹住，然后用固体样品支架固定；膜类样品可直接在石英片上成膜测定。

量子产率测定：液体样品（3ml）置于四通比色皿中，要求比色皿使用旋塞，比色皿平放时，不会漏液；固体样品须置于直径 11mm 的石英样品槽中，厚度一般不超过 3mm。

仪器六、圆二色光谱仪

液体样品置于两通石英比色皿中；固体粉末样品与 KCl 研磨压片后，用 DRCD 附件通过透射或漫反射模式进行测量。

第三部分、上机操作

仪器一、LabRAM HR EVOLUTION 显微共焦激光拉曼光谱仪操作规程

（一）单点拉曼采集

1. 在显微镜下放置样品，点击摄像头、video，打开白光，在 10X 物镜下粗调聚焦样品，然后换成高倍数的物镜微调聚焦（注意：使用 10X 以上镜头都要用微调聚焦）；



2. 点击右上角stop all，关闭白光；

3. 在 acquisition 菜单的 acquisition parameters 中设置光谱采集范围、累积次数（一般为 2-3 次）、采集时间（一般为 1-60s）、样品名称等；在 Instrument setup 中设置物镜倍数、光栅刻线（一般使用 600 刻线）、激光功率，激光波长，hole 值（最大为 1000，一般为 100 即可）；激光功率、采集时间和样品名称这三个参数需根据实际实验经常调节；

4. 点击采集拉曼谱图（圆型图标）可进行采集；

5. 保存数据为两种格式，LS6格式和Txt格式。

注意：1. 激光功率由小到大调节，功率调大后注意样品形貌是否发生变化，是否烧坏，还要注意谱图信号是否按比例增强。有时功率增大后，样品形貌未发生明显变化，但谱图比例发生变化或平白减少某些峰，表明样品已经与激光发生明显作用，谱图不可用，需要降低功率。2. 采集时间延长同样可以增强拉曼信号，但谱图收集时间延长，采集时延长对样品造成损坏要远小于增加激光功率引起的损坏。

（二）Mapping 实验

1. 单点随时间的变化

a. 白光聚焦样品，点击stop all，关闭白光；

b. 在acquisition---map区域, 选择 t from__to__size__step__, 设置from、to、step值, size值会自动算出;

| Map | | | | |
|-----|--------|--------|------|------|
| | From | To | Size | Step |
| t | 0.00 | 100.00 | 11 | 10.0 |
| Z | -5.00 | 5.00 | 101 | 0.1 |
| Y | -20.25 | 20.25 | 41 | 1.0 |
| X | -22.11 | 22.11 | 45 | 1.0 |
| T | 20.00 | 50.00 | 4 | 10.0 |

c. 点击开始map采集, 在maps中显示谱图。

2. 单点随Z轴的变化

a. 白光聚焦样品, 点击stop all, 关闭白光;

b. 微调确定样品的两个界面, 注意: 粗调Z轴焦距位置不变, 微调Z轴焦距位置变化, 可将中间界面Z焦距值设置为0;

c. 在acquisition---map区域, 选择Z from__to__size__step__, 设置from、to、step值, size值会自动算出;

d. 点击开始map采集, 在maps中显示谱图。

3. 区域采集拉曼谱图

a. 在acquisition---map区域, 选择X from__to__size__step__, Y from__to__size__step__ ;

b. 白光聚焦样品, 在左面垂直工具栏中, 选择map形状, 确定扫描区域, 点击stop all, 关闭白光;

c. 设置a项中的step值, size值会自动算出;

d. 点击开始map采集, 在maps中显示谱图。

注: 在acquisition---map下面, 会显示采集的总点数 total data points及Estimated time.

(三) 变温实验 (-196°C-600°C)

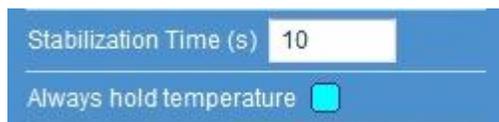
1. 依次打开主控制、泵和循环水槽, 如只做加热实验, 泵可以不打开, 只做降温实验, 循环水槽可不打开;

2. 点击acquisition下面的Retry connection，确保软件与控温主控制连接；
3. 在acquisition—linkam中设置温度

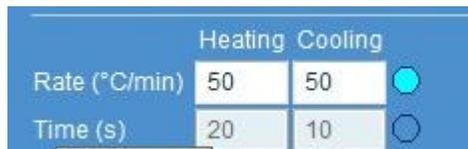
a. 单点温度设置



- ① 在  中设置，白色框内输入设定温度，回车即可，且选中 always hold temperature；



- ② 可设置加热或冷却速率，或加热或冷却需要的时间；



- ③ 待 current temperature 达到设定温度，即可采集谱图；
- ④ 如不需加热或降温，可点击 Free，温度会逐渐变成室温。

b. 程序变温（升温或降温速率不变）

- ① 在 acquisition---map 区域，选择 T from__to__size__step__，设置 from、to 和 step 值，size 值会自动算出，同样选中 always hold temperature；
- ② 设置 stabilization time（此时间为温度到达设定温度的稳定时间）；
- ③ 同上设置加热或冷却速率，或加热或冷却需要的时间；
- ④ 点击**开始 map 采集**，在 **maps** 中显示谱图

c. 程序变温（升温或降温速率变化）

- ① 在 acquisition---temperature ramps 区域设置 from_ to_ Rate_ step_ hold_，如下图



Rate 可设置变温速率，step 为变温梯度，hold 为温度稳定后的停留时间；

② 同选择 always hold temperature

③ 点击**开始 map 采集**，在 **maps** 中显示谱图。

注：变温实验结束后，依次关闭泵和主控制，待温度降到室温时，再关循环水槽。

仪器二、FLS980 稳态瞬态荧光光谱仪操作规程

（一）稳态光谱测定

1. 样品仓内放样品，掀开样品仓盖；
2. 将 $\Delta \lambda$ 调到0.1以下之后再样品仓盖上；
3. Source Light Path选择Xenon Xe1，检测器 Visible PMT（或NIR detector）
4. singal rate设 Ex、Em波长，调节激发、发射 $\Delta \lambda$ ，对未知样品发射光子数不可超过一万，Em波长可以50nm的步进移动，大概锁定最大发射峰位置；

5. λ 下拉菜单选择Ex、Em或者3D；

6. 设置激发光谱或发射光谱范围进行预扫，；

参数的一般设置(荧光较弱情况请联系管理员进行参数更改)：

Step 1nm； Dwell time 0.2s； Number of scans 2 确定最大发射峰后可继续调 $\Delta \lambda$ 到合适的光子数再进行扫描，一般光子数不超过20万；发射范围在850nm以内加Em校正文件，超过850nm不加Em校正文件； Subtract background 不勾。

7. 保存：

File → save as(fs 格式)

File → Export to AscII(Txt 格式) ；

8. 3D scan
- 2D
 - View as 3D plot
 - View as countor plot ✓
- 右键 → Extract 单独提取图；

注意：做发射光谱时，最小发射波长要大于激发波长至少 20nm；

做激发光谱时，最大激发波长要小于发射波长至少 20nm。

(二) 荧光寿命测定

1. 注意样品仓内折反镜的位置，需让出激发光通道；
2. 样品仓内放样品，掀开样品仓盖；
3. 将 $\Delta \lambda$ 调到0.1以下之后再将样品仓盖上；
4. Source Light Path选择TCSPC Diode, Em1 Detector Light Pat选择Visible PMT；
5. 输入激光器波长Ex和最佳发射波长Em；
6. 激光器表盘设置(红色转盘): pulse period ≈ 10 倍荧光寿命；脉冲间隔不能太大，尽可能小一些，脉冲间隔小，能量强；如果曲线一直单调下降，再增大脉冲间隔。
7. 将激光器衰减片开到最大；慢慢调大Em 侧 $\Delta \lambda$ ，使得Em cps 小于TCSPC Laser Hz的2% -3%，而且发射光子数不要超过10万。

测试：

τ \longrightarrow Manual

IRF 不勾

time range \leq 激光器表盘 pulse period

Channel 1024/2048

Stop condition peak counts 3000-10000 (一般小于样品发射光子数)

at chan(0) 不勾 点击 new 进行测量

8. 尾部拟合；Zoom in 选择峰尖到衰减曲线平坦
9. 拟合结果分析：Analysis \longrightarrow Exp Tail Fit；

给出初始的 τ 值（一般与横坐标的 1/10 一个数量级），点击 enter 进行拟合，拟合系数 $\chi^2 < 1.3$ ，越接近 1 越好(拟合成功几要素：拟合系数 $\chi^2 < 1.3$ ，拟合曲线与衰减曲线重合，残差曲线在 0 附近波动、波动范围 ± 5 ，标准偏差小于寿命)

10. 数据保存；
 - a. 原始文件和 fit result 最后一张图：file \longrightarrow save as(EI time measurement 格式)，file \longrightarrow Export to AscII 转换成 txt 格式
 - b. 拟合结果：copy as txt 粘贴到新建的 txt 文档里保存

11. 如果荧光寿命低于 5 ns, 需做 IRF;

a. 液体样品用硅胶水溶液测 IRF, 固体样品用原有样品测 IRF;

- 1) 测 IRF 时, 记录样品的发射光子数 (cps),
- 2) 衰减片先调到最小,
- 3) Ex 和 Em 均设为激发波长 (Em 为激光器实际波长)
(Em 处如加滤光片, 先取出滤光片)
- 4) 调节衰减片大小使 Em1 等于原样品的发射光子数
(光子数太大有时还需加中性衰减片)

b. τ 测试;

- 1) 打开 Manual 界面
- 2) 勾 IRF \longrightarrow 点 Add \longrightarrow 点 new 进行测试
- 3) Zoom in 选择拟合范围, 包含两组曲线的峰型直到衰减曲线平坦为止
- 4) 拟合结果分析: Analysis \longrightarrow Exp. Reconvolution Fit 给出假定的 τ 值,
点击 enter 进行拟合
拟合系数 $\chi^2 < 1.3$, 越接近 1 越好;
- 5) 测完 IRF 后, 激光器衰减片关到最小;

12. 数据保存: 同 10。

平均寿命计算公式:

$$(B_1 \tau_1^2 + B_2 \tau_2^2 + \dots) / (B_1 \tau_1 + B_2 \tau_2 + \dots)$$

(三) 磷光寿命测定

1. 注意样品仓内折反镜的位置, 需让出激发光通道;
2. 样品仓内放样品, 掀开样品仓盖;
3. 将 $\Delta \lambda$ 调到 0.1 以下再将样品仓盖上;
4. Source Light Path 选择 Microsecond Lamp $\mu F2$, Em1 Detector Light Path 选择 Visible PMT;
5. set up 可设 μs 灯频率 (0.1-100HZ);
6. 设置 Ex 和 Em 波长 (两个 $\Delta \lambda$ 都可以设置), 调节 $\Delta \lambda$ 使得 Em cps < 3000;
7. 测试;

τ \longrightarrow Manual

IRF 不勾

time range \approx 10 倍磷光寿命

Channel 2000

Stop condition peak counts 3000-10000

at chan(0) 不勾，点击 new 进行测量

8. 尾部拟合；Zoom in 选择峰尖到衰减曲线平坦为止

9. 拟合结果分析：Analysis \longrightarrow Exp Tail Fit；给出初始 τ 值（一般与横坐标的1/10一个数量级），点击enter进行拟合，拟合系数 $x^2 < 1.3$ ，越接近1越好

（拟合成功几要素：拟合系数 $x^2 < 1.3$ ，拟合曲线与衰减曲线重合，残差曲线在0附近波动、波动范围 ± 5 ，标准偏差小于寿命）

10. 数据保存；

a. 原始文件和 fit result 最后一张图：file \longrightarrow save as(EI time measurement 格式)，file \longrightarrow Export to AscII 转换成 txt 格式

b. 拟合结果保存：copy as txt 粘贴到新建的 txt 文档里保存

11. 如果磷光寿命小于 $10 \mu s$ ，需做IRF；

a. 液体样品用硅胶水溶液测 IRF，固体样品使用原有样品测 IRF

测 IRF 时，衰减片先调到最小

Ex 和 Em 均设为激发波长

（Em 处如加滤光片，先取出滤光片）

调节衰减片大小使 Em1 等于原样品的发射光子数

（光子数太大有时需要加中性衰减片）

b. τ 测试；

1) 打开 Manual 界面

2) 勾 IRF \longrightarrow 点 Add \longrightarrow 点击 new 进行测试

3) Zoom in 选中拟合范围，包含两组曲线的峰型直到衰减曲线平坦为止
拟合结果分析：Analysis \longrightarrow Exp. Reconvolution Fit 给出初始的 τ 值，
点击 enter 进行拟合

- 4) 拟合系数 $\chi^2 < 1.3$, 越接近 1 越好;
- 5) 测完 IRF 后, 激光器衰减片关到最小

12. 数据保存: 同10。

(四) 量子产率测定

1. Source Light Path选择Xenon Xe1, Em1 Detector Light Path选择visible PMT sphere;

2. 将 $\Delta \lambda$ 调到0.1以下再将样品仓盖盖上;

3. singal rate \longrightarrow Ex 和Em都设成Ex波长;

4. 放入背景(溶液用溶剂, 固体用石英样品皿), 调节Ex和Em的 $\Delta \lambda$ 使得 **Em1为90多万(不可超过100万), Ex $\Delta \lambda$ 为Em $\Delta \lambda$ 的10倍左右;**

5. $\lambda \longrightarrow$ Emission

参数的一般设置(荧光较弱情况请联系管理员进行参数更改): Emission range 从 Ex 波长减去 20nm 到发射截止; Step 1nm; Dwell time 0.2s; Number of scans 3;

6.保存背景谱图:

File \longrightarrow save as(fs 格式)

File \longrightarrow Export to AscII(Txt 格式) ;

7. 在石英样品槽中放入样品, 在相同参数下再对样品进行测试, 保存, 然后点击Join Visible将两张图叠加;

8. Analysis \longrightarrow QY

Sample Emission 样品

Sample Scatter 样品

Ref Scatter 背景

Ref Emission 背景

\longrightarrow Next \longrightarrow select Scatter Range 选择激发光范围

\longrightarrow Next \longrightarrow select Emission Range 选择荧光发射范围

\longrightarrow Next 请记录 QY 的数值。

注意事项:

- a. 溶液用纯溶剂做空白;

- b. 溶液样品要用旋口塞密封，确保平放后不漏液；
- c. 固体样品空白用石英样品槽；
- d. 液体样品朝左，固体样品朝右（用不同的支架）。

（五）时间分辨光谱测定（TRES）（光源为脉冲光源，检测器为 Visible PMT）

1. 在做TRES之前，先在特定Ex波长和Em波长下做荧光寿命或磷光寿命曲线，确定参数：如激光脉冲周期、Ex波长、Em波长、 $\Delta \lambda$ 、channel数等，使用相同参数进行时间分辨测定；

2. τ 下拉菜单

选择 TRES \longrightarrow emission 或 excitation；

3. 设置 Time set up 和 sample set up

Time set up 设定 Time range channel (1024 或 2048)

Stop condition times 选择时间停止（如 20s 一张图）

设定 Ex 波长、Em 波长范围、step, 比如 Ex 380nm, Em500-800nm, step 10nm；

4. 点击start 开始测定，数据即为不同发射波长下的寿命曲线；

5. Analysis \longrightarrow TRES Data slicing

设置 start time、stop time 及 slices 数，可将 TRES 曲线分成不同时间段的发射光谱曲线（横坐标发射波长范围，纵坐标光子数）；

6.通过View as 3D plot, View as countor plot可对数据进一步分析；

◇ TRES 曲线通过不同时刻各个发射波长下的光子数可用于分辨稳态光谱中，哪个发射峰属于荧光峰，哪个峰属于磷光峰

◇ TRES 曲线也可分离出不同时间段的稳态光谱，如希望得到的稳态光谱是光源激发后 5 μ s 后的光谱。

（六）kinetics 测定（光源为 Xe 灯，检测器 visible PMT）

1. signal rate 设 Ex、Em, 调 $\Delta \lambda$

使得 Ref < 400,0000, Em1 < 20,0000

2. τ 下拉菜单

选择Kinetics测试

3. sample set up 设定 Ex 和Em波长；

设定 scan time 如 300s+180s Time resolution 如 5s

选择 shutter Timed ⊙

如: open shutter after 0s for 180s(设定具体时间)

Xe 灯照射 180s, shutter 关闭 Xe 灯, 收集样品发射的光子数随时间的变化, 时间范围为 300s

4. 点击start, 开始测量;

5. 数据分析;

Data → crop range, 可剪切一段时间范围 (如 185s-300s)

Analysis → Exp Tail Fit

◇ 动力学的测定实际上就是在 Ex 和 Em 固定的情况下, Xe 灯照射样品一段时间后, 分析光子数在长时间范围内随时间的变化, 可分析长寿命样品或余晖样品。

(七) 变温实验操作规程

1. 提前一天对外部真空腔抽真空, 时间超8h;

2. 加液氮3~5L;

3. 将变温装置放入仪器内, 将sensor插头连接;

4. 打开变温白色控制盒, 先开后面开关, 再开前面开关, 然后再开F980软件;

Option → sample holder configuration → Cryostat (on)

stabilization 为 3~10s

在 set up 中的 temperature set up 设置温度, 先设为 298K (对溶液)

5. 待温度升到室温后, 放样品, 溶液、固体或薄膜样品;

6. 样品腔抽真空 (约10分钟, 需开阀、关阀);

7. 通过针阀调液氮流量 (关闭后转一两圈);

8. 设置目标温度, 如做液体样品, 每隔30K进行降温, 以防冻裂比色皿;

9. 设置激发、发射波长和狭缝大小, 左右调整低温恒温器的位置, 使得荧光发射信号最大;

10. 实验结束, 先升到室温, 保持10min, 再取样品。

变温装置关机 ①先关 F980 软件;

②关变温控制前面开关, 再关后面开关;

③拔出 Sensor 插头；

④取出变温装置。

(八) 近红外检测操作规程

- 1.提前2~3h 抽完液氮后打开近红外 HV-1，先开power，再开H.V. on；
- 2.常规PMT、暗噪声100~200；近红外、暗噪声约25000~40000个
- 3.常规磷光寿命测试时，光子数小于3000；近红外磷光寿命测试时，激发发射带宽 $\Delta \lambda$ 开到最小，记录暗噪声数a，然后开大 $\Delta \lambda$ ，光子数为a+3000即可；
- 4.实验结束，关HV-1
先关 H.V. on \longrightarrow off，然后关 power
从液氮罐拔管，半小时后再关泵

(九) 校正文件使用方法

1.校正文件所在位置；

C:/program data/Edinburgh instruments/F980/correction

校正文件在带宽为 1nm 左右时完成

Signal rate 选择检测器时，校正文件已选

2.校正文件的选择；

Option/correction files

有四个校正文件，常规测试校正、近红外测试校正、常规积分球测试校正 (spectrum nano)，近红外积分球测试校正

3.在进行发射光谱测试时，可以加Em校正，也可以不加，如不加Em校正，可通过软件对发射光谱进行校正；

Analysis \longrightarrow correction，选中 correct with Em correction file

(十) 近红外激光器使用方法

1.980nm、808nm 激光功率较高，约2W，发射光子数几千几万即可，否则激光功率高易烧坏样品；

2.黑色为控制盒，可调激光功率，先开开关、再开钥匙；白色为脉宽控制盒，无开关，PH1开 \longrightarrow power亮，白色控制盒可选择连续和脉冲激光，可调脉宽，脉宽越宽，能量越强；

3.样品仓盖打开时，白色控制盒灯灭，黑色控制盒激光功率为0.00。但如果想看激光是否打到样品上，可将白色控制盒的interlock override按下，laser红灯亮；(寿命测试 $>10\ \mu\text{s}$ ，频率范围0.1~1000HZ，频率可在setup的 $\mu\text{F lamp setup}$ 里面设置)；

4.固体支架放置与原来不一样，呈对称关系，用黑纸或挡板将Xe灯激发透镜挡住；

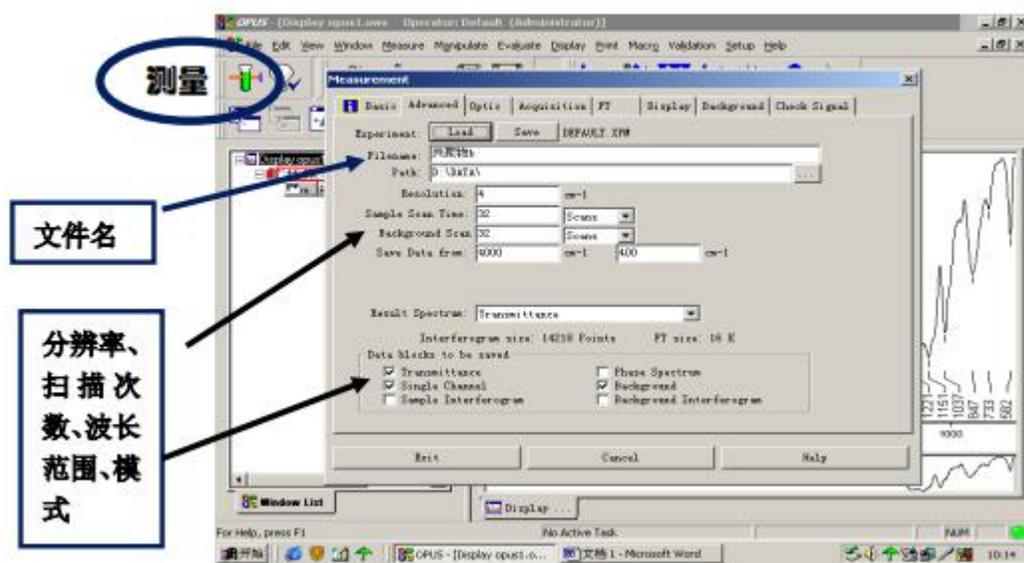
5.近红外激光器和微秒闪光灯不可同时用。

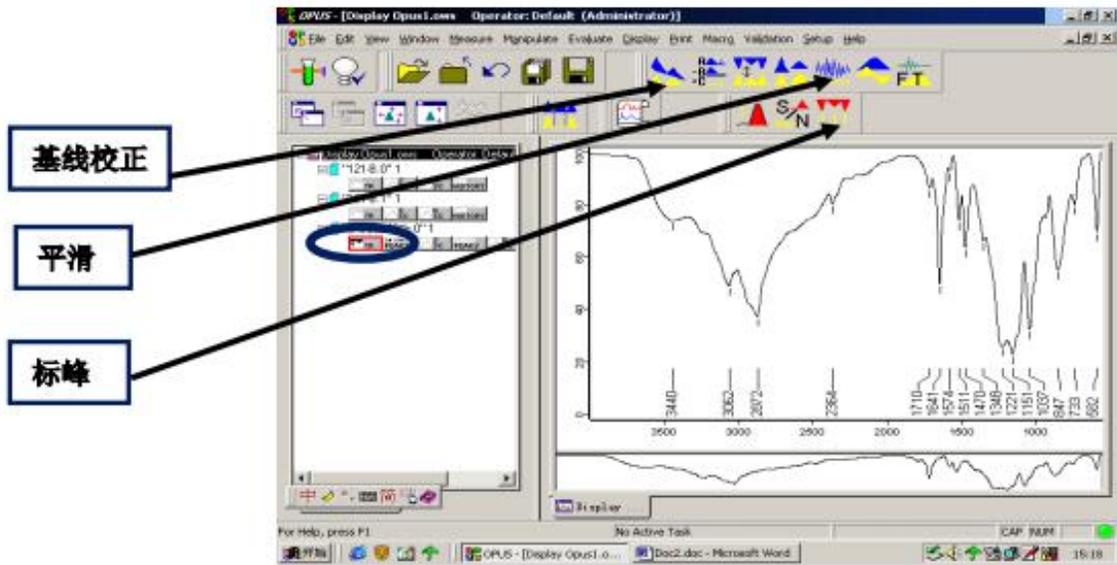
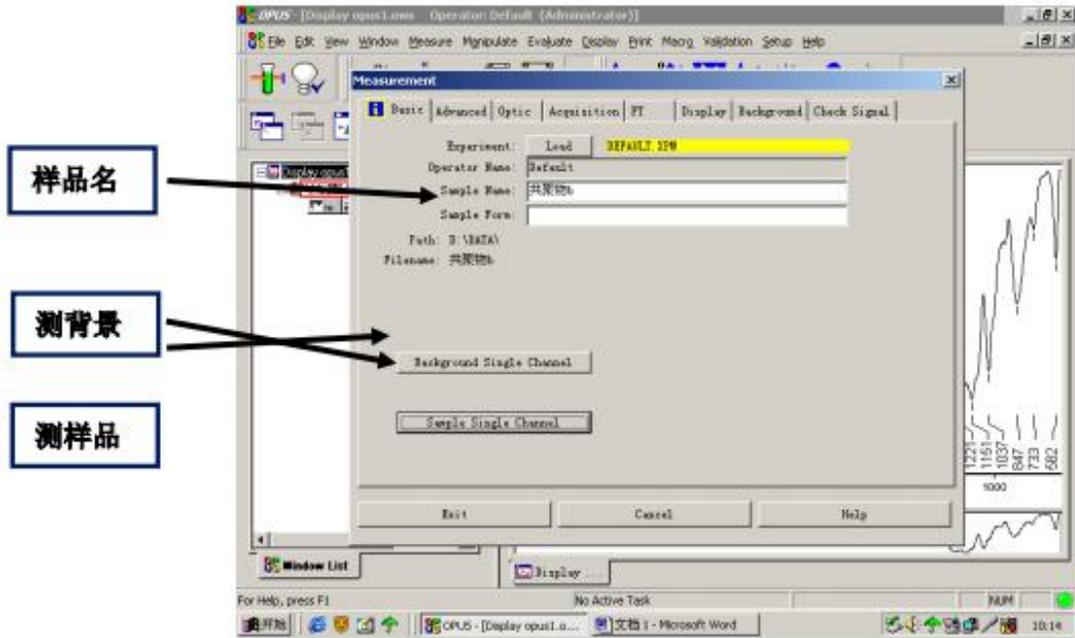
关 980、808 激光器（黑色控制盒）

- ① 先将功率调到 0
- ② 关钥匙 on \longrightarrow off
- ③ 关开关

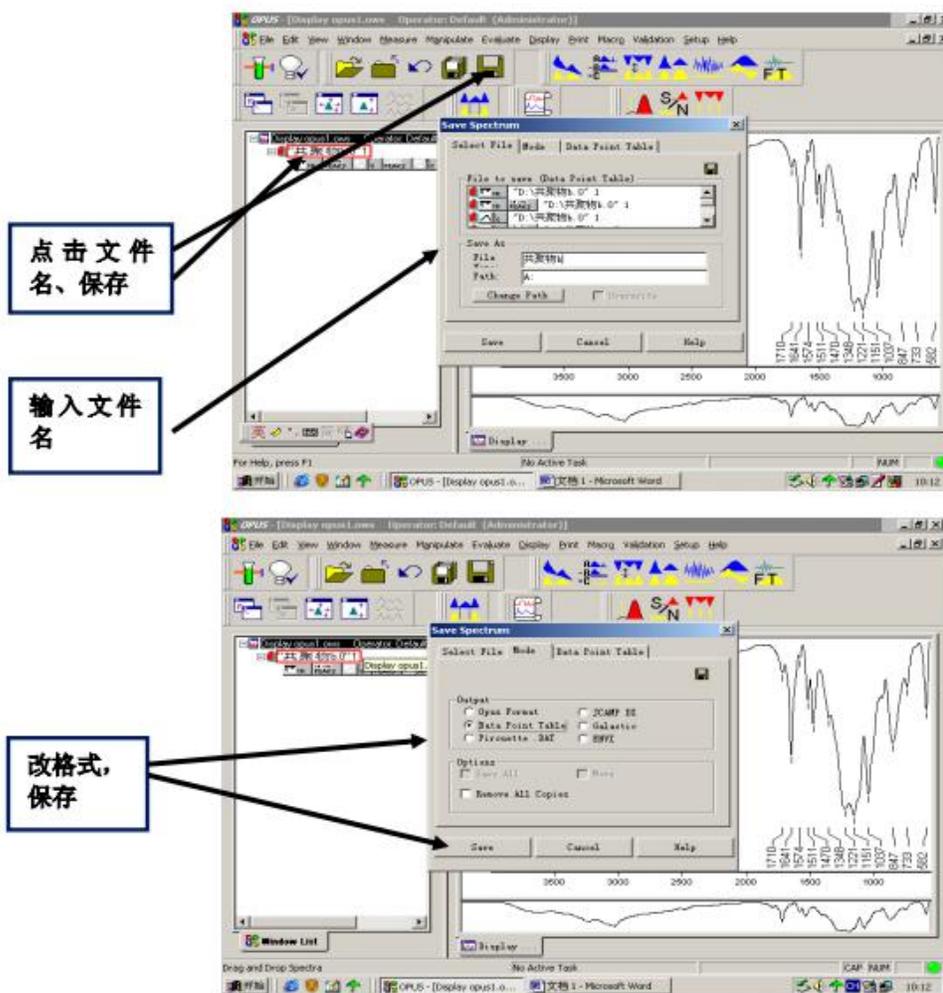
仪器三、TENSOR-27 傅立叶红外光谱仪操作规程

1. 测试及谱图处理：





2 数据转换



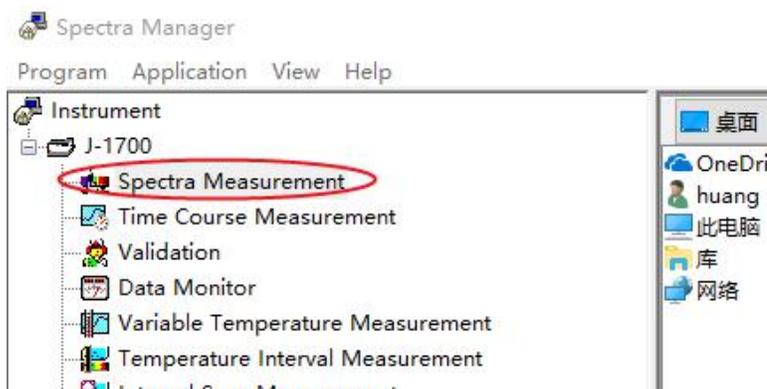
仪器四、J-1700 圆二色光谱仪操作规程

(一) 常温 CD 光谱测试

1. 安装通用池支架于样品室中，拧紧定位螺丝。
2. 开氮气，流速控制185nm以上3 L/min，180-185nm 5-10 L/min，180nm以下15-20 L/min
3. 开启主机电源开关。



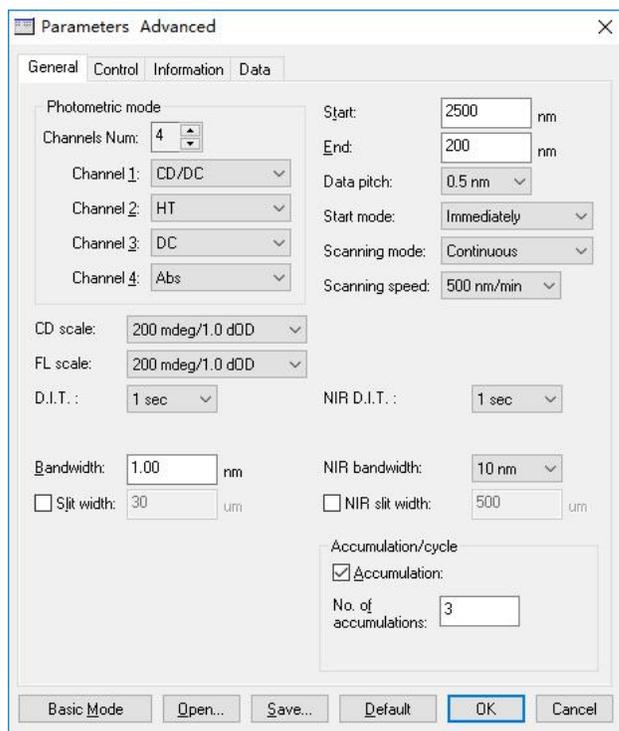
4. 双击 SpectraM... 打开光谱测量程序，等待氮气吹扫5min，然后等待仪器预热20min，双击下图示光谱测量，打开测量界面。



5. 扫描参数设置：点击  打开参数设置，根据样品需要，分别在“General/Control/Information/Data, 设置合适的参数。

点击General设置参数，

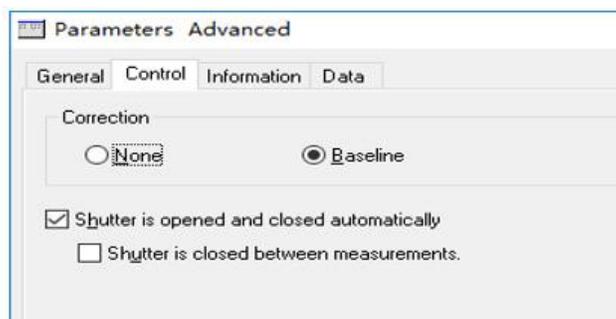
General参数设置同常温测试



- (1) Channels Num 可根据实际需要选择，CD/DC、HT、DC、Abs、LD 等
- (2) Start End 部分从大到小设置
- (3) Data pitch 一般从 0.1nm-1nm，依波长范围变化
- (4) Scanning speed 一般选择 200nm/min 或 500nm/min
- (5) CD scale 依样品实际 CD 值选择，FL scale 不用管
- (6) D.I.T.一般为 1s，NIR D.I.T.为 2s，噪声大，可适当增大
- (7) Bandwidth 一般为 1.0nm，NIR bandwidth 为 10nm，如样品吸收强，CD 信号弱，可适当增大。
- (8) Accumulation 前面选对勾，No.of accumulation 可选择 1-3 次

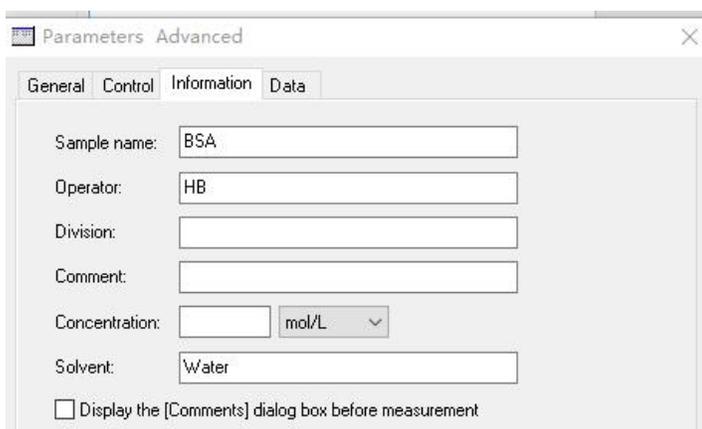
点击 **Control** 设置参数

设置基线校正，Shutter is opened and closed automatically 前面选择对勾



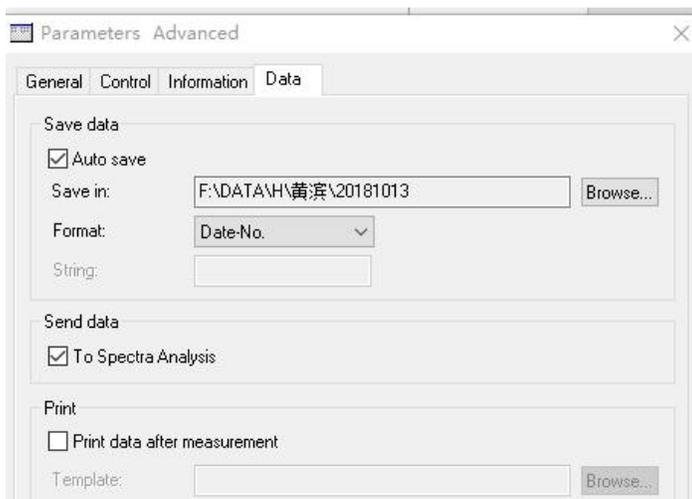
点击 **Information**

输入测试样品或试剂空白的信息



点击 **Data**

勾选 **Auto save** 输入存盘路径、勾选 **To Spectra Analysis**



6.放入空白，测试点击 ；放入样品，测试点击 .

7.测试结束，关闭软件，关机，等5min后关气。

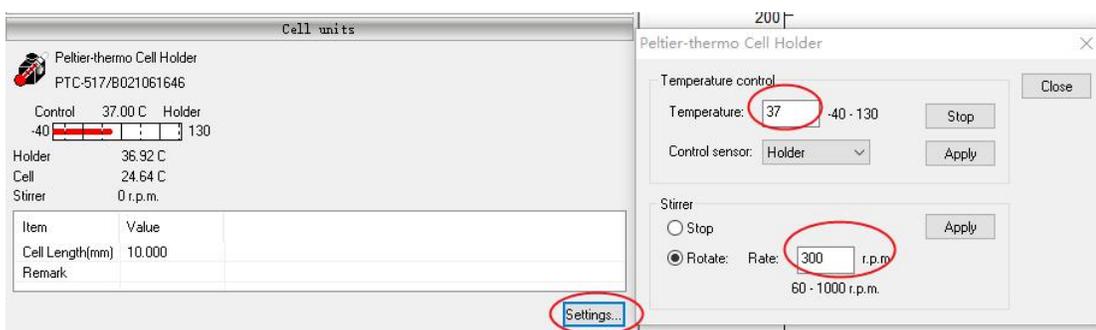
(二) 固定温度下的 CD 光谱扫描 (-10°C-110°C)



1.双击 SpectraM... 打开光谱管理界面，双击 Spectra Measurement，打开测量界面（操作同室温）。

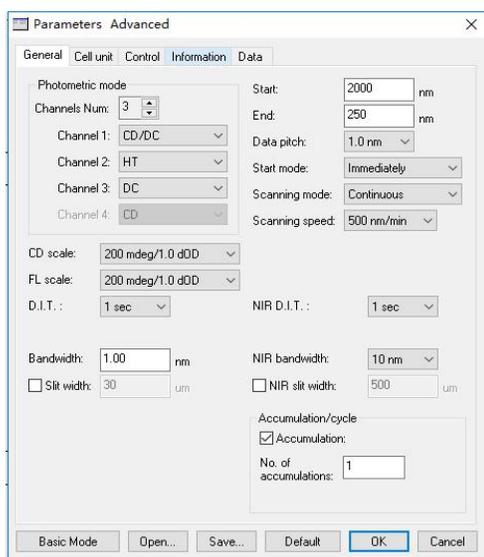


2.点击“Setting”，设置样品支架温度，如需要搅拌，输入某一搅拌速度值，此时，左侧将显示样品支架实际温度 holder ***°C。



3.点击Close，关闭设置界面。

4.点击 设置扫描参数：点击General 设置参数，同常温测试

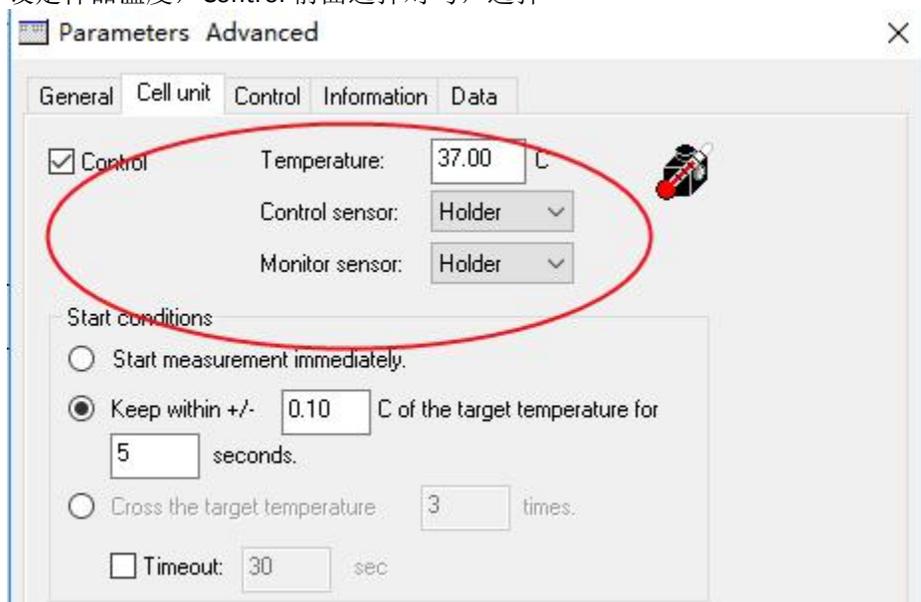


- (1) Channels Num 可根据实际需要选择，CD/DC、HT、DC、Abs、LD 等
- (2) Start End 部分从大到小设置
- (3) Data pitch 一般从 0.1nm-1nm，依波长范围变化
- (4) Scanning speed 一般选择 200nm/min 或 500nm/min
- (5) CD scale 依样品实际 CD 值选择，FL scale 不用管
- (6) D.I.T.一般为 1s，NIR D.I.T.为 2s，噪声大，可适当增大
- (7) Bandwidth 一般为 1.0nm，NIR bandwidth 为 10nm，如样品吸收强，CD 信号弱，可适当增大。
- (8) Accumulation 前面选对勾，No.of accumulation 可选择 1-3 次

点击 Cell unit 设置参数

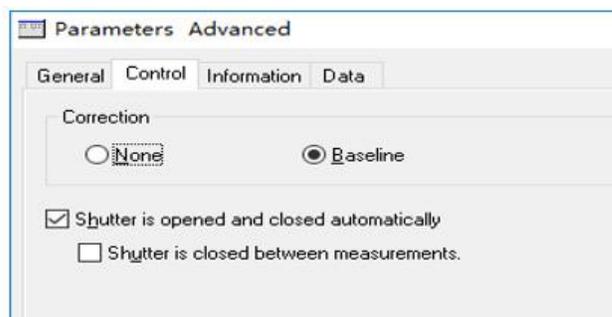
设定样品温度，Control 前面选择对勾，选择

Keep within +/- 0.10 C of the target temperature for 5 seconds.

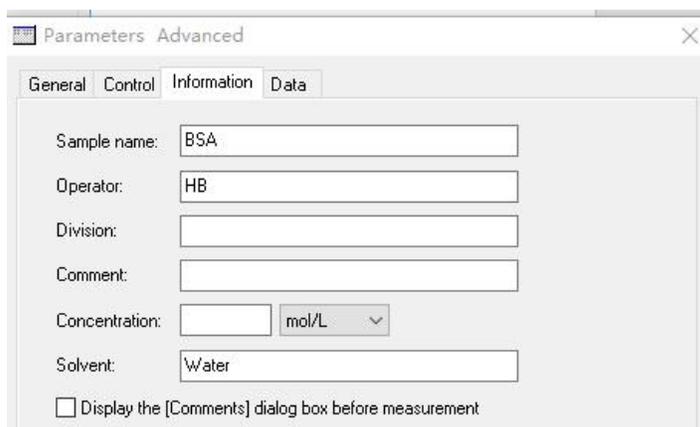


点击 Control 设置参数

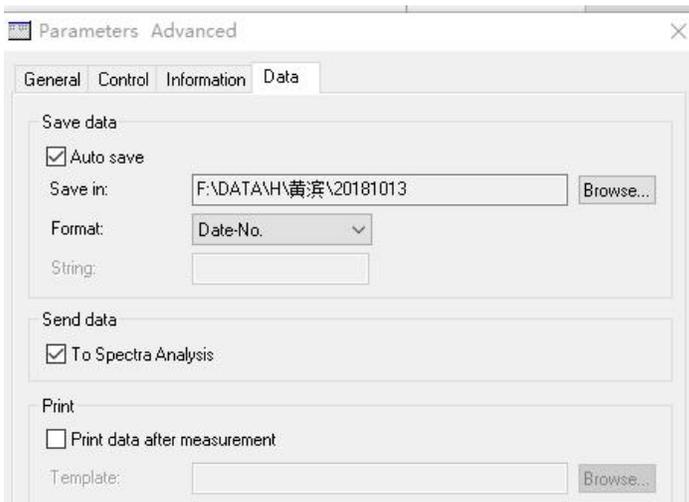
设置基线校正，Shutter is opened and closed automatically 前面选择对勾。



点击 Information，输入测试样品或试剂空白的信息。



点击 **Data**，勾选 **Auto save** 输入存盘路径、勾选 **To Spectra Analysis**。



5. 将试剂空白放入样品室，测试空白样品，点击  空白温度即为样品支架的实际温度。

6. 更换样品，测试样品点击 ，样品温度即为样品支架的实际温度。

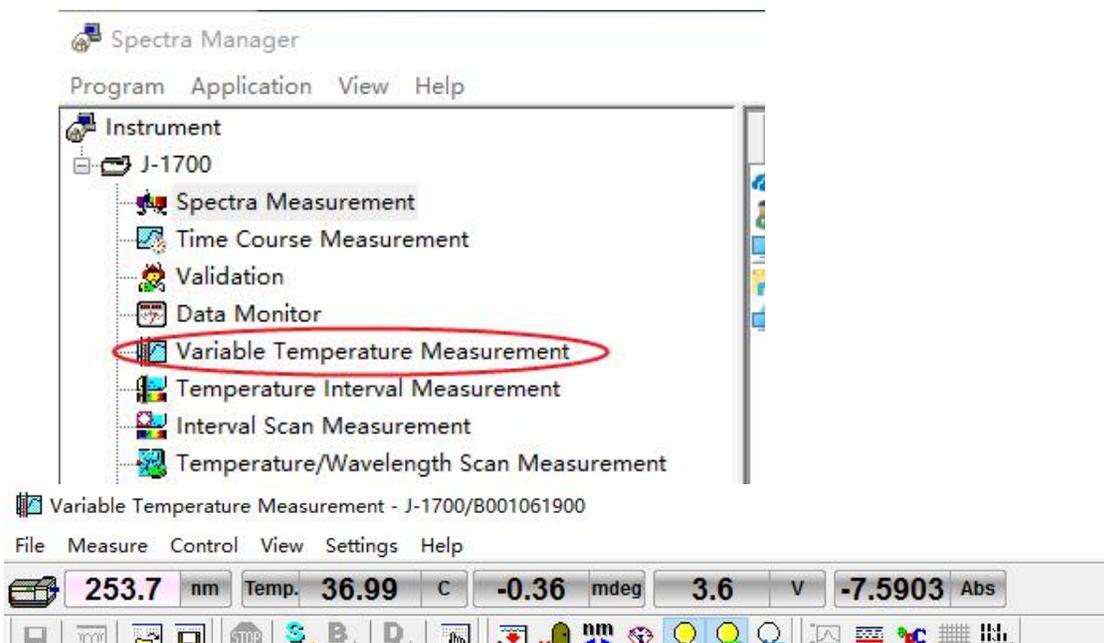
7. 测试结束，关闭软件程序、关水循环泵的”OK”按钮、关水循环泵电源开关、关机、关气。

(三) 固定波长下随温度变化的 CD 值扫描 (-10°C-110°C)

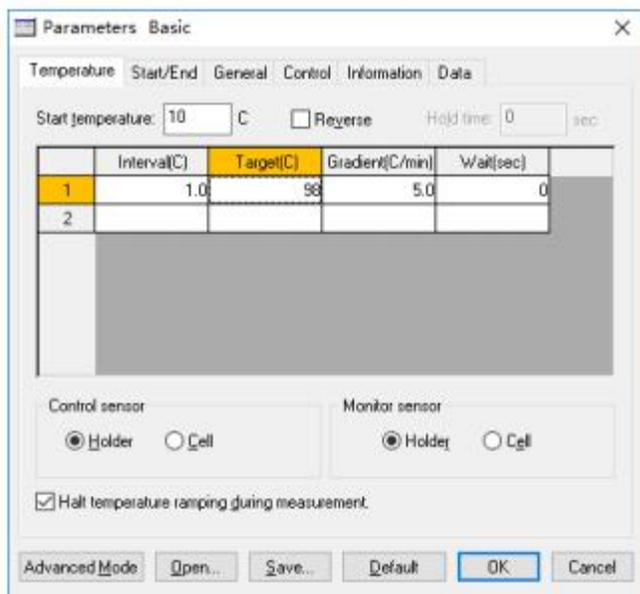


1. 双击  打开光谱管理界面。

2. 双击 “Variable Temperature Measurement”，打开测量界面。

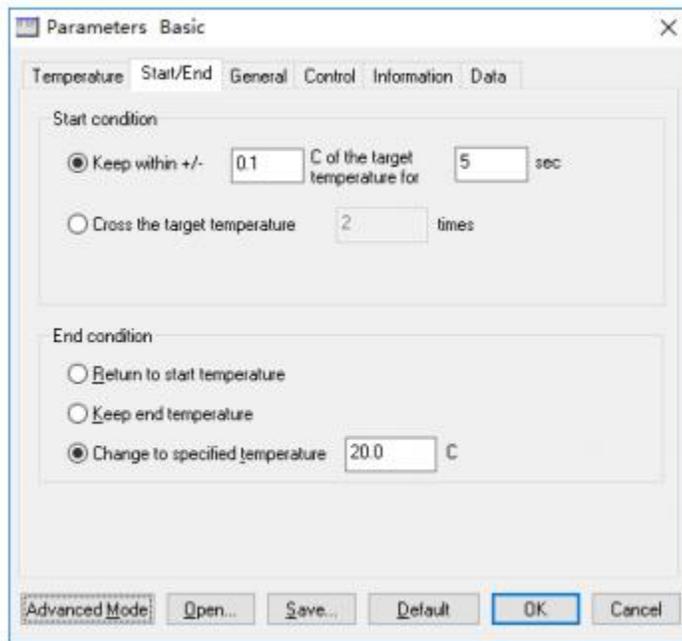


3. 点击  设置测量参数：点击temperature，按照下图设置参数。

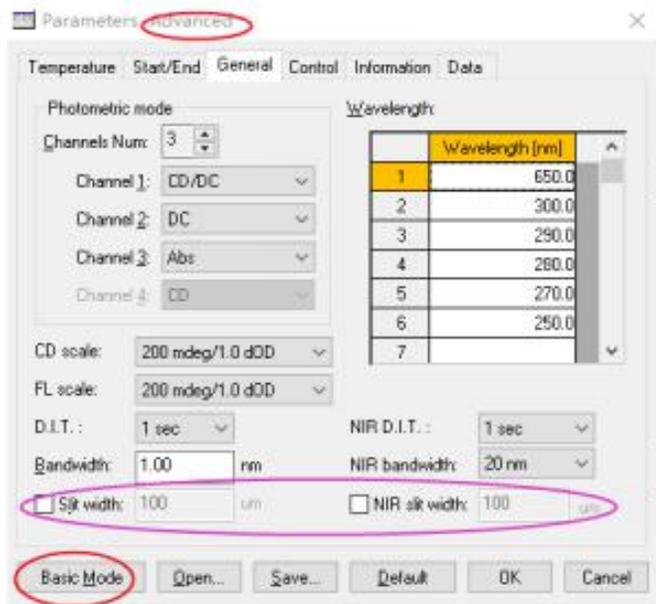


输入 interval (0.1-10)、Target、Gradient(0.1-10) 和 wait。

点击 **Start/End**，按照下图设置参数。

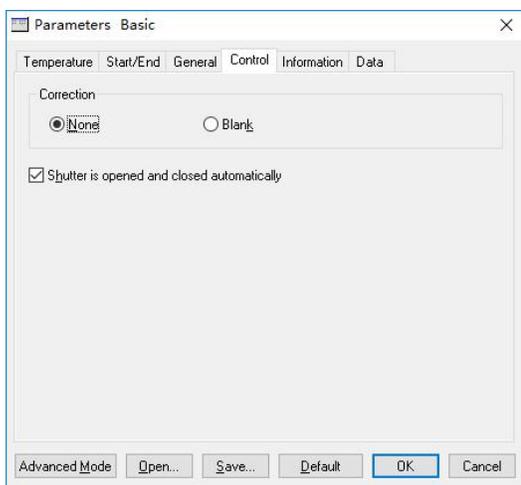


点击 **General**

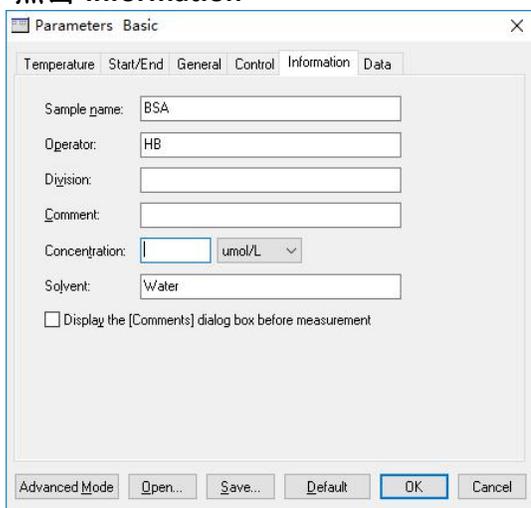


可以多个波长检测，最多可输入 8 个波长。

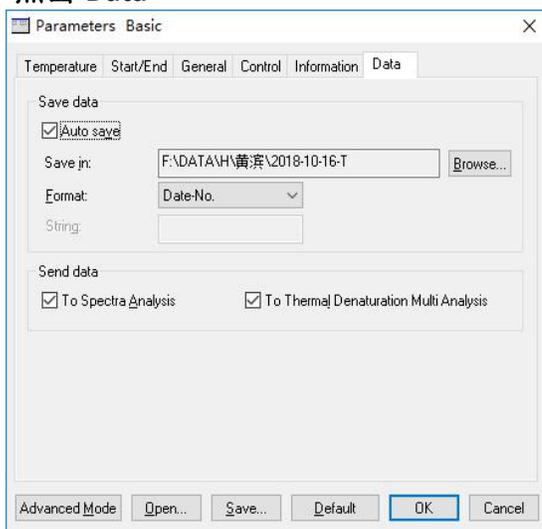
点击 **Control**，选择 **Blank**



点击 information

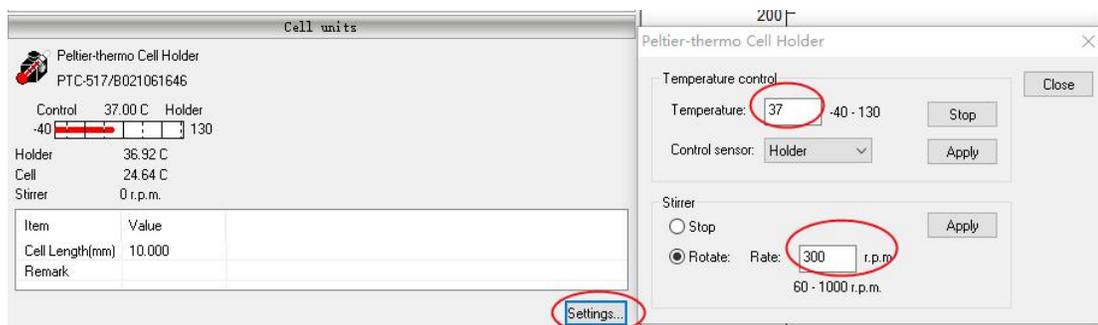


点击 Data



设置完所有测量参数及信息，点击 OK，回到测量界面。

4. 点击“Setting”，设置样品支架温度，如需要搅拌，输入某一搅拌速度值，此时，左侧将显示样品支架实际温度 holder **°C。



点击 Close，关闭设置界面。

5. 放置试剂空白，点击 ，空白温度即为样品支架温度，如不设定样品支架温度空白温度即为室温，空白样品不按照控温程序进行。

6. 更换样品，点击 ，进行程序变温实验。

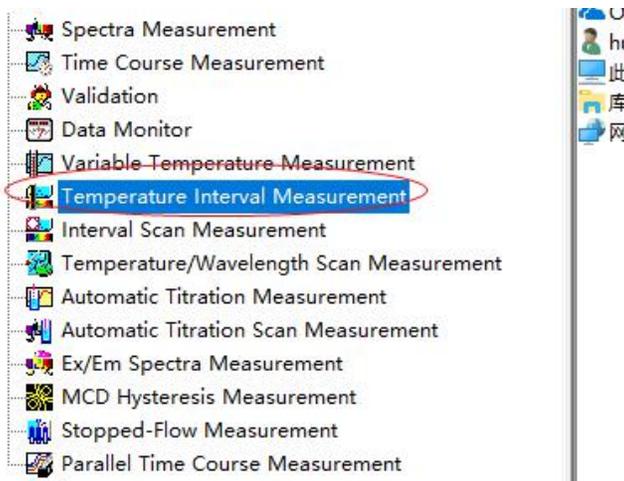
7. 测试结束，关闭程序、关水循环泵的”OK”按钮、关水循环泵电源开关、关机、关气。

(四) 程序控温下的 CD 全谱扫描 (-10°C-110°C)



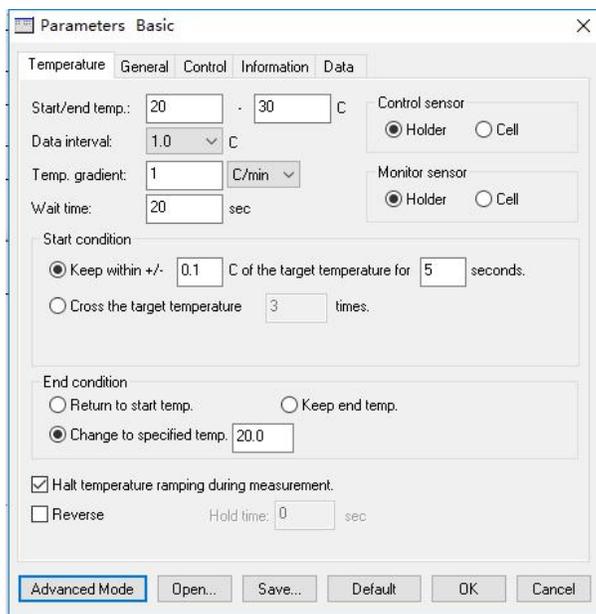
1. 双击  打开光谱管理界面。

2. 双击” Temperature Interval Scan Measurement”，打开测量界面。



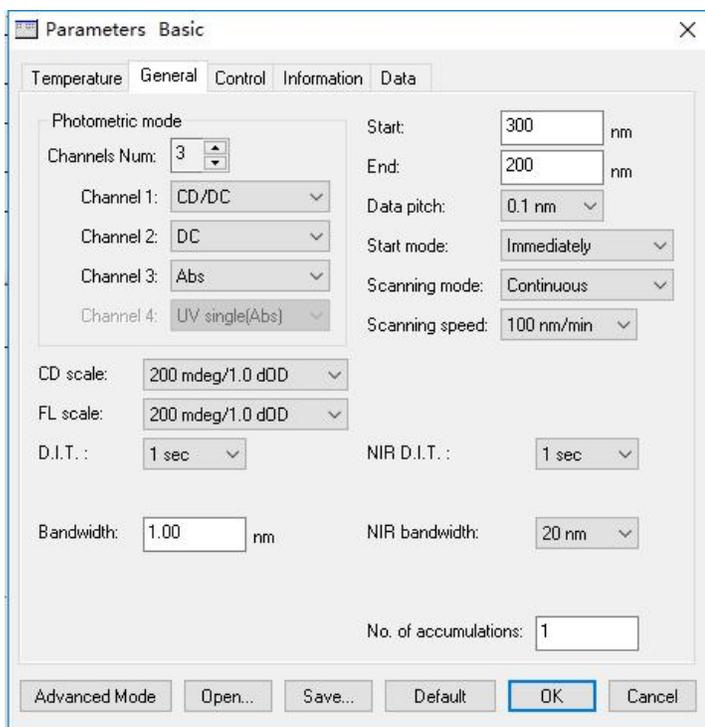


3. 点击  设置测量参数:
4. 点击Temperature, 按照下图设置参数

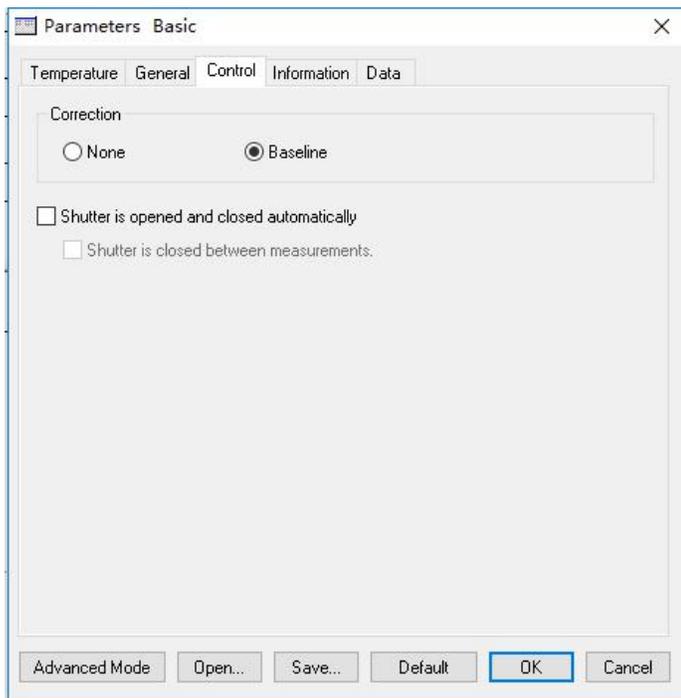


Start/end temp 设置开始结束温度
 Data interval 设置温度间隔
 Temp.gradient 设置升温速率
 Wait time 设置等待时间

点击 **General** 设置参数, 同常温测试。



点击 **Control**，选择基线校正，勾选 Shutter is opened and closed automatically。



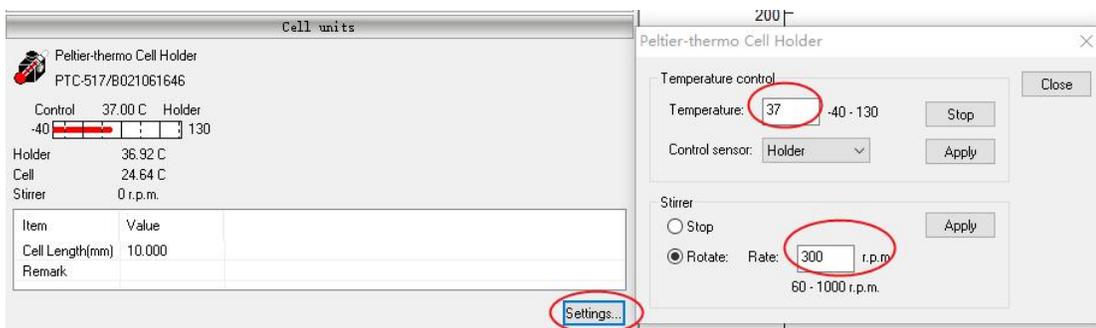
点击 **information**。

The screenshot shows the 'Parameters Basic' dialog box with the 'Information' tab selected. The dialog contains several input fields: 'Sample name', 'Operator', 'Division', 'Comment', 'Concentration' (with a unit dropdown set to 'mol/L'), and 'Solvent'. There is also a checkbox labeled 'Display the [Comments] dialog box before measurement'. At the bottom, there are buttons for 'Advanced Mode', 'Open...', 'Save...', 'Default', 'OK', and 'Cancel'.

点击 Data。

The screenshot shows the 'Parameters Basic' dialog box with the 'Data' tab selected. It is divided into two sections: 'Save data' and 'Send data'. The 'Save data' section includes a checkbox for 'Auto save', a 'Save in:' field with a 'Browse...' button, a 'Format:' dropdown menu set to 'Date-No.', and a 'String:' field. The 'Send data' section has a checked checkbox for 'To Interval Data Analysis'. The same set of buttons as in the previous screenshot is at the bottom.

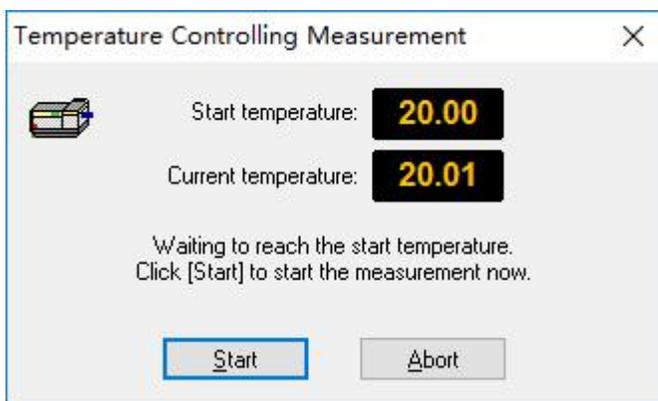
点击“Setting”，设置样品支架温度，如需要搅拌，输入某一搅拌速度值，此时，左侧将显示样品支架实际温度 holder **°C。



点击 Close，关闭设置界面。

5. 放置试剂空白，点击 ，空白温度即为样品支架温度，如果不设置样品支架温度，空白温度即为室温。

6. 放置样品，点击 ，达到设置的温度自动开始测量。



7. 测试结束，关软件程序、关主机、关水循环泵、关气。

（五）固体积分球附件 DRCD 测试

1. 关机状态，拆除样品仓里的其他支架。

2. 样品仓中安装积分球附件。

3. 安装积分球检测器PML-534，注意铭牌朝上。连接两条专用连接线。一条是两头都是单孔的线，将一头与DRCD检测器的单孔对接，另一头与主机上Detector2上的单孔对接；另一条专用线一头12个针，一头12个孔的线，同样将一头与DRCD检测器对接，另一头与主机上的Detector2对接。

注意：如果固体样品采用透射模式，使用常规检测器，则不需要安装积分球检测器。



4. 双击 ，打开Spectra Measurement软件。

5. 根据样品的形态使用不同的测试模具支架：

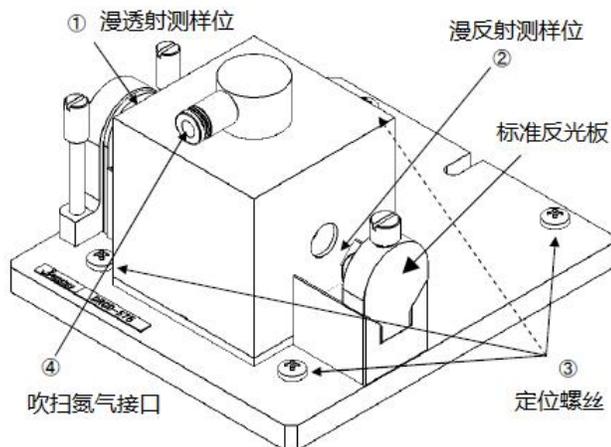
粉末样品：将KBr与粉末样品混合后用配套的小型手压器压片制样，取出中间模具，放入样品仓中测试。如使用漫透射法，样品放于积分球的前侧，标准白板放在积分球后侧，使用积分球检测器测试（90度方向）；如使用透射法样品置于积分球前后侧均可，取出标准白板，使用常规检测器测试（180度方向）。

透明样品：制成透明的薄膜样品，用配套的透射模具，放入积分球前侧或后侧，用常规检测器检测（180度方向），使用积分球因有聚焦效果信号会更好。

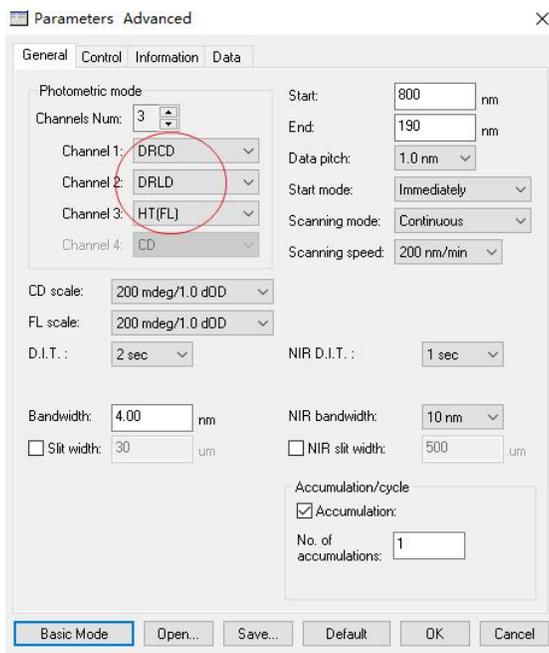
不可压或深色不透光的样品：用漫反射法，将样品放入配套的漫反射模具中，将标准白板取出，样品置于积分球后侧。

6.测量，软件操作同室温操作。使用积分球检测器PML-534，是漫反射或漫透射方式测试。样品放置位如下图所示，**检测范围250-800nm积分球**；若使用标准检测器PMT+InGaAs 则取出标准白板，检测范围165-2500nm。

注意LD信号只能用PMT检测器，只能检测到800nm。若使用纯透射法做固体样品，则只需安装积分球架，不需要安装积分球检测器PML-534，不需要标准白板，使用常规检测器测试，扫描范围可达163-2500nm。



若用积分球检测器测试，则设置扫描参数如下，若用透射法检测，则按常规检测器设置参数扫描。



- (1) Channels Num 选择 DRCD、DRLD、HT(FL)
- (2) 检测器为 FDCD
- (3) Start End 范围最大 (250-800nm)
- (4) Bandwidth 一般设置 2-4nm
- (5) 如噪音大，可适当增大 D.I.T.，降低 Scanning speed，提高 Accumulation 次数

7.测试结束，关软件、关主机、关气。

8. 拆除积分球检测器连接线，卸下积分球检测器。

9. 拆除积分球，将积分球放入袋中存放，以防积分球涂层被污染。

注意：漫反射和漫透射使用积分球检测器，测试范围 250-800nm；如使用常规检测器，测试范围163-2500nm，这种情况下，积分球可以安装，也可以不安装，安装的话，起到聚光的作用，信号会增大一些。实验结束，积分球入干净的袋中保存，一旦污染，无法做DRCD。

仪器五、Fluoromax⁺荧光光谱仪操作规程

(一) 发射光谱测定

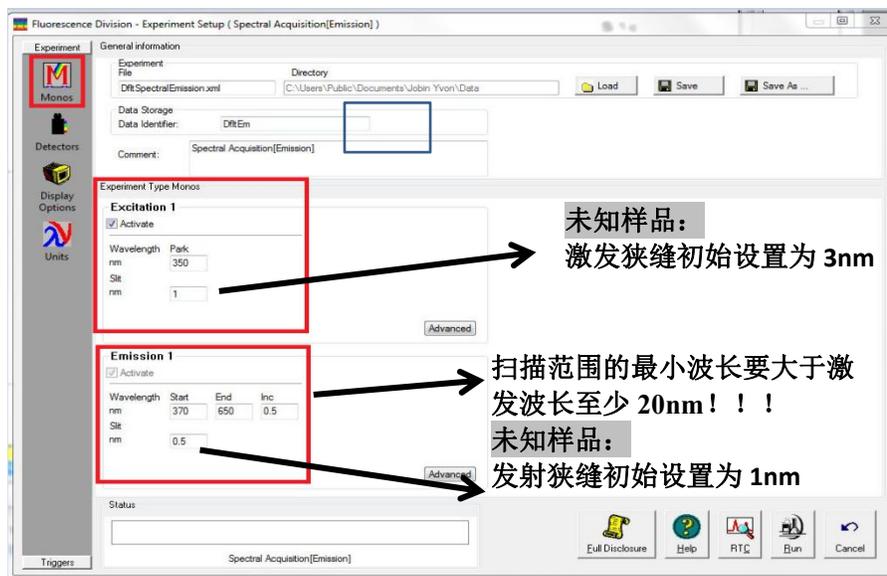
1. 将样品仓门打开（注意：门的角度不要超过90度，控制在70度左右为佳），放入样品；

2. 点击下图方框中标出的M图标，选择Spectra，然后从Experiment Type里选择Emission，点击Next；（只有第一次打开点M图标选择测试模块，后续测试点M右边图标，读取之前参数）。

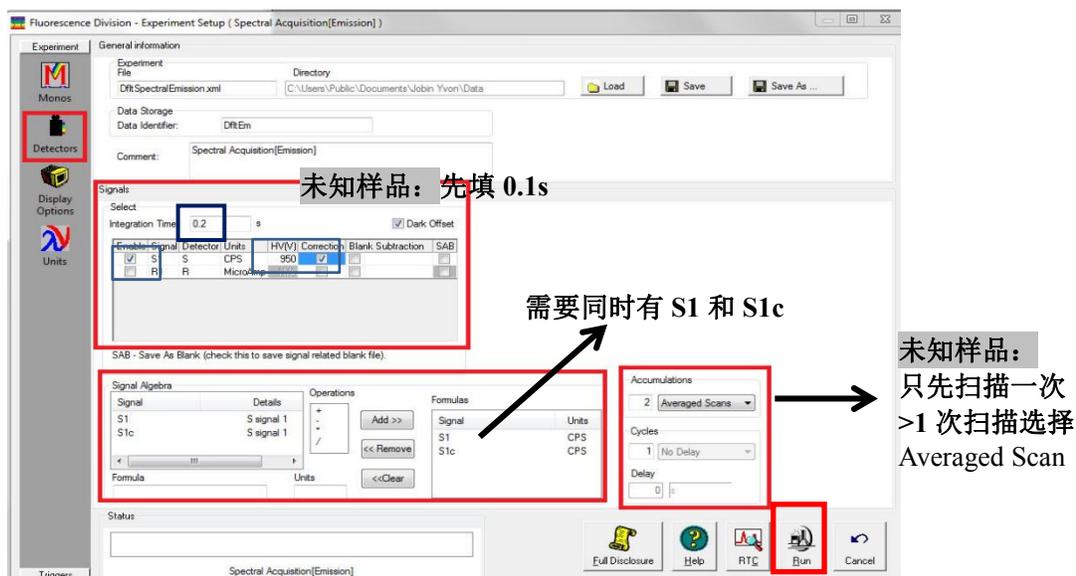


3. 参数设置

(1) 首先点击下图左侧方框中 Monos。Data Identifier 处改为文件名（不能以数字开头，不能有特殊符号，保证 5 个字母以内）。在 Excitation1 处输入激发波长、狭缝宽度，在 Emission1 处输入发射波长范围、步长、狭缝宽度；激发 Ex 和发射 Em 的狭缝 Slits 初始各设置为 3nm, 1nm（保护检测器，检测器检测限是 200 万，所以狭缝不能过大）；



(2)然后点击下图左侧方框中的Detectors, Signals模块设置Integration Time范围(0.1-0.5s之间, 未知样品积分时间先填**0.1s**)、勾选Dark offset、勾选S1以及S1的Correction; 将Signal Algebra模块的S1c add>>到Formulas模块; 只先扫描一次, 然后点击run(后续为了让光谱更为准确光滑; Integration Time增加到0.5s以内; Accumulations一般选2-3, 右面的下拉菜单选择Averaged Scan);



4.数据保存: 扫完一个数据后, 会出现提示框, 点击browse, 选择数据E盘!!!,



命名为1.opj，后续实验数据会实时更新至1.opj，不需要一个数据保存一次!!!
注意操作过程中常点 保存图标,或者File Save Project As (opj)。

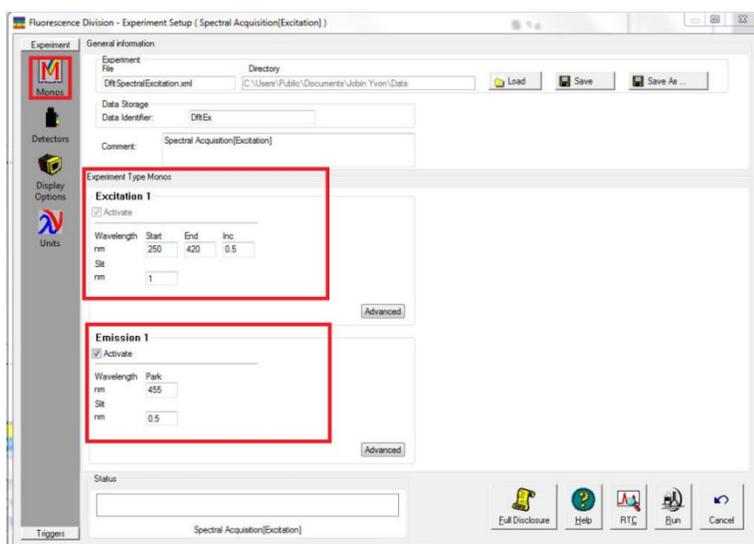
(二) 激发光谱测定

1.将样品仓门打开（注意：门的角度不要超过90度，控制在70度左右为佳），放入样品；

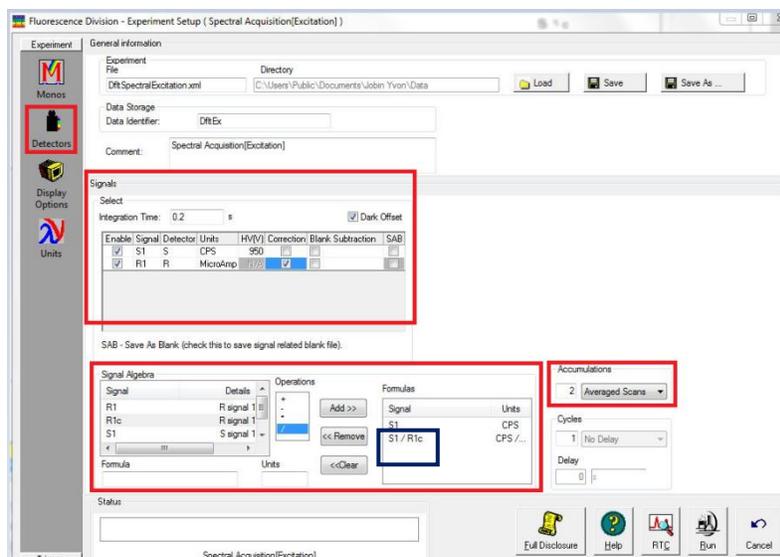
2.点击M图标，选择Spectra，然后从Experiment Type里选择Excitation，点击Next；

3.参数设置：

(1)首先点击下图左侧方框中Monos，Data Identifier处改为文件名（不能以数字开头，不能有特殊符号，保证5个字母以内）。在Excitation1处输入激发波长范围、步长、狭缝宽度，在Emission1处输入发射波长、狭缝宽度；激发Ex和发射Em的狭缝Slits初始各设置为1nm，0.5nm；



(2)然后点击下图左侧方框中的Detectors，Signals模块设置Integration Time范围（0.1-0.5s之间）、勾选Dark offset、勾选S1、勾选R1以及R1的Correction；先后点击Signal Algebra模块的S1、Operations模块的/、以及Signal Algebra模块的R1c，在下面的Formula模块会显示S1/R1c，然后 add>>到Formulas部分，同时将Formulas模块的R1 <<Remove掉；为了让光谱更为准确光滑Accumulations一般选2-3，右面的下拉菜单选择Averaged Scan或Sumed Scans，然后点击run；



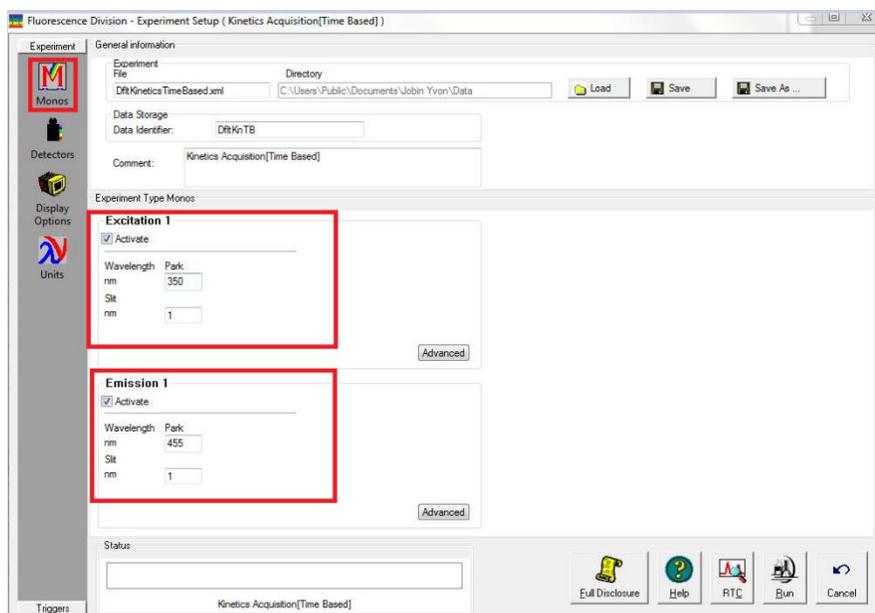
4.数据保存: File→ Save Project As (opj)。

注意: 做激发光谱时, 最大激发波长要小于发射波长至少 20nm。

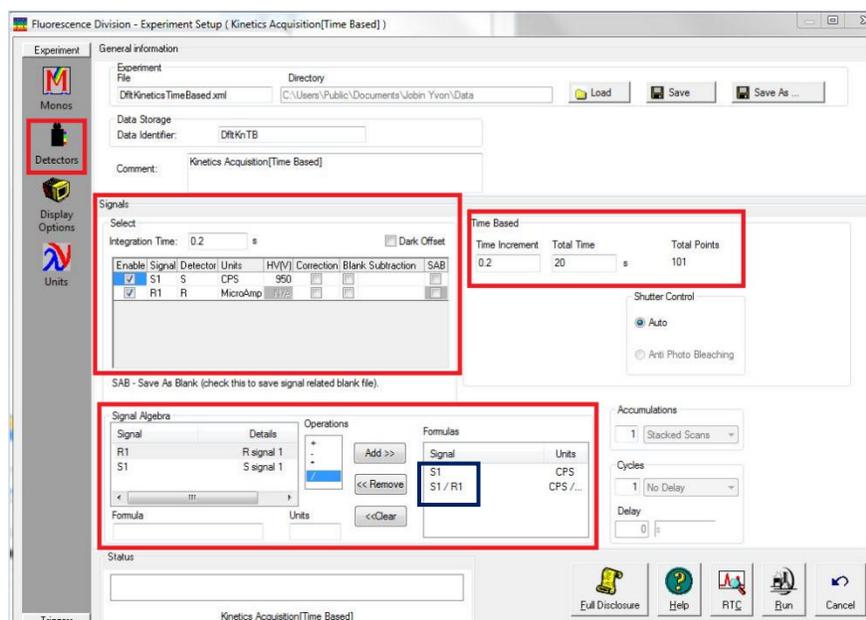
(三)Kinetics 测试

- 1.将样品仓门打开 (注意: 门的角
度不要超过90度), 放入样品;
- 2.点击M图标, 选择Kinetics, 点击Next;
- 3.参数设置:

(1)首先点击下图左侧方框中Monos, 在Excitation1处输入激发波长、狭缝宽度, 在Emission1处输入发射波长、狭缝宽度;



(2)然后点击下方左侧方框中的Detectors, Signals模块设置Integration Time范围(0.1-0.5s之间)、勾选S1、勾选R1; Time Based模块设置Time Increment、Total Time; 先后点击Signal Algebra模块的S1、Operations模块的/、以及Signal Algebra模块的R1, 在下面的Formula模块会显示S1/R1, 然后 add>>到Formulas部分, 同时将Formulas模块的R1 <<Remove掉, 然后点击run;

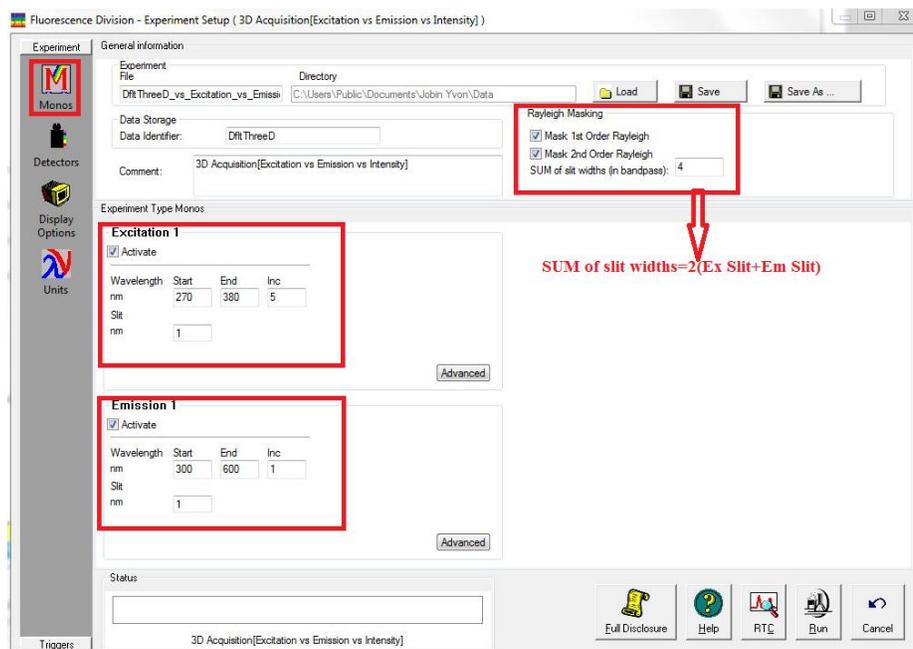


4.数据保存: File→ Save Project As (opj)。

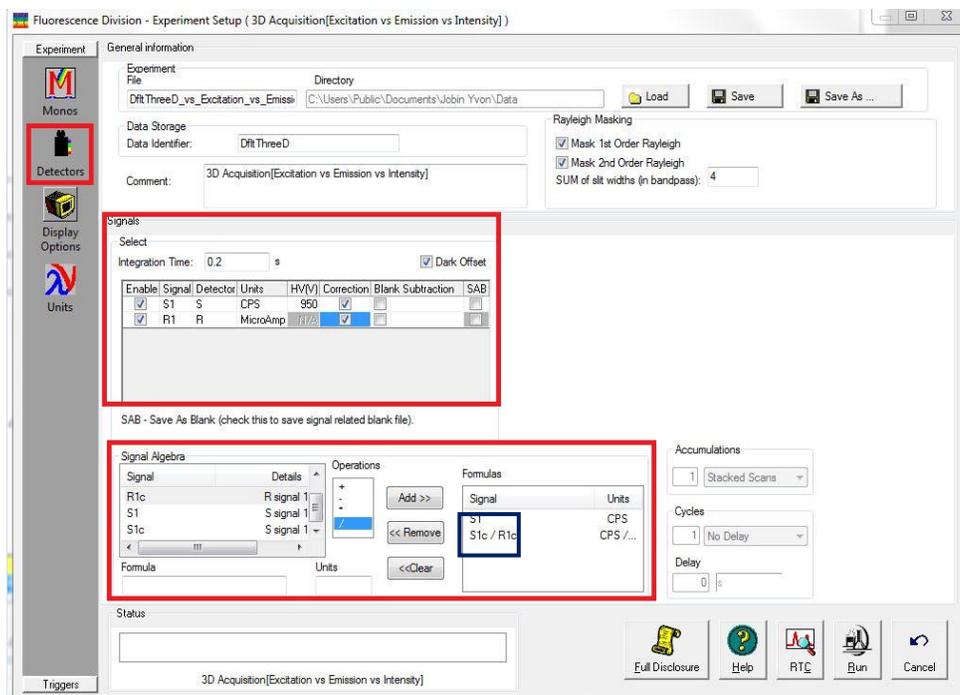
(四)3D 测试

- 1.将样品仓门打开（注意：门的角度不要超过90度），放入样品；
- 2.点击M图标，选择3D，点击Next；
- 3.参数设置：

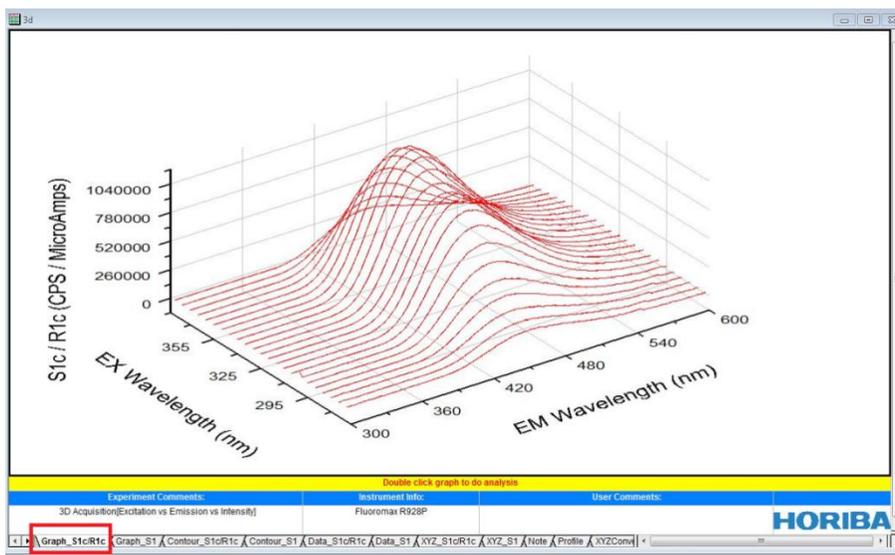
(1)首先点击下图左侧方框中Monos，在Excitation1处输入激发波长范围、步长、狭缝宽度，在Emission1处输入发射波长范围、步长、狭缝宽度；Rayleigh Masking模块勾选Mask 1st order Rayleigh、Mask 2nd order Rayleigh、设置SUM of slit widths=2(Ex slit + Em slit)；



(2)然后点击下图左侧方框中的Detectors，Signals模块设置Integration Time、勾选Dark offset、勾选S1以及S1的correction、勾选R1以及R1的correction；先后点击Signal Algebra模块的S1c、Operations模块的/、以及Signal Algebra模块的R1c，在Formula模块会显示S1c/R1c，然后 add>>到Formulas部分，同时将Formulas模块的R1 <<Remove掉，然后点击run；



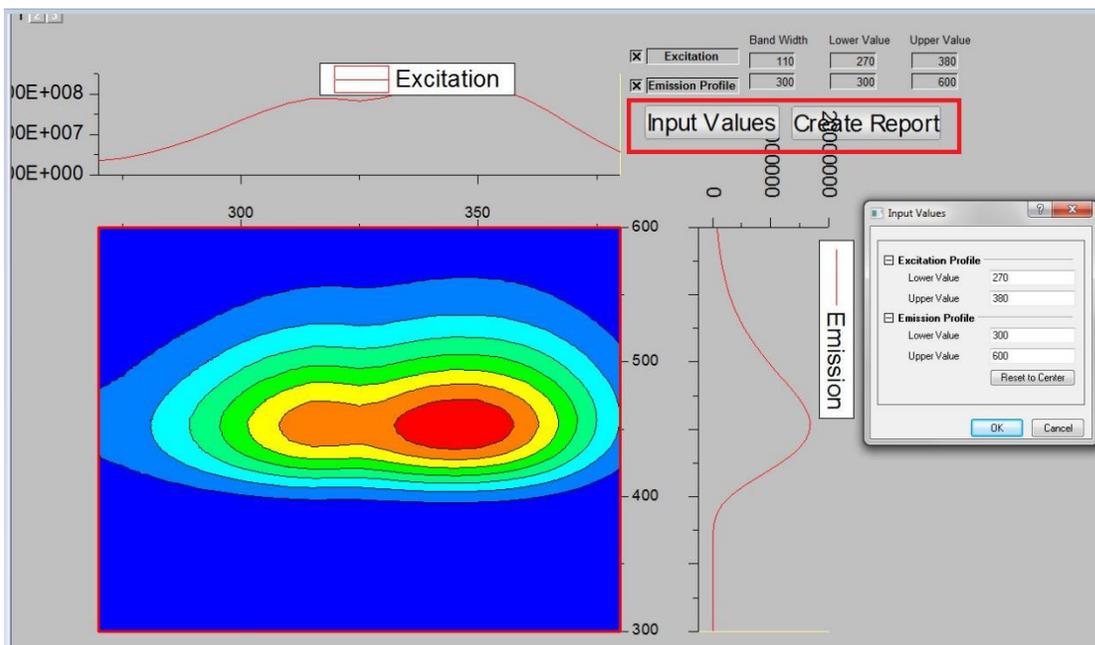
4.3D转2D:



点击上图方框中的 Graph S1c/R1c，再选择



方框标出的图标，即可得到如下图片:



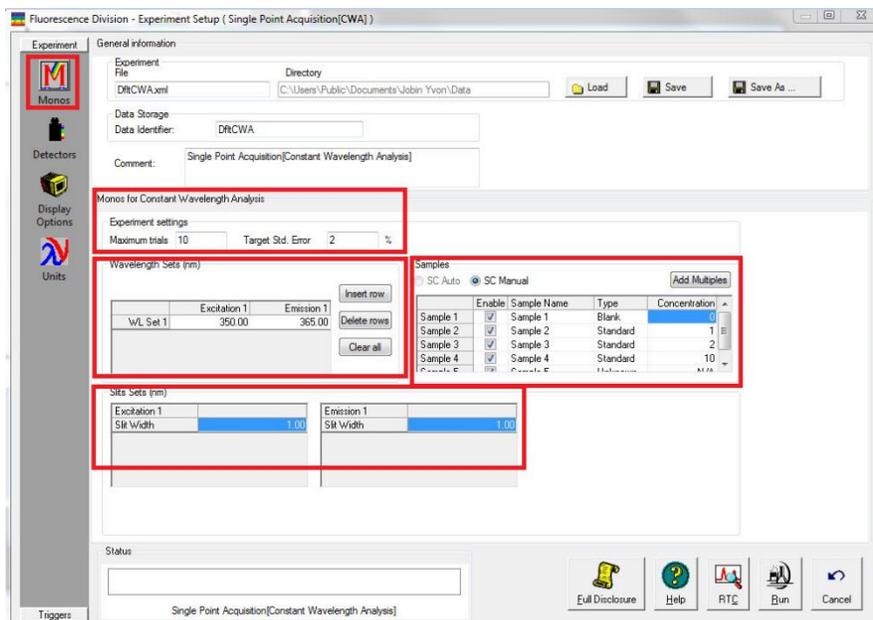
然后点击 Input Values，点击 Reset to center 利用方框划出需要分析的 Ex 和 Em 的范围，点击 Create report 即可。

5、数据保存：File → Save Project As (opj)。

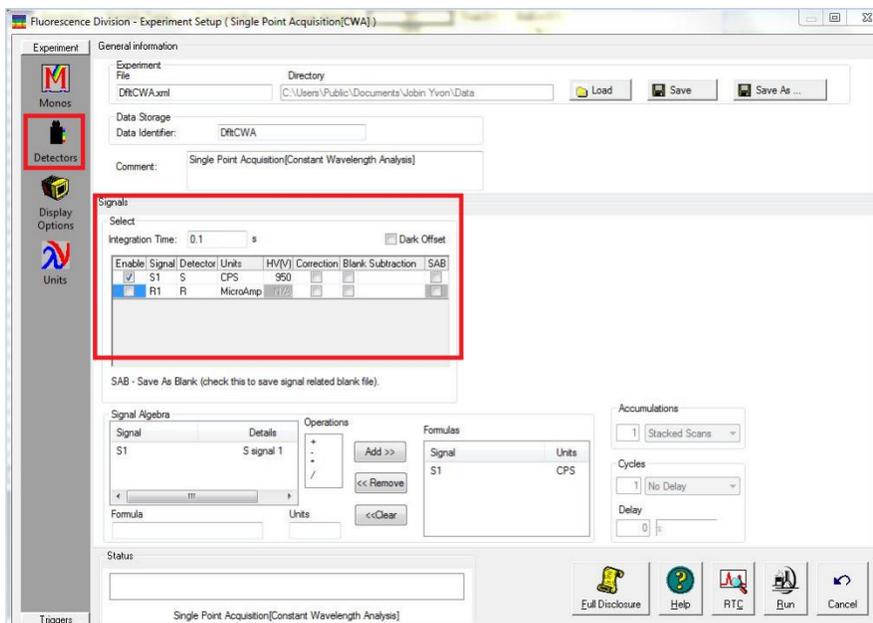
(五) 单点测试

1. 将样品仓门打开（注意：门的角度不要超过90度），放入样品；
2. 点击M图标，选择Single Point，点击Next；
3. 参数设置：

(1) 首先点击下图左侧方框中 Monos，在 Monos for Constant Wavelength Analysis 模块输入 Maximum trials(重复次数)、Target Std. Error(标准偏差)；在 Wavelength Sets 模块输入激发和发射波长（可同时设置几个点）；在 Samples 模块点击 Add Multiples 设置样品个数，修改 Type 和 Concentration；Slits Sets 模块设置激发和发射的狭缝宽度；



(2)然后点击下图左侧方框中的Detectors， Signals模块勾选S1， 然后点击run；



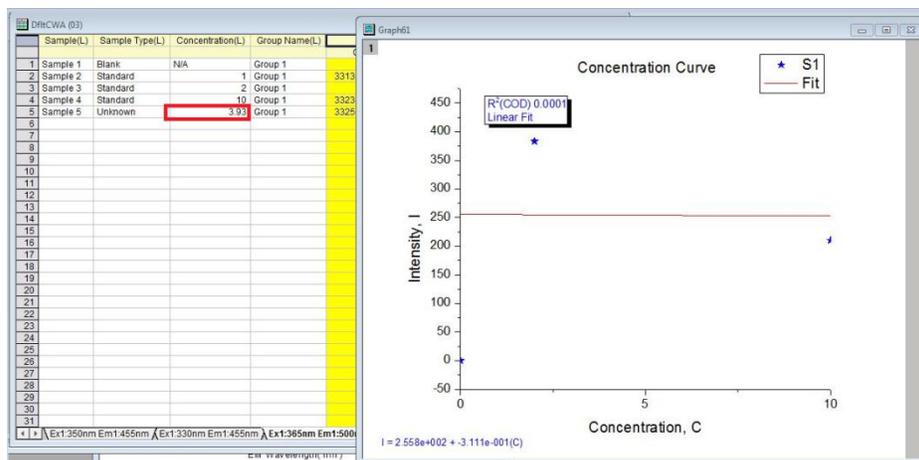
即可得到下图：

| Sample(L) | Sample Type(L) | Concentration(L) | Group Name(L) | S1 CPS | Trial(S1) | StdErr(S1) (%) | |
|-----------|----------------|------------------|---------------|-----------|------------|-------------------|--------|
| 1 | Sample 1 | Blank | N/A | Group 1 | 5990 | 3 | 1.3665 |
| 2 | Sample 2 | Standard | 1 | Group 1 | 6415.71429 | 7 | 1.7959 |
| 3 | Sample 3 | Standard | 2 | Group 1 | 6373.33333 | 3 | 1.32 |
| 4 | Sample 4 | Standard | 10 | Group 1 | 6200 | 8 | 1.9021 |
| 5 | Sample 5 | Unknown | N/A | Group 1 | 6612.5 | 4 | 1.8889 |

点击下方方框中的图标，Formula 选 S1，点击 OK；



即可得到拟合的直线和未知样品的浓度。



4.数据保存: File → Save Project As (opj)。

仪器六、激光扫描共聚焦显微镜操作规程

(一) 普通 XY 成像

1.选择合适的物镜,共配置6个物镜,4×、10×、20×、40×为干镜,可随意切60×和100×为油镜,滴油后不能切换其他镜头;

2.调焦找样品,调焦旋钮下方绿色按钮切换粗调(coarse)和微调(fine),样品焦面位置:盖玻片200-500 μm, confocal皿600-1000 μm;

3.选择染料, 点击  弹出荧光染料选择窗口, 双击选择所需激发波长→

Apply;

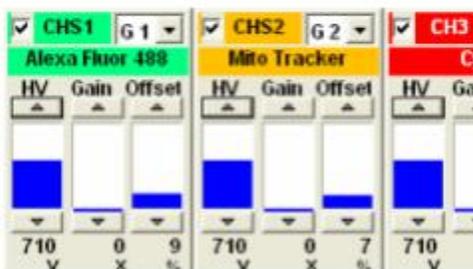
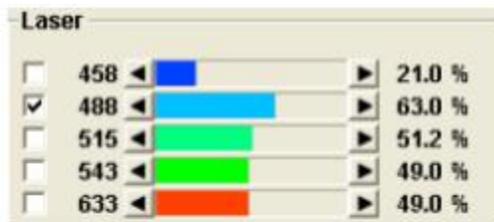


4.勾选TD1透射光通道观察样品形貌;

5.确认光路, 点击  按钮, 根据样品的发射波长设置合适的波长范围;

6.使用两个以上激光时要勾选序列选项 Sequential, 避免激光串色;

7.点“Focus×2”按钮对样品进行预扫, 调节激光器输出功率、PMT检测器参数和针孔大小得到合适的荧光强度, 按“Ctrl+H”可切换至Hi-Low模式, 出现红色则表示荧光超标;



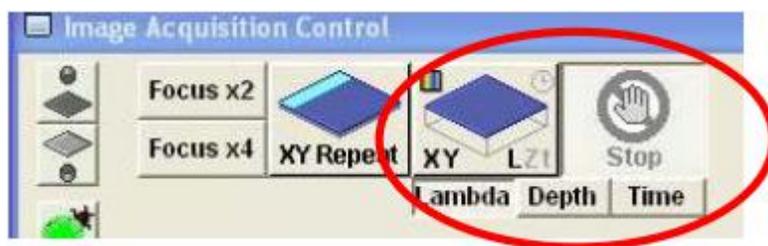
8.点“RepeatStop”按钮停止预扫，设置停留时间（一般4或8 μ s/Pixel）和Kalman重复扫描次数（一般2-3次），以得到较好的成像质量，点“XY”进行成像；



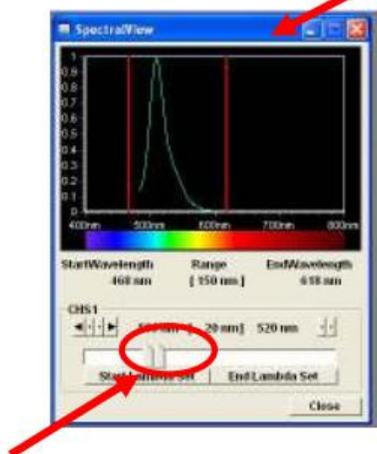
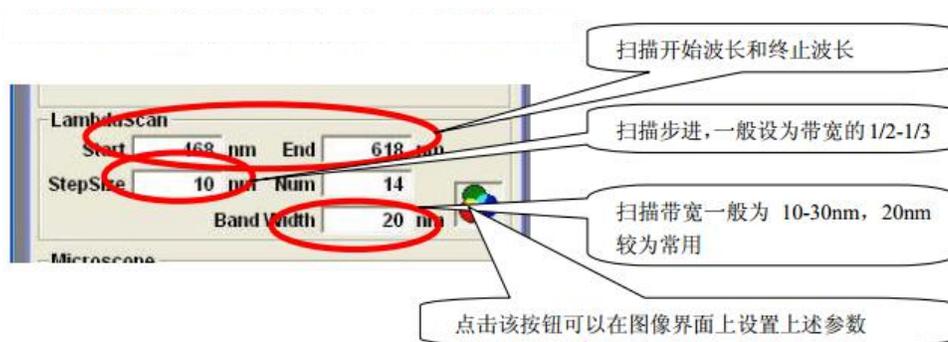
9.图像保存，直接关闭“2D View”窗口，“Save & Close”保存，文件格式“.oib”。

(二) 光谱扫描

- 1.首先进行普通扫描，选取合适的视野；
- 2.选择“Lambda”波长扫描；



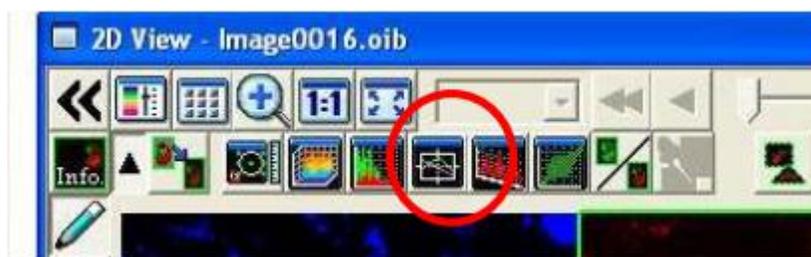
3.在波长扫描界面中设置合适的波长范围、带宽和步进；



4.边预扫边用鼠标来回拖动检察各波长段的荧光强度,使最大发射处荧光强度不超标;

5.点击  进行波长扫描;

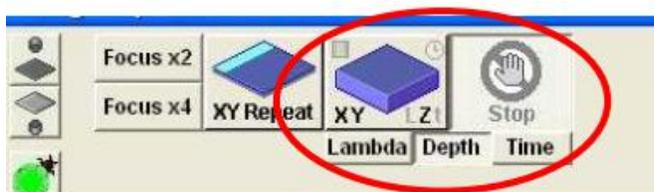
6.得到图像后, 点击  按钮选择目标区域, 点“series analysis”得到光谱谱线。



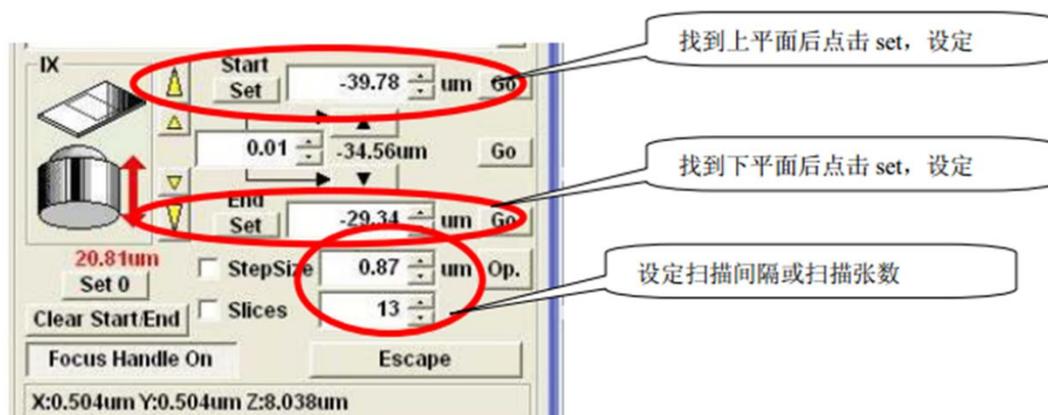
(三) 三维成像

1.首先进行普通扫描, 选取合适的视野;

2.选择“Depth”深度扫描;



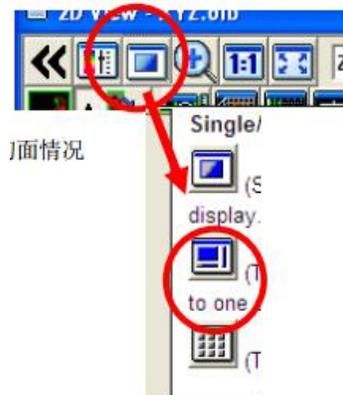
3.在Z扫描界面中设置合适的上、下表面和扫描间隔;





4. 点击  按钮就行深度扫描；

5. 获得图像后，点击图像显示模式按钮可以在下面选项中选择三维显示模式查看各层切面情况；



6. 也可以点击三维重建按钮来展示三维重建效果。



仪器七、IX83 倒置荧光显微镜操作规程

1. 选择合适的物镜，共配置6个物镜，2.5×、10×、20×、40×为干镜，可随意切换，60×、100×为油镜，滴油后不能切换其他镜头，选择镜头后点击软件上相应镜头图标，匹配标尺。

2. 切换触摸屏右上角相机和眼睛模式，使样品可以在显示器显示或在目镜中观察。

3. 点击“实时观察”，打开CCD检测器；

4. 透明样品点击“DIC”，在白光下调焦；对于不透明的样品，点击“FL1”，用汞灯做光源，再调焦找样品。大旋钮为粗调，小旋钮为微调；先粗调使Z值在5000左右，再微调使样品清晰。调焦过程中要注意Z值不能超过6000。

5. 调节曝光时间，使图像亮度合适；

6. 点击“白平衡”图标，再点击图像空白区域，对图像颜色进行校正，荧光通道下的图像要点击“黑平衡”校正图像颜色；
7. 点击“拍照”按钮，得到样品形貌图像；
8. 点击触摸屏“FL1”，切换到汞灯观察荧光图像，选择合适的滤光片，调节曝光时间使亮度合适，点击拍照；
9. 点“文件”→“全部关闭”→“保存”，选择路径保存。
10. 选中“实时观察”下的录像框，可以录制视频，保存avi格式。

注意事项

- 1 物镜位置不要高于6000 μm，防止镜头碰到样品，损伤镜头。
- 2 切换荧光时先点击“FL1”，再选择滤光片。
- 3 换样品时手不要碰到聚光镜。

仪器八、UV2600 紫外可见分光光度计操作规程



1、点击大写 M 设置方法；

2、设置波长范围，普通测试最大范围 190nm-900nm，积分球测试最大范围 220nm-1400nm；

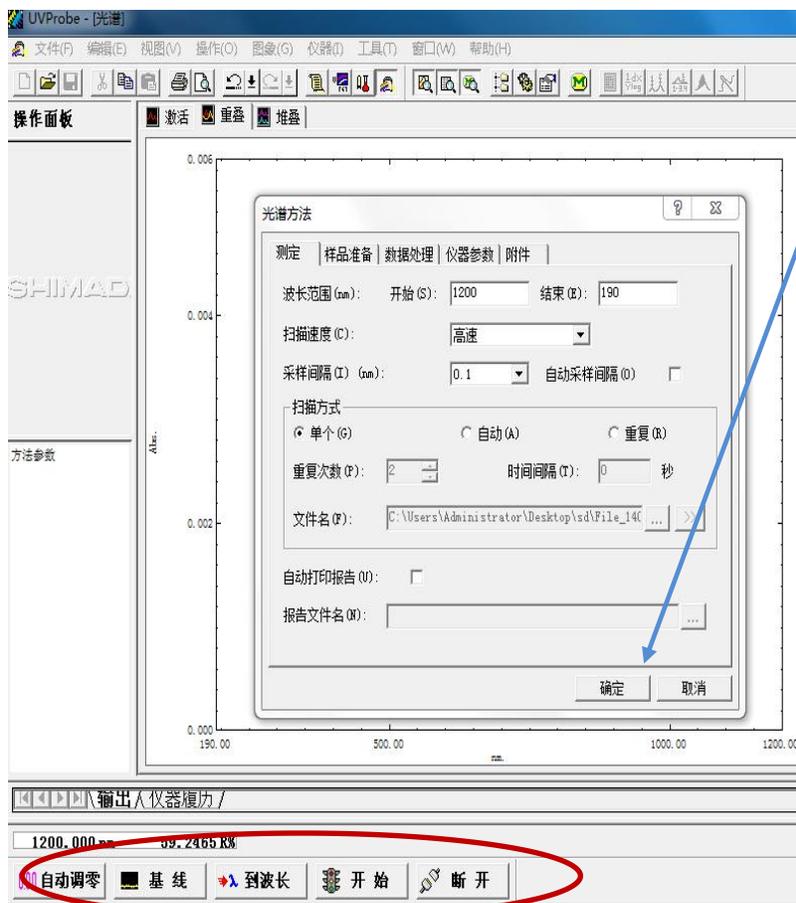
3、点击仪器参数；



→ 普通测试参数设置



→ 积分球测试参数设置



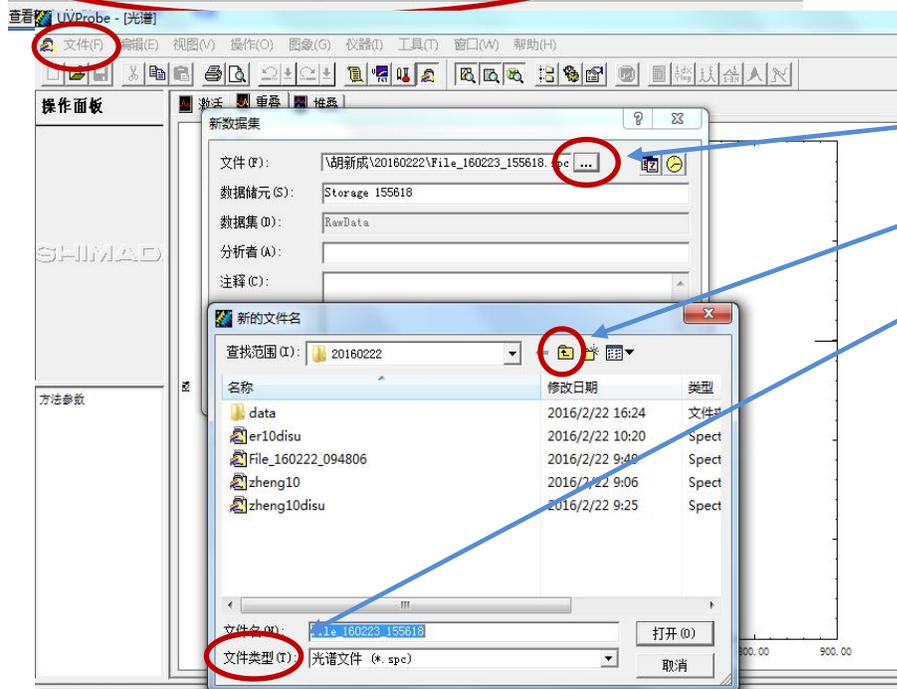
4、参数设置完毕，点击**确定**等待仪器反应完毕后方可打开样品仓盖；

5、将两个比色皿装入背景溶液后放入仪器内，点击**基线**，积分球测试放置两个 BaSO₄ 白板；

6、点击**到波长** 500nm；

7、点击**自动调零**；

8、打开样品仓盖将外通道背景换成待测样品，点击**开始**；



9、文件保存：
测试完毕，仪器会自动跳出新数据集对话框，点击**三点按钮**，选择自己的文件夹并输入文件名，

10、文件格式转换：点击**文件**，将文件类型改为数据打印表。

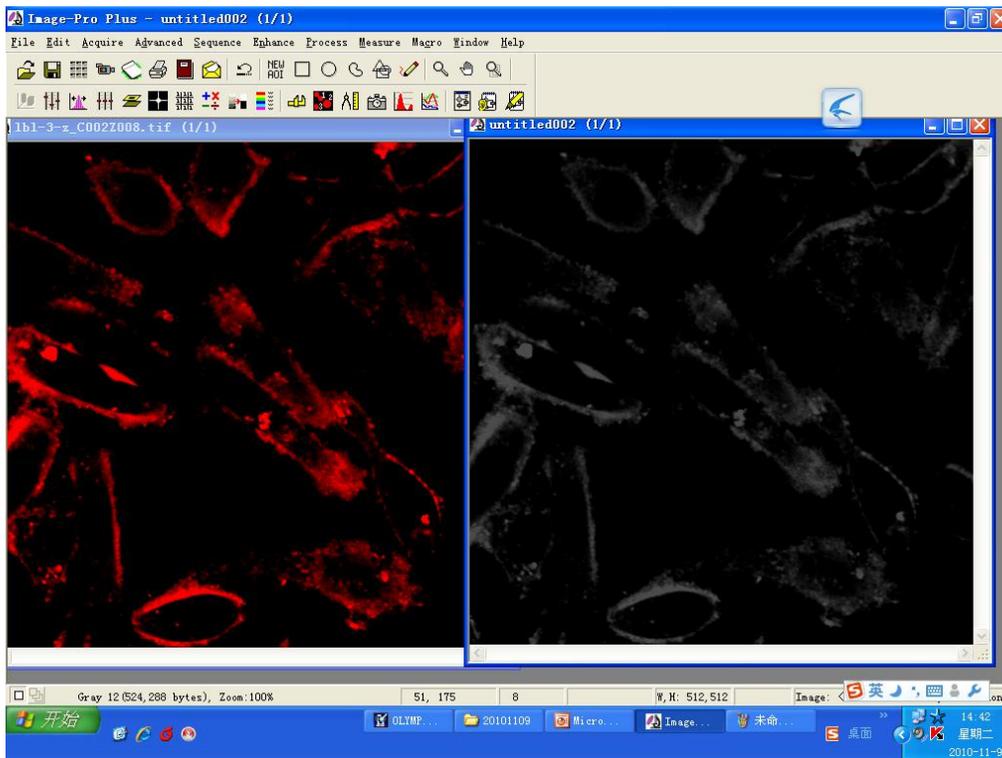
第四部分、数据处理

一、Image pro plus (IPP) 图像处理软件的应用

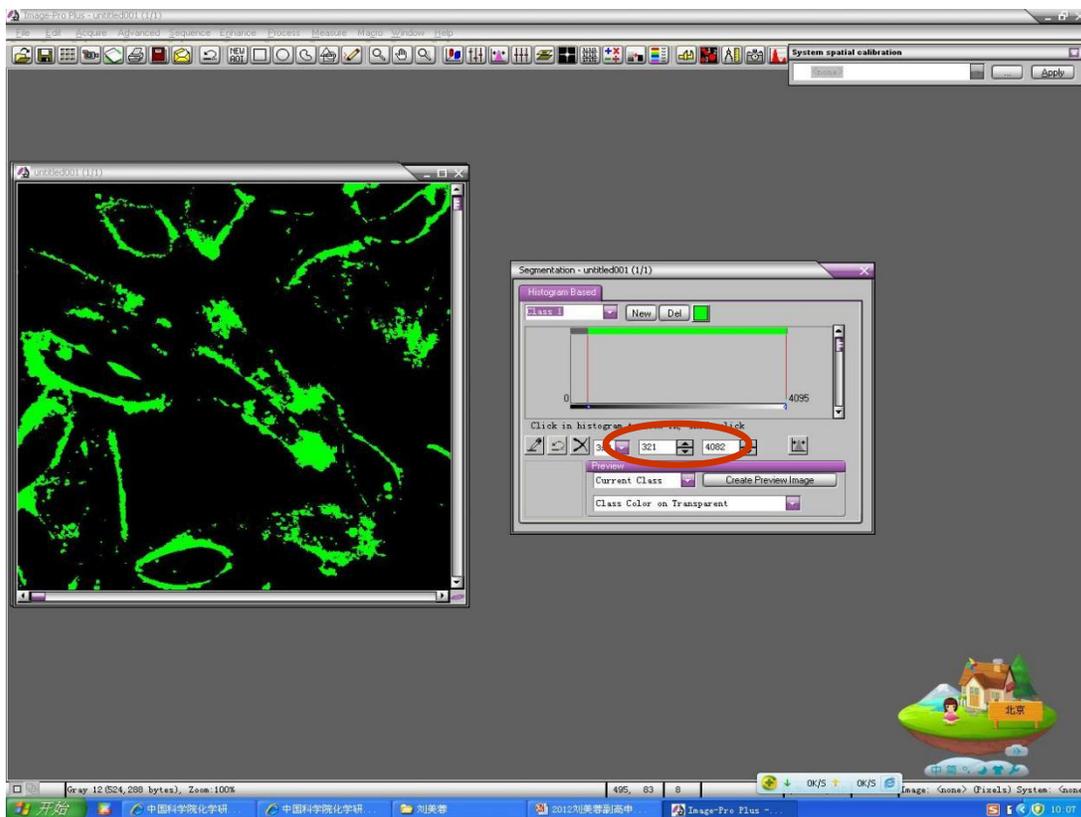
(一) 分析整幅图片或感兴趣区域 (ROI) 的荧光强度

共聚焦自带的软件可以进行荧光强度的测量，可测量一个点，一条线，或一个区域的强度。但比较两幅图的平均荧光强度，手动操作起来就非常不方便。IPP软件通过荧光强度阈值范围的选择，可自动测量一幅图的平均荧光强度。

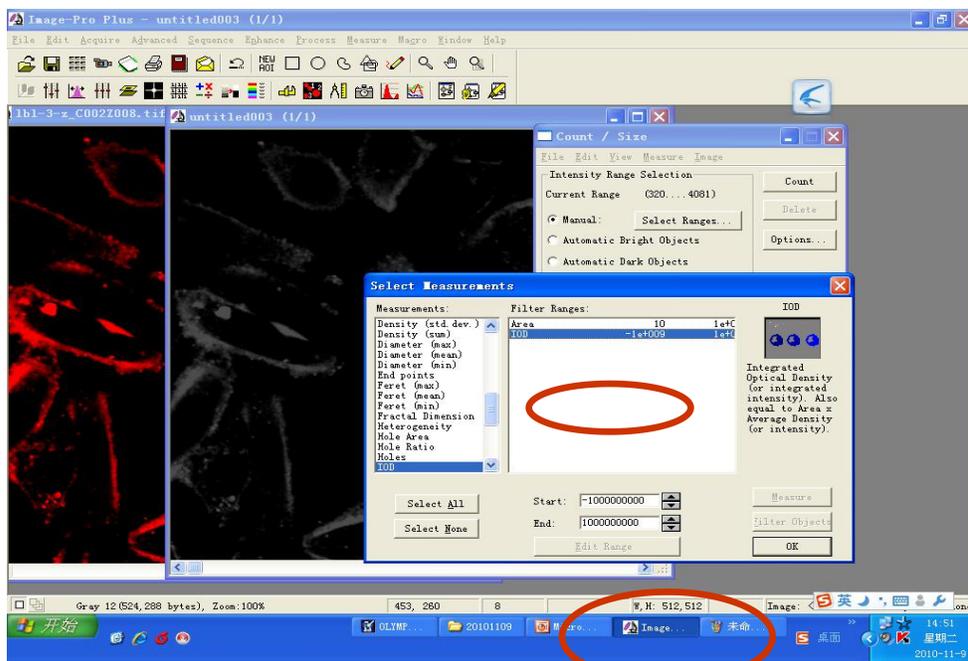
先将一幅图 (TIFF格式) 转化为灰度格式。因为共聚焦图像颜色是12位的，也就是最大强度值为4095 (2¹²-1)，因此将原图转化成12位的灰度格式。然后通过选择荧光强度的阈值范围，定义我们要进行荧光强度计算的对象的范围；然后选择测量对象为area和IOD。通过选择合适的面积范围，可缩小要计算的对象范围，可把一些小的杂质，或太大的不是我们想要的东西除掉。然后通过统计就可以得到SUM(area)和SUM(IOD), SUM(IOD)除以 SUM(area)就可得我们定义对象的平均荧光强度。



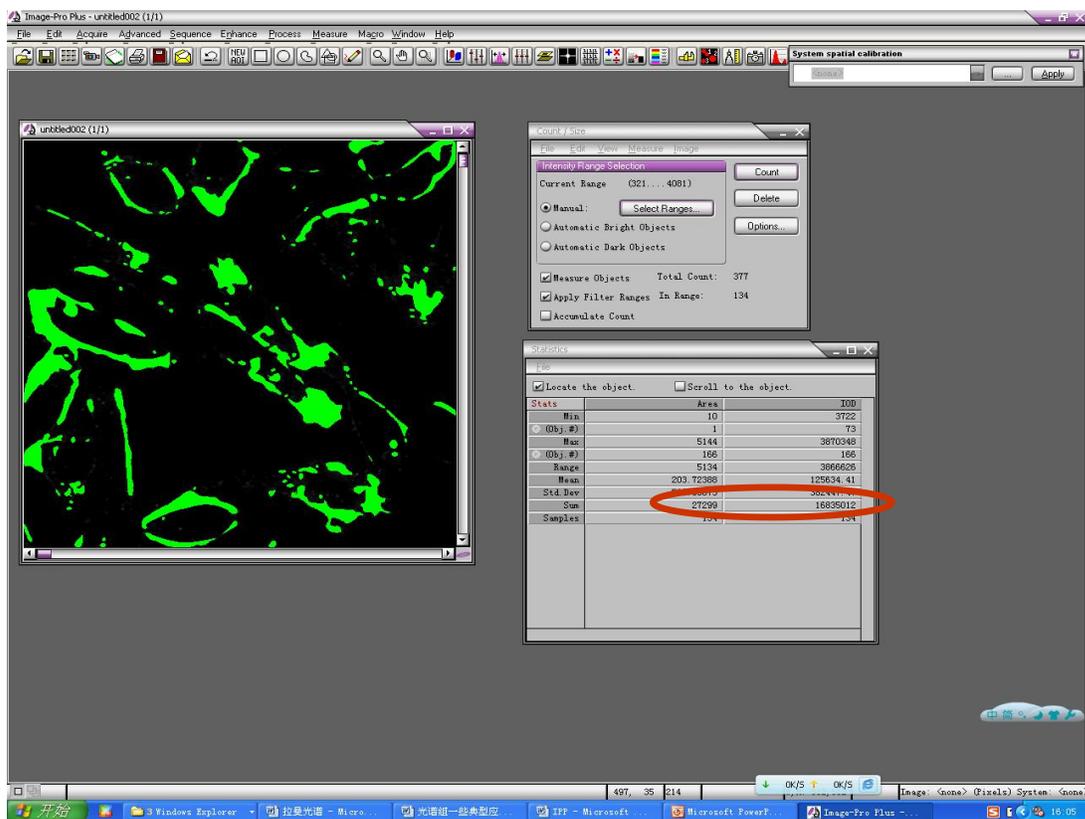
1.将原图转化为12位的灰度图。



2. 选择合适的荧光强度阈值定义要计算荧光强度的对象。



3. 选择测量对象为area和IOD， 可选择area的范围， 进一步定义操作对象的范围。

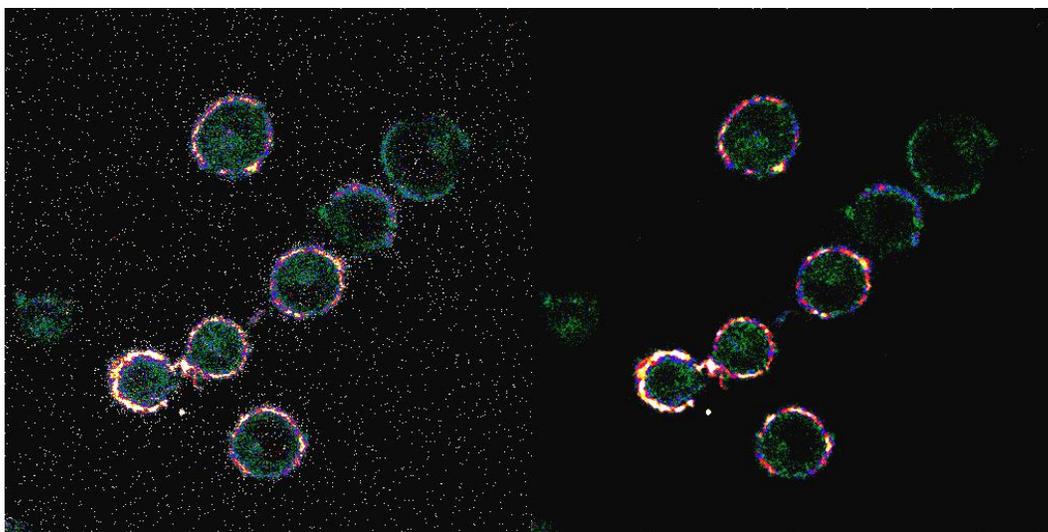


4.统计得到SUM(area)和SUM(IOD), 计算平均荧光强度SUM(IOD)/SUM(area)。

(二) 图像的处理

IPP软件中有很多滤镜可以处理图像， process — filters — (enhancement, edge, morphological, kernels, special) 每一种滤镜有其具体的作用。

下面图中，左图为处理前的ratio图片，背景部分白色斑点很多。用enhancement下面的Despeckle可将斑点去除， 右图为处理后的图片。



IPP软件还有很多非常有用的功能，ftp上有IPP软件安装文件及使用说明。详情可见所ftp://incoming1/分析测试中心资料/光谱组/共聚焦。

二、共聚焦 Ratio 法在 pH 荧光探针方面的应用

分析测试中心共聚焦最多可同时采集三个荧光通道。两个荧光通道的荧光强度可做Ratio值，用于分析pH值、金属离子浓度等引起的荧光强度比值的变化。

碳纳米点上修饰两种不同荧光染料（异硫氰酸酯荧光素和罗丹明）(DLCD)，可形成一种可调式比率型 pH荧光探针，用于整个活细胞内pH的分布及其波动的定量检测。下图为Ratio法在pH荧光探针应用方面的举例。

图1为Hela细胞在pH6-8范围的荧光图。第一行为FITC通道（激发波长488nm，发射波长510-550nm）；第二行为RBITC通道（激发波长488nm，发射波长570-610nm）；第三行为微分干涉差图(DIC)；第四行为FITC通道与RBITC通道的荧光强度比值图(ch1/ch2)，即Ratio图，不同的颜色代表不同的比值，绿色表示Ratio值低，黄色表示Ratio值高，如图2颜色标尺所示。由图1可看出随着pH值的增加，FITC通道荧光强度增加，而RBITC通道荧光强度基本不变，两个通道的荧光强度比值增加。

图3为一幅Ratio图的Ratio值频率分布，即每个Ratio值对应的像素数，这样我们就可以知道一幅Ratio图中，每个Ratio值的权重或像素与Ratio值的对应关系。Ratio值与像素数的对应关系有excel数据，因数据太多不做展示。通过origin可算出一幅Ratio图的平均Ratio值及误差bar(平均值±标准偏差)。当颜色标尺相同时，

一种颜色对应一个Ratio值，一幅图的平均Ratio值又对应细胞的一个pH值。这样，就可以做出pH-Ratio曲线。

图4 a) 显示了pH—Ratio图及误差bar，在pH6-8范围内，成线性，图b)-f)为负载有碳纳米点的Hela细胞的Ratio图。图a为未经处理的完整细胞，图b)-f)为用不同的氧化还原剂处理后的Ratio图，有的颜色变蓝，有的基本没变。可看出不同的氧化还原剂处理细胞后，细胞内pH值有的发生变化，有的没发生变化。这样我们就可以很清楚地用Ratio图颜色的变化来判断pH值的变化。

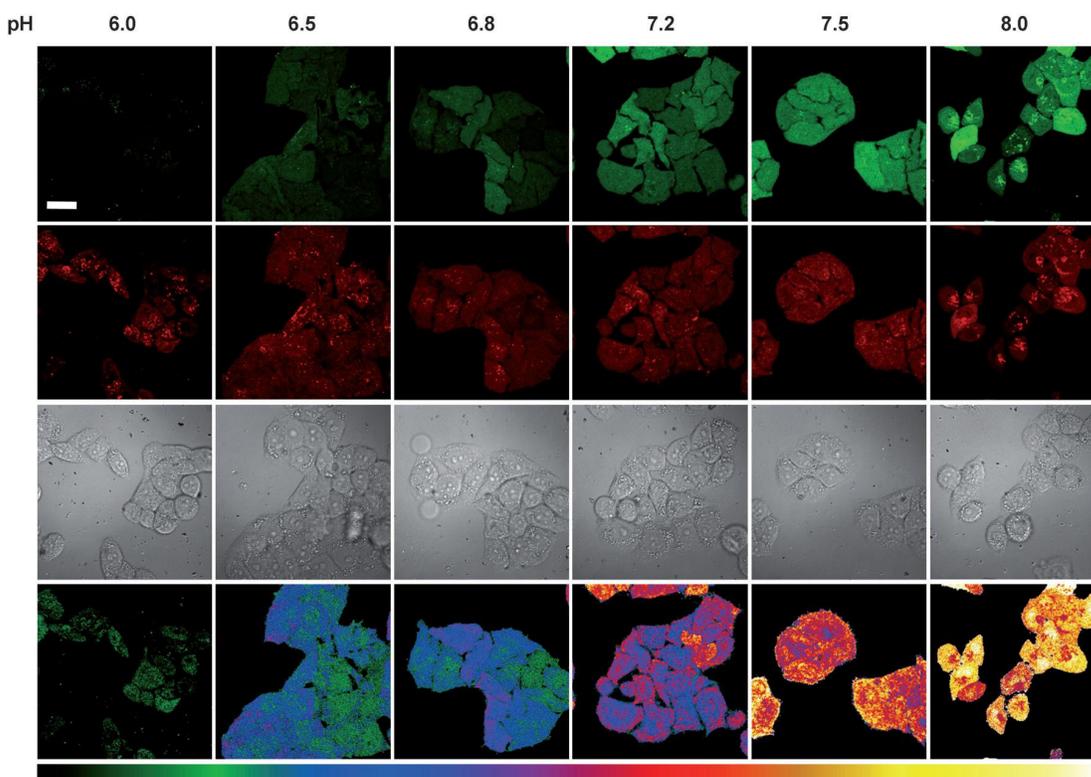


Fig.1 Fluorescent images of HeLa cells clamped at pH 6.0, 6.5, 6.8, 7.2, 7.5, and 8.0, respectively. The images of the first row (FITC channel) and second row (RBITC channel) were collected in the ranges of 510–550 nm and 570–610 nm, respectively. The third row shows the corresponding differential interference contrast images. The images of the fourth row (the Ratio channel) were generated by Olympus software (FV10-ASW); the bottom color strip represents the pseudocolor change with pH. Scale bar, 20 μm .

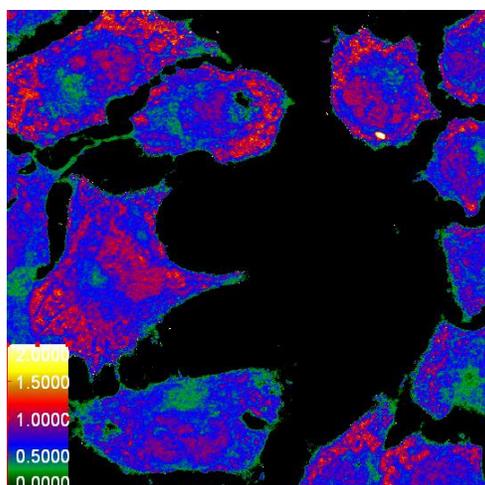


Fig.2 Ratio channel, different color represents different Ratio value. Green indicates lower Ratio value, yellow indicates higher Ratio value.

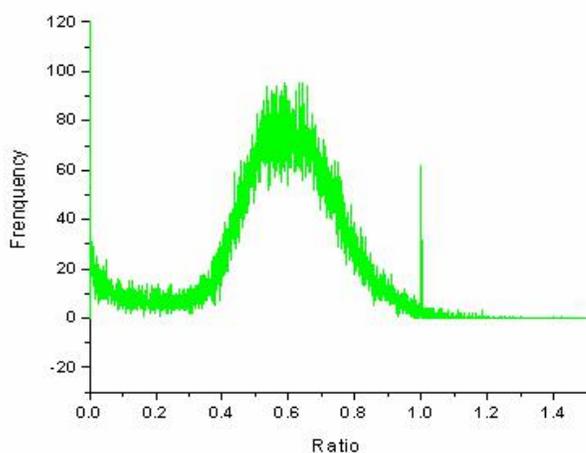


Fig.3. The relationship between ratio value and pixel number. The pixel number at every ratio value can be obtained.

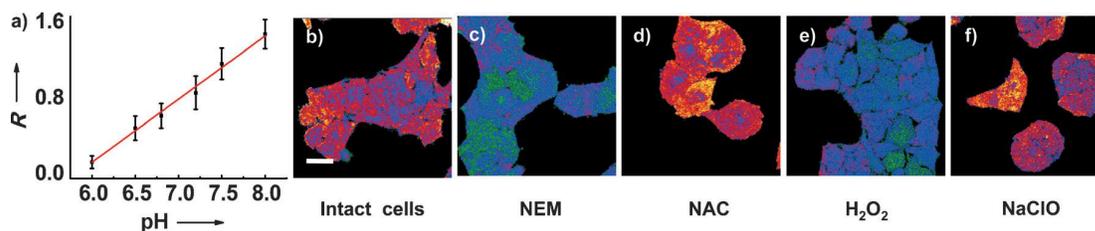


Fig.4 a) Intracellular pH calibration curve of DLCDs. R indicates the pseudo Ratio generated by Olympus software (FV10-ASW). b) - f) Ratiometric images of DLCd-loaded HeLa cells in PBS (pH 7.4): b) intact cells, and cells treated with c) 1 mM NEM, d) 1 mM NAC, e) 100 mM H₂O₂, or

f) 100 mm NaClO for 1 h. Scale bar: 20 mm.

参考文献: Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 6432-6435

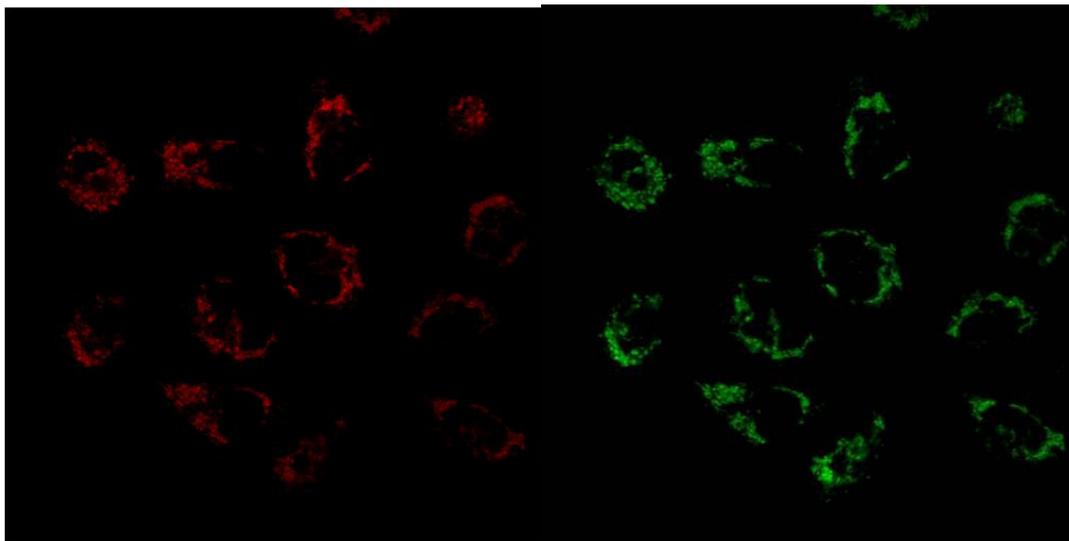
三、共聚焦图像的共定位分析

共定位，在生物表述上是这样定义的：两个或多个不同的分子位于样品上同一个物理位置。对显微镜中看到的组织切片、单个细胞或亚细胞器官，共定位意味着不同的分子连接到同一个受体上；在数字图像方面，这个术语指的是不同荧光分子发射的颜色分享图像中的同一个像素。因此，在一个样品中两个荧光探针的共定位，比如发绿光的Alexa Fluor 488，发橘红色光的Cy3，在图像中就是由含有红色和绿色两者贡献的像素所示（经常产生各种各样的橘色和黄色）。

下面是具体的分析过程：



1. 击染料列表图标，选择两种染料，采集样品的荧光图像。
2. 打开样品双通道荧光图像。

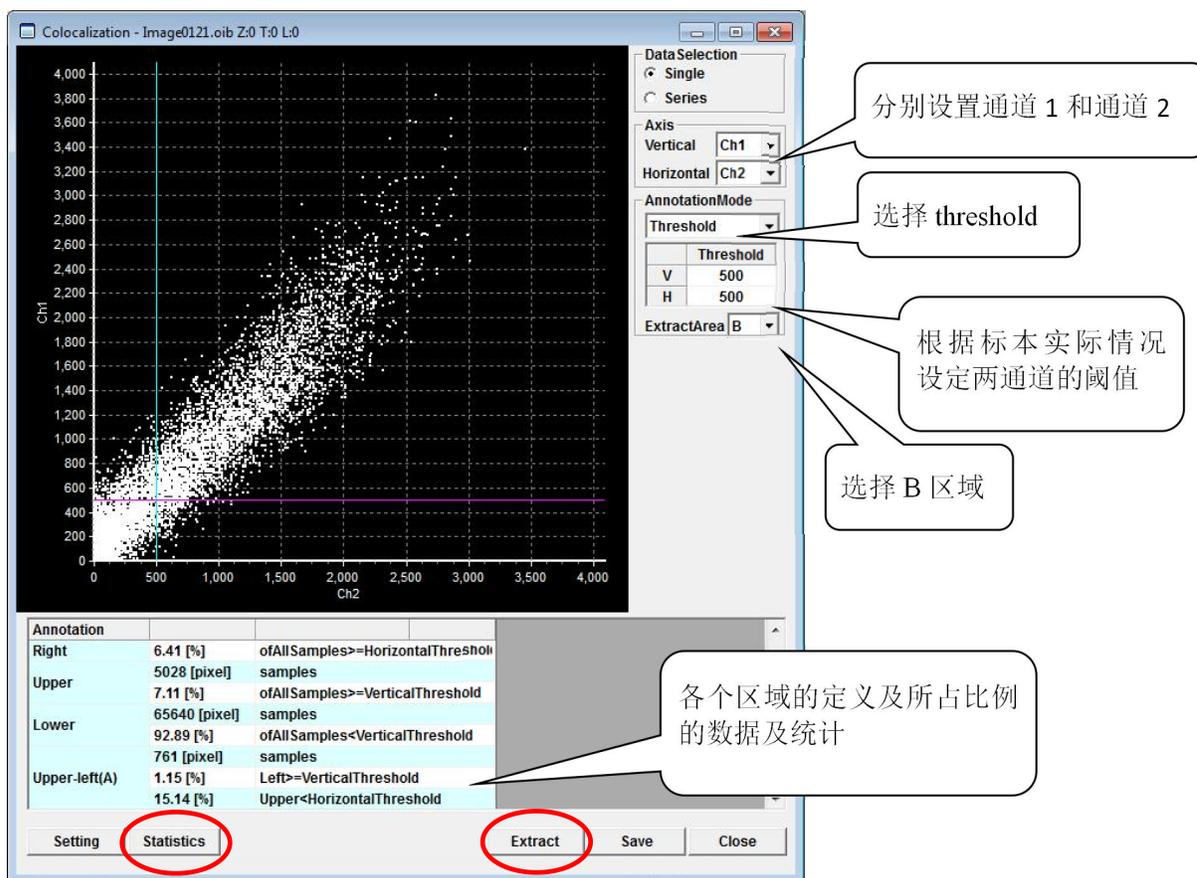


3. 点击下图中的共定位分析按钮。



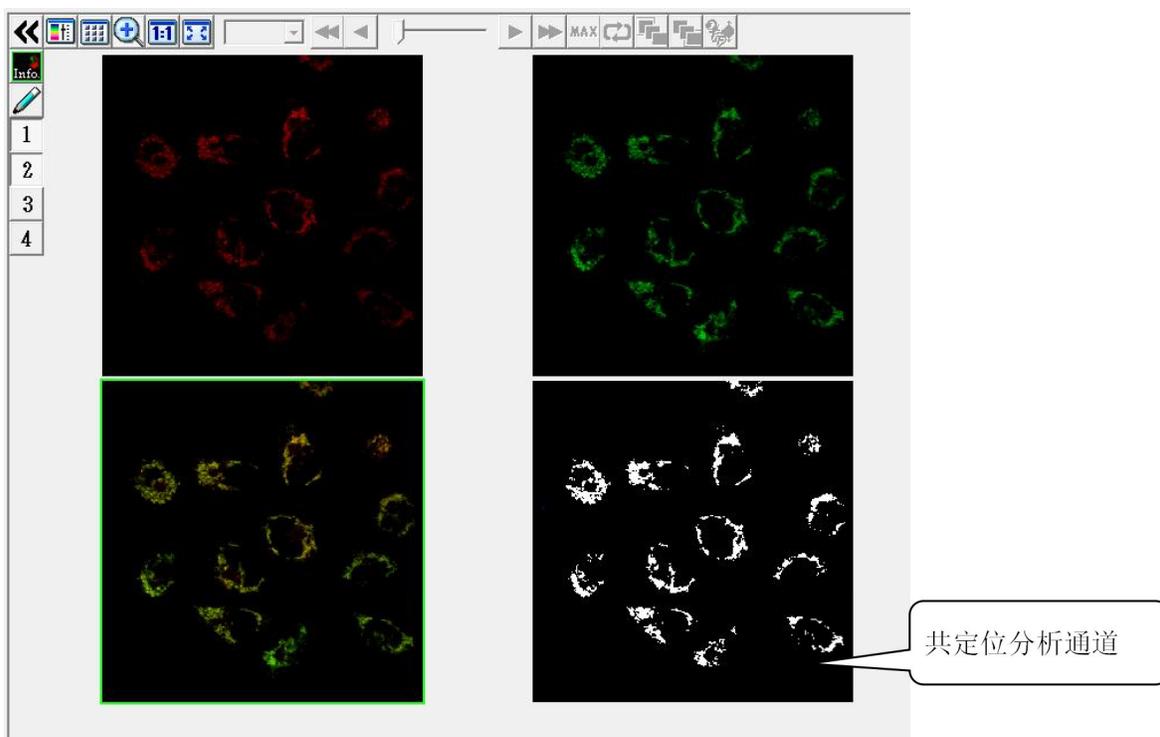
4. 弹出共定位分析窗口，对参数进行如下设置：

共定位分析常用散点图表示共定位的程度，散点图越接近对角线说明共定位程度越高。



阈值的设定：根据样品实际情况选择合适的阈值，阈值的设定要排除背景信号。

5. 点击上图 Extract 后，获得如下共聚焦图，图中第四通道为共定位分析通道，其中三通道中黄色和橙色区域及四通道中的白色区域均表示共定位的位置，共定位图像可以通过右击→save display 保存；



6. 数据分析：点击上图红色标注的“statistics”按钮，出现下列数据。

| Correlation Statistics | | | | | | | |
|------------------------|-----------------|------------------|---------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|
| Statistics by Region | | | | | | | |
| ROI | Area (pixels^2) | Pearson's Coeff. | Overlap | Overlap Index 1 | Overlap Index 2 | Coloc. Index 1 | Coloc. Index 2 |
| 1 | 70668 | 0.96451 | 0.96689 | 1.0374 | 0.90118 | 0.97396 | 0.88202 |

Thresh. 200 Thresh. 200

Save Close

Pearson's系数及Overlap系数通常用于分析共定位程度，数值越接近1，说明图像共定位程度越好。

第五部分、仪器使用安全及测试注意事项

仪器一、激光扫描共聚焦显微镜及荧光显微镜

1. 每次切换物镜时务必先将其落至最低位置，每次实验结束后，务必将物镜落至最低位置，然后切换到4倍物镜处。
2. 实验完毕后将汞灯手动光闸关闭，即由空心圈转至实心圈，使用时开机后再将其打开。
3. 调节焦距时，注意微粗调的转换，并且注意观察显示器操作界面上焦距的数值，防止物镜调得过高压碎样品，损伤物镜镜头。一般样品焦平面在正负1000 μm 以内。
4. 用镜头液擦拭镜头时，向同一个方向擦拭，不要来回擦，用力要轻。

仪器二、稳态瞬态荧光光谱仪

1. 做IRF之前，务必先将衰减片调到最小（荧光寿命）或者将Iris调到最小（磷光寿命），再盖样品舱盖；
2. 做稳态光谱时，对于未知样品务必先将激发和发射 $\Delta\lambda$ 先设为0.1以下，再盖样品舱盖；
3. 对未知样品，如不知道最大发射峰，发射光子数尽量少些，比如几千、几万即可，以防在最大发射处光子数超过100万，损坏PMT.
4. 做固体样品或浓溶液的发射光谱时，为了降低杂散光，激发处加带通滤光片，滤光片范围要包括激发波长，发射处加截止滤光片。
5. 做近红外发射光谱时（900-1700nm），须提前两个小时对检测器用液氮制冷，以降低红外检测噪音。
6. 做变温实验（77K-300K）和近红外实验时，自备液氮，约5L左右。

仪器三、显微共焦激光拉曼光谱仪

1. 激光功率由小到大逐渐调节，以防烧坏样品；
2. 调焦找样品时，先在10倍物镜下粗调聚焦样品，然后换高倍物镜微调找样品；
3. 换样品时，先切换到10X镜头下，抬高镜头再取放样品；
4. 实验完成后，镜头需放在10X镜头下；

5.100X和74X镜头工作距离短，距离样品很近，需特别注意其安全。

仪器四、紫外可见分光光度计

- 1.玻璃在紫外区有吸收，因此测定样品在紫外区的吸收时应使用石英比色皿。
- 2.液体体积以比色皿的2/3为宜，使用挥发性溶剂时应盖住比色皿。
- 3.做标准曲线时，要按浓度由小到大的顺序测定，用待测溶液多次润洗比色皿，以免改变待测溶液浓度导致测量不准确。
- 4.测定固体样品时，样品粒径要尽量小，降低其散射光，也便于涂抹在硫酸钡白板上，涂抹后的表面要光滑平整。
- 5.样品涂抹的量不能过多或过少，以反射率不小于20%为宜；样品过多则吸光太多，检测到的反射光通量太少，样品过少则吸光太少，样品的反射率随波长差异太小，信噪比差。

仪器五、圆二色光谱仪

1. 氙灯有石英外壳，如在空气中操作，高温会产生大量臭氧，对光学镜组产生损害，因此需用氮气对光路进行吹扫；当光波长低于 195nm 时，空气中氧气会吸收辐射，因此对氮气流量有以下要求：

| | |
|-----------|------------|
| 测量到 200nm | 3-5L/min |
| 测量到 185nm | 5-15L/min |
| 测量到 180nm | 15-20L/min |
| 低于 180nm | 大于 20L/min |

2. 测量时，比色皿需盖好盖子，以免溶剂挥发污染样品仓。

仪器六、傅里叶红外光谱仪

1. 样品纯度应大于 98%，或者符合商业规格，这样才便于与纯化合物的标准光谱或商业光谱进行对照，多组份试样应预先用分馏、萃取、重结晶或色谱法进行分离提纯，否则各组份光谱互相重叠，难以解析。
2. 样品不应含水（结晶水或游离水），水有红外吸收，与羟基峰干扰，而且会侵蚀吸收池的盐窗，所用试样应当经过干燥处理。
3. 样品浓度和厚度要适当使最强吸收透光度在 10~20%之间。

4. 可做液体或糊状物的原位红外光谱 ($600-4000\text{cm}^{-1}$), pH 值要求 5-9 之间, 事先准备 1L 左右液氮, 并提前电话联系。

第六部分、常见问题及解决

仪器一、FV1000 激光扫描共聚焦显微镜

1. 激光共聚焦DIC通道的光源是什么?

DIC通道的光源是激光, 用的是透射光检测装置, 只有透光的样品才可看到。

2. 荧光和白光是反射光还是透射光?

用汞灯和激光激发发射的荧光都是反射光, 卤素灯照明看到的光是透射光, 不透明物体, 卤素灯看不到。

3. 共聚焦荧光通道的颜色是实际颜色吗?

不是, 是伪彩色, 光电倍增管只检测强度信息, 不检测颜色信息。颜色可以随意更改。不过可通过发射波长的范围, 判断大概为什么颜色。

4. 彩色CCD看到的是实际颜色吗?

是实际颜色, 用RGB进行了还原, 但显示器显示颜色与目镜中看到的稍有差异。

5. 激光激发肯定比汞灯激发荧光强吗?

不一定, 首先激光是单色光, 如488nm, 而汞灯下, 有一定宽度的波长范围, 如470-495nm, 激发波长不一样, 得到图片的效果不一样; 其次, 激光下采集荧光用共聚焦模式, 样品层切得比较薄, 而汞灯下用普通模式采集图片, 样品层切得比较厚。因此看弱荧光, 经常是激光不如汞灯下看得更好。

6. 共聚焦拍照与普通荧光显微镜拍照有什么不同?

共聚焦用激光做光源, 光电倍增管做检测器, 逐点扫描, 对应每个像素其能量比较高; 普通荧光显微镜用汞灯做光源, 汞灯虽然总功率高, 但属于场照明, 对应每个像素的能量不一定有激光高。共聚焦有针孔, 可以排除焦平面上焦点以外及非焦平面杂散光的影响, 因此空间分辨率提高, 但因为是逐点扫描, 采集较慢, 一张图每个像素并不是同一时间采集的, 时间分辨率不高; CCD拍照每个像素点为同一时间信息。

7.显微镜最重要的部件是什么？

是物镜，物镜数值孔径 (N.A.) 越大，其分辨率越高。普通光镜 ΔR (分辨率) = $0.61 \lambda / N.A.$ ；共聚焦 $\Delta R = 0.51 \lambda / N.A.$ ， λ 为激发光波长。相同倍数的物镜，其 N.A. 值越大，荧光透过的越多，与 N.A. 平方成正比；N.A. 值越大，焦深越小，也就是看到的样品层越薄。

8.放大倍率怎么计算？

如果从目镜观察，观察倍率(M) = 物镜倍率 X 目镜倍率。

显示器观察，视频系统 (M) = (显示器对角线/CCD对角线) X 接口倍率 X 物镜倍率。

共聚焦图片的放大倍率，与像素分辨率、每个像素的大小、及图像的实际大小相关。

$M = \text{图像的实际大小} / (\text{像素分辨率} \times \text{每个像素的大小})$ 。

9.为什么油镜比干镜分辨率高？

倒置的荧光显微镜，对干镜，激光透过物镜进入盖玻片，在物镜和盖玻片之间会有空气，激光从物镜进入空气，也就是从光密介质进入光疏介质，光会偏离法线，使得光斑变大，分辨率降低；对于油镜，浸油的折射率与玻璃、物镜一样，因此激光从物镜进入浸油到达盖玻片，光斑大小基本不变，因此用油镜分辨率要高。

仪器二、FLS980 稳态瞬态荧光光谱仪

1.对于固体样品或浓溶液如何加滤光片？

做固体样品或浓溶液的发射光谱时,为了降低杂散光，激发处加带通滤光片，滤光片范围要包括激发波长，带宽越窄越好；发射处加截止滤光片，一般比激发波长长20nm以上，比如320nm激发加340nm以上的滤光片，收集的发射波长范围，从截止滤光片加20nm开始，比如加340nm截止滤光片，从360nm开始收集发射波长。

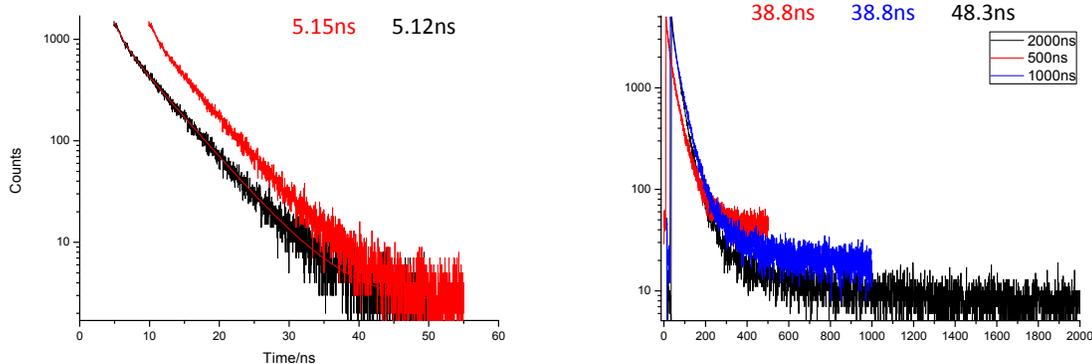
2.激发、发射带宽如何设置？

激发、发射带宽最大可设置为20nm。一般来说激发、发射带宽越大，收集的荧光信号越强，但杂散光也越强。尤其对于发射带宽，要尽量小，以避免杂散光

影响，一般要小于激发带宽。

3.寿命曲线拟合得到的寿命与脉冲光触发延迟时间有关吗？

没有关系，只是相当于整个寿命曲线在横坐标上平移而已。但寿命曲线必须衰减结束，才可以得到正确的寿命值，如寿命曲线一直在单调下降，则没有衰减结束，拟合得到的寿命偏短。



4.为什么要做 IRF?

使用EPL皮秒脉冲激光器，寿命低于5ns须做IRF；使用微秒闪光灯，寿命低于10 μ s须做IRF. IRF (instrument response function) 就是样品把激发光散射到检测器需要的时间函数，因为光源有一定的脉冲宽度、检测器对光子有一定的响应时间，还有计时抖动等。如寿命很短，需要把这部分时间通过去卷积的方式扣除。

5.相对量子产率和绝对量子产率区别？

相对量子产率用普通荧光光谱仪可以测定，但仅限于液体，而且需要有已知量子产率的标准物（与待测样品光谱相似）；绝对量子产率直接通过光致发光光子数除以样品吸收的光子数得到，不限样品类型，固体、液体，薄膜都可以，不需要繁冗的测量，测量更加准确。

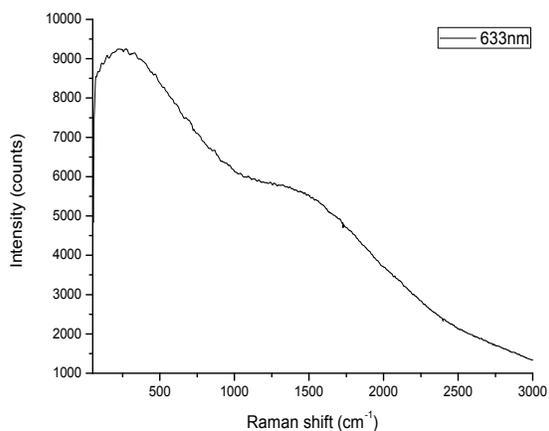
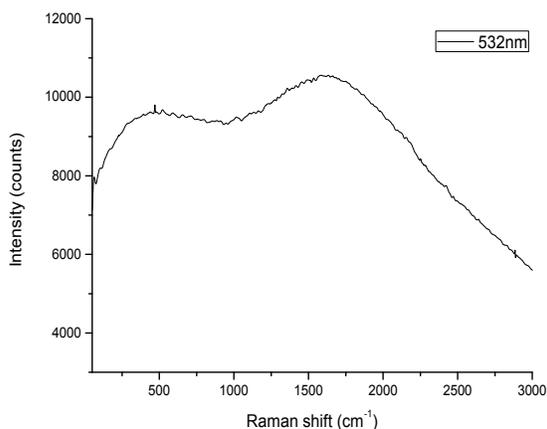
6.校正文件如何使用？

PMT检测器对各个波长光响应不同，各个光学组件包括光栅、透镜等对各个波长光透过率不同，做发射光谱时，需加发射校正文件对检测器及整个光路进行校正；但在检测器响应范围两端，校正文件的使用要谨慎；因氙灯在各个波长下能量不同，因此做激发光谱时，需加参比检测器校正以便对氙灯能量实时校正。

仪器三、显微共焦激光拉曼光谱仪

1. 如何选择激发波长?

光谱实验室的显微共焦激光拉曼光谱仪配有4个激发波长，325nm、532nm、633nm、785nm。拉曼散射强度与激光波长的四次方成反比，波长越长拉曼散射光越弱。一般样品用532nm激光即可，但如果532nm激光激发样品荧光很强，埋没了拉曼峰；可改变激发波长为633nm和785nm。原因是激发波长改变后，拉曼峰位置不变，荧光峰位置会发生变化（横坐标为Raman shift）。但785nm激发拉曼信号经常较弱。325nm激发波长虽短，但其拉曼信号却较弱，主要原因是325nm激光波长短，穿透样品的深度很浅，激光与样品作用的量就很少，因此拉曼信号就较弱。对单晶硅来说，532nm的穿透深度约800nm，但325nm穿透深度仅约10nm左右。激光穿透样品的深度与激发波长与样品的吸光系数有关。但325nm波长在规避荧光方面非常有优势，拉曼光跟激发光距离很近，对325nm，如拉曼散射范围200-4000 cm^{-1} (Raman shift)，实际波长范围327-373nm。因为荧光经常在可见光范围，因此使用325nm激光，荧光一般不会影响拉曼。但需要样品拉曼信号要强，而且对325nm激光的稳定性要好。因325nm激光穿透深度比较浅，特别适合分析核壳结构样品。



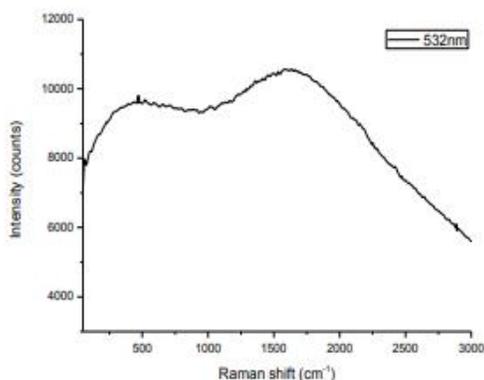


图 1.1 532nm 激发, 50X 物镜

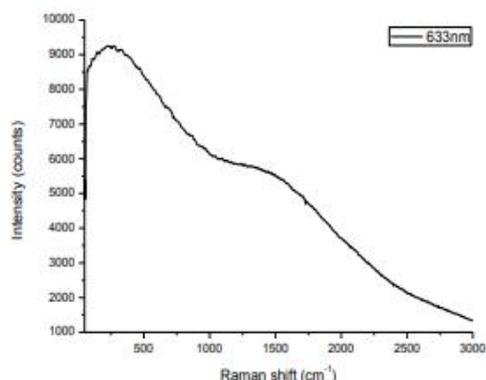


图 1.2 633nm 激发, 50X 物镜

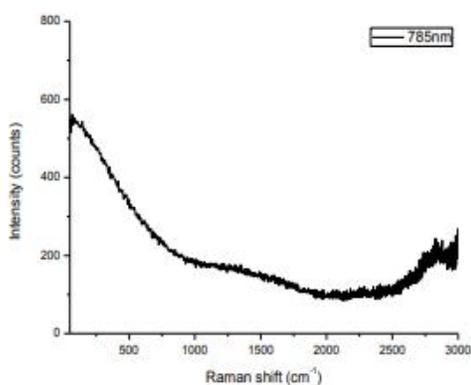


图 1.3 785nm 激发, 50X 物镜

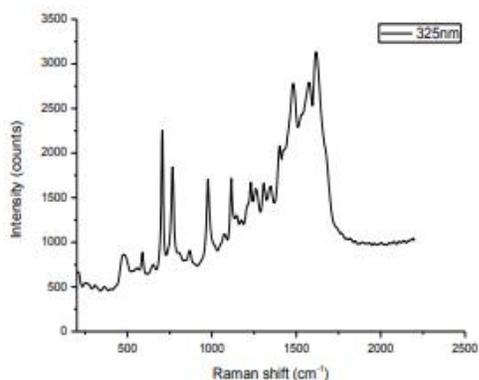


图 1.4 325nm 激光激发, 74X 物镜

样品C3N4在532nm, 633nm, 785nm激发都有荧光干扰, 无法检测到拉曼信号; 785nm满功率激发, 但信号依旧很弱; 325nm激发效果就很好, 显示出样品特征拉曼峰。

2. 如何选择物镜倍数?

同一激发波长, 物镜倍数越大, 光斑越小, 空间分辨率越高, 功率密度 (单位面积上的功率大小) 越大, 物镜收集信号角度越大, 因此拉曼信号越强、信噪比越好。但物镜倍数越大, 视野、景深越小, 样品表面的不平更为显著; 而且黑色样品在高倍物镜下光通量小, 不容易观察到样品, 还需视具体情况而定。

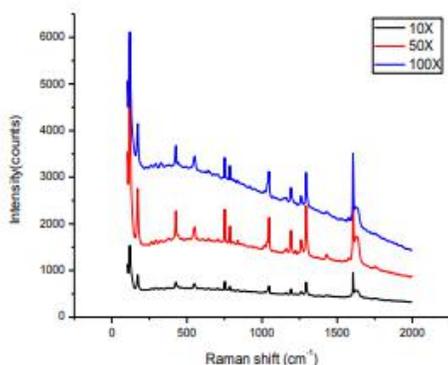


图 2.1 阿司匹林的拉曼谱图

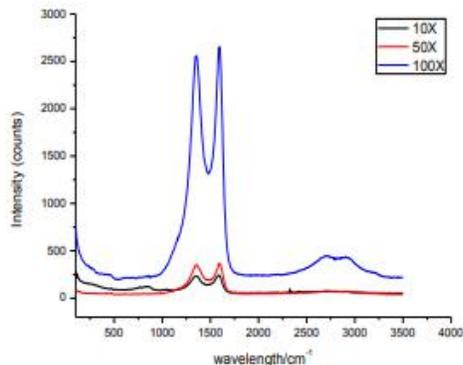


图 2.2 碳纤维的拉曼谱图

3.如何设置激光功率及采集时间？

拉曼散射的强度与入射光的电场强度 E^2 成正比。因此，强拉曼信号产生的关键是增大在样品上的电场强度，即激发光的功率密度。但在进行拉曼测试时，激光功率需从小到大调节。什么时候激光功率最优呢？逐渐增大功率，显微镜下样品没有被激光打坏，且拉曼谱图峰位、半峰宽、峰强比例等没有显著变化时，激光功率的最大值就是最优激发功率，需要反复实验。有时，激光功率增大后，显微镜下样品形态没有发生显著变化，但拉曼峰位、半峰宽、峰强比例发生明显变化，或者明显多出一些峰或少了一些峰，那样品实际上已经被打坏，必须降低激光功率和采集时间。

拉曼采集时间加长，拉曼信号会增强，但需费更长的时间。增加采集时间比增加功率对样品的损伤要小很多。

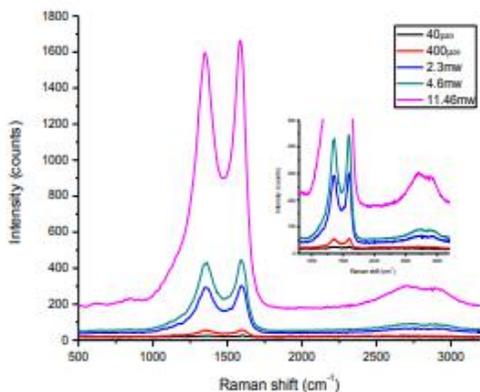


图 3.1 碳纤维在不同激光功率下的拉曼谱图

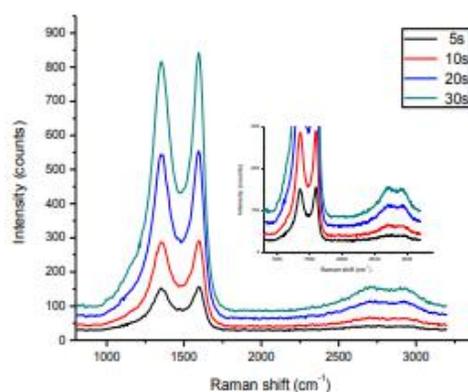
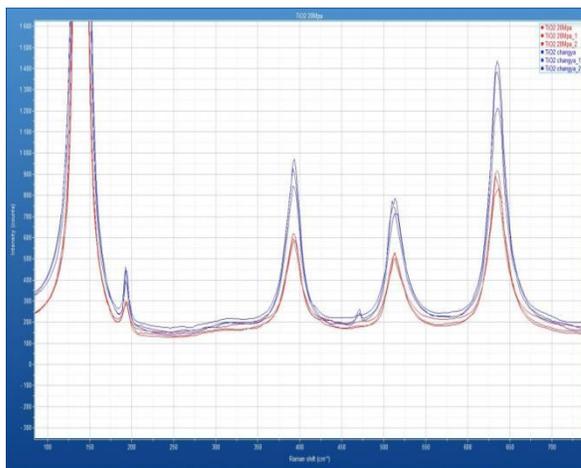


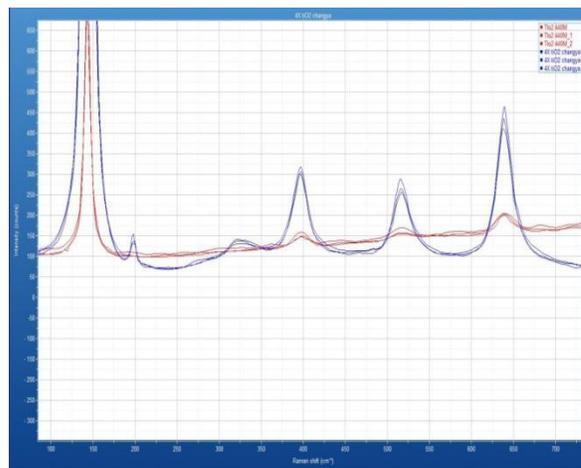
图 3.2 碳纤维在不同采集时间下的拉曼谱图

4.样品加压后对拉曼测试有影响吗？

拉曼测试一般不需要专门制备样品。样品经过加压后，拉曼峰强显著变弱，峰变宽。拉曼峰变宽原因是：加压后粒子碰撞加剧，碰撞加大了粒子的跃迁概率，这等价于粒子寿命 Δt 的缩短和能级宽度 ΔE 的展宽（依据测不准原理），从而使光谱线出现了压力展宽。拉曼谱图变宽的程度跟压力大小有关，当压力非常大，有上万个大气压时，拉曼峰会消失。



20MPa 和常压比较，532nm



440MPa 和常压比较，532nm

图 4.1 TiO₂ 样品在常压和加压下的拉曼谱图比较，红色为高压，蓝色为常压样品来自宋延林老师组。

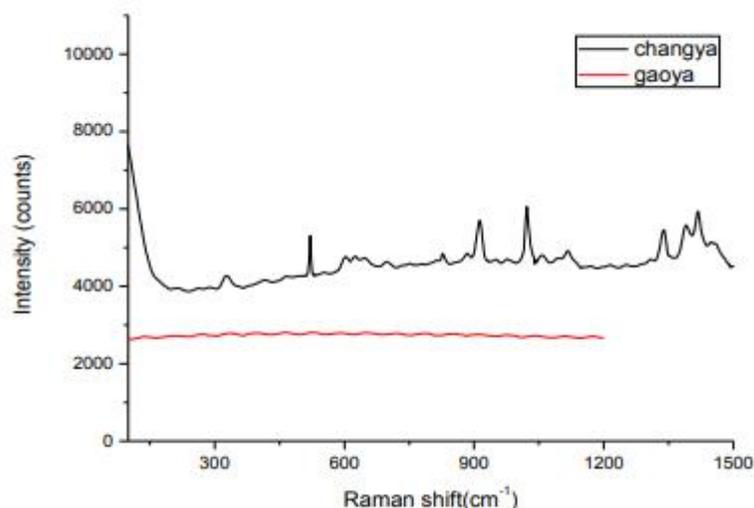


图 4.2 离子液体在常压和高压下的拉曼谱图比较 633nm 激光激发，黑色为常压，红色为高压，高压约 10 万个大气压，样品来自张军老师组。

仪器四、UV2600 紫外可见分光光度计常见问题

1. UV2600 测试波长范围是什么？

普通测试 190-900 nm，积分球测试220-1400 nm。

2. 吸光度最大可做到多少？

最大5 Abs。

3. 可以测量光学带隙和雾度吗？

可以，光学带隙可直接通过紫外可见吸收光谱得到；雾度可通过设置积分球光路测得。

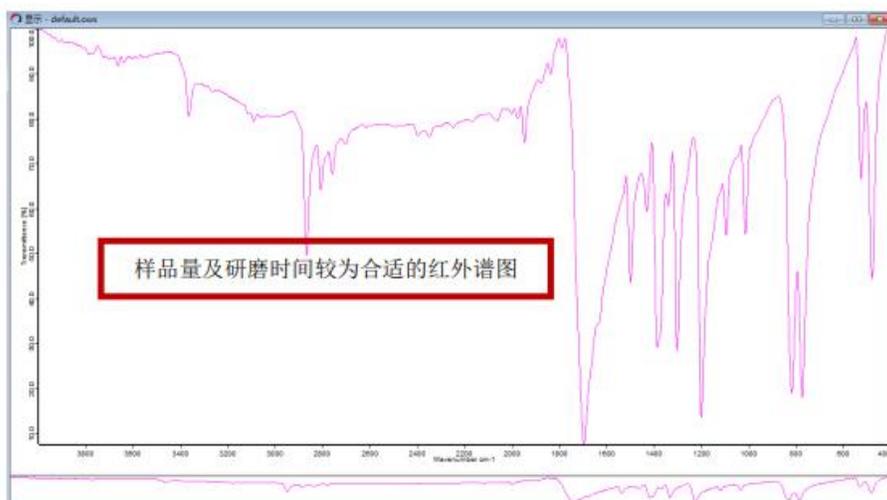
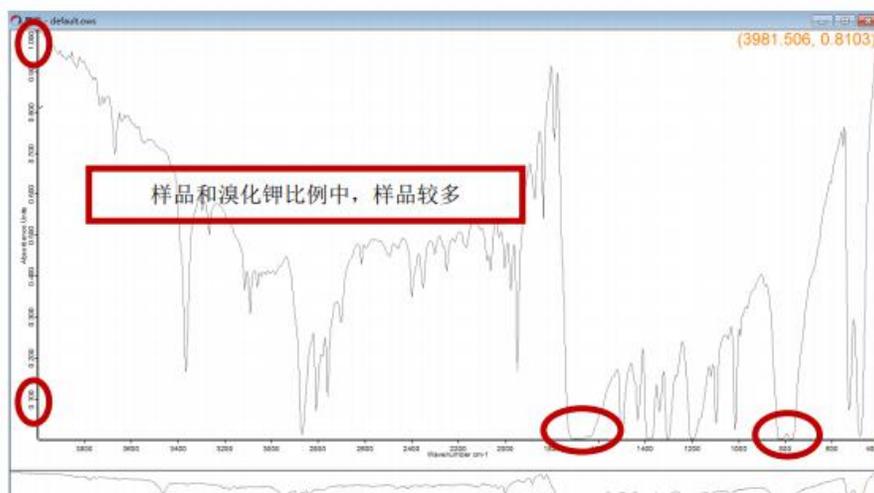
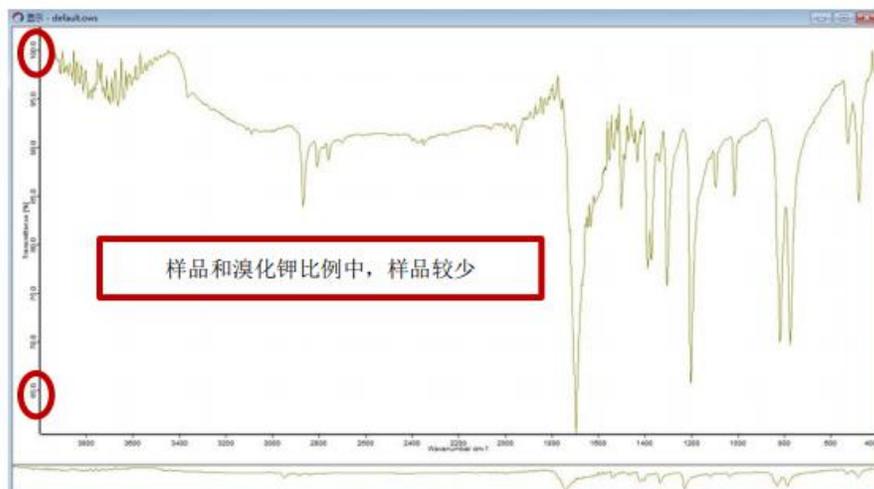
4. 可以测定固体粉末的吸光度吗？

可以，通过紫外积分球附件可以测试固体粉末、块体、薄膜等的反射率，然后可转换为吸收或透射谱图。

仪器五、傅立叶红外光谱仪

1. 一般红外透过率多大比较合适？

透射图中一般最大峰强度在10%-20%之间，如小于10%,表明透过率太低，样品太多；如大于20%,表明透过率较高，样品较少。



2. 颗粒度大小会影响红外谱图质量吗？

红外样品研磨中，粒度要小于2微米，以降低散射光影响，粒度越小散射越弱，红外基线越平，信噪比越高；研磨时间不够，使得颗粒度较大，信噪比差。

3. KBr 盐片和 CaF₂盐片有什么作用？

做流体类样品时，可将液体或糊状物直接涂在KBr盐片或CaF₂盐片上，水和醇类会溶解KBr盐片，不能涂抹在KBr盐片，可以涂在CaF₂盐片上；使用KBr盐片，光谱范围400-4000cm⁻¹，CaF₂盐片光谱范围1000-4000 cm⁻¹。

第六部分、光谱组管理规章

（一）人员管理

（1）工作人员遵循在岗制度，自觉遵守统一的作息时间，按时上下班、不迟到、不早退，不擅离岗位，认真履行各自的岗位职责。具体内容可参考化学所《严格职工考勤制度的若干规定》。

（2）测试人员操作仪器必须穿工作服，实验室内要保持卫生清洁，仪器周围不乱放杂物。

（3）测试人员在实验过程中不可擅离仪器，不可大声交谈或看手机视频。

（4）为了确保分析结果的准确性和保证仪器的稳定性，工作人员必须定期校准和维护好仪器，并做好仪器维护和保养记录。

（5）实验完毕，及时清理实验台和实验用具；离开实验室前，尤其节假日应认真检查水、电、气和正在使用的仪器设备，关好门窗、确认电器设备安全后方可离去。

（6）实验室应井然有序，物品摆放整齐、合理，并有固定位置。禁止在实验室内吸烟、进餐、会客、喧哗，或作为娱乐场所，不得存放无关个人用品、仪器等。

（7）作为直接面向师生测试服务的窗口部门，应树立良好的精神面貌，主动了解前沿科技，加强专业领域知识学习，进一步提升专业技术、测试技能和服务支撑能力。上班期间，严禁工作人员玩手机、玩游戏及利用微信、QQ等通讯工具从事与工作无关的内容。

(8) 无论哪位工作人员，如果“接私活”情况属实，不管金额大小，劝退处理；如果情况严重，根据化学所相关管理规定，直接开除。

(二) 仪器管理

(1) 仪器实施AB岗负责制度，一人主管一人协管，如果主管人请假，协管人负责该仪器的正常测试。

(2) 参考《良好实验室规范》，建立每台仪器的档案，并备有样品制备、上机操作方法、数据处理、样品测试注意事项等实施细则。

(3) 所有仪器不得随意搬动、拆卸和改装，仪器设备未经同意，不得外借。

(4) 仪器设备及房间应保持清洁卫生，所有仪器设备应做到定期检查、维护保养，并详细记录。

(5) 建立完善的培训考核制度，并严格按照仪器操作规程进行；操作人员必须经工作人员严格考核并授权后，方可在非工作时间独立操作仪器。

(6) 设备维修，应建立详细维修台账，记录内容应包括维修日期、仪器维修故障、维修申请、更换配件费用、工程师工时费用和维修后效果等资料，同时把报销发票及合同复印保存（电子版也可以）。

(7) 考虑到电脑存储容量，每台仪器测试数据可保存2年；实验数据测试人员要及时拷贝。

(8) 非工作时间，仪器仅对具有操作资格的人员开放。如果实验过程中遇到仪器故障，为确保仪器的安全，请实验室人员立即停止实验，并将仪器使用情况及时反映给工作人员。

(三) 预约及培训服务管理

光谱组仪器必须通过网上进行预约。

在中国科学院仪器设备共享管理平台进行网上预约 (<http://samp.cas.cn>)，预约时请选择测试仪器、测试项目、样品个数、测试时间、测试人员及导师姓名，联系方式（手机号）。预约完成后才可以上机测试。

取消预约需提前一天在网上申请，否则按照正常测试收费。对于不遵守实验室相关规定的师生，中心有权拒绝其样品测试。

仪器负责人需例行检查仪器运行状态，如发现问题导致设备不能正常测试服

务，应第一时间通知预约人，并在中心网站或实验室贴出通知。

光谱组仪器实行集中培训、一对一培训和视频培训相结合的方式。

(1) 待培训的操作人员，有责任和义务告知其导师，填写分析测试中心制订的相关表格和承诺书等；导师有责任和义务配合中心实验室的各项管理制度。

(2) 待培训的操作人员，需服从工作人员的培训要求和考核安排，需遵守中心实验室的各项规章制度和安全须知，若有违规，将直接取消其培训资格。

(3) 完成培训的操作人员必须按照具体仪器的操作规程进行操作，对仪器使用过程中出现的异常问题进行详细记录。

光电子能谱组

第一部分、样品制备

一、样品种类

固体样品，包括：有机材料、聚合物材料、无机材料、纳米材料、金属、半导体、陶瓷、纤维、生物材料等。

二、样品形态

包括：粉末、晶体、薄膜、块体、纤维以及某些液态（如离子液体）/凝胶（如量子点）样品。

三、样品要求

基本要求：表面尽量平整，充分干燥，无强磁性，无结晶水，无挥发(升华)性，无放射性，非易燃易爆品。

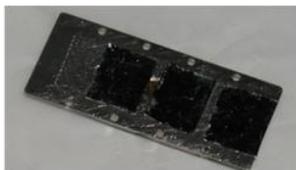
1. 粉末样品必须压片处理；

2. 对于不同类型的功能测试（如小面积XPS、双阳极、UPS/深度剖析等），样品需按相应的要求制成合适的尺寸；

SRXPS, $\sim 3 \times 3 \text{mm}^2$



双阳极, $\sim 10 \times 10 \text{mm}^2$



UPS/深度剖析, $\sim 10 \times 10 \text{mm}^2$



3. 对于具有特殊性质或需要进行特殊前处理的材料，在测试前需明确告知样品相关信息。

四、XPS 粉末样品压片制样步骤

1. 制样要求

- 1) 样品用量， $\sim 10 \text{mg}$ ；
- 2) 样品尽量新鲜制备，送样前充分干燥；
- 3) 大颗粒粉末尽量研细；

2. 压片所需工具和设备



3. 制样前的准备

- 1) 制样前戴上口罩与手套，避免人为引入污染；
- 2) 利用浸有无水乙醇的无尘纸或者棉球将所用工具擦拭干净，尽量减少共用工具引入的污染。



4. 压片应注意的问题

- 1) 粉末样品压片前要预先干燥，利用镊子或药勺末端轻敲试样瓶（尽量减少由于取样带来的污染）。



2) 样品要均匀全覆盖双面胶带，且样品厚度尽量薄一些（一般以看不到透明胶带为准）。压片后，样品表面吹扫，除去未粘贴牢固的粉末。



第二部分、上机操作

注：XPS 仪器因设备的特殊性及其复杂性目前不开放上机操作，所有测试均由实验室工作人员完成。

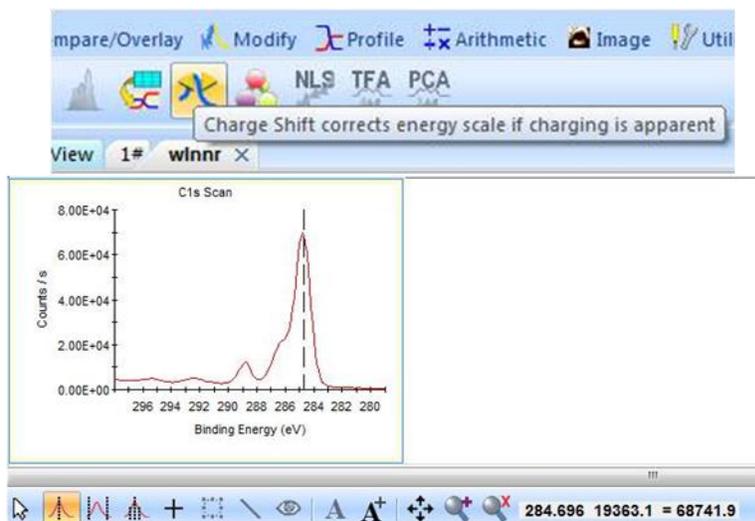
第三部分、数据处理

一、XPS 数据处理

1. 荷电校准



通常采用sp³碳的C1s（284.8eV）进行校准。



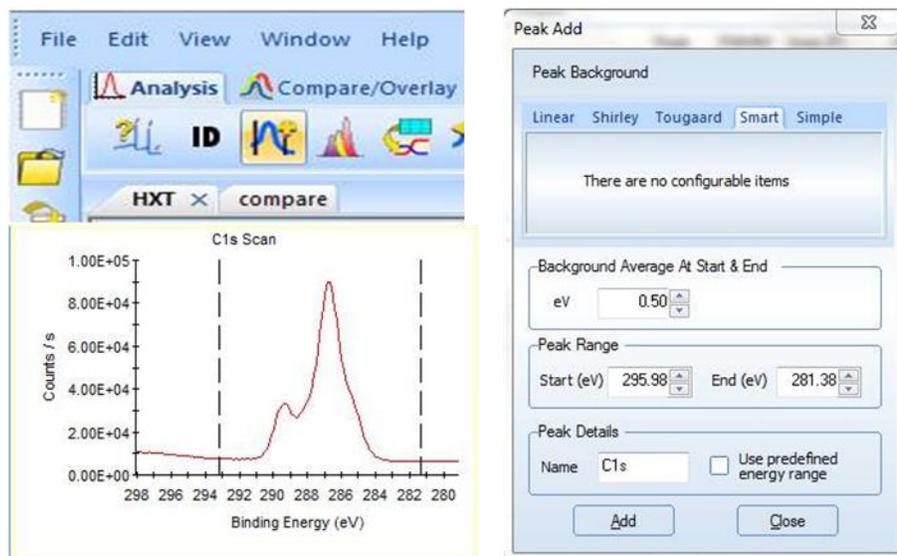
注意：

- 1) 若样品属于类石墨结构，应以sp²碳的C1s结合能284.4eV进行荷电校准；
- 2) 其他特殊结构材料（如C₃N₄、SiC、全氟有机物等）按实际化学结构进行荷电校准。

2. 加峰定量



通过确定积分峰面积得到所测元素的相对摩尔百分含量。



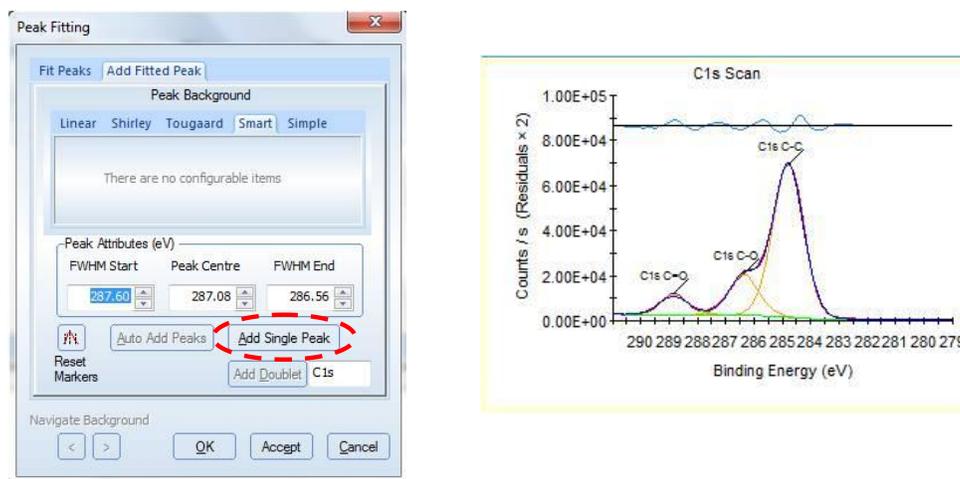
❖ 扣本底的范围通常选择元素两侧较平缓区域。

3. 分峰拟合

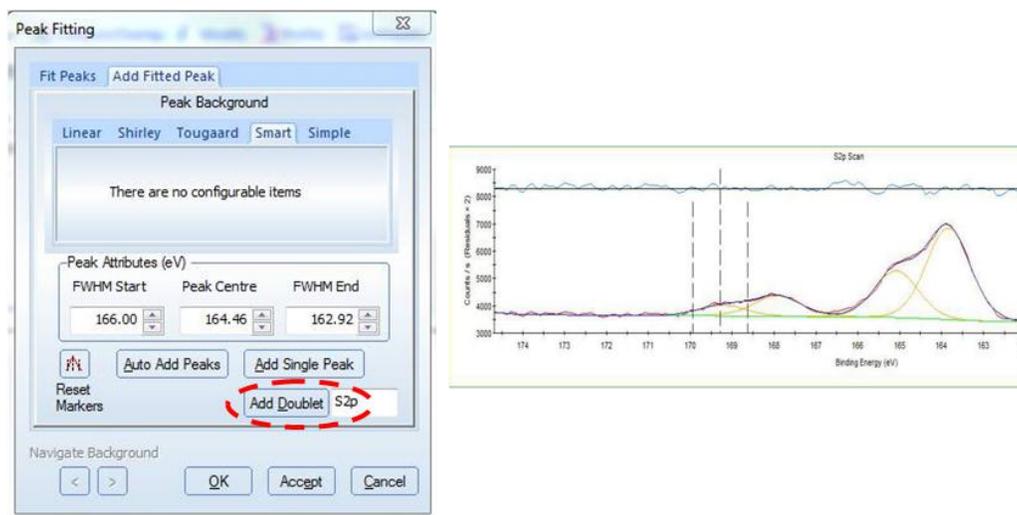


对元素不同化学态定量。注意：加峰必须符合材料实际的物理意义。

1) 加单峰（通常对于s轨道激发的光电子峰）。



2) 加双峰（通常对于p/d/f轨道激发的光电子峰）。



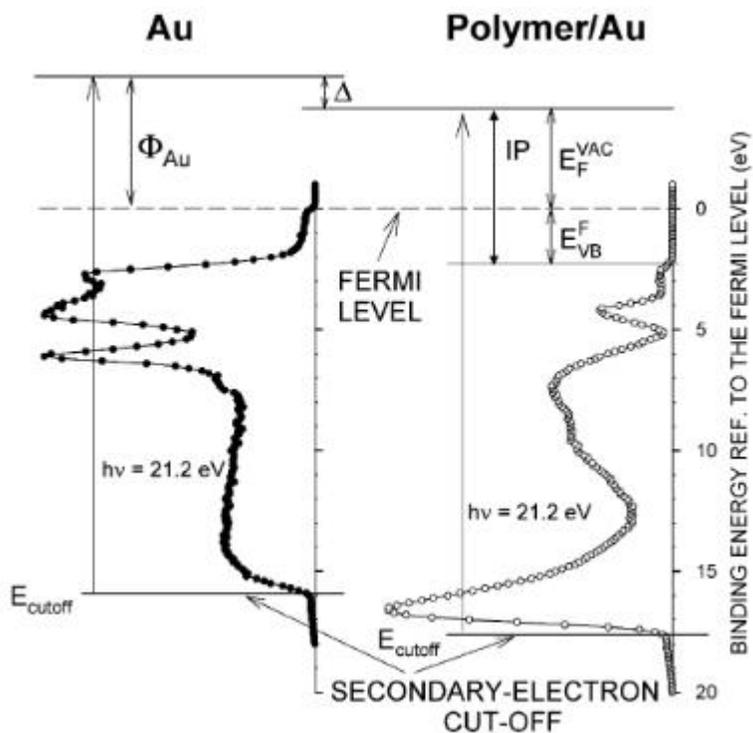
3) 峰拟合 (指认多种化学态及相对定量)。

| Ref. | Name | Peak BE | Height CPS | Height Ratio | Area CPS.eV | Area Ratio | FWHM fit param (eV) | L/G Mix (%) Product | Tail Mix (%) | Tail Height (%) | Tail Exponent |
|------|--------------|---------------|------------|--------------|-------------|------------|---------------------|---------------------|--------------|-----------------|---------------|
| A | S2p3 Sulfide | 163.84 | 3357.92 | 1.00 | 4455.68 | 1.00 | 1.27 | 30.00 | 100.00 | 0.00 | 0.0000 |
| B | S2p1 Sulfide | 165.08 | 1715.26 | 0.51 | 2276.01 | 0.51 | 1.27 | 30.00 | 100.00 | 0.00 | 0.0000 |
| | | A+1.20 (±0.1) | A*0.511 | | | | A*1 | A*1 | A*1 | A*1 | A*1 |
| C | S2p3 Sulfate | 167.91 | 753.03 | 0.22 | 1078.53 | 0.24 | 1.37 | 30.00 | 100.00 | 0.00 | 0.0000 |
| D | S2p1 Sulfate | 169.21 | 384.66 | 0.11 | 550.93 | 0.12 | 1.37 | 30.00 | 100.00 | 0.00 | 0.0000 |
| | | C+1.20 (±0.1) | C*0.511 | | | | C*1 | C*1 | C*1 | C*1 | C*1 |

- ❖ 谱峰的峰位及相关性参考电子能谱手册或文献;
- ❖ 半高宽限定: 一般建议半高宽在 0.5:2.0 范围内, 且同一元素各化学态半高宽差距较小;
- ❖ L/G 比例建议在 10:50 范围内, 尽量高斯分布占的比例多一些;
- ❖ 拖尾参数一般默认参考值。如果对金属元素进行分峰, 可做适当调整。

二、UPS 数据处理

UPS 测试可以获得导体与半导体材料中有关电子以及能带结构的信息, 包括材料的逸出功 Φ 、价带顶 VBM 或 HOMO 能级的位置以及电离势 IP。

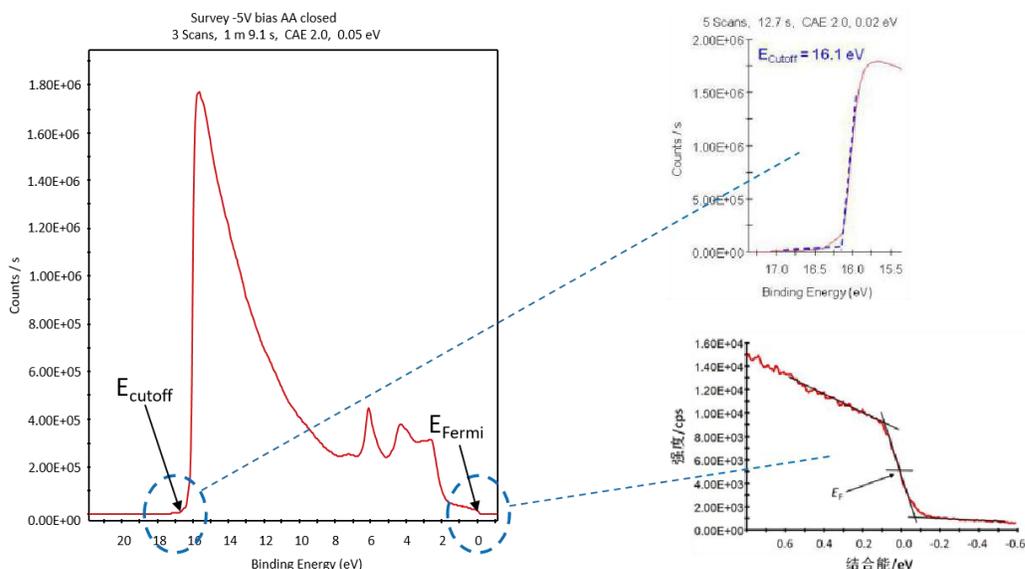


1. 材料的逸出功

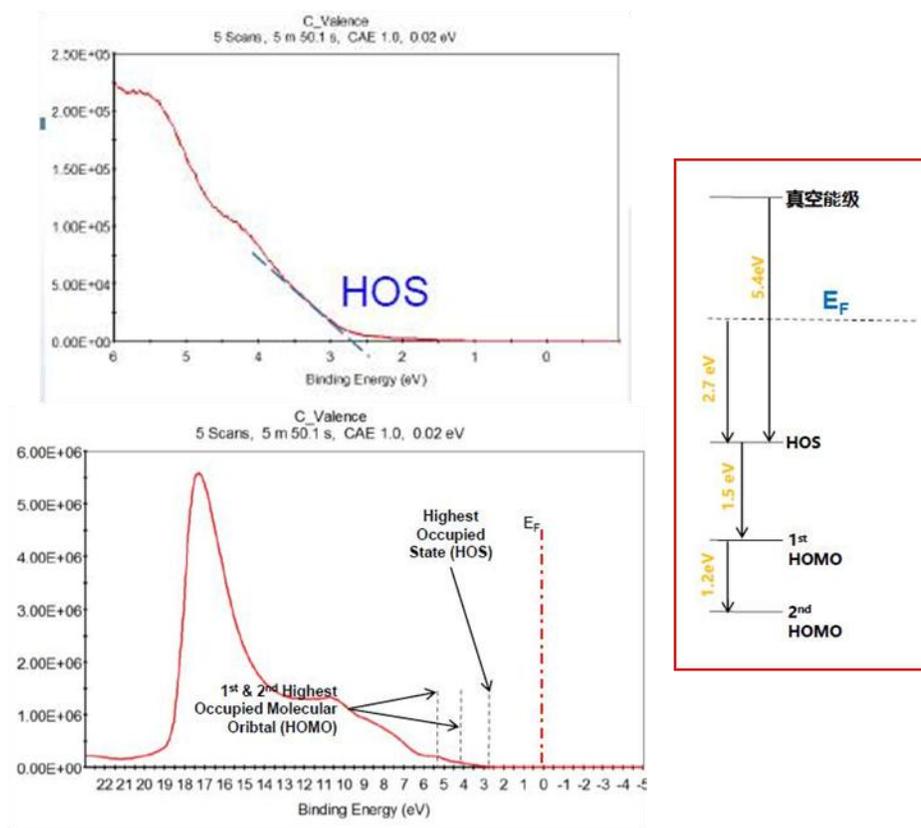
通过高分辨的二次电子截止边谱和参考标准物质费米边谱得到材料的逸出功：

$\Phi = h\nu - (E_{B, \text{Cutoff}} - E_{B, \text{Fermi}})$ 。其中， E_{cutoff} 的读取采用双切线法， E_{Fermi} 的读取采用三切线法（取台阶中点）。

注意：从谱图中读取的能量值必须保持物理量一致，即全部都用结合能 E_B 值来计算或者选择全部都用动能 E_k 值来计算。



2. 材料的 HOMO 能级或最高占据态 HOS、电离势 IP



由谱中可知非弹性二次电子截止边 $E_{\text{cutoff}} = 18.54 \text{ eV}$ ， $E_{\text{Fermi}} = 0 \text{ eV}$ ，最高占据态 HOS 为 2.7 eV ，1st 最高占据轨道为 4.2 eV ，2nd 最高占据轨道为 5.4 eV ，通过计算可得出材料的逸出功 $F = 2.7 \text{ eV}$ ，电离势 $E_{\text{IP}} = 5.4 \text{ eV}$ 。

第四部分、特殊样品处理注意事项

一、多孔材料或泡沫金属样品



在不破坏相关性质的前提下，建议先压片再测试。

二、磁性样品

1. 强磁性样品不能测试。

2. 弱磁性样品制样前要先退磁。消磁之后需将样品远离消磁机1m以上距离之后再关闭消磁机。作为参考，下表列出了几种铁磁性和亚铁磁性（标*号）晶体的居里温度。

| 物质 | 居里温度 (K) | 物质 | 居里温度 (K) |
|------|----------|--|----------|
| Co | 1388 | EuO | 69 |
| Fe | 1043 | CrO ₂ | 386 |
| Ni | 627 | FeOFe ₂ O ₃ * | 858 |
| Gd | 292 | NiOFe ₂ O ₃ * | 858 |
| Dy | 88 | CuOFe ₂ O ₃ * | 728 |
| MnAs | 318 | MgOFe ₂ O ₃ * | 713 |
| MnBi | 630 | MnOFe ₂ O ₃ * | 573 |
| MnSb | 587 | Y ₃ Fe ₅ O ₁₂ * | 560 |

三、双阳极测试样品

制样方法无特殊要求，但样品尺寸需要 1cm*1cm

四、样品量极少或者不能干燥成粉末的样品

如小粒径纳米颗粒，建议用溶液旋涂的方法制备在无相关元素干扰的衬底上，如硅片或金属基底。但要保证干燥后样品不会翘起或脱落。

第五部分、常见问题及解决

一、UPS 测试样品要求

通常为导电性好的薄膜材料，包括导体、有机/无机半导体材料。

1. 测试前样品必须新鲜制备且充分干燥（对于导电性不太好的样品建议膜厚尽量做薄一些）；

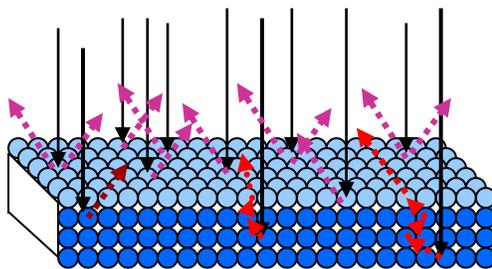
2. 样品表面均匀平整，无污染（UPS中电子信息深度来源~10个原子层，因此表面状态对测量结果的影响非常敏感）；

3. 样品尺寸需要1cm*1cm，基底必须为导电基底（如ITO，无氧化层的硅片或金属片等），样品厚度最好不要超过2mm；

4. 送样时要求将样品保存在惰性气氛或真空状态下；

5. 对于粉末样品，如果导电性较好，可以在铜导电胶基底上压片制样，然后进行UPS测试；若样品导电性差，建议采用XPS方法测价带信息。

二、深度剖析测试样品要求



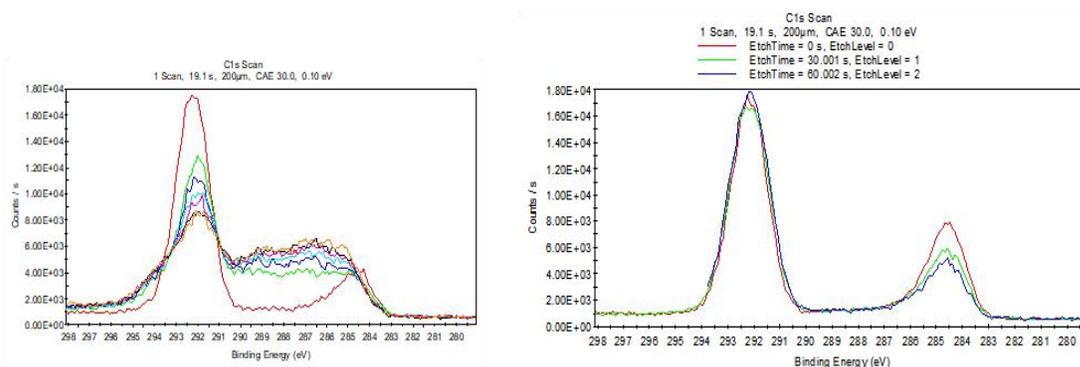
1. 表面无污染的薄膜样品（粉末样品不建议做深度剖析）；

2. 样品表面平整，尺寸需要10×10mm²；基底最好为导电基底（如ITO，无氧化层的硅片或金属片等）；样品厚度最好不要超过2mm；

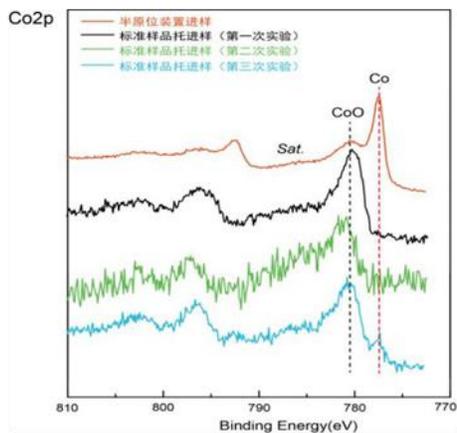
3. 如果样品导电性差，用铝箔包裹样品四周，留下大约5×5mm²的区域进行测试；

4. 如果剖析深度>10nm，可以采用Ar⁺刻蚀的方法进行深度剖析；若剖析深度<10nm，建议采用ARXPS进行深度剖析；

5. 对于有机材料及氧化物材料，建议采用团簇离子枪进行深度剖析。

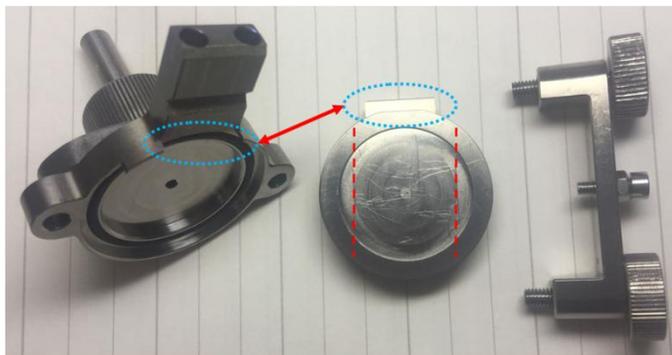


三、准原位测试样品要求



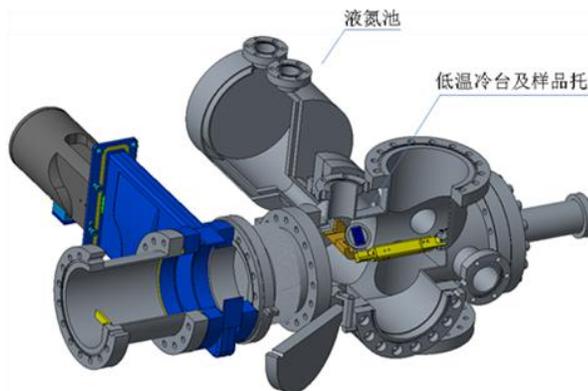
对环境（如空气中的水、氧气等）敏感类样品，包括锂离子电池类、负载型纳米金属催化剂等。

1. 半原位装置必须配合手套箱使用；
2. 粉末样品需充分干燥后压片，尺寸为3~4mm²；样品粘贴在半原位样品托时注意不要超出测试区域的界限；样品粘贴好后将样品及样品托表面吹扫干净；
3. 安装保护罩时一定要配合卡槽保证密封到位，并用固定架将装置固定好；



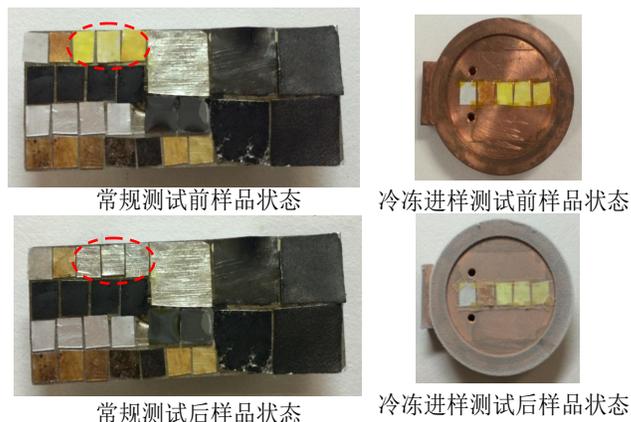
4. 在手套箱中使用半原位装置时尽量避免来自公用设备引入的污染。

四、低温测试样品要求



在真空环境中易挥发固体样品，例如金属/有机小分子 MOF 材料，生物材料，凝胶类样品等，以及一些液态样品。

1.含F、Br、I等易挥发成分的样品，纯有机小分子材料，含有有机小分子的MOF材料，生物材料，凝胶材料等必须要采用低温XPS测试；



2.粉末样品需要预先干燥，压片制样。

3.液态样品需不含水，且在低温状态下不易分相。

五、XPS 应用软件下载

Thermo Avantage 软件下载地址：化学所 ftp 公共资料下载或者 <http://www.surfsciftp.co.uk/avant5/download.php>（可以试用30天）。

六、XPS 资料下载

<http://www.xpsdata.com>;

<http://www.uksaf.org/tech>;

<http://www.polymersolutions.com>;

<http://www.npl.co.uk>;

<http://srdata.nist.gov>;

<http://www.lasurface.com>

七、XPS 参考文献

1.潘承璜，赵良仲，《电子能谱基础》，科学出版社，北京，1981。

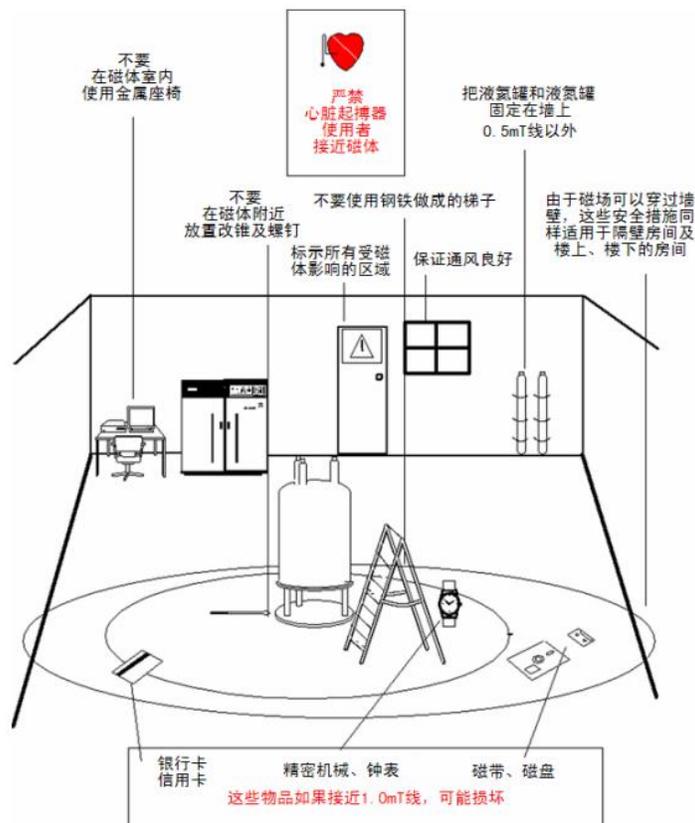
2.D. Briggs 等著，桂琳琳，黄惠忠，郭国霖 <译>，吴念祖，桂琳琳 <校>，《X射线与紫外光电子能谱》，北京大学出版社，北京，1984。

3. John C. Vickeman, Ian S. Gilmore 著，陈建，谢方艳，李展平，尹诗衡，龚力 <译>，《表面分析技术》，中山大学出版社，广州，2020。
4. 黄惠忠等著，《论表面分析及其在材料研究中的应用》，科学技术文献出版社，北京，2002。

核磁组

第一部分、实验室安全事项

1. 凡进入核磁实验室人员，必须严格执行实验室的各项操作制度，服从管理。



磁体内部及外部区域安全注意事项

2. 如上图所示，切勿携带铁磁性物质（如钥匙、手表、雨伞、耳机、手机等）进入核磁实验室，这些物品在磁体附近有潜在的危险，而且会扰动磁场而对实验结果产生影响；

3. 使用心脏起搏器或者金属关节的人员不可接近磁体；除放样品之外，应保持在5高斯线范围以外，远离磁体；

4. 在排队等待时，不要在核磁实验室频繁的来回走动，以免对其他同学的实验结果会造成干扰。

5. 任何**违规行为**都将受到**停止上机一个月至四年的处罚**。**违规操作导致的仪器损坏需要赔偿**。

6. 按照化学所核磁实验室目前的谱仪功能分类，操作规程分为液体核磁、固

体核磁、低场核磁和基于密度泛函理论的高精度有机分子化学位移在线计算系统平台操作手册四部分介绍。

第二部分、液体核磁操作规程

一、液体核磁样品的制备

样品的质量会严重的影响核磁谱图的质量，因此配置样品的过程非常重要。

1、使用干燥、清洁的核磁管，避免污染样品。

2、选用高质量的核磁管避免匀场过程中会引入不必要困难。

3、样品进行充分提纯和干燥，避免杂质峰掩盖有用信号。

4、样品中不能混有磁性杂质，否则会扭曲磁场而降低谱峰的分辨率。

5、选取合适的氘代溶剂，尽可能选取溶解度大、不会干扰样品信号、成本合适、粘滞性较小的氘代溶剂，其熔点和沸点也需考虑。

6、样品量的选取。对于固体样品，使用 5 毫米样品管，可以在 0.6 毫升溶液中最多溶解 20 毫克样品；对于液体样品，如果观察质子，可以在 80% 体积氘代溶剂中溶解 20% 体积样品。配制成在样品管中液体 3-4 厘米的高度，高度不够会需要更长时间匀场。盖上核磁帽，并用蜡膜密封减少挥发。

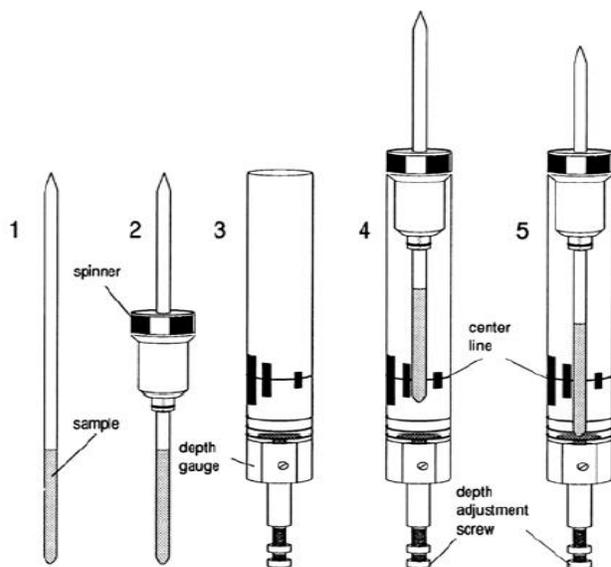
7、过滤样品溶液。样品是否均匀地溶解于整个溶液，有无悬浮的颗粒也与匀场的好坏有关。

8、保证制备完的样品溶液混合均匀、无气泡、无固体。放入磁体之前，把样品管表面擦拭干净。

二、液体核磁上机操作规程

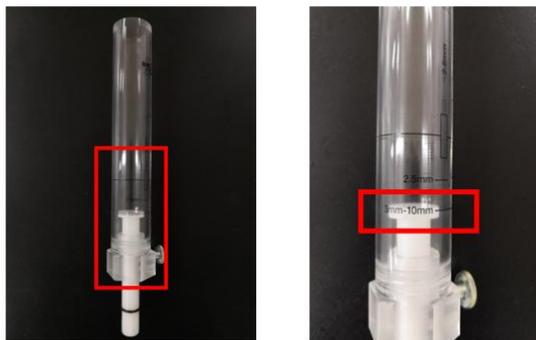
1、样品放置

1.1 设置核磁管高度：将核磁管外壁擦拭干净（避免灰尘在转子和探头中累积），插入转子后，用量筒准确测量样品高度，如下图所示，样品量大的核磁管直接推到底，样品量小的保证样品的高度被中线平分即可。



核磁管深度的测量

需要注意的是，量筒的底托是可以移动的，根据匹配的仪器不同可进行调整，目前化学所在使用的核磁谱仪配备的都是直径5 mm的探头系统，因此将底托固定在了3-10 mm标线处（如下图所示）。如果在使用时发现底托位置变化，需自行调节回3-10 mm处，以免测量不准导致进样中断、匀场不好、核磁管断裂等情况。



量筒上深度的底托及标线

1.2 Fourier 300 与 Avance III 400 HD 谱仪的自动进样器有些差异，放样方式有区别：

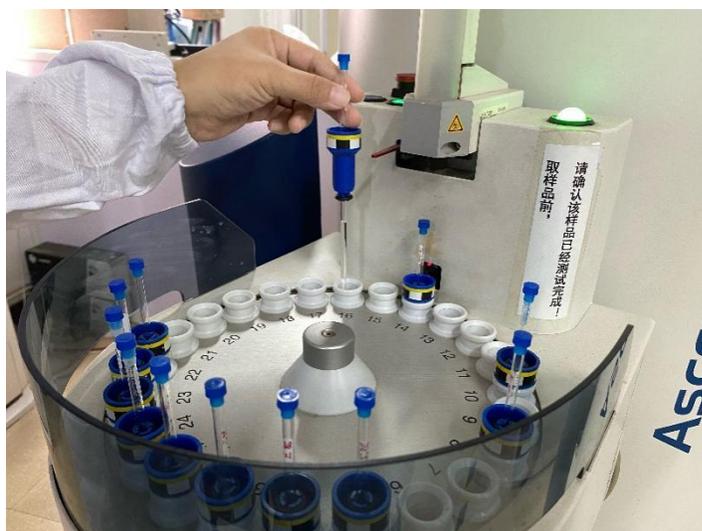
1.2.1 Fourier 300的自动进样器（如下图所示）设置在磁体顶部，是16位双向旋转进样器，手拿核磁管顶部，放进空位里面即可。注意：（1）需注

意不要放到正对进样口的位置上，以免磁体内样品弹出造成意外；（2）该进样器转盘为逆时针旋转，请将待测样品放置转盘右侧，否则仪器将报错亮红灯，无法工作。



Fourier 300的自动进样器

1.2.2 Avance III 400HD、Avance 400和Avance II+ 400的自动进样器是24位单向旋转进样器，安装在磁体的腰部，如下图所示，与16位不同的是，此进样器为单向顺时针旋转，即数字编号由小到大旋转，尽可能的接近进样口的左侧空位上之后记下位置编号与样品编号。



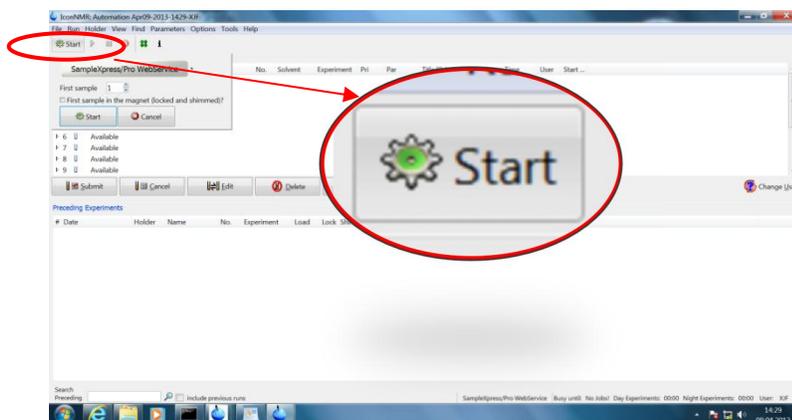
Avance III 400 HD谱仪的自动进样器

1.2.3 如有多个样品测试，可连续放入，一一记录样品编号与位置号。

2、上机操作

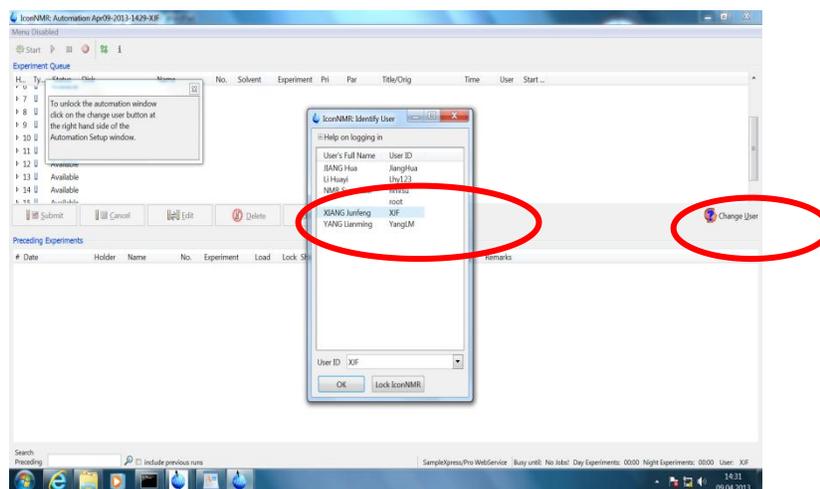
2.1 点击左上角start，启动进样器控制软件。

如实验总是无故终止、报错，先检查此start按钮是否为灰色状态，如不是，先点击start，再提交实验。



2.2 点击“change user”，在用户列表中选择用户

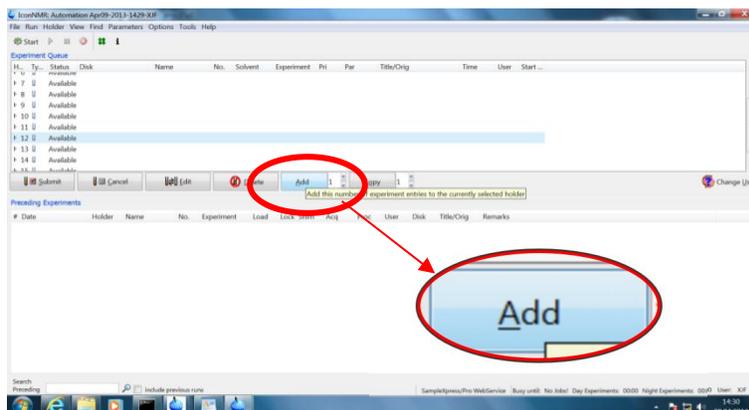
选择用户即选择了数据存储的路径，如选择xjf，则接下来提交的实验会自动存储到d/data2019/xjf文件夹下。



2.3 编辑实验

以12号位测试一维氢谱为例，选中12号holder实验编辑区，点击“Add”按钮添

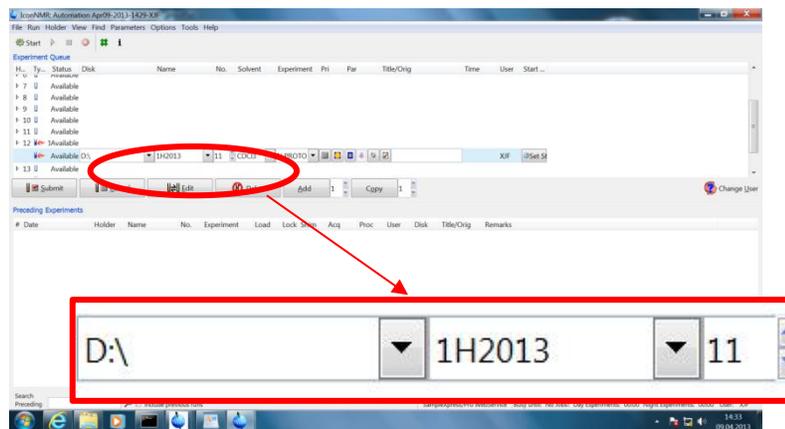
加实验。



2.4 编辑当前实验

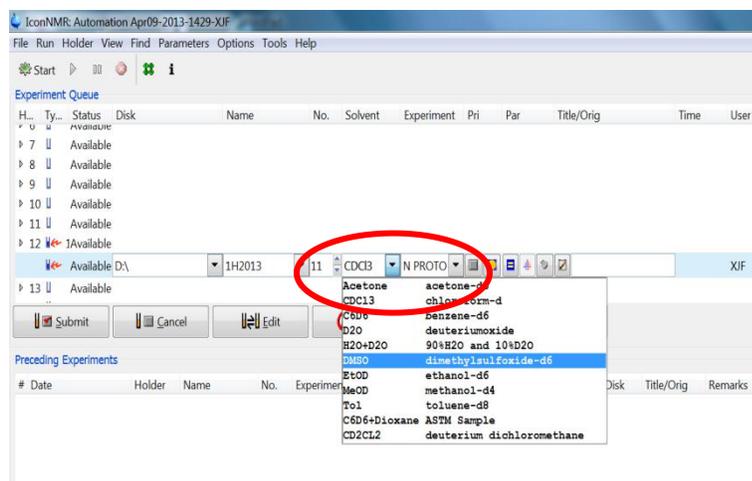
2.4.1 设置实验存储路径

路径格式为D:\data201X\username\name, D:\data201X为管理员设定, username在第一步change user 后已经选定课题组, name为自行命名。鼠标点击NO.位置, 系统会自动确定实验号, 为了确保不覆盖原有数据, 建议提前到topspin下查看相应文件下面的数据编号。



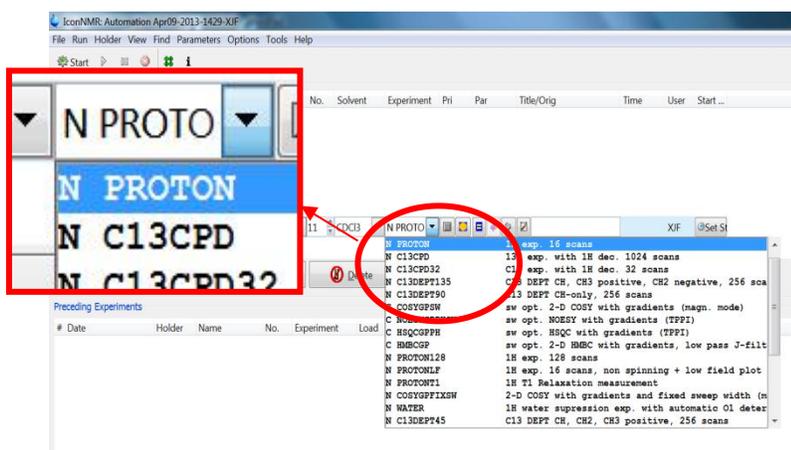
2.4.2 选择氘代试剂

氘代试剂选择错误会导致锁场失败, 实验终止。



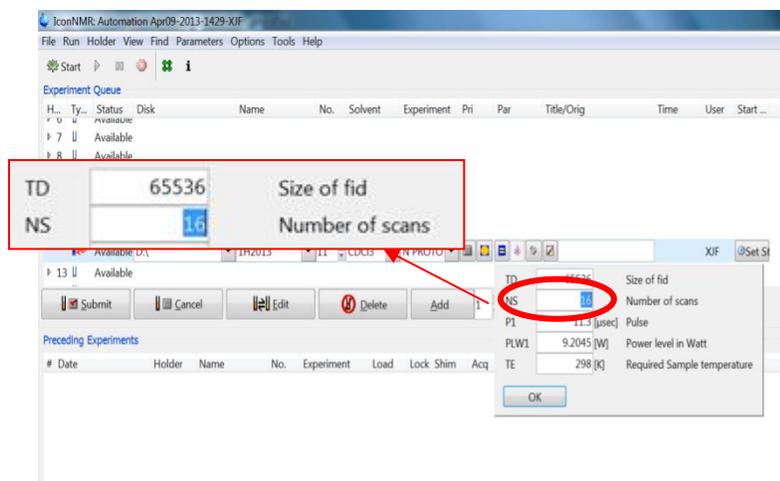
2.4.3 选择测试项目

在experiment栏点击下拉按钮，选择要进行的实验项目。最常用的氢谱（PROTON）、碳谱（C13CPD）列在前两个。



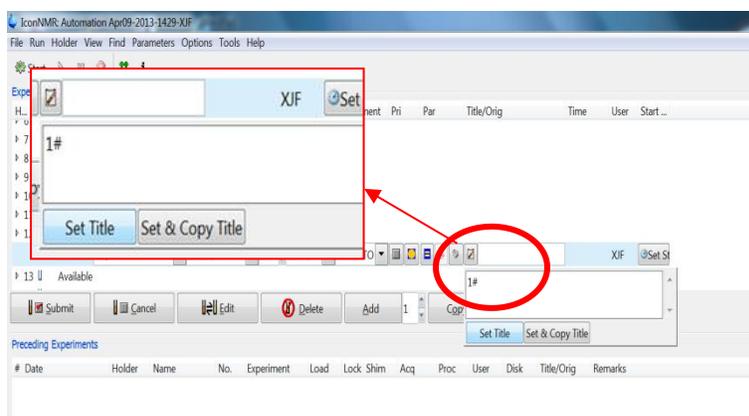
2.4.4 更改采样参数

点击 parameter 栏  按钮，根据样品情况，更改采样次数 NS。默认 16 次，如样品浓度极低，可适当增加采样次数至 64 或 128 次。



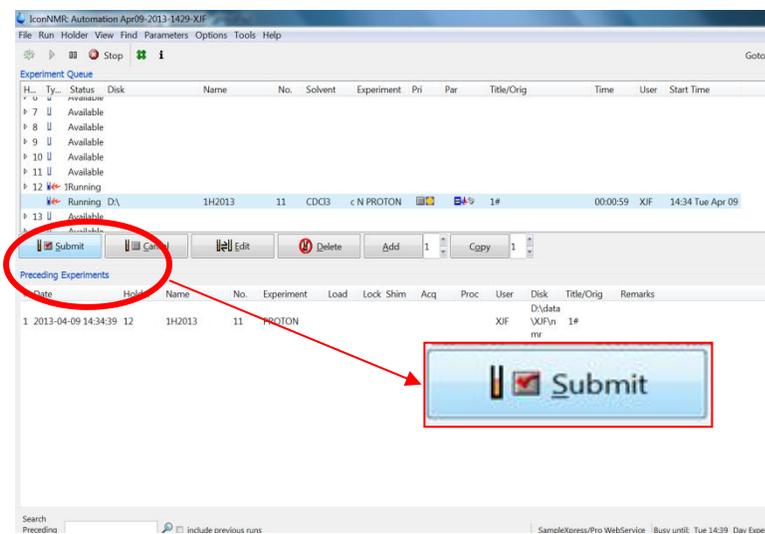
2.4.5 输入对应样品名

点击title栏下空白区域，手动输入样品名。



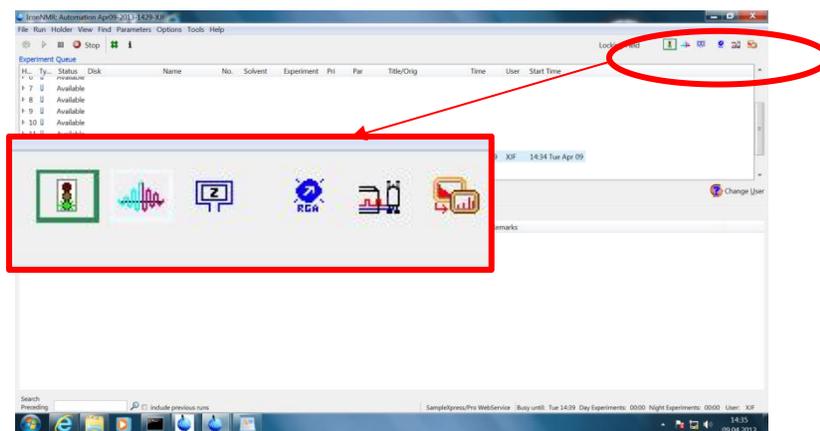
2.5 提交实验

以上步骤后，实验设置完成，点击submit提交实验。

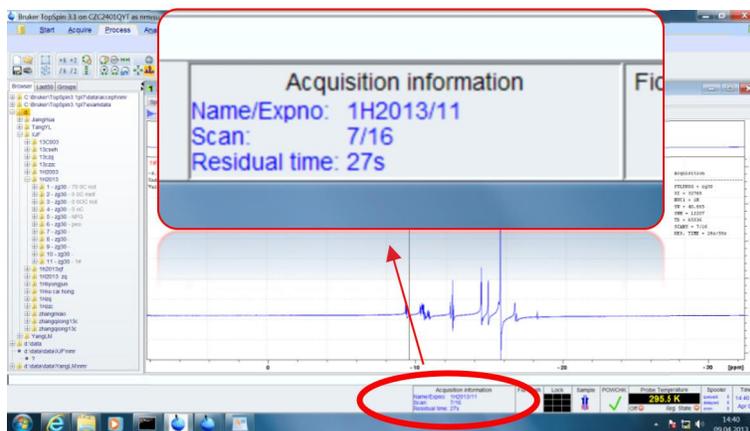


2.6 监测实验进度

实验过程中，可以通过右上角的指示标志监测实验进度，闪亮的为正在进行的部分。依次为进样、锁场、匀场、自动采样增益调节、采样和谱图处理。

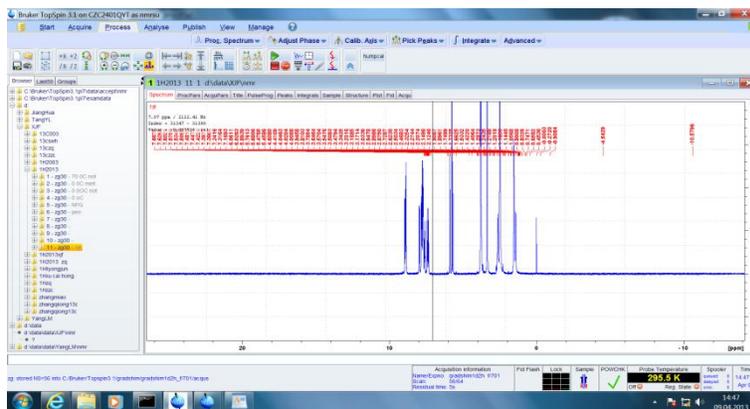


采样过程中也可以回到topspin软件，双击下方的acquisition information即可进入到采样界面，实时查看当前谱图。



2.7 实验结束后，样品会自动弹出。

回到topspin对谱图进行后处理并打印。



2.8 如要进行多个实验，可先将待测样品依次放入自动进样器内，按照上述步骤设置每个实验，并点击submit，系统将会按照实验的添加时间，顺序测试。

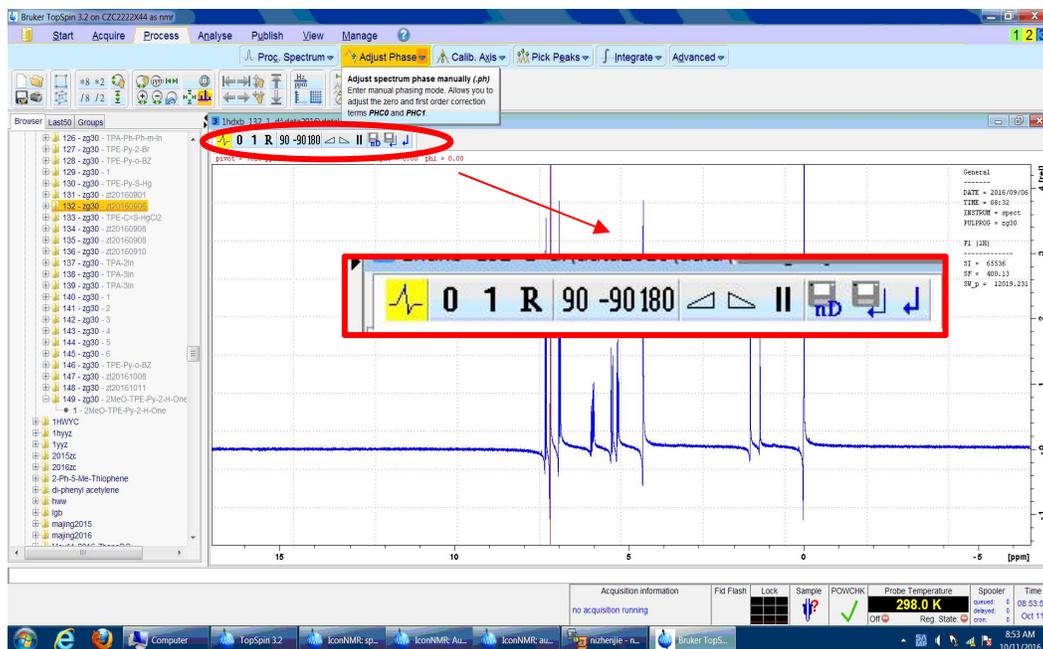
3、处理数据

样品测试完成后，系统会自动对谱图做部分处理，但是处理效果并不理想，需手动进行数据处理。

3.1 校正相位

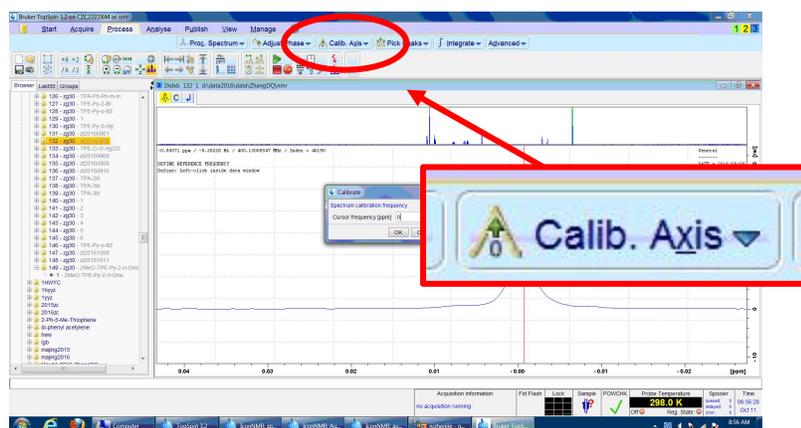
在apk（自动相位校正）命令不能校正完全的情况下，点击process选项，选择adjust phase，并进入相位校正窗口。鼠标 ，上下拖动值红线位置峰相位调

整好，之后点住 **1**，上下拖动至所有峰的相位调整好。最后点击  退出并保存。



3.2 定标

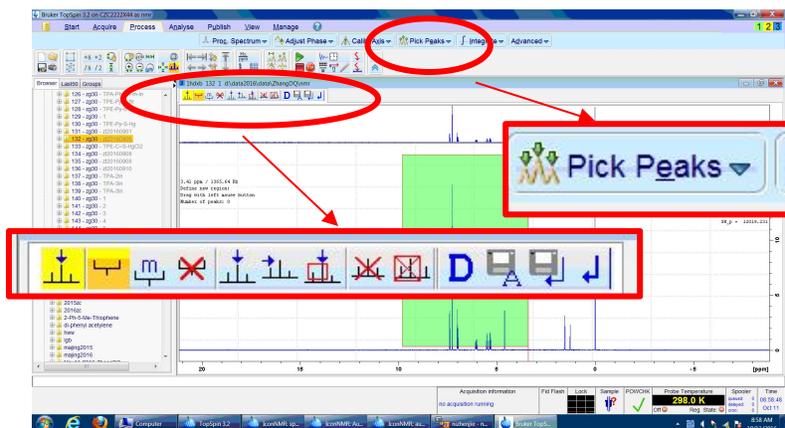
Process选项下面选择calibrate axis，进入标峰窗口，将鼠标红线对准要标定峰的最高点，点击鼠标，输入定标值即可。



3.3 标峰

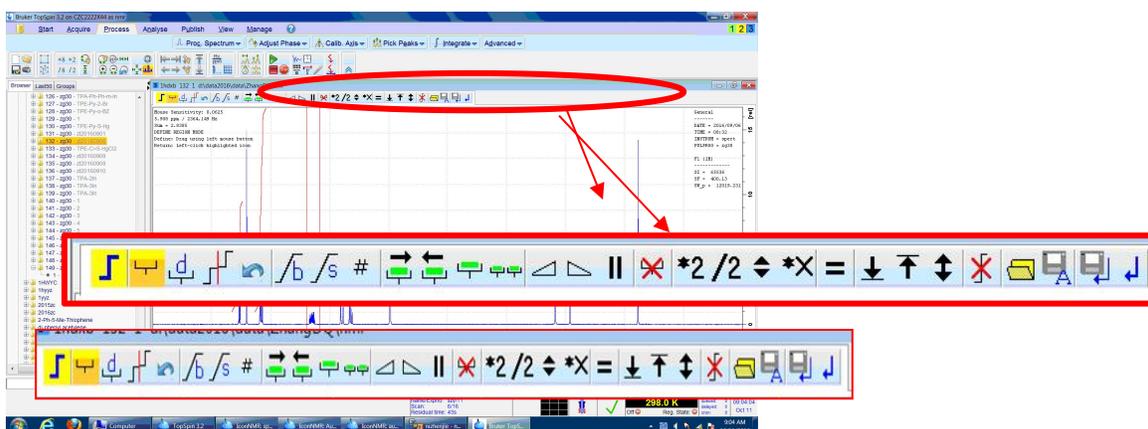
Process选项下选择pick peaks，进入标峰窗口，选择标峰菜单中的删除所有标

峰 ，桌点击最左侧按钮  开始标峰。在要标峰区域的左上角点住鼠标拖动至右下角松开，将所有谱峰的最顶部包含在标峰区域内（绿色部分）。如谱峰较多，可分段标定。之后  退出并保存。



3.4 积分

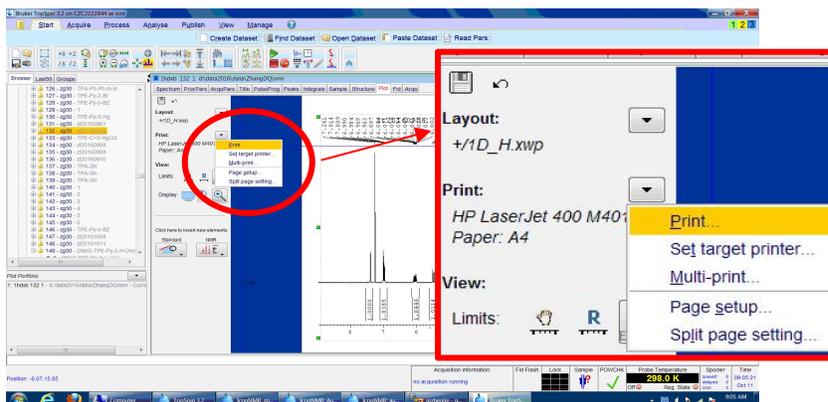
Process选项下选择integrate，进入积分窗口。首先选中已有积分  并全部删除 。之后点击  开始新的积分。在峰的左侧点住鼠标，拖动至右侧松开，完成一个峰的积分，依次完成所有峰的积分。之后  退出并保存。



3.5 打印谱图

在谱图区域，选定要打印的区域，点击plot进入作图模式，完成编辑后，在

作图区域左侧栏点击print的下拉箭头，选择print，完成打印。



3.6 数据拷贝

核磁实验室的数据存储已实现数据自动实时上传，无需手动上传，数据下载方式：所局域网内的任何一台电脑，打开“运行”对话框，输入\\10.8.1.227，即可访问服务器查找、下载数据。服务器上的数据存储路径按照相应仪器的型号进行划分。自主上机数据拷贝文件夹：Avance 400对应北侧实验室东北角400兆谱仪，Avance III 400 HD对应南侧实验室东南角400兆谱仪，Fourier300对应南侧实验室东北角300兆谱仪，Avance II 400对应南侧实验室西南角杂核专用测试的400兆谱仪。600兆送样测试数据拷贝文件夹：Avance 600对应北侧实验室西北角600兆谱仪。

700兆液体核磁谱仪与500兆微成像核磁谱仪送样测试数据拷贝方式有所不同。需要用ftp软件（winscp或filezilla等）登录ftp服务器（ftp://10.8.1.178），ftp登录用户名：nmrdata，密码：123456。NEO 700和Avance III 500 WB两个文件夹分别对应700兆液体核磁谱仪与500兆微成像核磁谱仪数据。

三、常见问题及解决办法

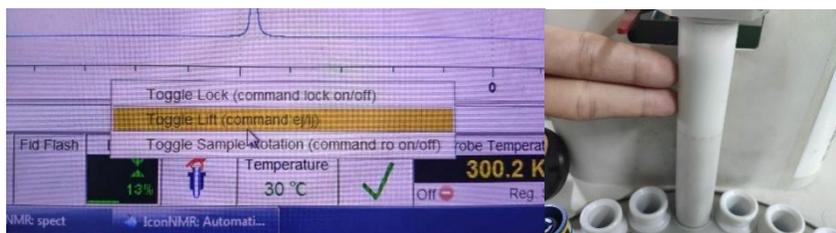
问题1、样品无法到位，load失败

解决办法：考虑以下几个因素：一是样品测量不准，可重新用量筒测量核磁管高度；二是核磁管与转子不匹配，核磁管进样过程中滑动，造成位置不准，可

重新选择合适的转子；三是探头内部灰尘累积，造成污染，应告知仪器管理人员清理探头内部。

问题2、400M谱仪的进样器样品做完未弹出指示灯变红

解决办法：在样品进样或者出样的过程中，如果样品，卡在进样器中间，会引起指示灯变红。首先检查样品停留的位置，之后在topspin处理界面右击sample位置弹出界面如下图所示，左击第二项Toggle lift (command ej/ij)，轻轻触碰进样器白色管子（如下图右边图所示），一般样品会弹出，自动进样器恢复绿灯，点击icon界面左上角start，自动进样器将正常运行。如果重启后等仍然红色，可告知仪器管理员帮助处理。



问题3、Fourier 300谱仪的进样器指示灯变红

解决办法：Fourier300为顶部自动进样器，进样器报错指示灯变红，需手动重启。方法是按住进样器圆形开关停留3秒钟，指示灯灭，之后在按一下开关，启动进样器。进样器启动完毕，接下来测试的样品不要放置在进样口位置，避免磁体内有样品弹出。

问题4、AVANCE II+ 400正在测试的核与我要测试的不一致需要手动调谐吗？

解决办法：AVANCE II+ 400主要用于杂核的测试，设置的程序为自动调谐，无论前面测试的哪种核，只需要按照自己的实验目的设置实验，提交后，系统会自动调谐到目标核的频率上，无需其他操作。

问题5、实验结束，且状态栏显示每个步骤顺利完成（打勾），为什么文件

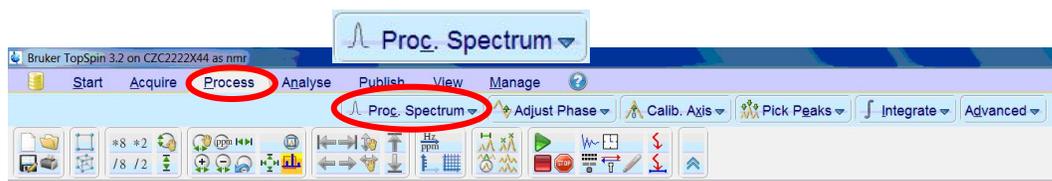
中看不到谱图？

解决办法：如状态栏未出现红色提示，该实验过程没有问题，数据已经采集。

此时跳转到topspin相应文件下，会显示：

```
1D raw data available
No processed data available
```

也就是数据已经采集完成并得到fid（时域信号），但是未进行傅里叶变换得到谱图（频域）。此时只需要点击process工具栏下面的即可看到转换后的谱图。



问题6、数据处理中，topspin界面左侧的文件浏览区关闭，怎样打开？

解决办法：CTRL+D可打开文件浏览区

问题7、实验设置完成，且提交，但一直未见进样，是怎么回事？

解决办法：iconnmr是控制自动进样器的软件，是附属于topspin的，iconnmr需启动起来才可执行测试任务。因此，提交实验前需确认icon界面左上角start按钮为灰色即为已启动，如不是，需自行点击start后icon才可正常工作。

问题8、锁场失败，怎么办？

解决办法：首先，查看最近的测试历史记录，是否连续多个样品均为锁场失败。一、如果仅当前样品锁场失败，检查样品是否高度不够、氘代试剂选择错误、混合溶剂等原因。可考虑换台仪器测试或者送样500M、600M手动测试。二、如果连续多个不同样品锁场失败，此时可能是仪器原因，需要联系管理员检查谱仪硬件设备。

问题9、锁场成功，匀场失败怎么办？

解决办法：首先，查看最近测试历史记录，是否连续多个样品均为匀场失败。

一、如果仅当前样品匀场失败，检查样品是否高度不够、氘代试剂比例低、混合溶剂、核磁管质量等原因。可以适当增加样品量、更换核磁管、更换谱仪再次尝试。

二、如果连续多个不同样品匀场失败，此时可能是仪器原因，需要联系管理员检查谱仪硬件设备。

问题10、在测试进程中，topspin的采样信息窗口不显示，怎样查看采样剩余时间？

解决办法：可打开正在采集的文件数据，选择采样窗口栏，也可以查看实时的采样信息。

问题11、编辑实验时，提示如下信息，导致无法提交实验。



解决办法：这是因为设置的实验号已经存在，系统不能覆盖已有数据。只需要到topspin查看实验号，重新设置不重复的编号即可。

问题12、使用白色转子测试，仪器报错亮红灯。

解决办法：一、在使用Fourier 300时，样品转到了进样口，可是自动进样器的传感器无法识别样品的存在，无法完成进样任务。白转子不适用于Fourier 300。

二、用于400M时，由于白转子比蓝转子稍重，设置的弹出气压不够大，在出样时样品无法到达传感器感应区，导致样品停留在磁体顶部，弹出气流持续吹，最终导致进样器报错指示灯变红。因此Fourier 300、Avance 400、Avance III 400 HD

三台谱仪请使用蓝色转子，禁止使用白色转子。

问题13、样品管断在磁体内部该怎么办？

解决办法：一旦发现样品管断裂在磁体内部，立即终止所有实验，以免后续样品再次进去会造成更严重损失，之后及时通知仪器管理员来处理。

问题14、AVANCE II+ 400在测试时匀场为什么总是×？对实验结果有影响吗？

解决办法：AVANCE II+ 400主要用于杂核测试，此仪器的默认设置是不锁场、不匀场，直接进行采样，因此这两项都是×。如需要测试氢谱，则需联系管理员更改相关设置。

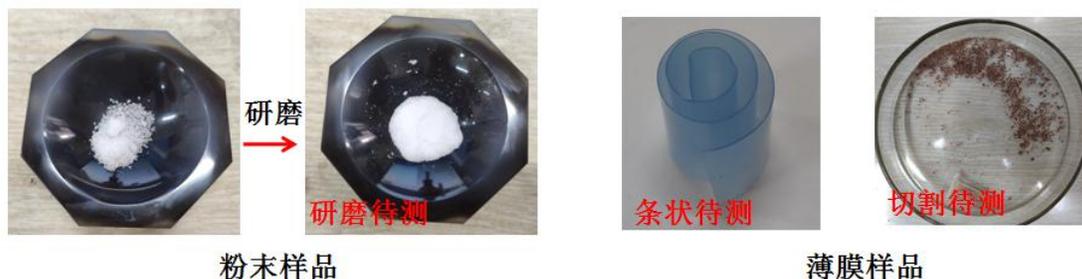
第三部分、固体核磁操作规程

一、固体核磁样品的制备

样品要求：无毒，无磁性。含金属的样品请与管理员提前沟通。

1、准备：

将待测样品研磨成没有颗粒感的粉末（参考：7 mm 样品管需过 80 目筛网），薄膜状或弹性体等样品可用刀片切成成细碎沫状，特殊样品制备参见固体核磁测试注意事项第 6 项。



2、装样：

将待测样品少量多次（≥5 次）均匀的装填入干净的 rotor 中，把帽子（通为 KEL-F）小心盖至 rotor 端口，压紧；用专用黑记号笔将 spinner 下端的半个斜面

涂上黑色，待测，操作步骤下图所示。注意样品装填至离 rotor 端口 3mm 左右即可，叶轮和 rotor 之间不能留有缝隙，否则高速魔角旋转测试过程中会存在帽子脱落的危险。

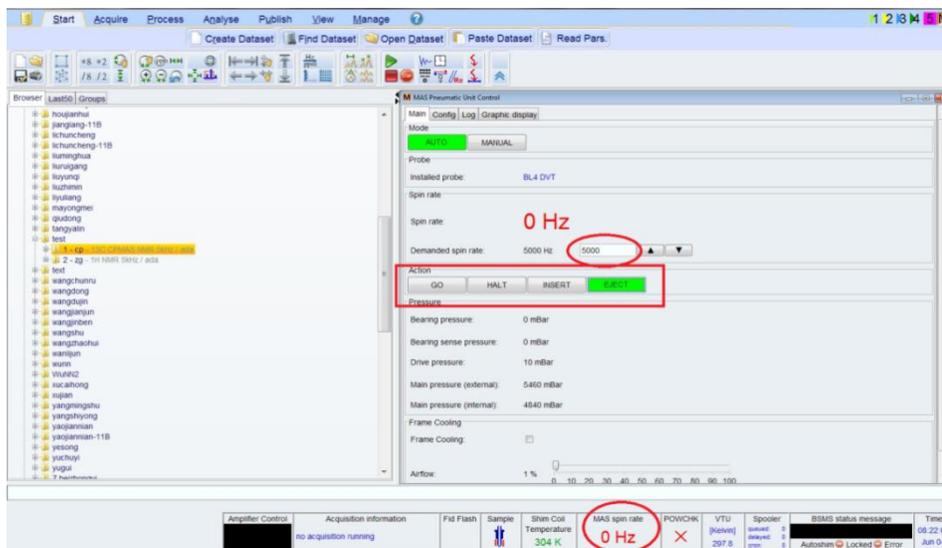


注：转子“rotor”指的是氧化锆陶瓷装样管，“spinner”指的是装配好的装样管和叶轮子。



二、固体核磁上机操作

1、转子旋转



MAS Pneumatic Unit Control 界面

转子进入探头：双击 tospin 软件命令行下边的“MAS spin rate”，进入“MAS Pneumatic Unit Control”界面(如上图所示)，当确认转速显示为“0”时，点击“EJECT”取出探头中可能留存的转子。然后将待测转子放入磁体上部的传输导管中（步骤

如下图所示)，转子将自然落入探头中。回到“MAS Pneumatic Unit Control”界面点击“INSERT”键。



取出留存rotor



取出留存rotor



盖好传输导管顶帽

待测转子进入磁体流程图

设置转速和旋转转子: 在”MAS Pneumatic Unit Control”界面下(a)“D demanded spin rate”栏键入目标转速，回车。(b) 点击“GO”，当“spin rate”字体显示绿色表明转速稳定。回到“topspin”主界面。

注: 转子无法旋转或转速不稳的情况，请参见常见问题及解决部分。

2、确定待测核共振频率的所在范围

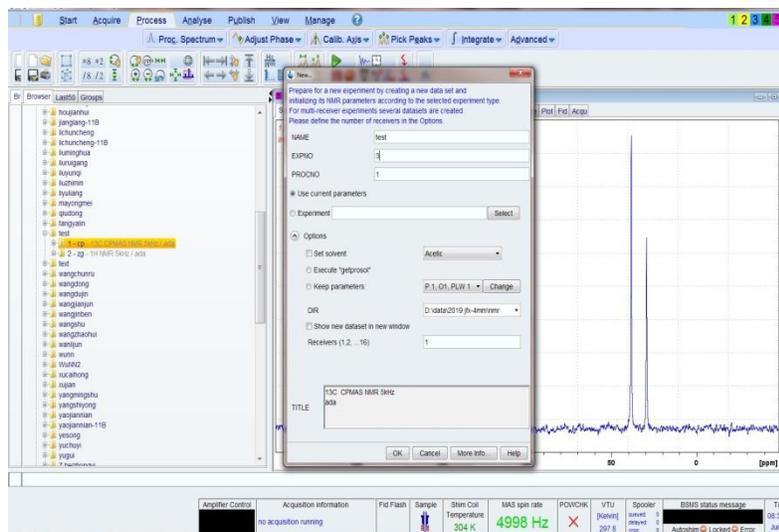
根据待测核选择合适频率范围的 Filter 及磁体探头下端 $\lambda/2$ 拉杆的位置。



前放俯视图和侧面图

3、新建文件

在 topspin 软件左端“file”菜单中打开与待测核相同的实验文件；键入“edc”，将出现下图所示界面，修改 NAME 和 EXPNO 即可建立相应文件。



新建文件夹界面

4、设定实验采样参数

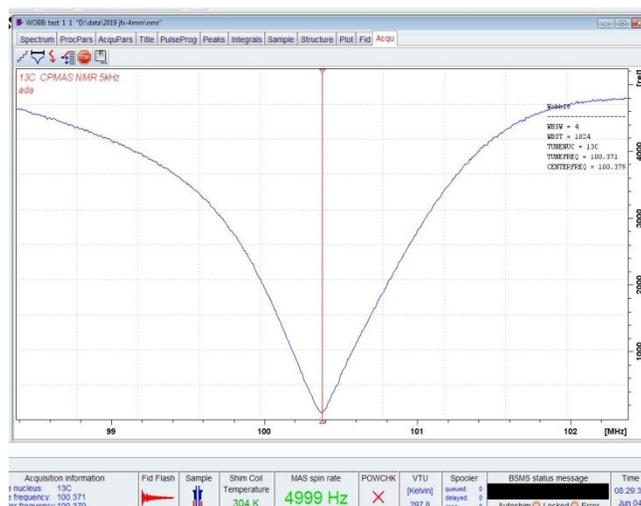
一般改动的参数有扫描次数 ns，接受增益 rg，扫描谱宽 sw，中心频率 o1p。命令行输入以上指令，输入目标数值，即可做相应更改。

5、探头调谐和匹配

将探头下端的频率范围 $\lambda/2$ 拉杆转到与所选 F1 (X) 通道核相匹配的频率范围；在命令行键入“wobb”开始调谐操作。出现 X 核的调谐曲线，用专用调谐工具滑动 MX 旋钮，将最低点位置调整到所选 X 核共振频率位置；然后再滑动所示率匹配调整 TX 旋钮，反复检查调节 MX 和 TX 旋钮，如下图所示，直至 wobble 曲线最低点位置到屏幕下端横轴。回到操作调谐界面，点击  将其切换到 F2 (H) 通道调谐通道，如上操作滑动旋钮 MH 和 TH 进行调整。调谐和匹配过程完成后，按下“Acqu”界面的  图标，并键入“ii”，完成命令初始化。



调谐工具



wobble 曲线界面

6、采样

开始采样：在“acqu”界面中，命令行键入“rga”自动优化接收增益数值；命令行输入“zg”开始采样。

测试中途，命令行依次键入“tr”、“efp”可查看实时采样结果，如谱图信噪比已满足需求，可键入“halt”终止采样。（其中 halt 表示保存当前数据并终止采样，stop 表示不保存当前数据，终止采样）

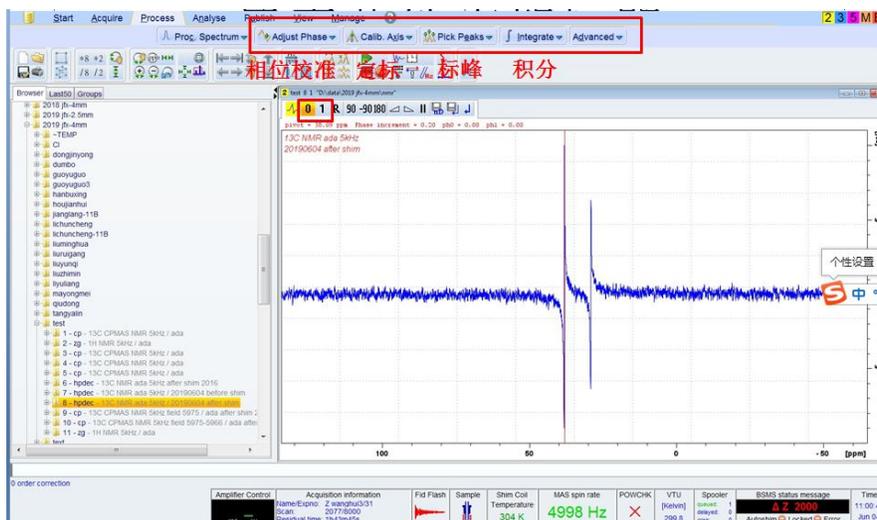
停止转子旋转：当“Acquisition information”栏显示“no acquisition running”确认采样结束后，在“MAS Pneumatic Unit Control”界面点击“STOP”，待 Va 等于“0”，转速为“0”后，点击“EJECT”取出样品。

注：测试之前，请先用已知化学位移的样品定标，如氢谱-金刚烷 δ 1.91，碳谱-金刚烷 δ 38.48，碳谱-甘氨酸羰基碳 δ 173.06。

三、数据处理

1、相位校正：输入 apk 可自动校正相位，或者在 process 栏中点击

 图标进入手动相位校正界面，按住鼠标左键调整红框中“0”和“1”阶相位，得到峰形对称的谱峰。



数据处理界面

2、**基线调整**：输入“abs”可自动调整基线或点击  图标依次选择“Correct Baseline”“Manual correction”进入手动基线调整界面，依次调整“A-E”键，将基线调到适当位置，并保存。

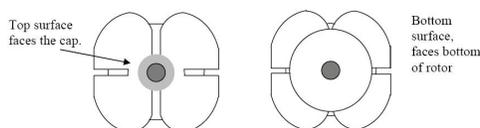
3、**标峰**：按下  图标，使其变成绿色，用鼠标选择要标注的谱峰得到化学位移值。

数据处理软件：topspin 和 Mestrenova。

4、**数据拷贝**：核磁实验室的数据存储已实现数据自动实时上传，无需手动上传，数据下载方式：所局域网内的任何一台电脑，打开“运行”对话框，输入 \\10.8.1.227,即可访问服务器查找、下载数据。服务器上的数据存储路径按照相应仪器的型号进行划分。Avance III 400 SS 为 400 兆固体核磁数据文件夹。

四、测试注意事项

1、取叶轮方法：(a) 小心用取帽器取下；(b) 用液氮浸泡 KEL-F 叶轮部分，利用热胀冷缩原理，很容易取下叶轮。



取帽器

2、制样之前，把转子放直到白色背景下，视觉检查盖子和装样管是否有缺陷。确认帽子与装样管吻合很好，具体要求见表 1。

3、清洗 rotor：装填良好，粘性的粉末有时非常难以从装样管中清除。使用合适大小的转头轻轻清除粉末。用金属工具清洗或处理转子时要非常小心：不要划伤转子表面或留有微量金属。在特别难处理的情况下，可以用合适溶剂浸泡装样管。注意：绝对不可以把转子暴露到酸中。氧化锆（Zirconia）微溶于 HCl 和 HNO₃，缓慢溶解于 HF，完全溶解于热的 H₂SO₄ 水溶液。不能长时间超声清洗。

4、将 spinner 放入传输管之前，清除上边指纹或其它不可见的碎片。这些东西长时间在线圈中累积，会造成问题。

5、仔细听旋转过程：转子应该发出一个清晰的音调，随频率的增加而增长。装填不好的转子可能尖叫、喳喳，劈啪或听起来随速度增加而变形。如果转子再次旋转失败，建议在 MAS 单元上手动旋转。6、遇到特殊样品，处理办法如下：

(a) 普通装样管盖子并没有设计为装液体样品。不用尝试在 MAS 探头中没有第二个容器情况下旋转液体。使用 Kel-F 或 Teflon 转子插入物，或密封的玻璃装样管插入物来防止液体在离心时从转子中析出。

(b) 奇怪形状样品：如果不能把样品研磨到粉末，利用一个惰性填充物，如氧化铝、溴化钾、氯化钠等粉末；

纤维：用镊子缠绕为适当尺寸一紧束；

箔和薄膜：剪为同等宽度的条状，用镊子卷成适当直径；薄箔很容易旋转。

注意：金属一般很难在磁场中旋转，可能需要惰性填充物的稀释；

厚度大的薄膜和橡胶：刀片或剪刀切割成尽可能小的形态进行装填。

(c) 量少的样品，可以用 cramps 转子装填或者样品管上下用惰性材料装填

中心放待测样品的方法进行测试。

(d) 其他特殊样品请与管理员联系讨论后，再尝试测试。

7、测试常用指令

| | |
|------------------|---------------|
| edc 或 new | 新建文件夹 |
| i | 依次新建文件夹 |
| rga | 自动设定接受增益 |
| zg | 开始累加采样 |
| efp | 傅里叶变换 |
| apk | 自动校准相位 |
| abs | 自动校准基线 |
| mas | 启动 MAS 软件用户界面 |
| mase | 弹出样品或吹气 |
| masi | 吸入样品 |
| masg | 样品旋转 |
| mash | 停止旋转 |
| masr | 设置旋转速率 |

五、常见问题

1、测试方法选择中常见问题

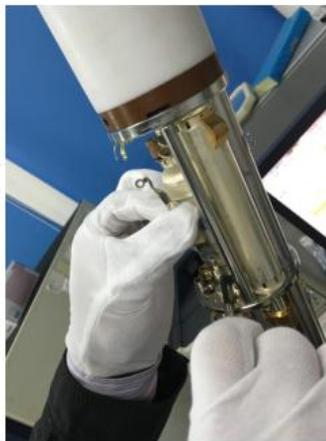
常规碳谱、硅谱、磷谱可以通过 CP-MAS 和单脉冲直接激发两种采样方式，关于两种技术的应用及区别见分析测试中心通讯第 9 期中常用固体核磁 ^{13}C 谱脉冲序列介绍。

2、Ag 低频核测试注意事项

7 mm 探头 ^{109}Ag 插件安装步骤如下：



1. 旋下如图上下两处螺丝



2. 安装分流器-下边螺丝



3. 安装分流器-上边螺丝



4. 安转分流器完毕

以上步骤均需佩戴白色线手套完成，将探头放回磁体里面完成探头安装。

随后更换 ^{109}Ag 所属范围对应的频率条 (filter) 即完成所有硬件安装，其他上机步骤参考第三部分。

第四部分、低场核磁谱仪操作规程

四、 登录软件

1. 双击桌面上的 ，会弹出登录窗口，使用 Default 用户名，密码 admin，点击登录进入主界面；



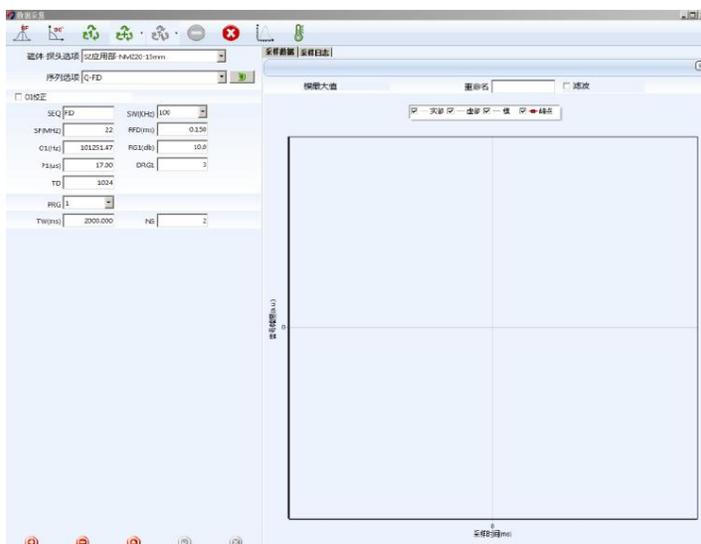
登录界面

2. 主界面包括标题栏、菜单栏和显示区三个部分。



主界面

3. 点击“数据采集”，进入数据采集界面，如下图所示：



参数设置

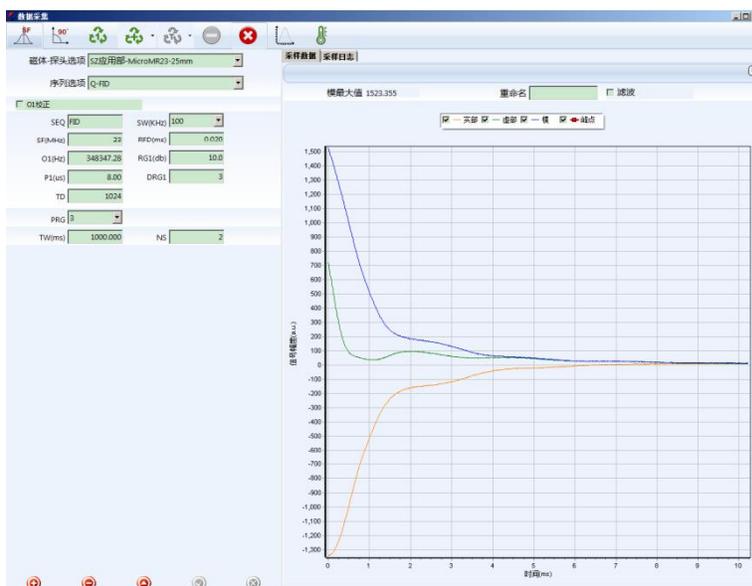
二、参数面板

表参数面板

| | |
|---------------|-------------|
| SEQ | 采样脉冲序列 |
| SF (MHz) | 射频信号频率的主值 |
| O1 (Hz) | 射频信号频率的偏移量 |
| P1 (μ s) | 射频 90 度脉冲宽度 |
| TD | 采样点数 |
| SW (KHz) | 接收的信号频率范围 |
| RFD (ms) | 射频延时 |
| RG1 | 模拟增益 |
| DRG1 | 数字增益 |
| PRG | 前置放大增益 |
| TW (ms) | 重复采样的间隔时间 |
| NS | 累加采样次数 |

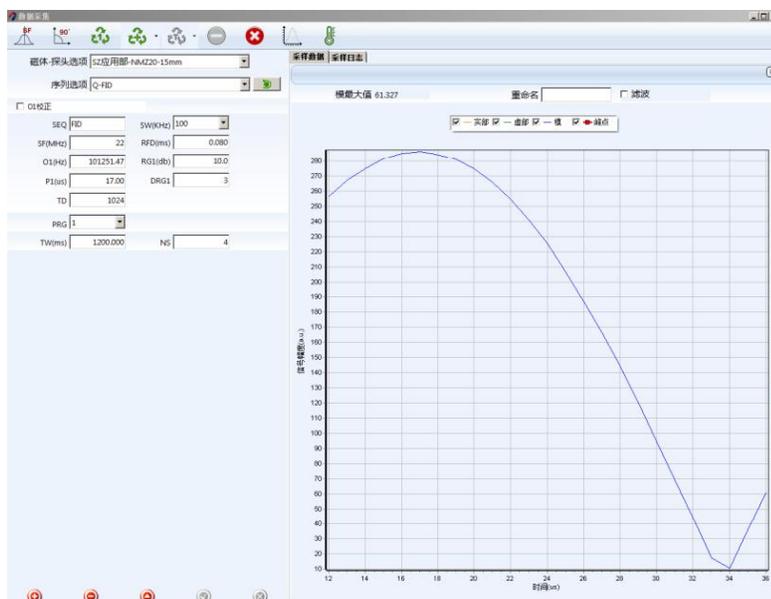
三、FID 实验

1. 将标准样品（通常是标准油样，或者为信号强的测试样）放入磁体线圈中；
2. 在参数面板上的队列名称选项下拉框中选择 FID 序列；
3. 设置合适的 SW、RG1、DRG1、RFD，可以参考出厂时默认参数；
4. 设置合适的 TW 值，标准油样设置 TW 为 2000 ms；
5. 单击菜单栏中 ，进行单次采样，大约采样 10 秒钟；



寻找中心频率

6. 单击菜单栏中 ，停止采样；
7. 单击菜单栏中 ，软件将自动寻找中心频率，即 SF2+O1；
8. 单击菜单栏中 ，弹出自动寻找脉宽参数设置的对话框，可以用默认值，单击确定，软件自动寻找 90 度脉冲（P1）和 180 度脉宽（P2），结果为一个波峰和一个波谷。如出现多个波峰、波谷或者只有一个波峰无波谷、只有波谷无波峰时，需要调整参数设置对话框中起始或者结束脉宽；



寻找脉宽

9. 找到脉宽后，软件自动把寻找到的P1和P2值记录在数据库中，无需额外保存；

10. 设置NS为2，将TW设置为500ms。将需要测试的样品放入磁体中，单击



开始采样；结束后，记录信号模最大值；将TW增加500 ms，再次单击



，并记录模最大值；比较当前模最大值和前一次的值；如果当前值比前一次的值大，继续增加TW，重复上面步骤，直到模最大值较前一次值增加小于1%，或者达到模最大值（模最大值不再增加或略小于前一次的值）。此时对应的TW就是该样品恰当的TW时间。注意：如果样品 T_1 较短，可将TW开始的时间设置短一点，例如：100 ms，时间间隔也短一些，例如：100 ms。

四、CPMG（测量 T_2 ）实验

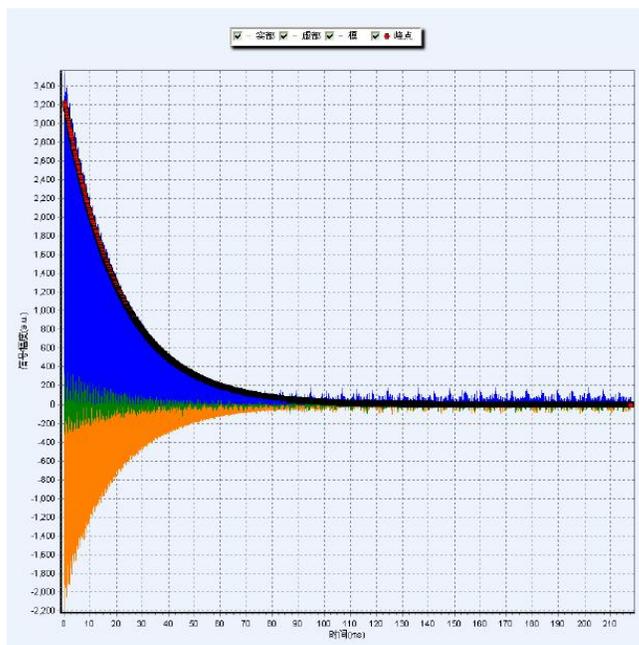
1. 将样品放入磁体箱内；

2. 单击  按钮，新增队列，选择 CPMG 序列，输入所需队列名称，单击确定；



新增队列

3. 输入合适的 SW、RFD、RG1、DRG1 和 DRG1;
4. 通过 FID 实验找到样品合适的 TW 值并输入;
5. 为样品选择合适的 DL1 值, 一般样品信号衰减快, 则 DL1 小, 信号衰减慢, 则 DL1 大;
6. 为样品选择合适的 NECH, 保证整个样品信号完全弛豫;
7. 根据样品信号量大小调节 NS 值以改善采样信号的信噪比 (NS 越大, 信噪比越好, 采样时间越长);
8. 在备注栏里输入测试样品名称等信息;
9. 单击  进行采样; 采样结束后, 数据自动保存至数据库;

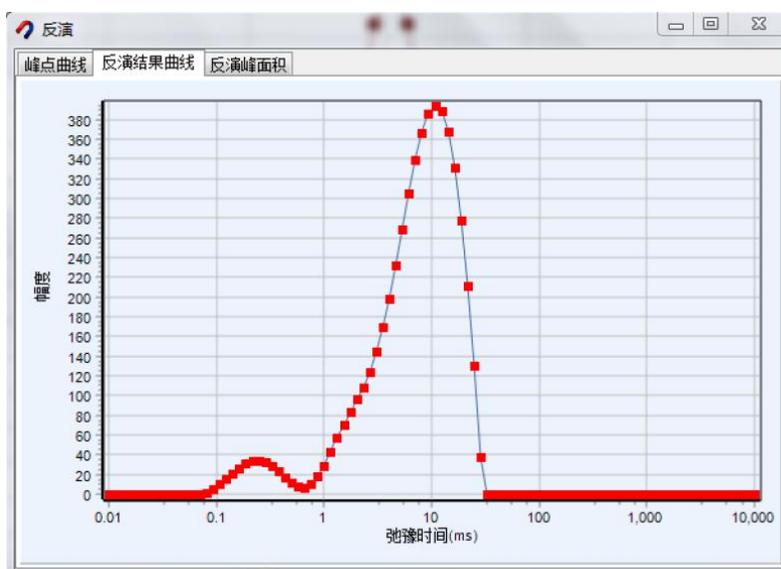


采样结果

10. 单击  反演按钮，弹出反演参数设置对话框，设置合理的反演参数，单击确定进行反演，反演结束后显示反演结果。



反演设置



反演结果

注意：

1) 在进行一组样品实验时，先用信号最弱的样品观察信号是否太弱，再用信号最强的样品观察信号是否失真；RG1、DRG1和PRG这三个参数需要保持一致，否则会影响信号比较；

2) 总的采样时间加上TW的值应该大于5倍的 T_1 ， T_1 指的是样品中

最长的自旋=晶格弛豫时间。

3) 采样时，尽量取掉样品瓶盖，避免瓶盖中垫片的信号干扰；

4) 样品信号量较低时，需要进行去基底反演。先使用合适样品的参数空采样瓶信号，以此作为基底数据。样品数据反演时，在“基底采样数据”一栏选择之前的基底数据后再点击“确定”进行反演，即为去基底反演。

五、数据查询与导出

1. 数据查询界面记录所有该用户的采样结果，在该界面可以进行查询、输出、打开以及反演等功能；

2. 单选或多选采样结果数据（按住 Ctrl 键可以多选），如图，单击数据导出按钮，选择输出路径进行数据输出；

注意：输出结果中不同格式文件对应的文件内容如下表所示：

表文件格式

| 文件格式 | 内容 |
|------|----------|
| .par | 采样参数 |
| .re | Fid 实部数据 |
| .im | Fid 虚部数据 |
| .fid | 原始数据 |
| .pea | 谱峰数据 |
| .inv | 反演数据 |
| .xls | 反演峰面积数据 |

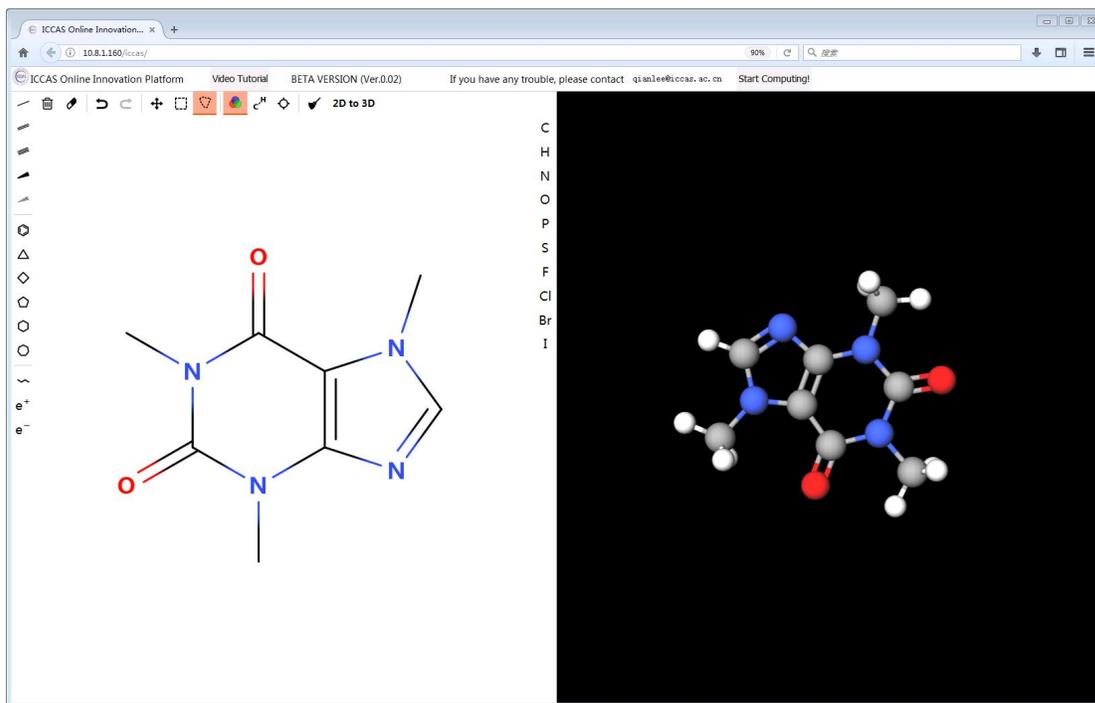
为了排除核磁仪器对样品的干扰，使一系列样品的核磁信号具有可比性，请注意：

1) 在对一组样品进行实验时，请使用相同实验参数（系统参数和序列参数）；

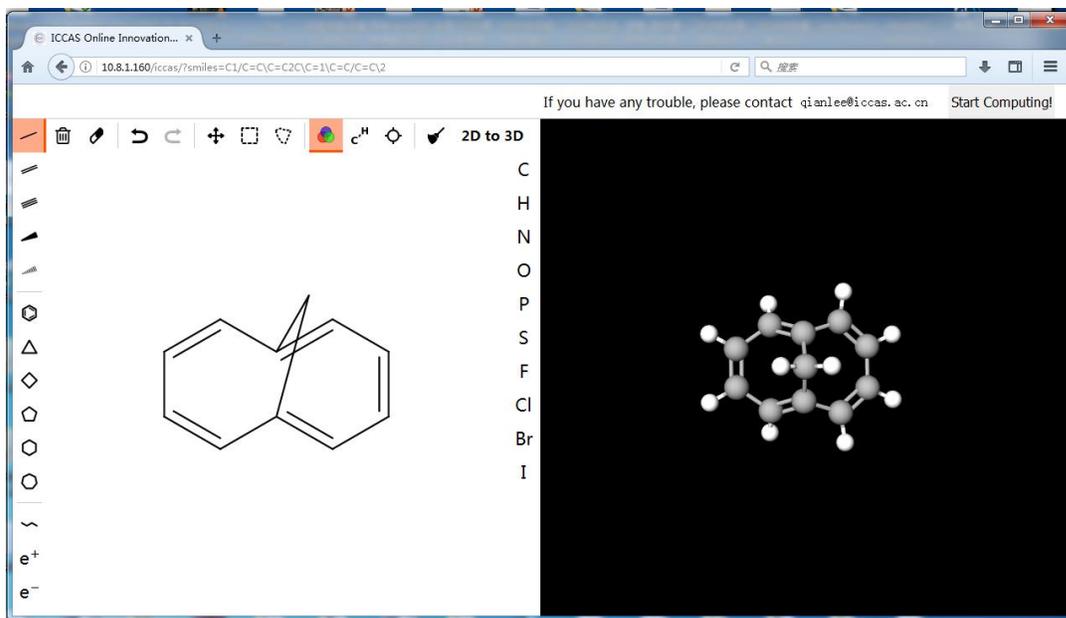
- 2) 保证样品在进行信号采集时具有相同的温度。
3. 原始数据实验者可通过打包压缩邮件传输。

第五部分、基于密度泛函理论的高精度有机分子化学位移在线计算系统平台操作手册（在线视频教程：<http://10.8.1.160/iccas/tutorial.mp4>）

1、打开浏览器，地址栏键入“<http://10.8.1.160/iccas/>”，打开系统平台主界面（如下图）。如果页面能够打开加载下图分子，证明系统正常，可开始计算。主界面上方“Video Tutorial”提供快速视频教程。



2、首先点击左上角垃圾桶，删除测试分子。进一步，在左侧界面构建目标分子结构，完成之后点击左侧界面上方“C-H”按钮进行自动键级分析及显示所有氢原子。进一步，点击左侧界面上方的“2D to 3D”按钮，系统会将左侧构建的分子结构转化为三维结构并在右侧显示。用户可以在右侧三维显示界面利用鼠标左键拖动分子转换分子的观察角度，可检查分子结构构建的准确性。如果分子结构构建确认无误，则可点击界面右上角“Start Computing!”按钮，提交计算任务（如下图）。



3、任务提交之后，系统自动跳转到结果显示界面。由于计算过程需要一段时间，因此如果计算尚未完成，则该页面显示“The computing work has not finished yet, please check it later.”（如下图）。

4、用户可以等待保留此页面，通过刷新页面查看计算是否完成。或者将网址拷贝下来之后，关闭界面。或者记录下结果页面网络地址，关闭浏览器稍后查阅计算进程（关闭浏览器不会影响计算进程）。计算完成之后，结果显示页面如下图所示：

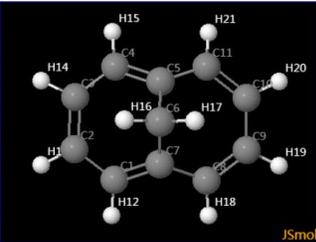
ICCAS Online Innovation Pla... x

10.8.1.160/iccas/computer/090b638afb95e022c9414852133db582/result.php

2. Jain, R., T. Bally, and P.R. Rablen, Calculating accurate proton chemical shifts of organic molecules with density functional methods and modest basis sets. *Journal of Organic Chemistry*, 2009. 74(11): p. 4017-23.

Show Atom Labels! **on off**

| C atoms | ¹³ C chemical shifts | H atoms | ¹ H chemical shifts |
|---------|---------------------------------|---------|--------------------------------|
| C1 | 128.7 ppm | H12 | 7.54 ppm |
| C4 | 128.7 ppm | H15 | 7.54 ppm |
| C8 | 128.7 ppm | H18 | 7.54 ppm |
| C11 | 128.7 ppm | H21 | 7.54 ppm |
| C2 | 125.9 ppm | H13 | 7.23 ppm |
| C3 | 125.9 ppm | H14 | 7.23 ppm |
| C9 | 125.9 ppm | H19 | 7.23 ppm |
| C10 | 125.9 ppm | H20 | 7.23 ppm |
| C5 | 113.5 ppm | H16 | -0.72 ppm |
| C7 | 113.5 ppm | H17 | -0.72 ppm |
| C6 | 33.5 ppm | | |



wire ball&stick
labels on off
Display large small original spin on spin off
Molecular Orbitals homo homo off lumo lumo off

You can download the Gaussian 09 checkpoint file here! [download](#)
You can download the Gaussian 09 log file here! [download](#)

该页面左侧为分子内各原子的化学位移数值，右侧为三维显示的分子结构及原子编号。用户可以选择采用线状（wire）模型或者球棍（ball&stick）模型。

第六部分、核磁实验室其他常见问题

1、上机账号为课题组长姓名，每个账号设有密码。如需新建账号，请向核磁室提交课题组长签字的申请，通过后予以授权。

2、核磁数据的常用处理软件有 Topspin、Mestrenova，相关下载地址：

<ftp://10.8.1.178/nmrsoftware/>

3、数据拷贝

核磁实验室的数据存储已实现数据自动实时上传，无需手动上传，数据下载方式：所局域网内的任何一台电脑，打开“运行”对话框，输入\\10.8.1.227,即可访问服务器查找、下载数据。服务器上的数据存储路径按照相应仪器的型号进行划分。自主上机数据拷贝文件夹：Avance 400 对应北侧实验室东北角 400 兆谱仪，Avance III 400 HD 对应南侧实验室东南角 400 兆谱仪，Fourier300 对应南侧实验室东北角 300 兆谱仪，Avance II 400 对应南侧实验室西南角杂核专用测试的 400 兆谱仪；600 兆送样测试数据拷贝文件夹：Avance 600 对应北侧实验室西北角 600 兆谱仪；Avance III 400 SS 为 400 兆固体核磁数据文件夹。

700 兆液体核磁谱仪与 500 兆微成像核磁谱仪送样测试数据拷贝方式有所不

同。需要用 ftp 软件（winscp 或 filezilla 等）登录 ftp 服务器（ftp://10.8.1.178），ftp 登录用户名：nmrdata，密码：123456。NEO 700 和 Avance III 500 WB 两个文件夹分别对应 700 兆液体核磁谱仪与 500 兆微成像核磁谱仪数据。

4、预约规则：所有测试必须预约测试，网址 <http://samp.cas.cn/>。

(1) Avance 400、Avance III 400 HD、Fourier 300 谱仪时间预约规则如下表所示：

预约规则表

| 预约时段 | | 允许时长 | 测试项目 |
|-------|---------------|--------|---------|
| 周一至周六 | 8:00-12:00 | ≤1 小时 | 氢谱 |
| | 14:00-21:00 | | |
| | 12:00-14:00 | 可长时间预约 | 氢谱、快速碳谱 |
| | 21:00-次日 8:00 | | |
| 周日 | | 可长时间预约 | 氢谱、碳谱 |

(2) Avance400 II+按需进行时间预约测试。

(3) 项目预约，送样测试周期：液体 NEO 700（1-3 天，特殊测试约一周），Avance 600（1-3 天，特殊测试约一周）、Avance III 500WB（1-3 天，特殊测试约一周）、固体 Avance III 400（常规测试约两周，复杂测试更长）、固体 NEO 600（待步入正轨常规测试约两周，复杂测试更长）。

为了更加合理的分配上机时间，发挥仪器的最大效能。请大家自觉遵守以上预约规则，遵照如上预约规则进行测试的研究人员，有权联系管理员中止违反预约规则人员的测试项目。如遇特殊情况，请联系核磁管理员说明情况后方可预约。

5、如何在仪器共享网上查找化学所所有核磁谱仪情况？



元素分析组

第一部分、实验室用酸安全及安全急救措施

一、实验室用酸安全细则

实验室常用消解介质均有很强氧化性及腐蚀性（ HNO_3 、 HCl 、 HF 、 H_2SO_4 、 HClO_4 、 H_2O_2 ），容易对人体造成损伤，发生危险。因此在使用过程中必须严格按照以下规定执行：

（1）取用浓酸时必须全程在通风橱里操作，并做好安全防护（佩戴耐酸碱防护手套、护目镜、口罩或防毒面具）。

（2）取用浓酸时，不得用鼻子嗅其气味或将瓶口对准人的脸部。

（3）浓酸稀释时应取浓酸加入水中，以防飞溅灼伤。

（4）取用浓酸时可用移液枪吸取，量大时可直接倒出。移液枪取酸时应慢慢放，吸液过快易将酸吸入移液枪，导致移液枪腐蚀损坏，放液过快易发生酸液飞溅，移液枪取液时除枪头以外的部分不可与浓酸瓶接触，每次取液后应及时更换枪头，移液枪必须枪头朝下悬挂放置，严禁平放或倒放。倒酸时瓶口之间不可直接接触，避免相互污染。酸使用完毕应立即将瓶盖拧紧，放回原处避光保存。

（5）实验之前必须充分了解酸与待测物质的反应剧烈程度，选择合适的介质及反应条件，以免发生剧烈反应造成危险。

（6）过氧化氢在加热到 100°C 以上时开始急剧分解，消解使用时必须低温缓慢滴加，控制反应速率，以免发生喷溅等危险事故。

（7）高氯酸加热容易发生爆炸，严禁用于平板加热消解或微波消解，未经允许不可擅自使用。

（8）实验过程中产生的所有酸废液必须倒入废液瓶中集中处理（含氢氟酸废液倒入专用的塑料废液瓶），不能倒入水槽，以防侵蚀下水道及环境污染。

二、实验室安全急救措施

（1）危险化学品泄露的处置

①切断火源、电源；

②隔离泄漏污染区，尽快找到泄漏原因，采取堵漏措施；浓酸洒漏，先用碳

酸氢钠溶液中和，直至不产生气泡为止，然后用水冲洗，再用抹布擦净；浓碱洒漏，先用稀醋酸中和，直至不产生气泡为止，然后用水冲洗，用抹布擦干净；

③对中毒人员进行急救，并尽快送到医院。

(2) 吸入酸或碱

迅速脱离现场至空气新鲜处，保持呼吸道通畅，如呼吸困难，需输氧；如呼吸、心跳停止，立即进行心肺复苏术，迅速就医。吸入氢氟酸不可进行人工呼吸，可能导致进行人工呼吸者本人吸入氟化氢气体，给予1% 碳酸氢钠溶液雾化吸入，迅速就医。

(3) 眼睛化学灼伤

凡是溶于水的化学品进入眼睛，立刻用大量流动水冲洗；若是碱灼伤，用1% 硼酸溶液淋洗；若是酸灼伤，则用1%的碳酸氢钠溶液淋洗。可配备洗眼器清洗。氢氟酸用六氟灵溶液冲洗眼睛 20 分钟，迅速就医。

(4) 皮肤化学品灼伤

①强酸烧伤

酸的致伤特点是使组织脱水，蛋白沉淀，凝固，故烧伤后创面迅速成痂，界限清楚，因此限制了继续向深部侵蚀。但是氢氟酸具有溶解脂肪和脱钙的作用，烧伤后创面起初可能只有红斑或皮革样焦痂，随后即发生坏死，向四周及深部组织侵蚀，可伤及骨骼使之坏死，形成难以愈合的溃疡，伤员疼痛较重。

硫酸、盐酸、硝酸烧伤：立即脱去污染的衣着，硫酸应立即用纸或布轻沾去残留酸，切忌擦破皮肤，然后用大量流动水冲洗至少20分钟；盐酸、硝酸可立即用水冲洗，冲洗后可用1%碳酸氢钠溶液或肥皂水等中和留在皮肤上的氢离子，中和后，仍继续冲洗。创面采用暴露疗法。

氢氟酸烧伤：立即脱去污染的衣着，在喷溅发生后的60秒内使用六氟灵溶液清洗，一瓶六氟灵洗眼液冲洗一只被喷溅的眼睛，一次使用完整个包装。如果一只眼睛灼伤，冲洗时，注意侧头将灼伤的眼睛转到下方，以免污染另一只眼睛。如遇皮肤喷溅，直接将六氟灵溶液倒在被喷溅部位连续冲洗直至用尽，皮肤外用葡萄糖酸钙软膏并尽快就医。注意，事故发生后，应第一时间使用六氟灵溶液冲洗，避免用水冲洗而延误六氟灵的作用时间。

②强碱烧伤

碱烧伤的特点是与组织蛋白结合，形成碱性蛋白化合物，易于溶解，进一步使创面加深，因此碱造成的损伤比酸烧伤更严重。

急救处理原则：立即脱去污染的衣着，及时用流动冷水冲洗至少20分钟，再用1%硼酸溶液冲洗，及时送医。石灰烧伤用水冲洗前应将石灰粉末擦拭干净，以免生石灰(氧化钙)与水生成氢氧化钙(熟石灰)放出大量的热加重创面。

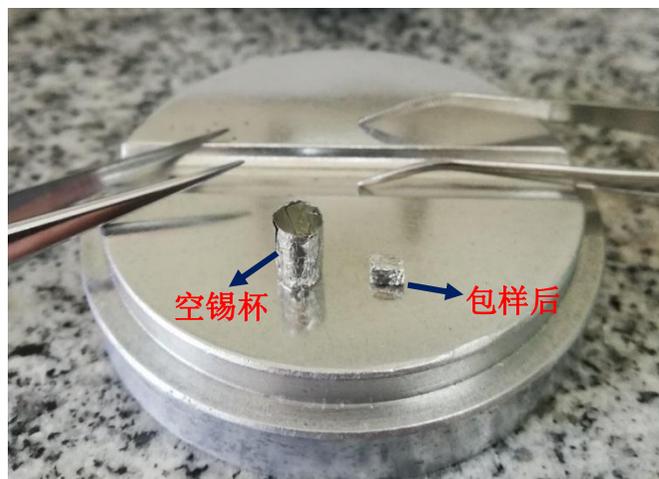
③过氧化氢烧伤

立即脱去污染的衣着，用大量流动清水冲洗至少20分钟，1%的碳酸氢钠溶液湿敷后迅速就医。

第二部分、样品制备

一、元素分析样品制备

1、样品制备：用镊子夹取4×6 mm规格的空锡杯去皮（天平精度0.000001 g），在锡杯中加入样品，称样量0.7-1.3 mg，将锡杯封口并折叠成规则形状（样品不能漏洒）。



2、样品要求：

固体样品：提纯干燥，粉末状，均匀。

膜类样品：剪碎，大小均匀。

液体样品：提纯干燥，粘稠，不易挥发。

样品量： CHN > 10 mg, S > 10 mg, O > 10 mg。

包装：玻璃或塑料样品瓶（严禁用自封袋，静电大的样品首选玻璃瓶），瓶身上标姓名和编号。

二、电感耦合等离子体质谱样品制备

1. 样品制备

（1）计算：先根据样品中待测元素含量（估值）进行计算，确定 m_1 - m_4 的量。

$$\text{样品溶液浓度 } c = \frac{a \times m_1 \times m_3}{m_2 \times m_4}$$

a --样品中待测元素含量；

m_1 —样品质量； m_2 —定重质量； m_3 —稀释取重质量； m_4 —最终质量。

（注：电子天平精度至少为万分之一克， m_3 为稀释时称取的液体重量，与 m_4 成正比， m_3 取值太小会产生较大误差。）

（2）选择合适的消解介质及消解条件进行消解

根据样品性质及待测元素在酸中的稳定性与共存性选择合适的介质（酸或双氧水等）消解样品。

根据样品基体及待测元素的性质选择合适的消解条件，如样品在常压条件下无法消解完全，可选择用微波消解仪消解，CEM Xpress $\leq 200^\circ\text{C}$ ，CEM Easy Prep $\leq 240^\circ\text{C}$ 。

（3）配制样品溶液

样品消解完全后，加热赶酸至体积少于0.5 ml（溶液必须保持清澈无沉淀析出），在容器中加入标液酸度一样的溶液，少量多次转移残余的消解液，保证容器中的待测元素转移完全。将转移出的溶液用天平定重，如果浓度太高，可用重量法进一步稀释。如果此时仍有不溶物，而待测元素已全部消解，用微孔滤膜将不溶物过滤，滤液可进行测试。

如果样品本身即为澄清溶液的液体样品，且满足所有的上机要求，可以直接上机测试，否则也需要进行必要的前处理。

2. 样品要求：

（1）样品溶液澄清透明，不含不溶性微粒。

可溶性固体总量（TDS） $\leq 2\%$ ，溶液中有有机物含量 $\leq 5\%$ ；

溶液酸度与标准溶液一致：

$c(\text{HNO}_3) = 2\%$ ， $c(\text{HCl}) : c(\text{HNO}_3) = 6\% : 2\%$ ， $c(\text{HNO}_3) : c(\text{HF}) = 2\% : 2\%$

样品量：大于 10 ml

包装：玻璃瓶或塑料样品瓶，瓶身及瓶盖上均标姓名和编号。

(2) 样品浓度要求

待测元素浓度在标准曲线浓度范围内，标准溶液浓度范围：

① Li, B, Na, Mg, Al, K, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, Re, Pb, Bi: 0.5-500 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml)

② Au, Pd, Pt, Ir, Ru: 0.5-100 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml+36%盐酸 6 ml)

③ Zr, Hf, W, Mo, Ta, Nb, Ti: 0.5-100 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml+40%氢氟酸 0.2ml)

④ Ag: 0.5-100 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml)

⑤ Hg: 0.05-2 ppb (介质：超纯水 100 ml+36%盐酸 2 ml)

⑥ Ca: 5-500 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml)

⑦ La (La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu): 0.5-100 ppb (介质：超纯水 100 ml+68%硝酸 2 ml)

⑧ K, Na, Ca, Fe, Al, Mg 环境中含量较高的元素 >20 ppb

(3) 含有机成分的样品必须消解完全，消解过程尽量避免待测元素损失有机物可加 H_2O_2 预消解，否则易导致锥口积碳堵塞，等离子体熄火等问题部分元素高温赶酸易挥发，如Hg，易导致回收率低，测试不准确。

(4) 样品前处理未引入新的干扰离子

所有容器酸液浸泡清洗（消解罐用微波消解程序清洗）；酸，洁净度高于优级纯，其金属杂质含量低于ppb级别，如trace metal级、BVIII级、MOS级；超纯水，电阻率 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ (25℃)。

第三部分、上机操作

仪器一、元素分析仪 Flash Smart (NCH 模式)

1. 清灰份

打开进样器与反应管之间的连接，用长钩将石英灰份管取出，将管内残渣清理干净后在灰份管底部装填约0.5 cm高石英棉，再将接灰管装回仪器内，旋紧进样器与石英管的连接。

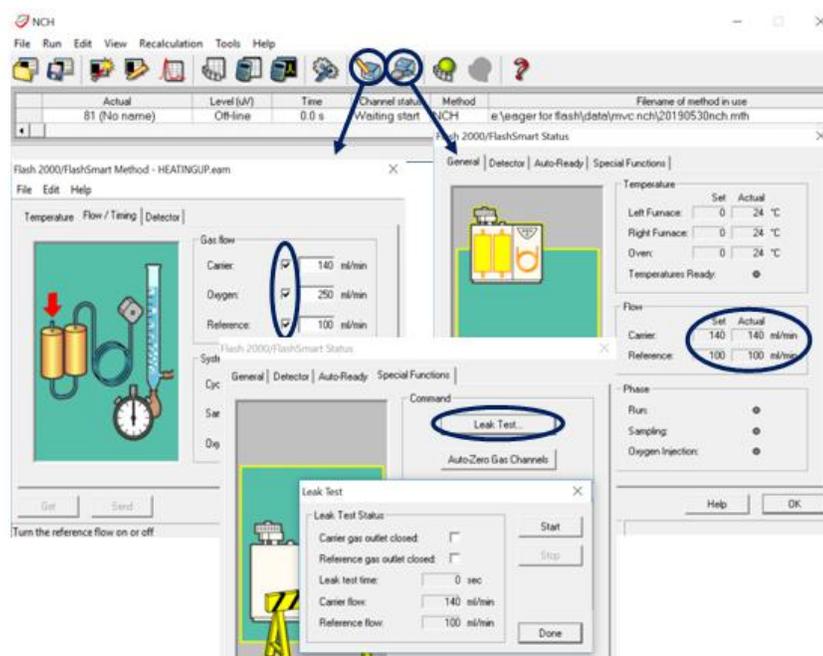
2.打开气体，仪器及软件

打开He气与O₂气，压力设置0.3 MPa，按顺序依次打开主机电源、MVC电源，电脑、EA(Elemental Analyzer)软件EagerSmart，出现模式界面，选择NCH模式。

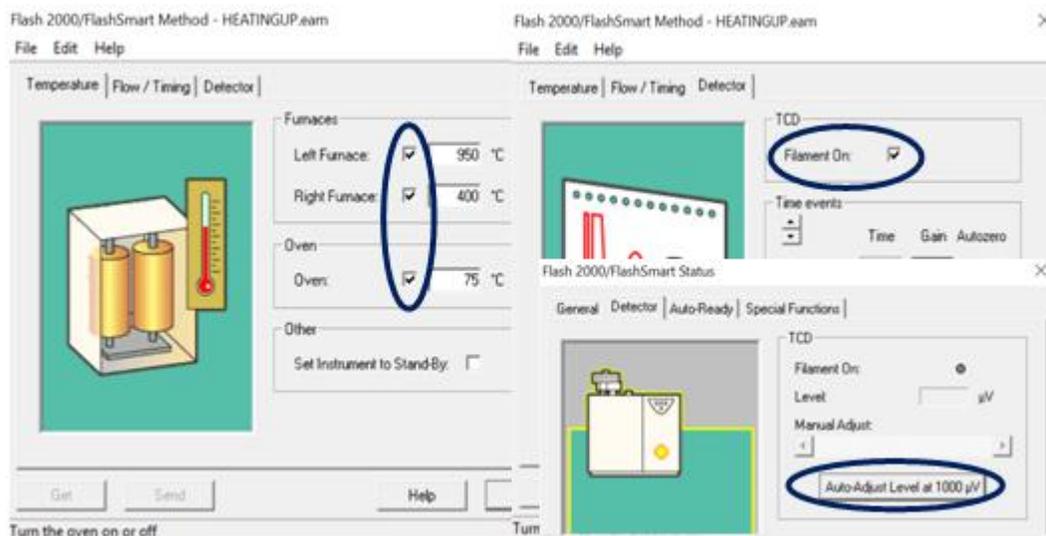
3.气路检漏，升温及TCD稳定

点击参数设置图标，设置气体流量参数，点击send，OK发送给仪器。

点击，General界面中确定气体流量参数发送成功，点击Special Functions→leak test开始检漏，300 s内carrier和reference均小于5 ml/min检漏成功，点击done完成检漏。



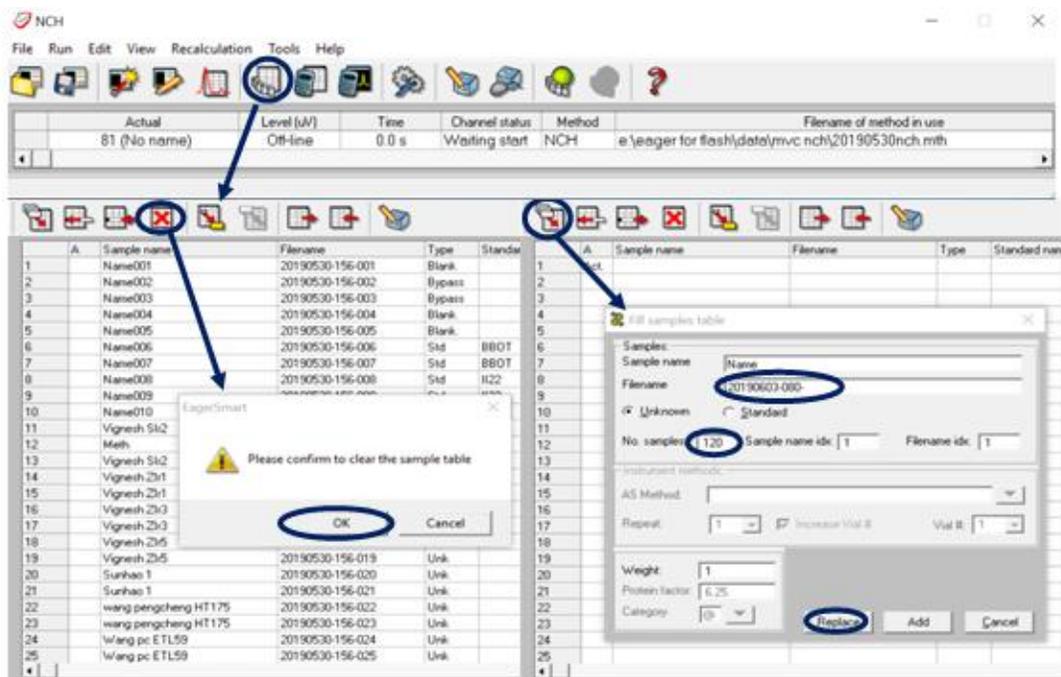
设置温度，打开TCD检测器。温度升至预设值后，观察TCD电流稳定后，点击Auto-Adjust Level at 1000 μ V。



4. 编辑样品列表

点击样品列表图标 ，点击删除图标，OK，删除过期样品列表。点击填写图标，填入Filename，No sample，点击replace。

编辑样品列表，按照如下顺序进行测试blank（1个）- bypass（3个）- blank（1个）- standard（5-6个）- check（1-2个）- unknown（20个）- standard（5-6个）- check（1-2个）- unknown（20个），按称样的顺序添加样品名称并输入样品质量，每个样品测试两次，样品名称不可重复，根据实际样品更改样品类型Type，编辑完成后点击保存图标 ，命名后点击OK，保存。



5.称样

根据未知样品中NCH元素含量范围选择合适的标准样品，并称量不同重量，使标准曲线中NCH含量分布均匀。包好的样品按逆时针方向放入样品盘，第一个样品放在正对进样孔的位置。点击 ，Start now开始分析样品序列。点击View，View sample being acquired观察样品出峰实时状态。

6.标准曲线拟合及未知样品含量计算

①清除旧的标准曲线：打开OFF-LINE Analyzer模式，离线模式下选择目标文件打开 ，选择Recalculation→ Reset Calibration factors→点击3次OK清除旧的标准曲线及样品数据。

②判峰：点击 ，打开  选择一个当日标样的峰形图，点击open，在此界面点击  选择Components sequence: NCH, Time window: 20%，点击OK。点击Peak Identification，点击OK，峰形图上显示出对应元素名称，点击OK。

③点击 ，勾选Identify peaks，Sample sequence填写First sample与Last

sample的编号，First sample对应第一个标样，Last sample对应最后一个标样，点击OK，对标准样品中元素含量进行计算。

④在OFF-LINE Analyzer主界面菜单栏点击View，View Calibration curve，观察标准曲线，在此界面点击不同元素，选择观察不同元素的标准曲线，标准曲线中偏差较大的点可去除，关闭界面，点击OK保存曲线。

⑤点击 ，勾选Identify peaks，Sample sequence填写First sample与Last sample的编号，First sample对应第一个未知样品，Last sample对应最后一个未知样品，点击OK，对未知样品中元素含量进行计算。点击  查看分析结果。check样品的含量在误差范围内，说明标准曲线的线性良好，可以对后续未知样品进行定量。测试结果小数点后保留两位数字，每个未知样品的两次分析结果误差 $\leq 3\%$ ，如超过误差允许范围需重新测试。

7.仪器降温及关机

仪器降温：点击 ，在Temperatrue界面里勾选Set Instrument to Stand，点击send发送，点击OK，关闭界面时点击NO，不保存设置。点击  等待仪器温度降至400℃以下可关机。

仪器关机：首先关闭软件，弹出提示保存方法对话框，选择Yes，选择当日保存的方法文件，点击save，弹出是否替换对话框，选择Yes。关闭电脑，关闭MVC电源，主机电源，关闭O2和He气瓶。

仪器二、电感耦合等离子体质谱 iCAP-RQ

一、仪器的准备

1. 点火（Standby到Operate状态）

- 1) 打开液氩罐开关及增压阀开关，确认Ar气是否足够，调至分压至0.65 MPa（6.5 bar，不能大于0.7 MPa），打开He气钢瓶，调节分压至0.1 MPa。
- 2) 打开排风，确认排风工作正常，风压在0.4-0.7 mbar之间。
- 3) 打开冷却循环水开关。



4) 启动Instrument Control程序，检查分析室真空度，真空达到 6.0×10^{-7} mbar以下才可以进行后续操作。

5) 装好蠕动泵管，压下泵管夹。准备好调谐溶液、超纯水。

5) 把进样毛细管插入纯水中。



6) 单击ON → YES, 此时仪器会点燃等离子体并完成抽扩散区真空打开滑阀等一系列动作最后自动进入Operate状态。

7) 调节泵夹，使样品管与内标管同时进液通畅。

2. 仪器的灵敏度检测及调谐及校正

注意：质量校正可定期执行，检测器校正须在仪器有提示时做。

(1) 将样品管与内标管同时放入1 ppb Tune B Solution溶液中，数据显示界面观察Li、Co、In、U的信号强度及氧化物，双电荷干扰是否满足仪器运行条件。



如果不满足可执行Autotune，进行STD及KED模式下调谐。



(2) 做质量校正 (Mass Calibration)：将样品管与内标管放入Setup Solution中，点击 Mass Calibration，进入向导界面根据提示进行操作（只需点击Next即可）。



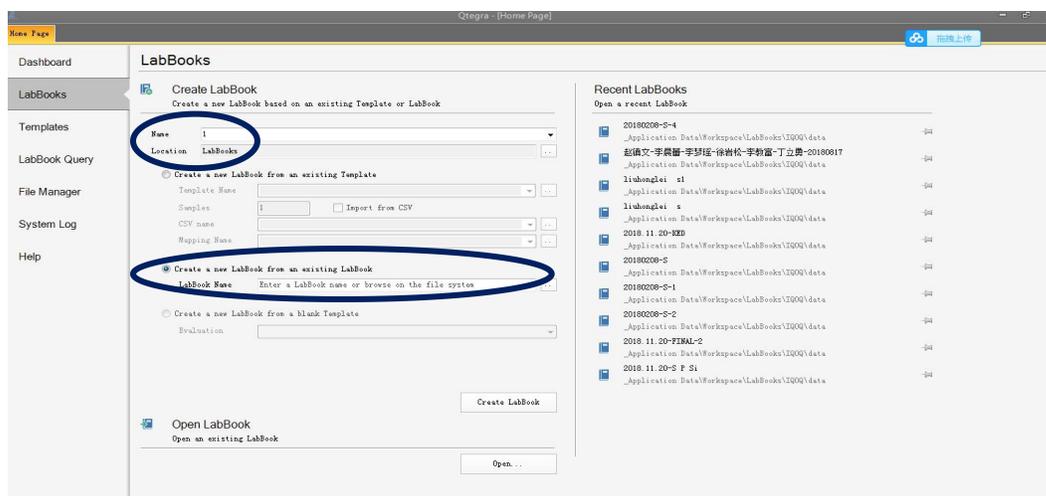
(3) 做检测器校正 (Detector Cross Calibration)：将样品管与内标管放入Setup Solution中，点击Detector Setup，进入向导界面根据提示进行操作（只需点击Next即可）。

二、新建LabBook编辑实验方法进行样品测试



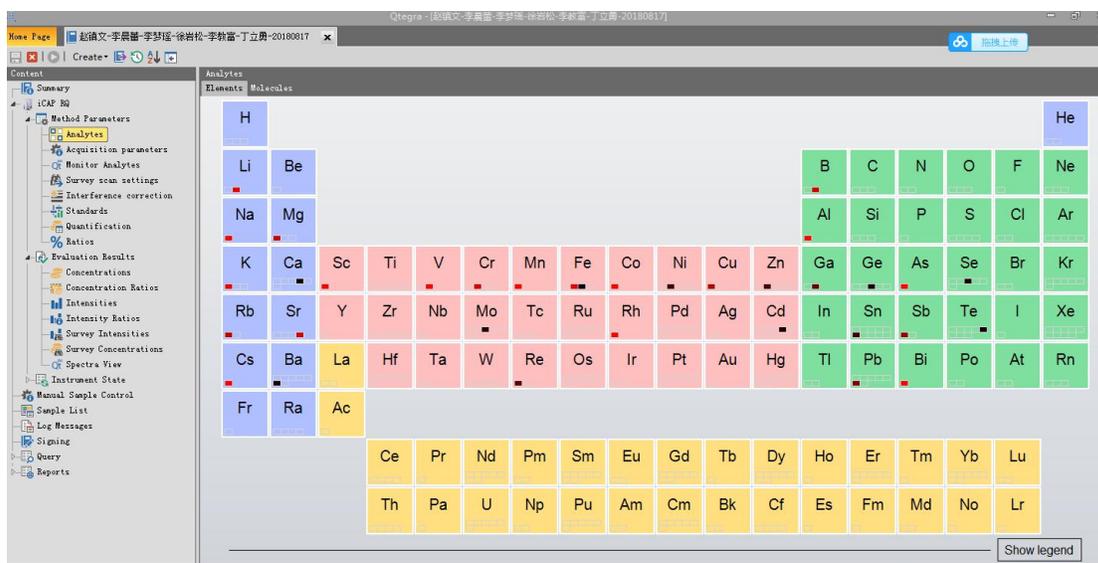
启动Qtegra Experiment Editor程序，打开或新建Labbook，LabBooks界面下，Name输入命名，Location输入存储位置。通过Create a new labbook from an existing labbook来完成方法编辑，点击Create LabBook。在Method Parameters编辑方法后单击LabBook界面上方 的保存图标， 由灰色变为绿色，点击

▶，LabBook 即会被发送至待测的采集序列中。单击界面下方序列界面中的▶图标，启动数据采集，根据软件提示进行样品测试。

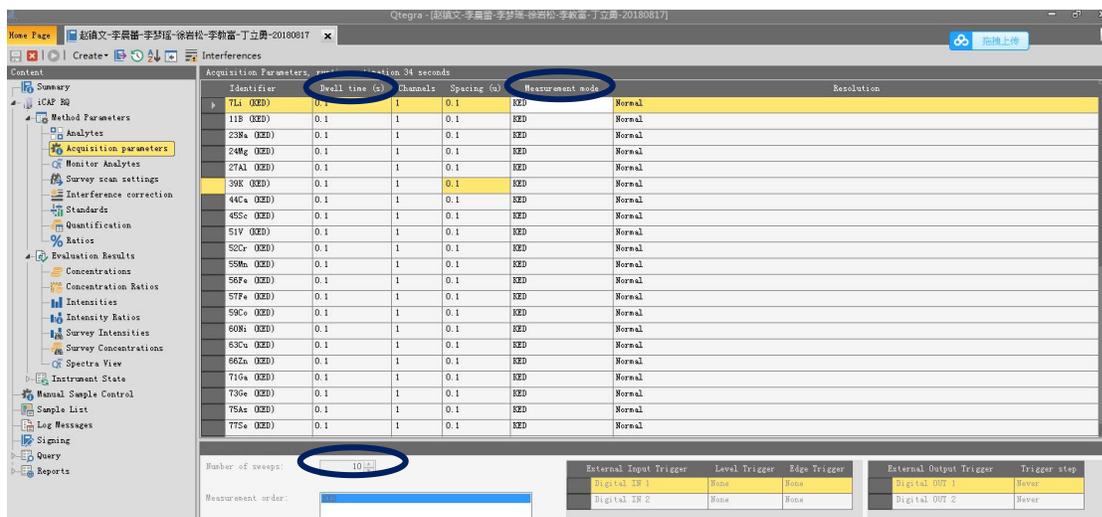


1) Method Parameters中编辑方法

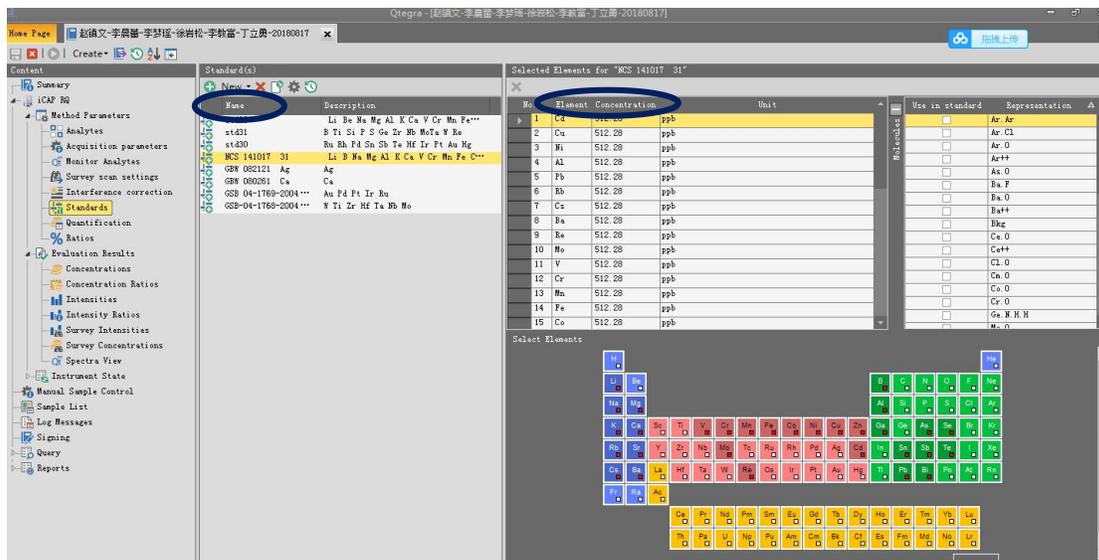
A) Analytes界面中选择内标元素及待测元素/分子的质量数，单击左键选择推荐质量数，可根据需要点击右键选择其它质量数。

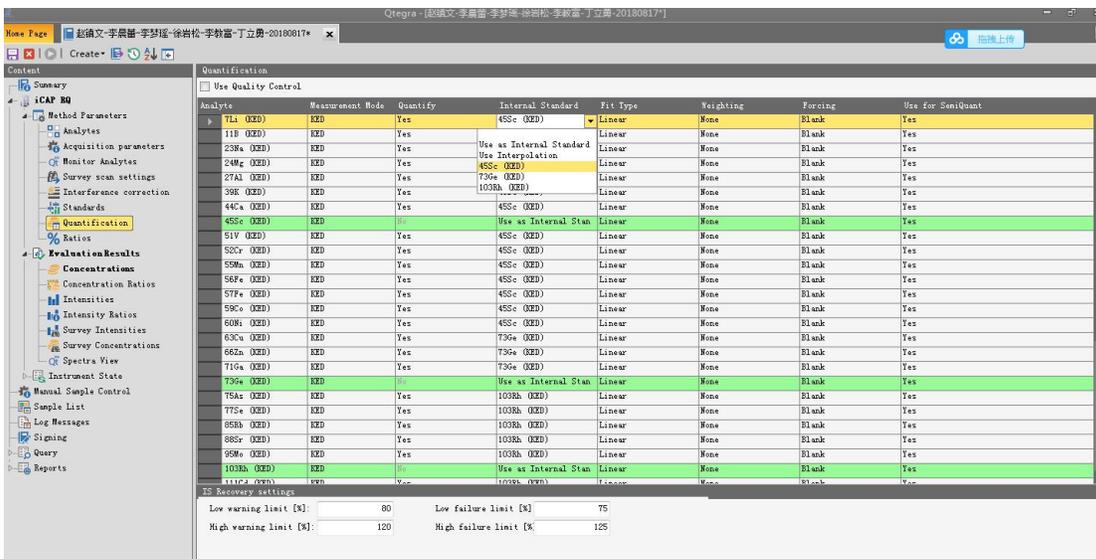


B) Acquisition parameters界面中设置所选质量数的驻留时间0.1 s和分析模式STD或KED，扫描次数10。



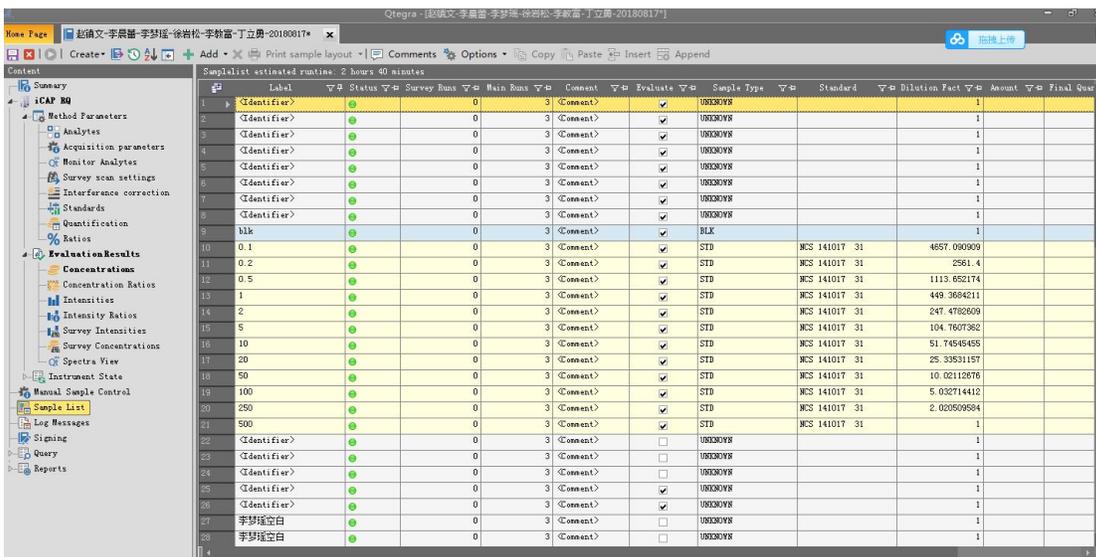
C) Standards界面中设置标准溶液的名称，界面中输入标准溶液中待测元素的浓度含量及单位（无需选择内标元素）。





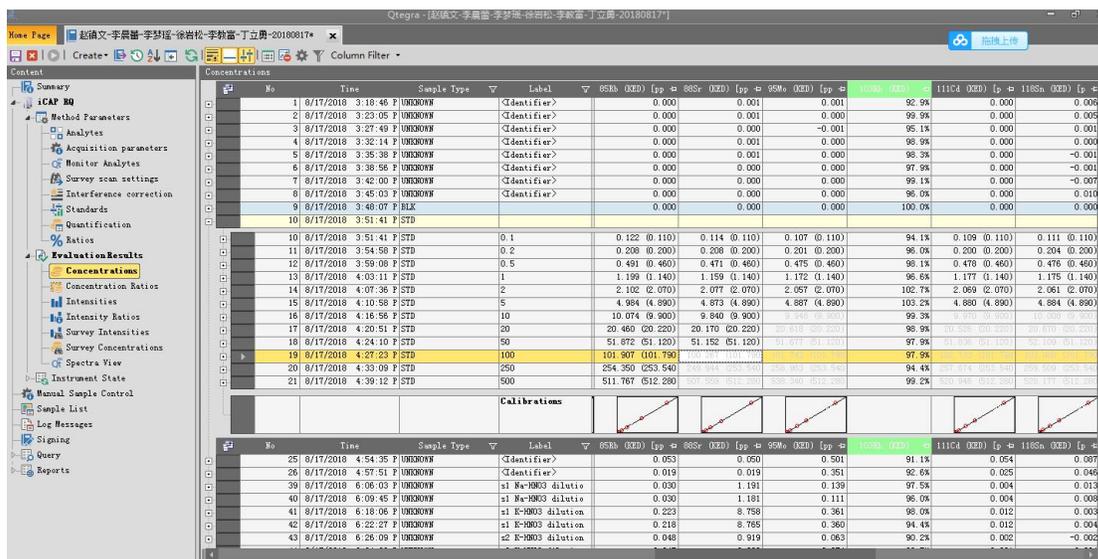
E) Manual Sample Control界面中设置Uptake样品提升时间45 s和Wash冲洗时间15 s。

F) Sample List界面中输入测试样品的信息，其中Suyvay Runs中设置成1可进行半定量扫描，常规设置0；Main runs设置3，一次进样测试3次；取消勾选Evaluate则在结果中不显示对应内容；Sample Type中设置样品类型，若为标准溶液空白则选择BLK，若为标准溶液则选STD，若为样品则选择UNKNOWN；Standard中选择标准溶液名称；Dilution Factor为样品或标准溶液稀释倍数（用单标或混标配制标准溶液，标准溶液浓度之间相差5-10倍，一般至少用5个点，计算出标准溶液中最高浓度与每一个浓度之间的稀释倍数）。

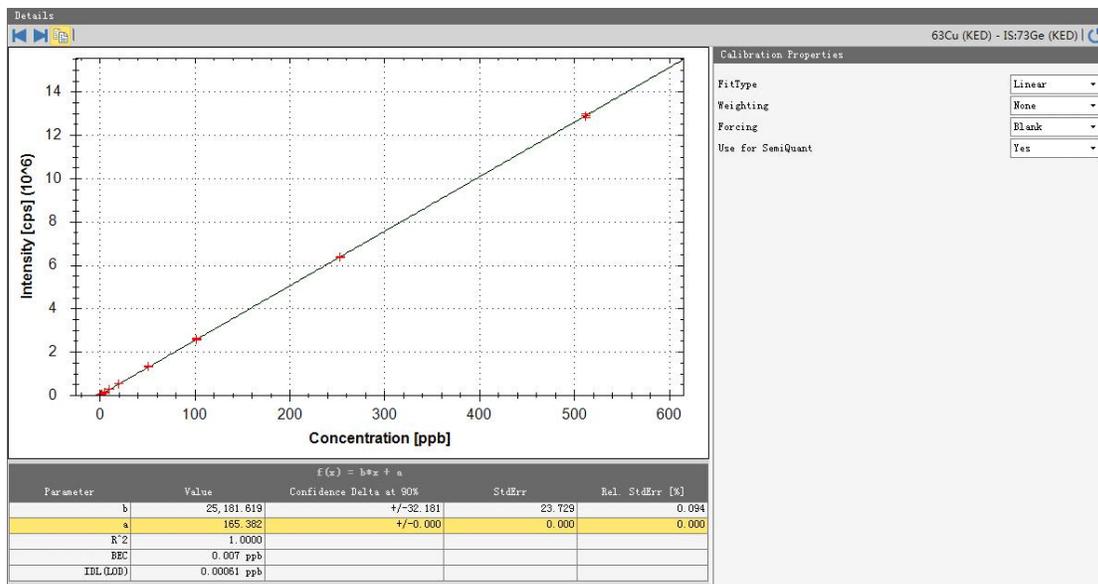


2) Evaluation Results中分析实验结果

A) Concentrations中显示测试结果，包括校准曲线信息、内标校正回收率、测试结果等。可根据测试结果重新选择标准溶液浓度范围，以得到更加准确的测试结果(如果样品的浓度很低可将高浓度的标准溶液从标准曲线中剔除后重新定量)。



双击校准曲线小图，可查看标准曲线详细信息，包括线性、BEC、IDL等。



C) Intensities中显示各样品待测质量数的信号强度值（包括内标）。

E) Survey Intensities当做半定量扫描时显示所有扫描元素的强度信号。

F) Survey Concentrations当做半定量扫描时显示所有扫描元素的含量值。

G) Instrument State显示每个样品测试时重要仪器参数的反馈值。

三、熄火（由Operate返回Standby状态）

1) 确认所有样品已分析完成，将样品管与内标管放入干净的稀酸溶液进样，进行彻底清洗，确保进样系统中已无高浓度元素残留，切换至STD模式，更换超纯水对进样系统进行冲洗（至少5分钟）。



2) 单击Off  → YES，仪器会自动执行关闭滑阀、熄火、冷却矩管等一系列动作并最终回到Standby状态。

3) 待仪器回到Standby状态后，关闭循环水，排风，Ar气开关及增压阀开关，He气开关，松开蠕动泵泵夹，倒废液。

第四部分、数据处理

详见第三部分。

第五部分、测试注意事项

1、元素分析仪测试项目：CHN、S、O定量分析

F含量高的样品所有测试均不适合，含金属元素、P、Si、F样品不能测O

2、电感耦合等离子体质谱测试项目：除C、H、O、N、F，卤素及S、Si、P以外的金属元素及部分非金属元素的定量分析。

消解过程必须注意用酸安全，需了解样品特性（物理化学性质），在酸中的稳定性及反应剧烈程度（放能化合物），微波消解样品更需注意安全，高氯酸及有机溶剂等严禁微波消解。

第六部分、常见问题及解决

仪器一、元素分析仪

1) 测试结果与理论值不符

解答：说明样品纯度不高，可继续提纯，干燥，重新测试。

2) 样品纯度很高，但是测试结果与理论值不符

解答：样品纯度很高，但是如果内含水或其他溶剂，会导致测试结果不准确。

3) 两次或多次测试结果之间误差很大

解答：一般提供两次平行的测试结果（误差小于3%），但是样品不均匀会导

致测试结果之间误差很大。

仪器二、电感耦合等离子体质谱

1) 测试结果与理论值不符

解答：严格的样品前处理是准确量的前提，必须严格按照前处理要求处理样品，需确定待测元素是否完全溶于待测溶液，溶液是否被污染。

2) 如何确定前处理是否操作失误

解答：待测样品与平行样做对比，如果测试结果误差很大应检查前处理是否存在处理不当。

参与编写者：(按姓氏笔画)

**丁丽萍、王 娴、丰荣娟、王振鹏、孙 杨、关 波、刘美蓉、
刘健安、李书沐、李兴红、李巧连、向俊锋、辛 斌、张雪迎、
罗晓菲、武宁宁、岳纪玲、郝 项、赵镇文、赵志娟、泰 靖、
崔 洁、梁同玲、韩娟娟、魏金超**

