

文件编号：WU-ISCMS-QM 20213808

版本号：V 2.0

受控状态：

分发号：

分子科学公共实验平台

质量管理文件

傅里叶变换显微红外光谱

ThermoFisher Nicolet iS50 标准操作规程

2020 年 1 月 13 日发布

年 月 日实施

分子科学公共实验平台 发布

目 录

1. 目的	1
2. 范围	1
3. 职责	1
4. 实验室人员职责和安全管理规范	2
5. 光谱实验室仪器设备管理规范	2
5.1 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪使用制度	3
5.2 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪预约制度	3
5.3 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪培训考核制度	4
6. 内容	5
6.1 样品准备	5
6.2 开机和预热仪器	5
6.3 红外主机（主样品仓、ATR 模块和近红外模块）操作步骤	6
6.3.1 联机	6
6.3.2 实验参数设置	7
6.3.3 装样操作	10
6.3.4 光谱采集过程	12
6.3.5 谱图对照	12
6.4 显微红外模块操作步骤	12
6.4.1 开机	13
6.4.2 联机	13
6.4.3 显微模块反射方式	13
6.4.4 显微模块透射方式	14
6.5 结束前的检查	16
7. 相关/支撑性文件	16
8. 记录	16
附录 1. 红外压片过程和注意事项	17
附录 2. MCT 检测器如何添加液氮	19
附录 3. 显微模块反射模式对焦	20
附录 4. 显微模块透射模式	21
附录 5. 显微红外 Mapping 测试方法	22

1. 目的

建立傅里叶变换显微红外光谱仪的标准使用操作规程, 使其被正确、规范地使用。

2. 范围

本规程适用于所有使用 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪的用户。

3. 职责

3.1 用户: 严格按本程序操作, 发现异常情况及时汇报设备管理员。

3.2 设备管理员: 确保操作人员经过相关培训, 并按本规程进行操作。

3.3 文章致谢格式

根据学校指导意见, 使用各校级平台仪器设备表征产生的科研成果必须致谢平台。如果您在文章成果中使用了光谱、色质谱、磁共振波谱以及其他属于分子科学平台的仪器设备, 请务必在文末致谢分子科学公共实验平台。

英文文章致谢:

① Acknowledgement: The author thanks (Dr. XXX from) Instrumentation and Service Center for Molecular Sciences at Westlake University for (the assistance/discussion/supporting in) ... measurement/data interpretation.

② Coauthorship on the resulting publications would be appreciated if our staff make technical contributions (including but not limited to critical sample preparation, novel experiment designation and comprehensive data analyzation).

Affiliation address: "Key Laboratory of Precise Synthesis of Functional Molecules of Zhejiang Province, School of Science, Instrumentation and Service Center for Molecular Sciences, Westlake University, 18 Shilongshan Road, Hangzhou 310024, Zhejiang Province, China."

中文文章致谢:

① 致谢: 感谢西湖大学分子科学公共实验室平台 XXX 博士(或者 XXX 老师)在.....表征或数据分析上提供的帮助。

② 共同作者: 如果分子科学平台老师在您课题组样品表征或文章发表上有重要技术贡献(包括但不限于关键样品制备、新型实验设计和深度数据分析), 我们感谢您将相关老师列为共同作者, 作者单位地址如下: 西湖大学, 分子科学公共实验平台, 功能分子与精准合成浙江省重点实验室, 杭州, 310030, 浙江。

4. 实验室人员职责和安全管理规范

- 4.1 相关人员进入实验室之前必须通过学校、中心和平台的安全考试或考核, 并严格遵守光谱实验室的各项安全注意警示标识。严禁无关人员进入实验室。
- 4.2 平台设备须经培训考核后方可操作, 严格遵守仪器操作规程并做好实验记录, 未经考核者严禁触碰和使用仪器。
- 4.3 请按制样要求进行测试或送样, 因样品不符合上机要求造成仪器损坏的, 无论独立上机或是委托测试, 都将由用户所在课题组承担责任。
- 4.4 实验室通道及消防紧急通道必须保持畅通, 所有实验人员应了解消防器具与紧急逃生通道位置, 并应掌握消防器材的正确操作。
- 4.5 使用化学试剂或药品前, 必须了解其物理化学性质、毒性及防护方法, 使用时必须进行个人防范措施。
- 4.6 使用液氮时应穿戴实验服、护目镜、防冻手套。
- 4.7 使用烘箱请先联系技术员, 烘箱用完请及时取走样品, 烘箱不可过夜操作。
- 4.8 使用实验室气瓶, 须经实验室技术员培训指导后方可操作。
- 4.9 严禁戴手套接触门把手。禁止随意丢弃实验废弃物。禁止将锐器、玻璃、枪头丢弃在常规垃圾箱中。
- 4.10 使用激光、射线设备及相关附件时, 应严格遵守设备操作规程, 在激光、射线设备附件未关闭之前, 禁止打开样品仓。使用射线设备时还需打开射线剂量报警器, 无关人员严禁进入控制区。
- 4.11 不可擅自做变温实验, 如有需求请务必联系技术员; 进行高温实验时需技术员在场方可进行。
- 4.12 实验室应保持整洁, 严禁摆放与实验无关的物品如食品和饮料。严禁在实验室进食与抽烟。严禁动物进入实验室。
- 4.13 个人 U 盘、移动硬盘等易带入病毒的存储设备不得与工作站电脑连接。
- 4.14 实验过程中如发现仪器设备及基础设施发生异常状况, 须及时向该仪器负责人或实验室负责人反馈。严禁擅自处理、调整仪器主要部件, 凡自行拆卸者一经发现将给予严重处罚。
- 4.15 保持实验室空气干燥, 在潮湿的季节应进行除湿, 至少每周检查一次除湿机是否有积水。

5. 光谱实验室仪器设备管理规范

5.1 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪使用制度

该仪器遵从学校“科研设施与公共仪器中心”对大型仪器设备实行的管理办法和“集中投入、统一管理、开放公用、资源共享”的建设原则，面向校内所有教学、科研单位开放使用；根据使用机时适当收取费用；并在保障校内用户使用的同时，面向社会开放。

委托测试：用户需通过“大型仪器管理系统”（以下简称大仪网）进行送样预约，并按照要求登记预约信息。送样预约要求如下：

1. 送样前与仪器负责老师沟通样品信息；
2. 测试结果请自行在大仪网送样记录中下载；
3. 样品如需回收请在测试后尽快取回，一周未取回平台将作化学废弃物处理。

5.2 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪预约制度

为充分利用仪器效能、服务全校科研工作，根据测试内容与时间的不同，光谱实验室制定了 7*24 小时预约制度。根据预约制度可登陆大仪网站即时预约机时，包括周末；寒暑假及国庆假期将另行通知。

请严格遵守预约时间使用仪器，以免浪费机时。如需调换时间段，在技术员同意下可与其他使用者协商。因故不能在预约时间内测试者，请提前 30 分钟取消预约并通知技术员。恶意预约机时或有多次无故不遵预约时间的用户，实验室将进行批评教育、通报批评或取消上机资格等处罚。

预约时段		预约时间/每人	测试内容
周一至周日	自主测试 送样测试 维护/开发测试	无限制	1. 主机透射光谱测试 2. 近红外光谱测试 3. ATR 测试 4. 显微透反射光谱测试

- (1) 校内使用者须经过技术员的实验操作培训，考核合格后方可上机使用；
- (2) 实验开始时务必在实验记录本上登记，结束时如实记录仪器状态；
- (3) 严禁擅自处理、拆卸、调整仪器主要部件。使用期间如仪器出现故障，使用者须及时通知技术员，以便尽快维修或报修，隐瞒不报者将被追究责任，加重处理；
- (4) 因人为原因造成仪器故障的（如硬件损坏），其导师课题组须承担维修费用；

(5) 使用者应保持实验区域卫生清洁, 测试完毕请及时带走样品, 技术员不负责保管。

使用者若违犯以上条例, 将酌情给予警告、通报批评、罚款及取消使用资格等惩罚措施。

5.3 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪培训考核制度

校内教师、研究生均可提出预约申请, 由技术员安排时间进行培训, 培训内容包括仪器使用规章制度、送样须知及安全规范、基本硬件知识、标准操作规程(自主测试)及相应数据处理。

培训结束后, 两周内培训者需管理人员监督下进行 3 次左右操作, 培训者根据自己的掌握程度, 联系技术员进行上机考核。初级考核合格后, 可在管理人员监督下上机操作, 一周后复考;

实验室技术员认为培训者达到独立操作水平后, 给予培训者授权在所允许的范围内独立使用仪器。如果因为人为操作错误导致仪器故障者, 除按要求承担维修费用之外, 还将给予重考惩罚、培训费翻倍等处罚。

对接受培训人员的核心要求:

- (1) 了解 ThermoFisher Nicolet iS50 傅里叶变换显微红外光谱仪的基本原理及其应用的多学科背景知识;
- (2) 熟练掌握 OMNIC 系统, 严格按照标准操作规程操作, 防止因人为操作不当造成仪器故障, 认真做好仪器的使用及故障记录。

6. 内容

***基理系统登陆

接入大仪网的仪器操作电脑均需要登陆基理锁屏界面。

- (1) 如图 (a), 如界面显示“一卡通用户”, 请在 Account 输入预约者的一卡通账户, Password 栏输入相应账户密码, 点击 Submit;

注意: 如账号或密码输入错误, 请按键盘 Delete 键进行删除, 再重新输入; 禁止点击 Cancel, 否则仪器会自行关机。

- (2) 如图 (b), 如界面显示“LIMS User”, Account 显示 Administrator, 请与相关老师联系。



6.1 样品准备

粉末样品、薄膜样品、溶液样品均可测试。

注意样品需除水以消除水分干扰。做透射测试的样品需要透光。

重要提醒: 1) 送样人员必须对测试样品的合法性负责, 未注明合法性和物理化学性质的样品不予测试。如测试过程中发现样品含毒品类非法样品, 送样人将负法律责任。
2) 由于用户的样品问题导致仪器异常或配件更换, 所有责任将由用户及所在课题组或单位承担。

6.2 开机和预热仪器

6.2.1 仪器组成 图 6-1 显示傅里叶变换显微红外光谱仪的各个部件。本仪器功能齐全, 包括透射模块(主样品仓)、近红外模块、ATR 模块和显微红外模块, 每个模块的应用范围不同, 可根据需要选择合适的模块进行测试。

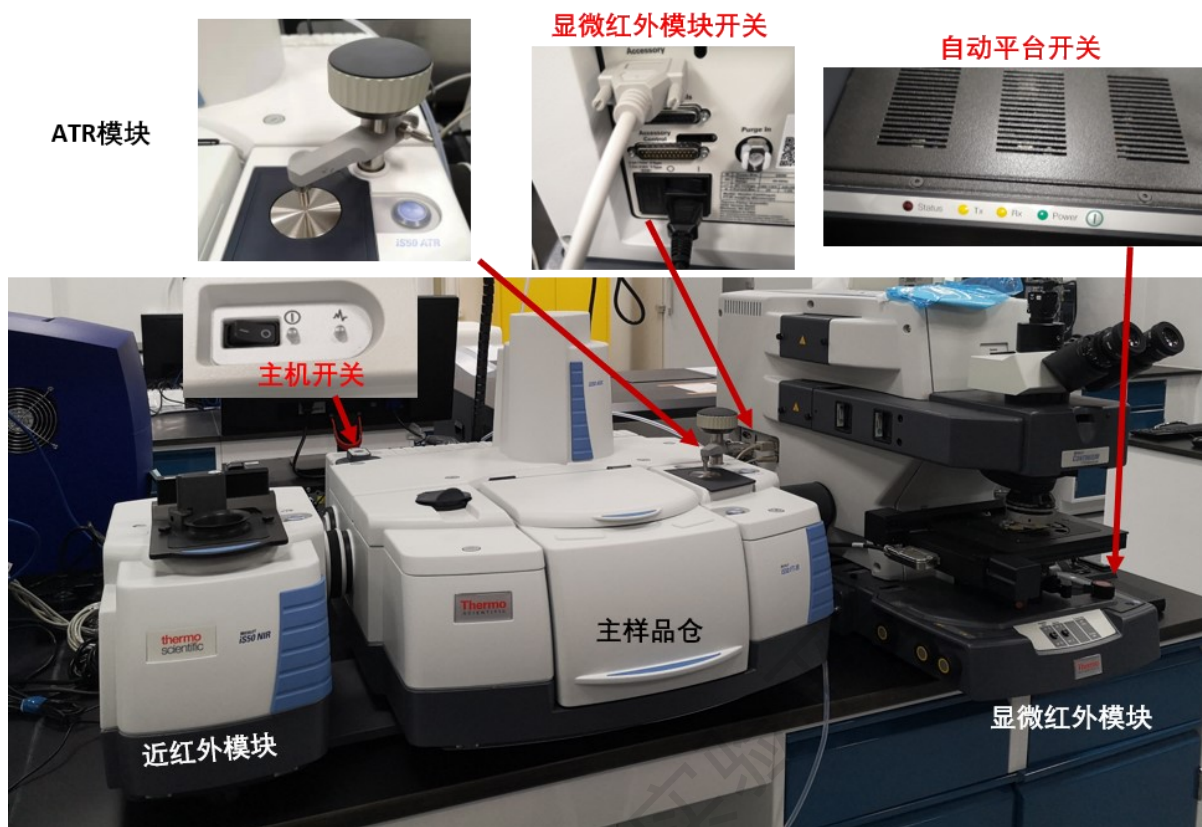

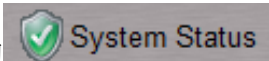


图 6-1 傅里叶变换显微红外光谱仪

6.2.2 开机 使用透射模块（主样品仓）、近红外模块、ATR 模块只需要开主机开关（一般不关）；使用显微红外模块需要同时打开主机开关、显微红外模块开关和自动平台控制开关。

6.3 红外主机（主样品仓、ATR 模块和近红外模块）操作步骤

6.3.1 联机

打开软件  后，仪器将自动检测。当联机成功后，右上角的  System Status 前出现“√”标示状态正常，自动进入图 6-2 的 OMNIC 软件界面。如果出现“×”，首先检查电脑与主机是否连接；如否，进行以下操作：点【View】→【Configure System Status】→【Performance Verification】→【Express】看是否到期。如果到期，将主样品仓清空，点【Run】，程序自动执行约 6 分钟并生成报告，点确认，看是否【Pass】，全部通过就会打“√”。此维护操作一年需要进行一次。

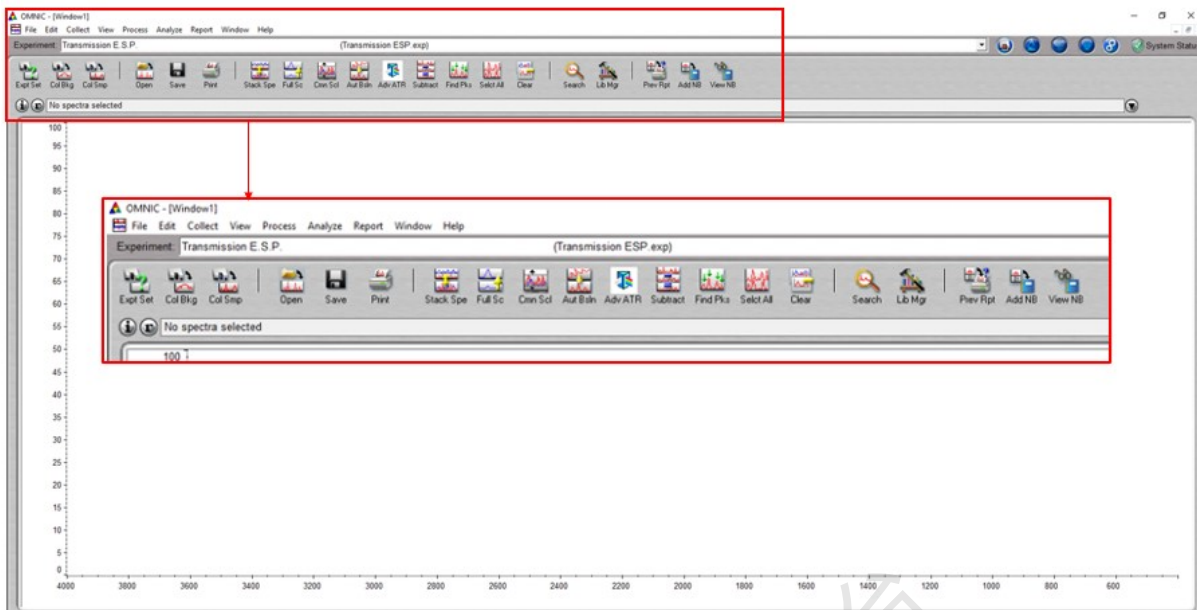



图 6-2 OMNIC 软件界面

6.3.2 实验参数设置

点击  (图 6-2) 进入实验参数对话框, 设置实验条件, 其中【Collect】和【Bench】对话框内的参数每次测试都要根据需要进行设置或者选择。

6.3.2.1 【Collect】参数设置

如图 6-3 所示, 常规测试只需修改扫描次数、采集方式和背景处理的方式。扫描次数一般用 32 次或者 64 次。【Resolution】一般选 4 或者 8。采集方式一般选择透射、吸收或者反射模式。背景处理方式可根据自己需要选择 (1. 先采背景后采样品; 2. 先采样品后采背景; 3. 背景采集一次在 xx 分钟内有效; 4. 使用特殊的背景文件)

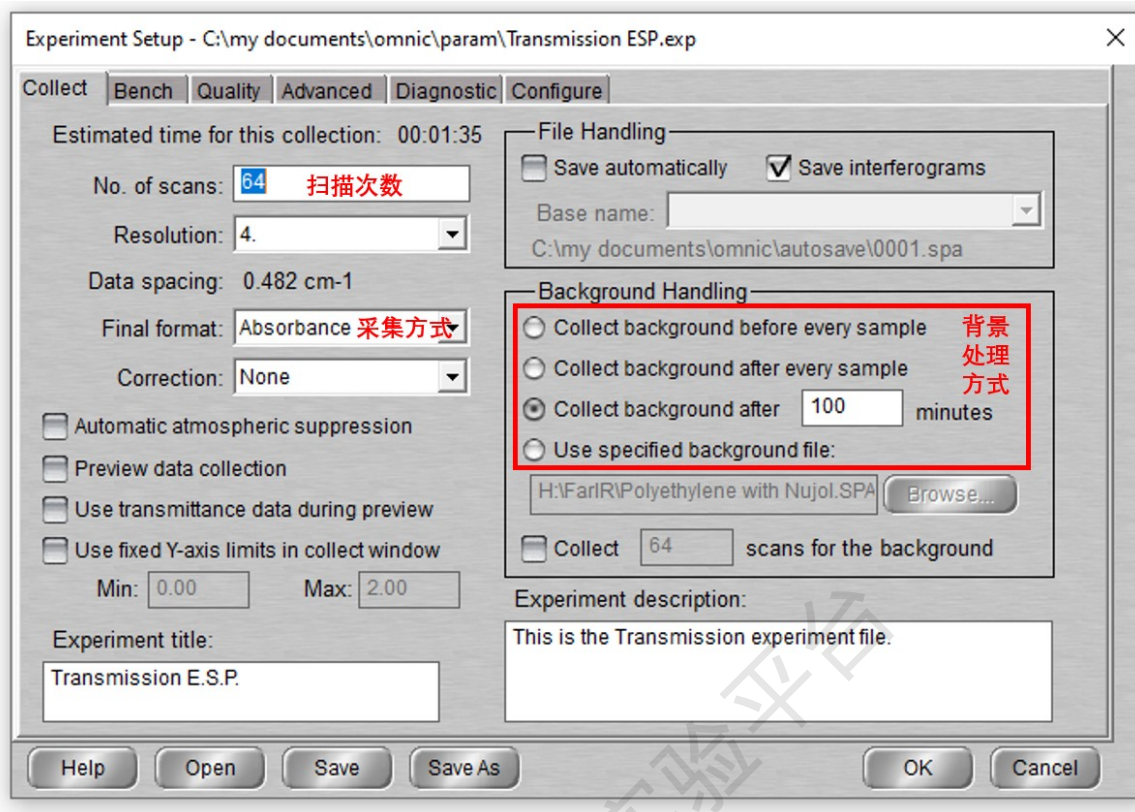


图 6-3 【Collect】参数设置界面

6.3.2.2 【Bench】参数设置

首先要看能量值，在右侧【Gain】为 1 的情况下，观察【Max】的值，看其是否有信号，目前各模块的具体值如下图所示（图 6-4 ~ 图 6-7），如果【Max】能量值低，点击【Diagnostic】→【Align】，等待 2 分钟，直至弹出的对话框消失，点击【OK】完成。其中主样品仓的透射模式可选择 DTGS 检测器（ $4000\text{ cm}^{-1} \sim 400\text{ cm}^{-1}$ ）或者 MCT 检测器（ $4000\text{ cm}^{-1} \sim 650\text{ cm}^{-1}$ ），选用 MCT 检测器需加上液氮才会有【Max】值，加液氮操作见附录；MCT 检测器的灵敏度会非常高，有时为了避免信号过强，可以通过选择【Attenuation】的值进行调节。ATR 模块自带 DTGS 检测器（ $4000\text{ cm}^{-1} \sim 400\text{ cm}^{-1}$ ）。近红外模块为 InGaAs 检测器（ $12000\text{ cm}^{-1} \sim 4000\text{ cm}^{-1}$ ）。如果要设置偏振角，只需在【Polarizer angle】后面的方框打“√”，输入需要的偏振角度即可。其余参数设置操作和图片一致。

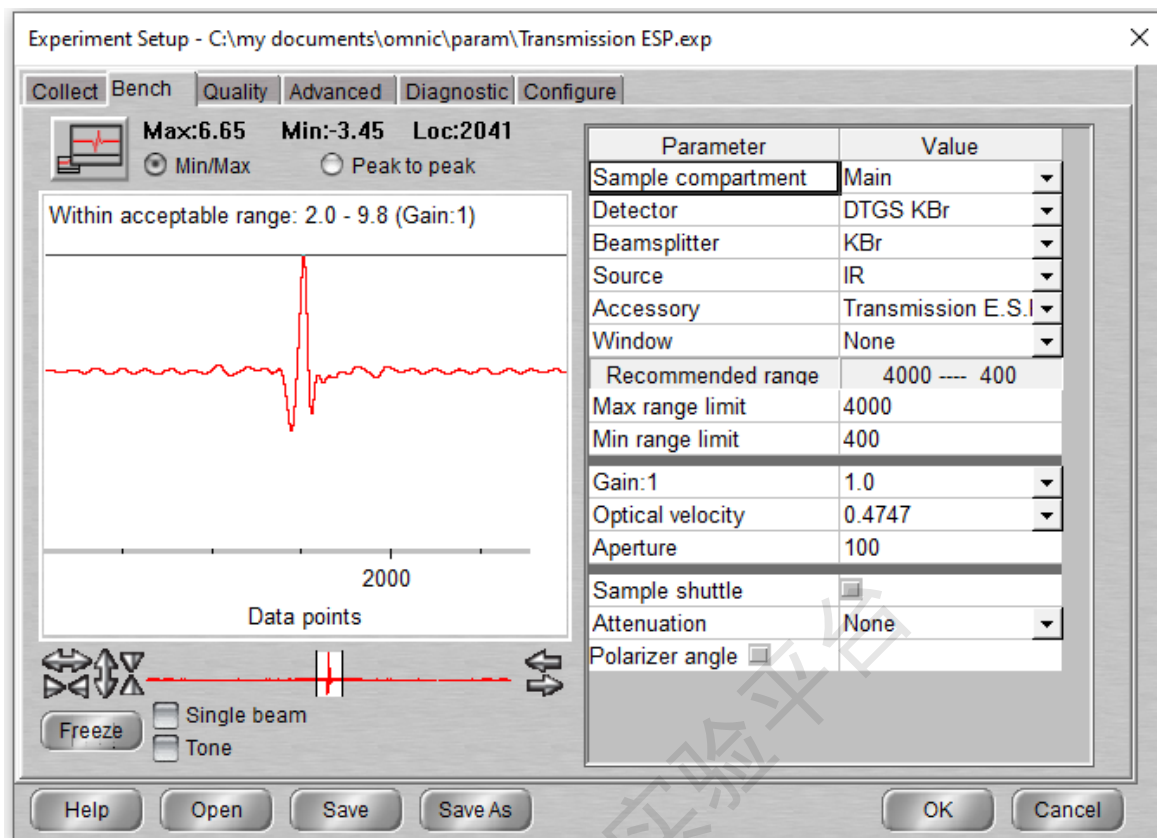


图 6-4 【Bench】参数主机主样品仓 DTGS 检测器设置界面

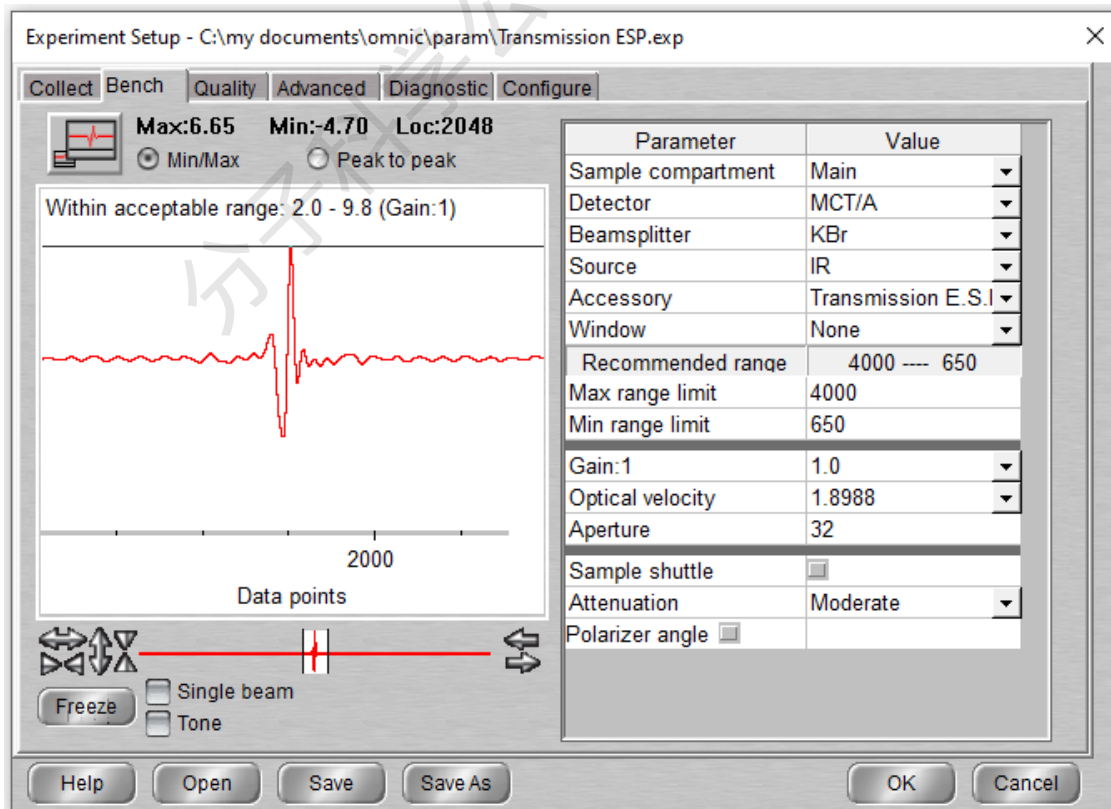


图 6-5 【Bench】参数主机主样品仓 MCT 检测器设置界面

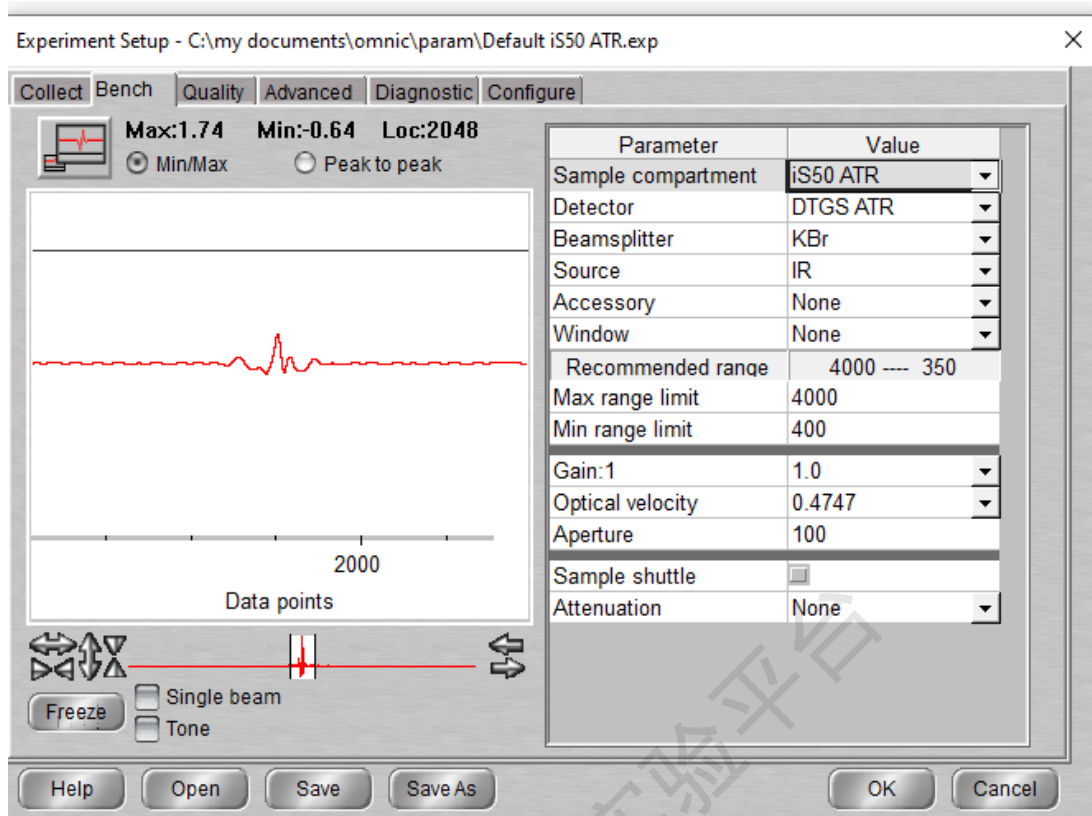


图 6-6 【Bench】参数主机 ATR 模块设置界面

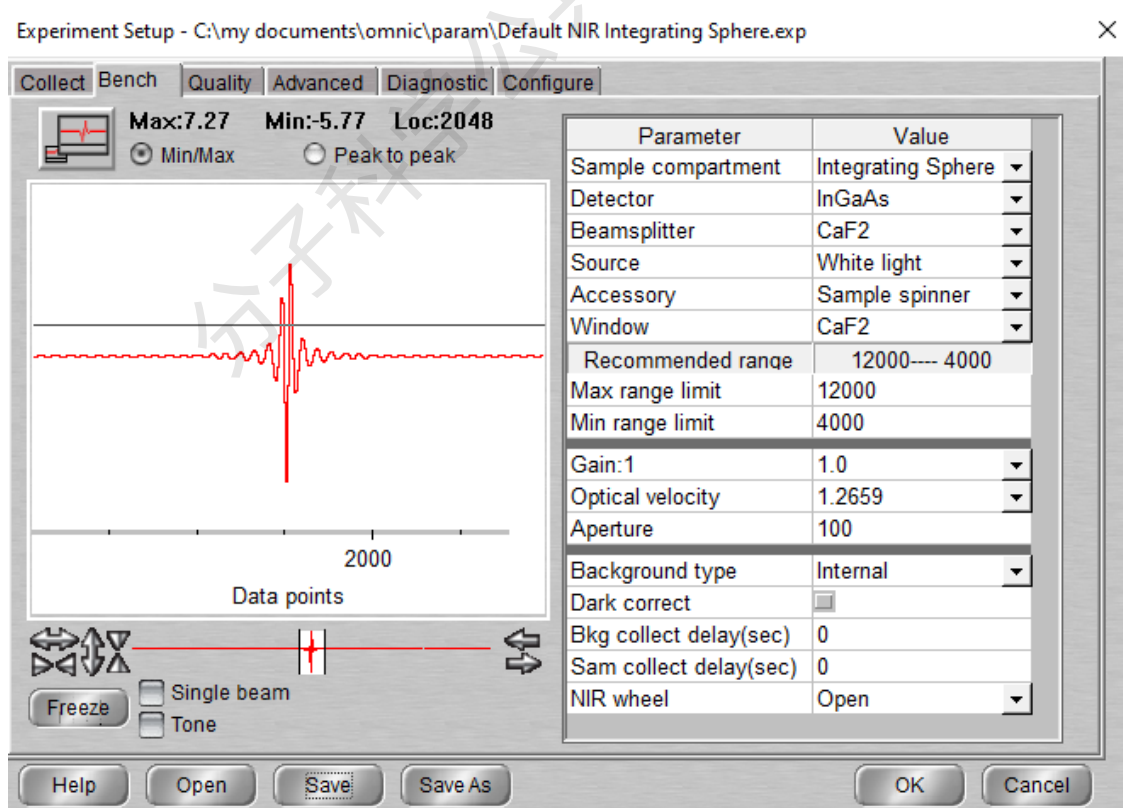


图 6-7 【Bench】参数主机近红外模块设置界面

6.3.3 装样操作

6.3.3.1 粉末样品在主样品仓内测试需先压片，压片过程详见附录 1。

6.3.3.2 ATR 固体样品测试过程如图 6-8: 将样品放置于 ATR 模块上的金刚石晶体上面，通过旋转旋扭，压力杆会向下移动，一直旋转旋扭直至听到“咔”一声，此时保证了样品与金刚石晶体的紧密接触。液体样品只需将样品直接滴在金刚石晶体表面，压力杆不要接触液体。

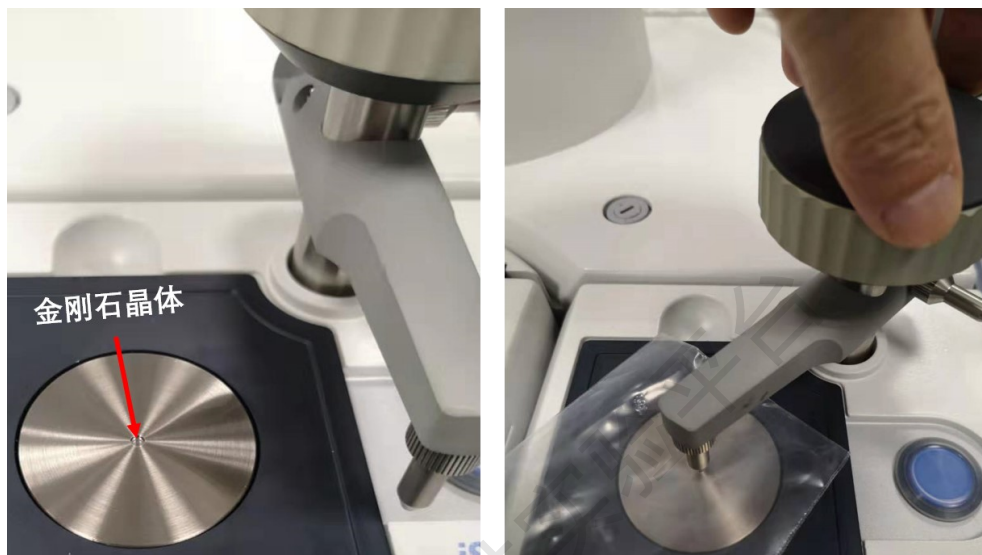


图 6-8 主机 ATR 模块装样过程

6.3.3.3 近红外测试只需将样品装入近红外模块的样品池表面（图 6-9），因为测试过程中样品池会旋转，所以要求整个表面都要有样品覆盖。

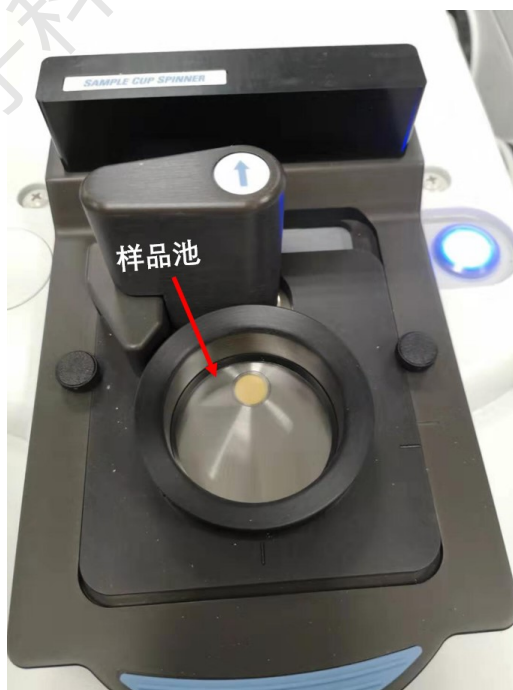



图 6-9 主机近红外模块样品池



6.3.4 光谱采集过程

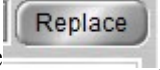
6.3.4.1 根据需求, 在【Bench】界面选择好测试模块和相应的检测器。

6.3.4.2 将背景样品放入相应的样品仓, 点击 Col Bkg 图标  采集背景光谱 (背景采集的顺序要同采集参数中“背景处理方式”一致)。

6.3.4.3 将测试样品放入样品仓, 点击 Col Smp 图标  采集红外光谱。Stack Spe 


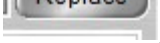
为所测光谱堆叠显示和重叠显示之间切换。Full Sc  为光谱满刻度显示。Cmn


Scl  为光谱统一刻度显示。Find Pks  为标记所有的峰, 通过移动横线, 标记横线以上 (纵坐标为 Abs) 或者横线以下 (纵坐标为 T%) 的所有峰,

点 Replace  完成操作。

6.3.4.4 如果只需要标记单峰, 左下角点击 , 把鼠标移至想标记的峰附近, 按住

【Shift】+鼠标左键, 标完后继续点击左下角  完成单峰标记。删除所有的峰


只需点击 Find Pks , 将横线移动到无峰的位置, 点 Replace  完

成。删除单峰, 在屏幕上选择要删的峰, 点击 , 按【Delete】→【Enter】,

再点  完成。

6.3.5 谱图对照

点击软件上面的【Analyze】→【Library Setup】, 选择需要的谱库进行比较, 点【OK】。

在主界面上点 Search 图标 , 软件会自动将谱库的谱图与测试结果进行比对, 并自动给出比对出来的【Match】值。

6.4 显微红外模块操作步骤

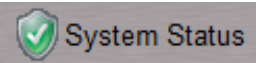

6.4.1 开机

使用显微红外模块需要同时打开主机开关、显微红外模块开关和自动平台控制开关（图 6-1）。由于显微模块都是 MCT 检测器，必须在检测器内加满液氮。

加液氮方法见附录 2。

6.4.2 联机

完成上述操作后，打开软件 ，仪器将自动检测。当联机成功后，

前出现“√”标示状态正常，点击  进入实验参数对话框，设置实验条件，其中【Collect】和【Bench】对话框内的参数每次测试都要根据需要进行设置或者选择。

6.4.3 显微模块反射方式

在显微操作模块中，首先需要确定测量方式为反射或者是透射。使用前先用菜单栏【Altus】下的【System Configuration】校准显微镜的 X,Y 和 Z 轴，这步由平台技术员操作。如图 6-10，反射方式需在【Bench】下拉菜单中选择【Right μ Scope; %R】，然后在显微镜中聚焦样品（反射聚焦操作参见附录 3）。观察左边 Max 的信号，聚焦好后会观察到信号值在 5 左右。

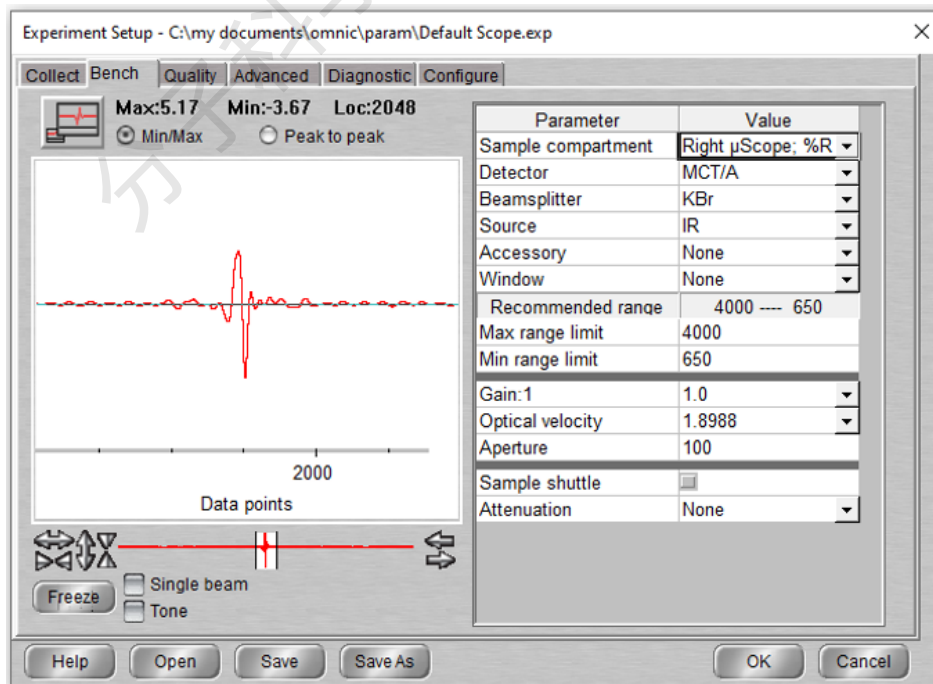


图 6-10 显微红外反射模式对话框

【Collect】参数设置如图 6-11 所示，在【Bench】选择了显微模块后，【Collect】的右下角【Experiment description】也能看到相对应的描述。测试前需确定扫描次数，采集方式和背景处理的方式。扫描次数根据需要输入具体数值。采集方式与【Bench】参数设置相对应：当【Bench】选择%R 时，【Resolution】一般选 8，【Final format】会自动跳转为【%Reflectance】。背景处理方式可根据自己的习惯选择（（1）先采背景后采样品；（2）先采样品后采背景；（3）背景采集一次在 xx 分钟内有效；（4）使用特殊的背景文件）。反射模式下，当采集背景信号时，需将光斑聚焦点移至金片上点击【Col Bkg】，然后再将光斑聚焦在样品上，点击【Col Smp】采集样品信号。其他操作与 6.3.4 内容一致。

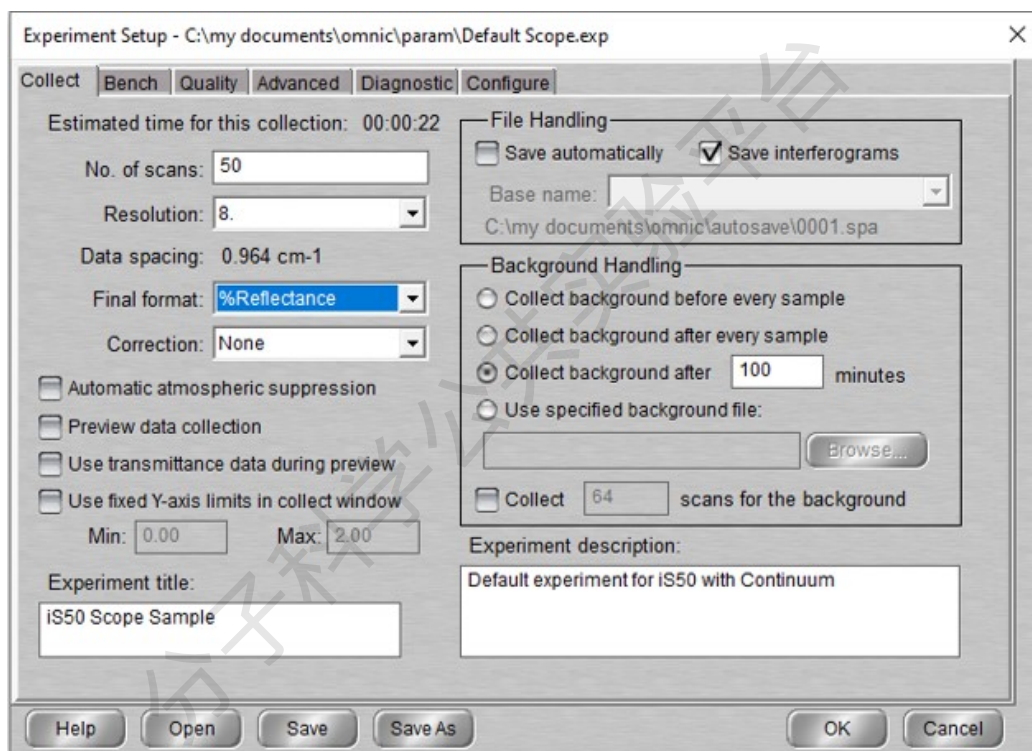


图 6-11 反射模式下【Collect】参数设置界面

6.4.4 显微模块透射方式

如图 6-13，透射方式需在【Bench】下拉菜单中选择【Right μ Scope; %T】，然后在显微镜中聚焦样品，此时一般用 KBr 作为空白样品（透射聚焦操作参见附录 4）。观察左边 Max 的信号，聚焦好后会观察到信号值在 5.9 左右。

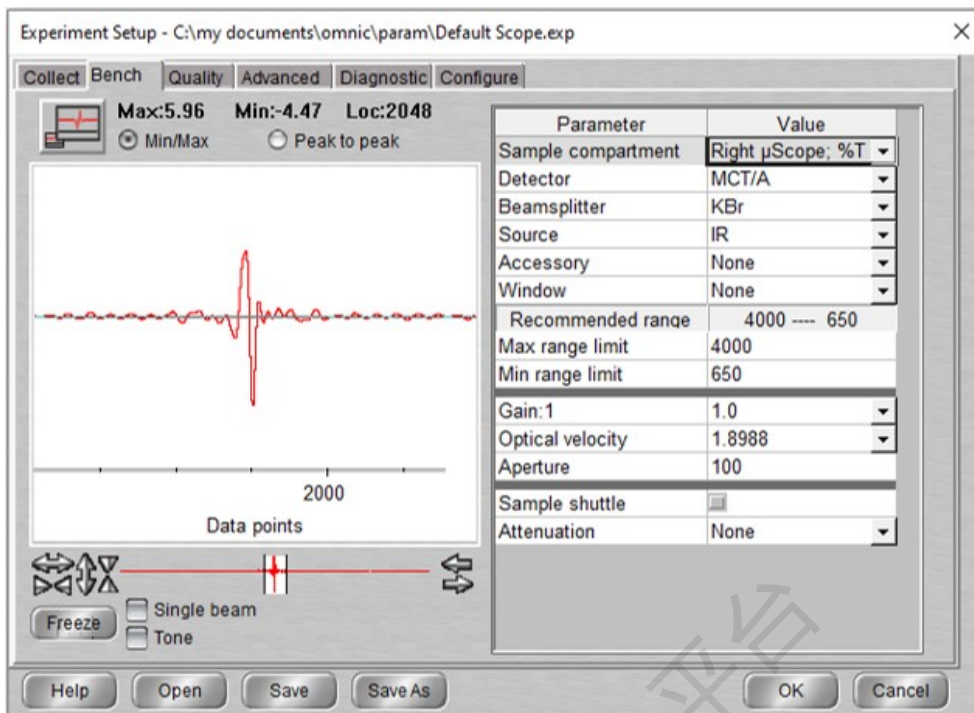


图 6-13 显微红外透射模式对话框

【Collect】参数设置如图 6-14 所示，当【Bench】选择 %T 时，【Resolution】一般选 8，【Final format】会自动跳转为【%Transmittance】，也可以通过下拉菜单改为【Absorbance】。背景处理方式和前面一致。透射模式下，当采集背景信号时，需将光斑聚焦至透射窗片，点击【Col Bkg】，再将光斑聚焦至样品，点击【Col Smp】采集样品信号。其他操作与 6.3.4 内容一致。透射窗片用完后需要用无水乙醇擦干净保存在干燥的地方。

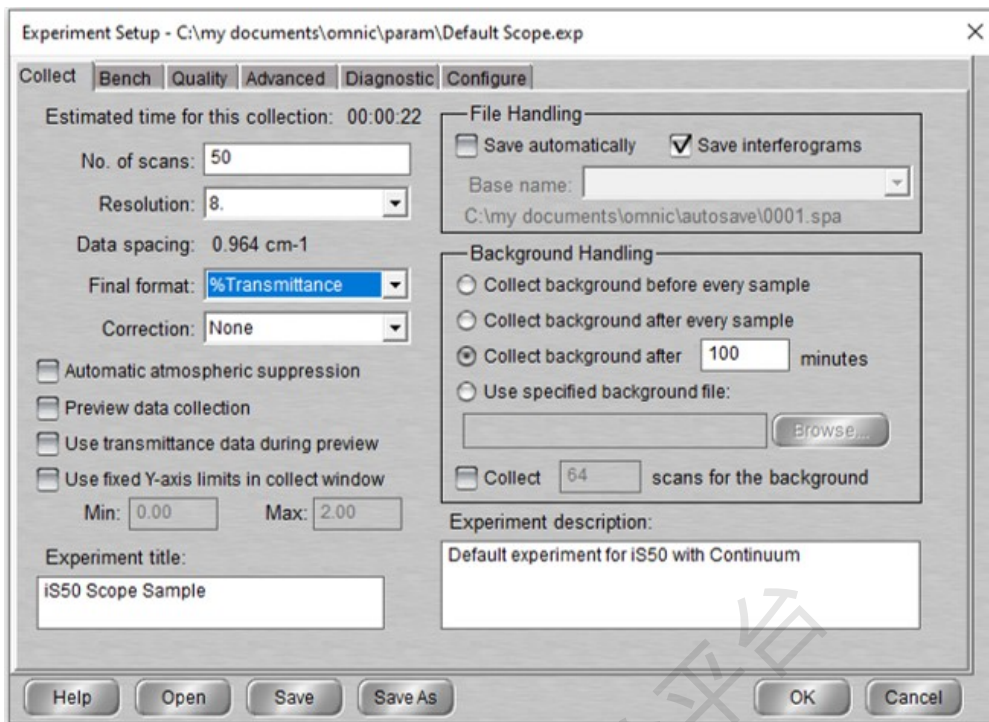


图 6-14 透射模式下【Collect】参数设置界面

6.5 结束前的检查

6.4.1 退出账号

6.4.2 关闭仪器并进行使用登记

6.4.3 收拾桌面并处理废液

7. 相关/支撑性文件

Q/WU FLHR001 文件编写规范

附录 1. 红外压片过程和注意事项

附录 2. MCT 检测器液氮添加方式

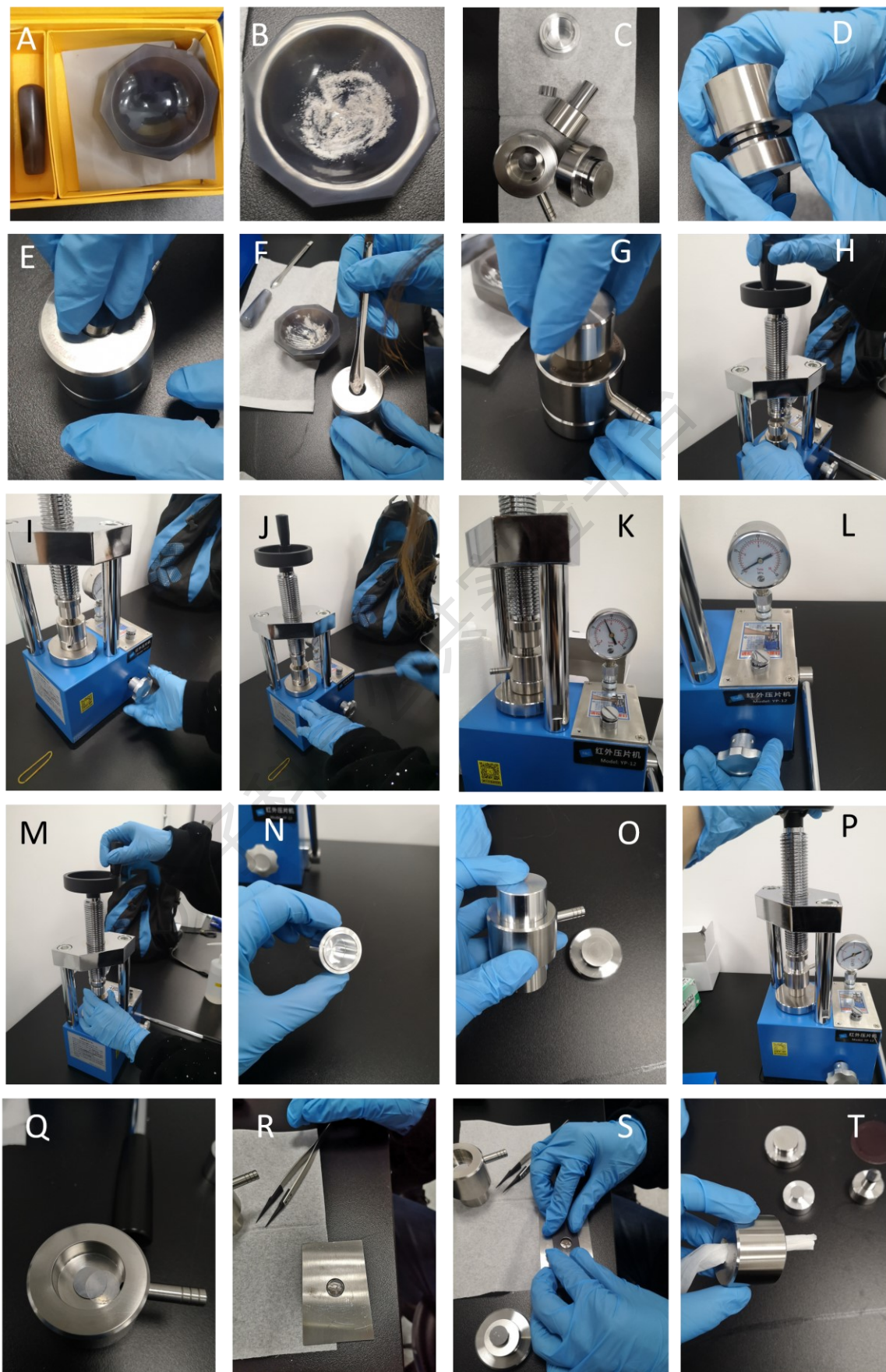
附录 3. 显微模块反射模式对焦

附录 4. 显微模块透射模式

8. 记录

《仪器设备使用记录本》

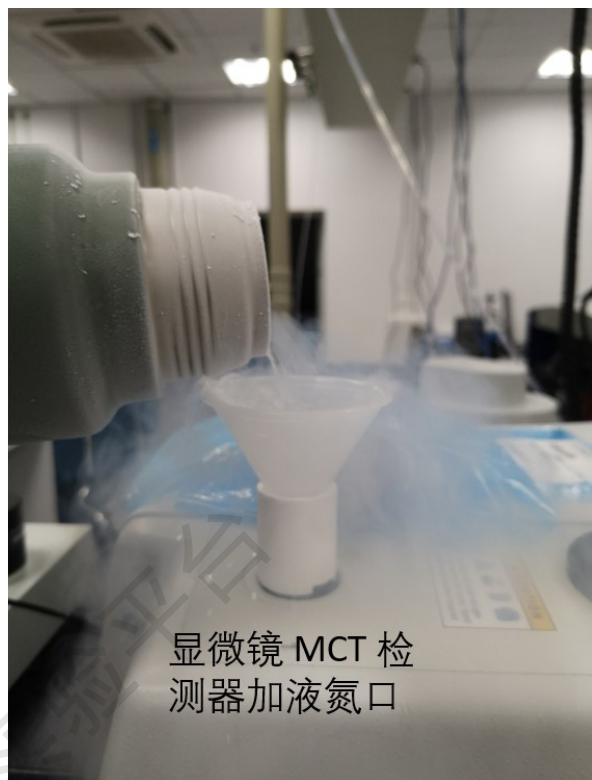
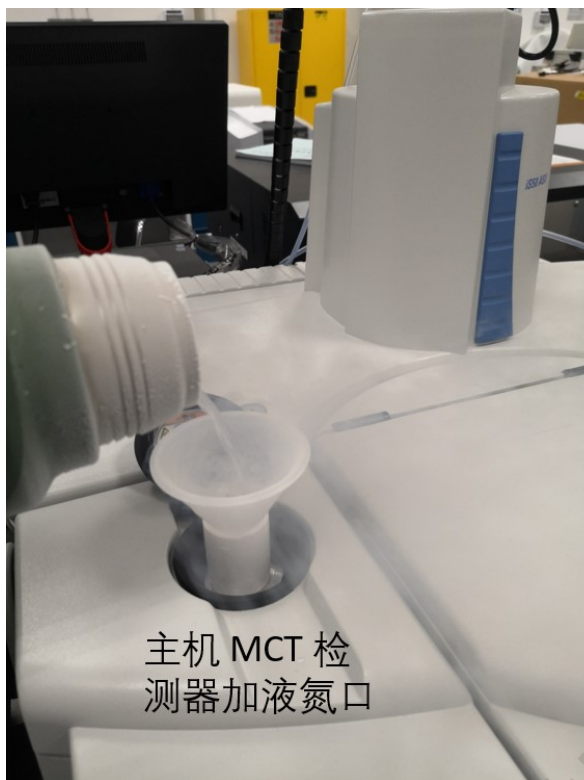
附录 1. 红外压片过程和注意事项



- ① 为了避免手上的汗渍对样品的污染，操作全程需要戴手套操作，模具的每个部分在使用之前最好先用无水乙醇擦洗一次，乙醇挥发后开始使用。
- ② 红外压片机的使用和压片过程的操作如上图所示，首先需要将 Sample 和 KBr 按 1:100 左右的比例混合，在玛瑙研钵研磨成小颗粒，其他操作按上图一步步来即可完成。
- ③ 粉末样品研磨得越细小，压出来的样品做样出峰越尖锐清晰。
- ④ 压片机的压力控制在 15-20 MPa，时间以 15 秒为宜。
- ⑤ 取压片样品的过程可以用模具在压片机上将“压舌”顶出来（参见图 N、图 O、图 P、图 Q）。
- ⑥ 压片完成后，模具和玛瑙研钵全部需要用乙醇擦洗，特别是模具的内表面也需要用乙醇擦洗(图 T)，避免生锈。

分子科学公共实验平台

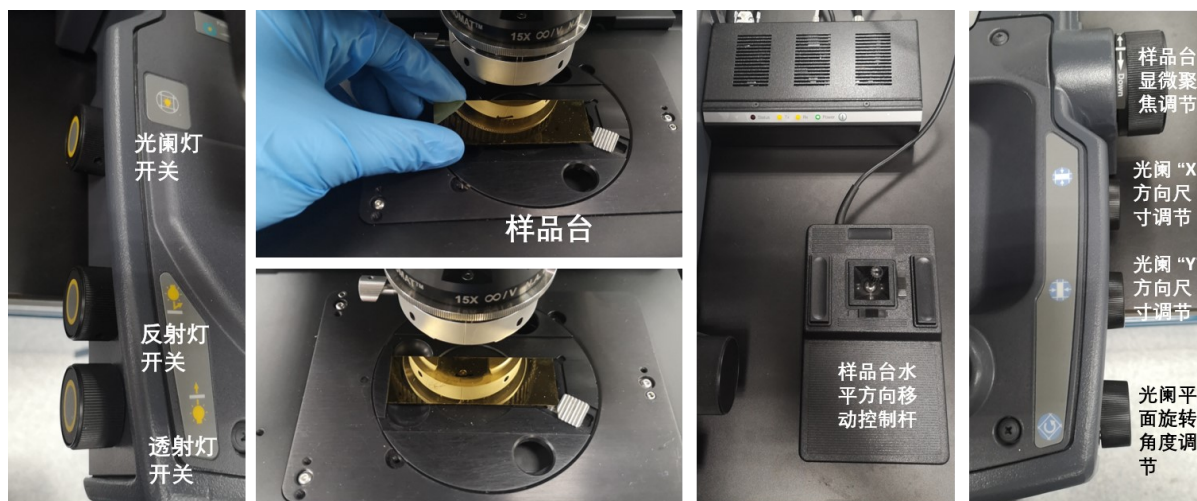
附录 2. MCT 检测器如何添加液氮



- ① 左图为主机上 MCT 检测器的加液氮过程，刚开始加液氮的时候速度不能太快，以避免液氮四处溢出。
- ② 右图为显微镜上的 MCT 检测器加液氮过程，用显微红外模块必须先加液氮再进行后面的操作，不加液氮 MCT 检测器不会工作。

注：请做好个人防护，以免冻伤。

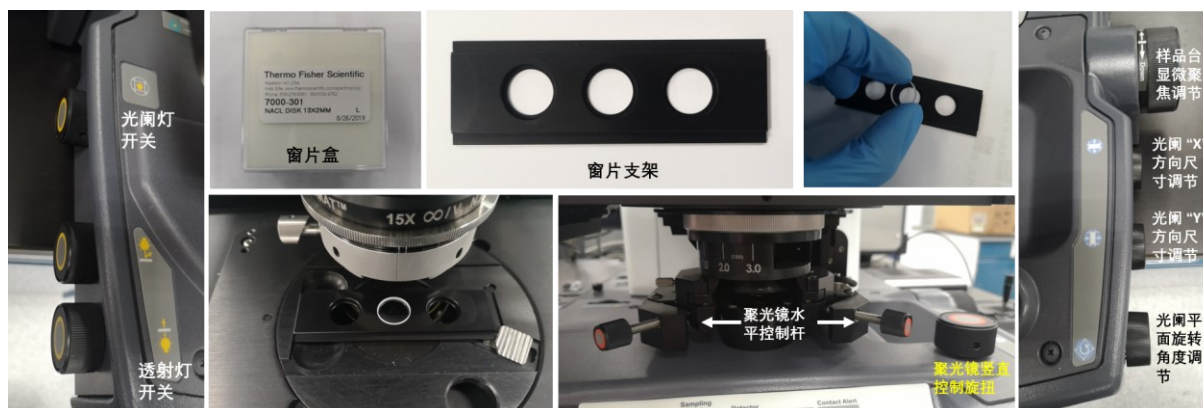
附录 3. 显微模块反射模式对焦



- ① 使用显微反射模块，需将左侧的光阑灯和反射灯打开；
- ② 将样品放（涂）在金片上，将金片放至显微镜的样品位置；
- ③ 移动操作杆将样品移至显微镜中央；

通过调节右侧的聚焦旋钮进行对焦，还可以通过右侧下方的三个旋钮来改变光阑的尺寸和角度，使光阑的大小、角度与显微镜中的中心标尺完全吻合，则反射模式完成对焦。

附录 4. 显微模块透射模式



- ① 使用显微透射模块，需将左侧的光阑灯和反射灯打开；
- ② 将 NaCl 窗片从盒中取出放窗片支架上，待测透光样品可以滴在或者放在窗片上；
- ③ 将窗片支架放在显微镜样品台上；
- ④ 移动控制杆将窗片移至显微镜中央；
- ⑤ 透镜模式的光源在样品的下方，除了调节右侧的四个聚焦旋扭进行对焦外，还要调节聚光镜的水平控制杆和垂直控制杆来调节光斑的位置和光斑的焦距。只有当光斑在镜头下与显微镜中的中心标尺完全吻合，透射模式完成对焦。

附录 5. 显微红外 Mapping 测试方法

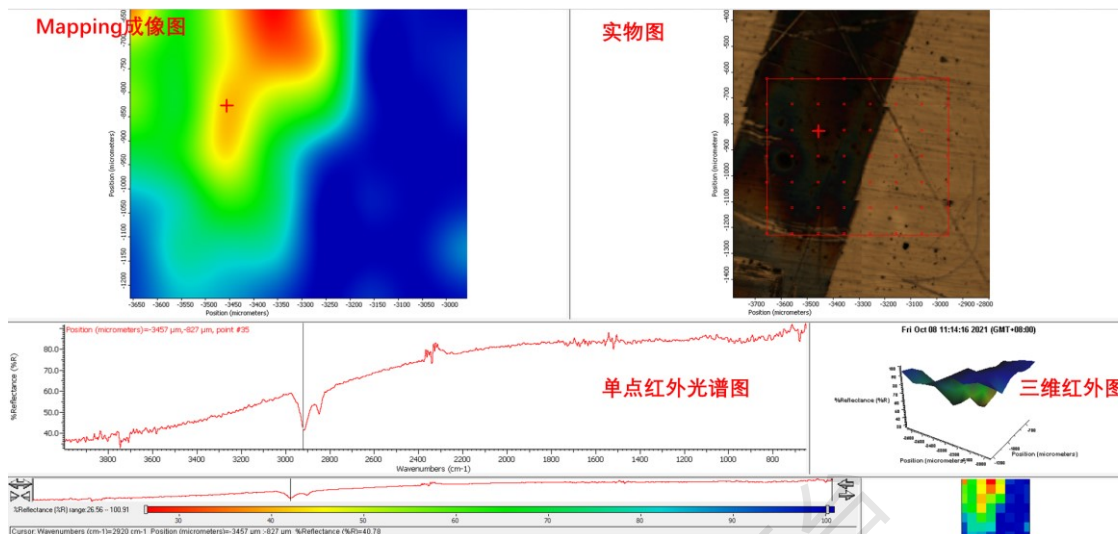


图 1 红外 Mapping 测试结果窗口

在【Atlas】下【System Configuration】矫正显微镜的 X,Y 和 Z 轴。先进行 X,Y 轴矫正，再矫正 Z 轴。将参数设到显微镜模式，扫描次数可改为 1 次。显微镜进行聚焦，聚焦完成后菜单栏【Atlas】下【Show Atlas Window】调出 Mapping 窗口。

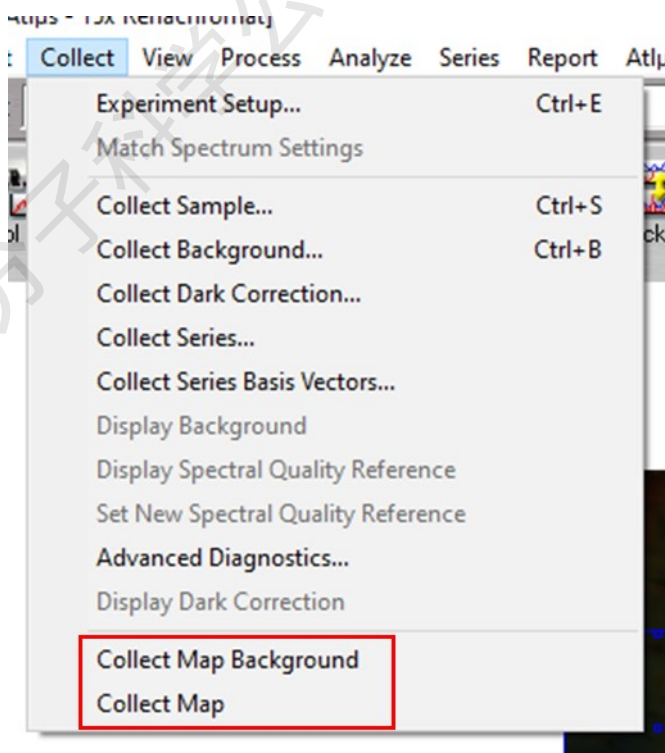


图 2 背景以及样品信号采集

聚焦空白样本后在【Collect】下选择【Collect Map Background】采集背景。收集完

背景信号后, 放置样品, 重新聚焦。



图 3 下方菜单栏功能示意

寻找合适位置 (可以利用放大镜放大缩小视野)。选区键框选扫描范围, 点数在蓝色方框内显示, 可在【Collect】中【Experiment Setup】下的【Mapping】更改 X,Y 轴采集的点数。确定好扫描范围及点数后, 在【Collect】下选择【Collect map】采集样品信号。测试完成后可得到如图所示的结果, 可以调出每个点测试的红外光谱。数据保存方法在菜单栏【Atlas】的【Split Mapping】下, 可以导出每个点的光谱文件.SPA 及.CSV 文件。

仪器设备使用记录本										
仪器名称	日期	测试人	导师(PI)	测试内容	测试方式		仪器状态		机时 (起止时间)	联系电话
					送样	自主	使用前	使用后		

请注意：使用前先检查仪器状况，正常方可操作，一旦测试使用，默认为测试前仪器状况为正常，测试后记得取走样品再关机。紧急联系电话：18998382617，13656817706