⁻,	目的	3
<u> </u>	范围	3
三、	职责	3
四、	电镜实验室安全管理规范	3
五、	透射电镜设备管理规范	4
	5.1 透射电子显微镜 Talos L120C G2 使用制度	4
	5.2 预约制度	4
	5.3 培训考核制度	5
	5.4 仪器故障报告	6
	5.5 仪器设备介绍	6
	5.6 样品要求	7
六、	Talos L120C G2 操作流程	8
	6.1 测试前准备	8
	6.2 装样	9
	6.3 进样	. 11
	6.4 电镜操作	. 12
	6.4.1 找样品	. 13
	6.4.2 数据记录	. 13
	6.4.3 TIA 使用	14
	6.4.4 Velox 使用(推荐)	. 14
	6.5 结束操作	. 15
	6.6 取出样品杆	. 16
	6.7 卸载样品	. 16
	6.8 结束实验	. 16

目录

修订页

修订日期	版本号	修订说明	修订人	审核	批准
2023年2月26日	V1.0	发布试行	蒋齐可		

# 一、目的

建立透射电子显微镜 Talos L20C G2 标准使用操作规程,使其被正确、规范地使用。

# 二、范围

本规程适用于所有使用透射电子显微镜 Talos L120C G2 的用户。

# 三、职责

3.1. 用户:严格按本程序操作,发现异常情况及时汇报实验室技术员。

3.2. 实验室技术员:确保操作人员经过相关培训,通过考核,并按本规程进行操作。

# 四、电镜实验室安全管理规范

- 4.1. 进入实验室的所有师生应熟悉消防安全基本知识、化学危险品安全知识、用电/ 用水/用气常识。
- 4.2. 严格遵守电镜实验室的各项安全管理规范,注意警示标识。
- 4.3. 实验室仪器需经培训考核后方可操作,并严格遵守仪器常规操作流程进行实验, 未经考核者严禁使用;严禁未经允许进行非 SOP 中规定的其他操作,或擅自修改 仪器、使用非指定部件,或在拆下安全装置的情况下操作仪器。
- 4.4. 严禁在透射电镜操控电脑主机上使用 USB 拷贝数据,严禁私自接入网络。
- 4.5. 用户上机实验必须严格按照操作规程进行,实验室技术员应经常巡视,及时纠正 违规操作,消除安全隐患;实验做完后整理好实验相关区域并做好实验记录。
- 4.6. 样品制备时必须戴手套,禁止直接用手触摸样品杆前端。为防止交叉污染,严禁 戴手套操作鼠标、键盘,同时严禁戴手套开关门。
- 4.7. 保持实验工作区域整洁,相关工具放置在指定位置;严禁摆放与实验无关的个人物品,严禁在实验室饮食与。
- 4.8. 严格遵守学校规章制度,有毒废物、试剂、器皿、利器等分类回收。

4.9. 实验室人员离开前必须认真检查实验室的电是否关闭,离开时随手关门。

- 4.10. 仪器操作过程中出现设备故障、异响、异味、冒烟等异常现象时,请第一时间 联系实验室技术员,不得擅自修理设备。
- 4.11. 夜间 22:00 以后测试,必须两人以上;因违规操作或其他失误造成安全事故, 相关责任人将受到通报批评及相应处罚。

# 五、透射电镜设备管理规范

#### 5.1 透射电子显微镜 Talos L120C G2 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;并在保障校内使用的同时,面向社会开放。

Talos L120C G2 透射电子显微镜(以下简称 TEM)使用方案分为五类:

(1)培训测试:用户提出培训申请,技术员安排培训。培训时需用户准备样品并制样,培训内容包括:实验室规章制度说明、TEM基本原理、硬件构造及各部分功能、常规样品制样、仪器的标准操作流程、软件控制和使用、及测试注意事项。

(2) 自主测试-高级:用户独立制样、装样,并独立操作 TEM 进行数据采集和上传。

(5)送样测试:用户预约时提供样品信息及测试要求;用户负责制样,技术员操作 仪器并做基本数据处理;

该仪器的使用实行预约制度,请使用者根据样品的测试要求在学校"大型仪器共享 管理系统"(以下简称大仪共享)进行预约,并按照要求登记预约信息。

5.2 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,电镜实验 室制定了 TEM 7\*24 小时预约制度。根据预约制度可登陆大仪共享网站最少提前1天预 约机时,包括周末;寒暑假及国庆、春节假期至少提前2天预约机时。

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8小时取消预约并通知技 术员。如无故不遵预约时间,将被取消一个月的预约资格。

预约时段		预约时间/每人	测试内容	
工作时间	00.00 至 17.20	与人次可预始扣吐>20 min	自主测试,送样测试	
(周一至周五)	09.00 主 17.30	每八八円顶约机时≥30 ШШ		
非工作时间	18:30 至次日	每人次可预始扣吐入20 ~;~	白子调学	
(周一至周五)	8:00	母八八可须约机时≥30 min	日土砌试	
非工作时间	09:00 至次日	每人次可预始扣吐入20 ~;~	自主测试	
(周末及节假日)	8:00	母八仈刂叭叭机时≥30 m1n		

(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(如硬件损坏),其导师课题组须承担维修费用;

(5) 不可擅自做除培训操作之外的测试,如有需求请务必联系技术员;

(6) TEM 数据不允许在仪器电脑中删改,尤其不允许用 U 盘与移动硬盘直接拷贝。 测试数据已实时自动同步到 storage 系统,使用者应根据要求下载原始数据至本地电脑, 以保存并做数据处理;实验数据在本实验室电脑中保留 2 个月(暂定,根据情况若硬盘 允许数据保存时间延长)。

(7)使用者应保持实验区域的卫生清洁,测试完毕请及时带走样品,本实验室不负责保管样品。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 培训考核制度

校内教师、博士后、研究生等均可提出预约申请,由技术员安排时间进行培训, 培训分为三部分:

第一部分:由实验室负责人或仪器负责人介绍实验室规章制度、安全管理规范、 仪器设备原理、基本硬件知识等。

第二部分:上机培训,内容包含:样品送样及制样、仪器标准操作规程等。

第三部分:上机培训结束后,培训者需在一周内进行至少一次自主上机预约,在 仪器负责人的监督下进行独立操作。

实验室技术员认为培训者达到相应级别的独立操作水平后,给予培训者授权在相

应级别所允许的可操作实验范围内独立使用仪器。如果在各级别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,给予降级重考惩罚、培训费翻倍。

注意:培训中的第一部分和第二部分需要用户在一周内完成(特殊情况除外),否则需要重新进行培训;培训通过后用户需保证每月至少1次的自主上机测试,若超过该时间需要重新联系仪器负责人监督考核,否则将无法预约该仪器设备。

对接受培训人员的核心要求:

(1) 熟悉 TEM 原理、构造及各部分的功能,严格遵守仪器部件的注意事项,在突然停电时能及时处理仪器并上报,关注仪器各部件有无异常;

(2)熟练掌握电镜控制软件和数据采集软件的使用,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,尤其是因为插入和拔出样品杆过程中造成样品杆或者测角台的损坏(此种情况属人为事故,所属课题组须承担维修费用),认真做好 TEM 的使用及故障记录。

#### 5.4 仪器故障报告

(1) 仪器使用过程中,仪器无故出现破真空、掉高压、灯丝关闭等故障及错误提示信息时,应即时通知技术员;

(2)请在第一时间将故障及错误提示信息截屏,并保存在桌面"Error Report"文件,截屏文件命名请按照"导师名-用户名-样品名-故障时间(具体到分钟)";在《仪器设备使用记录本》的备注栏做简单说明。

#### 5.5 仪器设备介绍

**仪器型号:** Talos L120C G2

产地: 捷克

基本信息: 120 kV 透射电子显微镜

#### 仪器主要技术参数:

Talos L120C G2 透射电镜是全数字化控制的透射电镜,采用人机分离的系统控制 方式,能方便地实现常用功能,包括样品移动、光束移动、放大倍数、模式切换、聚焦、 合轴操作等,具有非常好的电镜稳定性、重复性、操作简便性、管理方便性。主要技术 参数如下:

电子枪: 钨灯丝或六硼化镧灯丝(Gun: W/LaB<sub>6</sub>)

加速电压: 120 kV (HT Tension: 120 kV)

线分辨率: ≤0.204 nm (Line Resolution: ≤0.204 nm)

点分辨率: ≤0.37nm (Point Resolution: ≤0.37nm) 相机: Ceta 16M (Camera: Ceta 16M) 其他附件: 冷冻样品舱 (Other Accesory: CryoBox); **放置地点:** 西湖大学云谷校区学术环 E10-180B 120kV 透射电子显微镜 Talos L120C G2 外观如图 1 所示:



图 1. 120kV 透射电子显微镜 Talos L120C G2

## 5.6 样品要求

- (1) 样品无磁性,不含铁钴镍等元素;
- (2) 粉末样品经超声处理滴至合适的碳支持膜上;
- (3) 生物样品经负染或快速冷冻制样等方法处理;
- (4) 金属、陶瓷等块体样品通过 FIB 加工、电解双喷、离子减薄等前处理手段处理 得到 100nm 以下薄区。

# 六、Talos L120C G2 操作流程

# 6.1 测试前准备

#### 检查仪器状态

TEM User Interface 是显示并控制电镜状态的软件,几乎反映了电镜所有的实时状态,包括真空状态、高压状态、灯丝状态、样品杆位置、放大倍数等等,往往结合 **真空图**(Talos vacuum overview)一起,其典型的界面如图2所示,它又是由不同的控制模块所组成。



## 图 2 TEM User Interface 软件

在开始实验前需要确保电镜处在正确的运行状态,先确认电脑是否正在运行(正常情况下是 24 小时不间断运行的),确认 TEM User Interface 软件是否正常运行(常用的软件已被固定在图 2 所示的快速启动栏中,无特殊原因,请不要无故关闭任何正在运行的软件),再检查以下项目:

(1) 真空和液氮状态

如图 3 左图所示,确认 Accelerator 的数值为 1 Log;确认 Column 的数值小于 12 Log;确认 Clo. Valve 处在 Closed 且显示为黄色;确认 Nitrogen level 数值大于

10%,如果液氮显示数值偏小,应先添加一定的液氮。

Setup Search Camera Tune Autc	High Tension	Filament (Expert)	
Vacuum (Supervisor)	High Tension 120 kV	Filament Heat to: 🔹 34 🛃	
Status: All Vacuum (Closed)        Accelerator      1      Log        Column      12      Log        Detection Unit      14      Log        Nitrogen level      1 %      Turbo        Full speed (100.0%)      Full speed (100.0%)      Image: Speed (100.0%)	120 kV 🗸 🗧	0. 50. Emission	
Col. Valve	Free high tension —————	0. 10.	
Closed		Status: Filament off	

图 3 电镜真空、高压和灯丝状态界面

(2) 高压和灯丝状态

如图 3 中图所示,确认 High Tension 数值为 120 kV(正常情况下,电镜一直处 在该电压条件);如图 3 右图所示,如果灯丝状态显示 Status: Filament off, 则点击 Filament 按钮打开灯丝,这个过程需要约 10 分钟,灯丝工作状态显示为 Emission stable。

(3) 测角台位置和相机状态

X:	2.28 µm A:	-0.00 deg
Y:	-0.02 µm B:	0.00 deg
Z:	-0.00 µm Cool. BM-C:	Stable

图 4 测角台位置和相机状态

如图 4 所示,确认测角台位置 X、Y、Z 数值在 0.0 附近;确认相机是否已达到设置的温度 Cool. BM-C: Stable,以及是否处在 insert 状态(CCD/TV Camera 控制模块)。

# 6.2 装样

以上状态检查无误,可以开始将制备好的样品装载到样品杆上,一套典型的单倾样品杆如图5所示,包括样品杆、套管、底座、套筒、工具(Too1)等:



图 5 单倾样品杆整体实物图



图 6 单倾样品杆前端示意图

装样示意图如图 6 所示,步骤如下:

- (1) 取下样品杆前端套筒;
- (2) 检查样品杆尖端以及夹具是清洁干燥的;
- (3) 保持一只手顶在样品杆的末端,确保它不会移出套管;
- (4) 将(套管支持架上其中一个孔中的)工具 Tool 插入到夹子前面的孔中,然后轻轻 提起夹子到最大可能的角度;
- (5) 将样品正面朝下,放在样品杆尖端圆形的凹槽处;
- (6)用工具把夹子小心地降到样品之上,并确保样品保持在正确位置。样品安全夹子必须小心地放低,否则,样品和夹子会被损伤;
- (7) 将样品杆旋转 180°, 轻敲套管,确保样品不会掉落。

#### 注意事项

- (1)样品杆属于仪器中极为精细的部件,需要小心操作,动作要轻,不要野蛮操作;绝 对不能用手触摸样品杆 o 圈至样品杆顶端的任何部位;
- (2)绝对不要在单倾样品杆上安装磁性样品。通常夹子力量不够大,不足以防止样品在 受到物镜磁场作用下飞出并吸附在物镜极靴上;
- (3) 样品杆的夹子应小心提起和放下,否则容易损坏样品杆;
- (4) 装好样品一定要确定样品在凹槽处,并且不会掉落;
- (5) 装卸样品所用工具在使用后需及时放回原位;
- (6) 制备好的样品要等充分晾干后再装入电镜;
- (7)样品杆如果时间长了,需要清洁:用酒精棉轻轻擦拭样品杆o圈至样品杆顶端,对 杆中部的o圈可以取下进行清洁,安装时涂抹少许真空脂。

承载样品杆的部件叫测角台,图7是它的实物图及其软件控制模块,进样步骤如下:



图 7 测角台及其软件控制模块

- (1) 再次确认样品的 x, y, z, α, β五个位置坐标近似为零,如果不为零,点击 Stage<sup>2</sup>-Control-Reset-Holder 将测角台归零(图7右图所示);
- (2)确认测角台的指示灯(图7红色圆圈所示)熄灭(如果指示灯是亮着的,将测角台 再归零一次)。
- (3) 手拿样品杆,将限位突针对准 Close 标线(约5点钟方向),沿轴线平行将样品杆 小心插入,向内滑动样品杆直到遇到阻挡。样品预抽室开始预抽,样品台的指示灯 亮,预抽开始;
- (4)此时,样品杆不能旋转。若样品杆能够旋转,说明样品杆没有进到位,应慢慢把样品杆向左、右稍微转动直到完全进到位;
- (5) 此时在 TEM User Interface 界面中, Turbo Pump 按钮变为橙色, Column ValvesClosed 不可点击, Vacuum Overview 中显示出预抽时间;
- (6) 选择 Single tilt 样品杆类型,点击回车符确认,大约 3 分钟以后,预抽时间结束 后,样品台指示灯熄灭,就可以进样;
- (7) 手握样品杆末端,绕轴逆时针旋转样品杆 120°,将样品杆的销钉对准样品台的圆孔, 然后必须握紧样品杆末端(此时真空对样品杆有较强的吸力作用),使样品杆在真 空吸力作用下慢慢滑入电镜,要送到底,确保销钉到位(要轻拿轻送,不要用力扭 转,避免样品杆撞击样品台内部)。

### 6.4 电镜操作

电镜的操控主要由图 8 所示的两个面板来完成,同时配合 TEM User Interface 软件中 不同的控制模块。



#### 图 8 左面板和右面板

面板控制部件的基本功能介绍如下(从左往后):

- (1) α Tilt: X 轴倾转; β Tilt: Y 轴倾转;
- (2) 圆球: 平移光斑; "+"和"-": 增加或减小平移光斑的步长;
- (3) Intensity: 调整光斑的会聚或者发散; "Fine"和 "Coarse": 调节会聚或发散光 斑的步长;
- (4) Stigmator: 像散校正;
- (5) Multifunction X: 多功能旋钮 X; "Fine"和 "Coarse":调节多功能旋钮的步长;
- (6) L1, L2, L3: 自定义功能旋钮;
- (7) R1, R2, R3: 自定义功能旋钮;
- (8) Multifunction Y: 多功能旋钮 Y; "Fine"和 "Coarse":调节多功能旋钮的步长;
- (9) Dark Field: 暗场像模式;
- (10) Magnification: 调节放大倍数;
- (11) Diffraction: 衍射模式;
- (12) Wobbler: 物镜电流小范围振荡;
- (13) Eucentric Focus: 共心高度聚焦;
- (14) Focus: 调节物镜聚焦。Focus 旋钮包含两层,下面较大的旋钮控制聚焦步长 focus step, focus step 的数值小为细调,大为粗调。一般形貌拍摄选择 step 1 或 2 为细

调,step 3 为粗调。该数值能够在软件的状态栏观察到。

(15) 控制杆: 控制样品在 X 和 Y 方向移动; "+"和"-": 增加或减小移动的步长:

(16) Z axis: 调节样品 Z 方向的高度。

### 6.4.1 找样品

- (1) 再次确认系统真空 Column 真空正常(Accelerator:1 log;Column:<15 log), 灯丝</li>
  状态为 Emission stable, 点击 Clo. Valve Closed 按钮为打开阀门;
- (2) 调出软件 FluCam viewer (insert screen 状态), 阀门打开之后, 就可以看到光斑;
- (3) 如果没有看到束斑,可以按顺序进行如下操作寻找:
  - ① 将放大倍数(Magnification)缩小并将电子束顺时针发散(Intensity);
  - 移动样品。用轨迹球找样品时,若听到报警声,同时屏幕显示 Out of Range, 表明样品处于边界位置,需往相反方向移动;
- (4) 先通过调节 Z axis 来粗调聚焦样品;
- (5) 通过 Focus 旋钮控制 Defocus 细调聚焦。顺时针旋转旋钮 Defocus 值增大,图像趋于过焦(样品边缘产生黑边);逆时针 Defocus 值减小,图像趋于欠焦(样品边缘产生亮边);最佳聚焦点一图像略微欠焦(对于有机样品,可视样品情况适当增大欠焦量以提高衬度)。

#### 6.4.2 数据记录

当样品在合适的放大倍数下被正确聚焦时,就可以用相机记录下来了。记录软件可以选择 TIA (TEM Imaging & Analysis) 或者 Velox。TIA 界面如图 9 所示:



图 9 记录软件 TIA 界面及 CCD/TV Camera 控制模块

# 6.4.3 TIA 使用

- (1) 确认状态栏相机状态为 Cool. BM-C: Stable;
- (2) CCD/TV Camera 控制模块点击 Insert 为黄色,确保相机插入光路;
- (3) 点击 Search, TIA 将进入 Search 模式;
- (4) 确保电子束斑至少散开到能覆盖到整个荧光屏;
- (5) 按右操作面板 R1(Screen lift), 抬起荧光屏,相机将接受到图像信号;
- (6) 适当调整图像的聚焦、像散和构图,设置好曝光时间,点击 Acquire 将数据记录;
- (7) 分别用 Save 和 Export Data 将图像保存和导出为合适的格式。

# 6.4.4 Velox 使用(推荐)

Velox 界面如图 10 所示,包括两个部分 Acquisition-Velox 和 Processing-Velox,其中 Acquisition-Velox 实现数据采集功能, Processing-Velox 实现对数据进行后期处理的功能:



图 10 Acquisition-Velox 和 Processing-Velox 界面

- (1) 确认状态栏相机状态为 Cool. BM-C: Stable;
- (2) 打开 Velox 软件, Acquisition-Velox 上 Edit-preference 设置文件的保存路径和习惯;

- (3) CCD/TV Camera 控制模块点击 Insert 为黄色,确保相机插入光路;
- (4) 确保电子束斑至少散开到能覆盖到整个荧光屏;
- (5) 点击 Acquisition-Velox 上的 各图标,进入 Search 模式;
- (6) 按右操作面板 R1(Screen lift), 抬起荧光屏,相机将接受到图像信号;
- (7) 适当调整图像的聚焦、像散和构图,设置好曝光时间,点击 Acquisition-Velox 上的 💁 图标,将数据记录下来;
- (8) 使用 Export Image 或者 Batch Export Image 将照片(批量)导出为合适的格式。

#### 使用相机时需要注意:

- (1) 抬起荧光屏之前电子束一定要散开到至少与荧光屏一样大;
- (2)使用相机观察图像过程中,如需改变放大倍数,必须先将荧光屏放下,调好后再抬 屏观察(防止改变倍数过程中电子束会聚或偏移);
- (3) 拍摄衍射图片时,一定要更加小心,确认已插入 Beam Stopper 遮挡透射斑, screen<sup>~</sup>0.3-0.9nA,曝光时间<sup>~</sup>0.5s 以下。

## 6.5 结束操作

- (1) 实验完毕,先将放大倍数缩小至 5200X 以下,并将电子束发散;
- (2) 点击 Col. Valves Closed 按钮关闭阀门,按钮由灰变黄;
- (3) 样品杆回位:点击 stage<sup>2</sup>-control 下的 Reset-Holder 进行样品杆归零,此时样品杆 位置坐标 X、Y、Z、α、β的数值都应在 "0" 附近,如图 11 所示;
- (4)如后续无人接着预约使用电镜,可选择将灯丝Filament 关闭:点击Filament 模块, 使其由黄色变为灰色, status: Filament off;
- (5) 点击 CCD/TV Camera 控制模块点击 Insert 由黄色变为灰色。

Stage <sup>2</sup>	Control File Si · · · Positions / tracks Delete All Clear Tracks				
	Stage control				
Go. Add Undate Delete	Power step (1/88) 1/8				
post al	XY separately above 500000 ×				
Auto Euc Height Find Tracks					
	Reset				
		Tec.	0.40		0.04.1
	Alpha wobbler Wobbler	X	U.12 µm	A	U.U1 deg 📗
	0 5 10 15	Y	-0.09 µm	В	0.00 deg
	Alpha toggle Set Alpha 15 *	Z	-0.06 µm		

图 11 样品台控制模块和状态显示栏

### 6.6 取出样品杆

- (1) 在确认阀门已经关闭,样品台已经归零之后,可以拔出样品杆;
- (2) 若发现样品台的红灯亮起,不能拔样品杆;
- (3)顺着轴向外拔出样品杆到有阻力为止(注意力度不要太大);
- (4) 绕轴顺时针转到头,约 120°;
- (5)顺着轴保持水平地将从样品台中拔出样品杆(手拖住样品杆的后杆部,勿使样品杆 前端在彻底拔除时撞到样品室),如是双倾杆,则需先拔掉电缆插头。

#### <注意事项>

- (1) 务必确认阀门已经关闭,样品台已经归零,且样品台的红灯不亮;
- (2) 拔样品杆的顺序为"拔一转一拔",每一步操作必须到位,如果在拔的过程中同时 进行转动,很容易导致漏气;
- (3) 样品杆属于仪器精密部件,使用时请小心,所有操作均不必使用特别大的力气;
- (4)两个"拔"的过程务必确认出力的方向与样品杆方向平行,否则很容易将样品杆和样品台损坏。

#### 6.7 卸载样品

- (1) 将样品杆放入样品架中,取出前端套管;
- (2) 在杆前端下面放置表皿或滤纸,单倾杆用 Tool 将样品夹小心地抬起至最大角度; 将样品杆旋转 180°,使铜网掉落下来;
- (3) 若不测试,则用 Tool 将样品夹小心放下,套上套管,将 Tool 放回支架固定;
- (4) 若需要继续测试,可按照装样品的步骤,装入下一个样品进行测试。

#### 6.8 结束实验

试验结束后,实验者应在实验记录本上做好记录,并将试验台清理干净。