



中国人民大学化学与生命资源学院

SCHOOL OF CHEMISTRY AND LIFE RESOURCES, RENMIN UNIVERSITY OF CHINA

理化分析测试中心

INSTRUMENTAL ANALYSIS CENTER (IAC)

傅立叶变换红外

显微镜

Bruker-HYPERION II

操作指南

制作团队：周晓君, 张晴, 曹桁

指导老师：杨旻, 贺泳霖

中国人民大学化学与生命资源学院

一、仪器基本信息



- 1) 仪器型号： Bruker-HYPERION II 傅立叶变换红外显微镜
- 2) 生产厂家： BRUKER（布鲁克）
- 3) 核心功能：支持透射、反射、ATR 等多种测量模式，实现超高速、高分辨率、无伪影的红外化学成像，可配备焦平面阵列成像探测器以及最新的基于量子级联激光器（QCL）的成像技术。是空间生物学、药物分析、材料研究、微塑料检测等领域的前沿工具。

4) 关键参数：

镜头：15x Cassegrain 物镜，用于可见和红外光谱样品分析；4x 玻璃物镜，用于可见光样品观测，用于反射观察和测量的红外和可见光照明光学器件；

探测器：MCT 探测器（10,000-600 cm^{-1} ），液氮冷却，带前置放大器；

电动 XY 轴采样台：用于在所有测量模式下进行全自动反射和成像测量；调整范围：75 mm x 50 mm；调整精度（=最小步长）：

0.1 μm ；重复性：<1 μm ；

光谱范围：标准中红外 4000-400 cm^{-1} ，可扩展至 25000-50 cm^{-1} （NIR-FIR 联合）。

5) 放置位置：理工楼 107 实验室

6) 责任人：杨旸 13811611012

二、操作前准备

2.1 人员要求

操作人员需完成傅里叶变换红外显微镜专项培训并通过考核，持“仪器操作资格证”预约使用。

2.2 仪器检查

- 1) 环境检查：室温 18-25 $^{\circ}\text{C}$ ；空调风口不得直吹显微镜。
- 2) 外观检查：确认仪器外壳无破损、接口无松动。
- 3) 样品台检查：检查样品台、物镜下方有无上一用户遗留的 KBr 片、液体或金属碎屑——任何碎屑都可能会划伤物镜或压坏 z 轴。确认目镜已插紧，否则软件会报错“camera not found”。
- 4) 线路检查：仪器接线正确，且连接牢固。拉曼和显微红外使用同一个主机插口，开机前要先确认插口是否合适，开机状态下切换部件会导致初始化失败。



- 5) 加液氮：傅里叶变换红外显微镜配置的 LN₂-MCT 为低温检测器，需要在液氮仓中添加液氮提供低温环境。
取用液氮须戴低温手套和护目镜，禁止棉质手套；
液氮仓口狭小，需要使用漏斗少量缓慢添加；
MCT 连续工作 8 h 需中途补加。



- 6) 分束镜检查：确认显微红外分束镜。
首先，在“中国人民大学大型仪器设备使用记录”查看上一用户是否使用 KBr 分束器（红色手柄）。
其次，如果上一用户使用的是 CaF₂ 分束器（黑色手柄），则需更换为 KBr 分束器。

三、标准操作流程

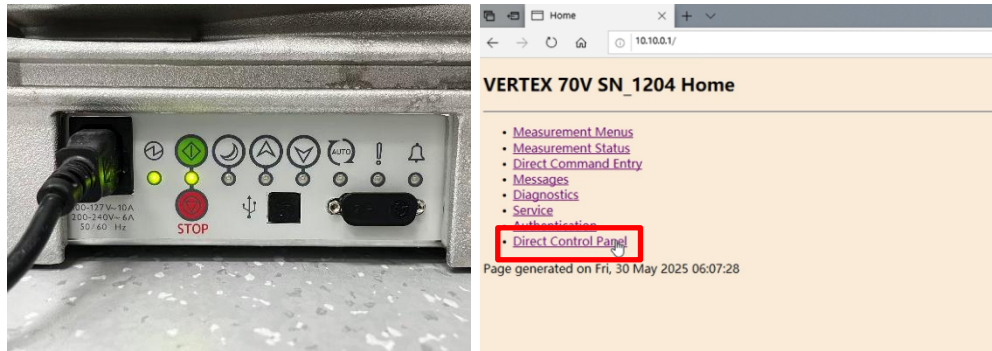
3.1 开机

打开仪器背部开关、显微镜开关、电脑开关。

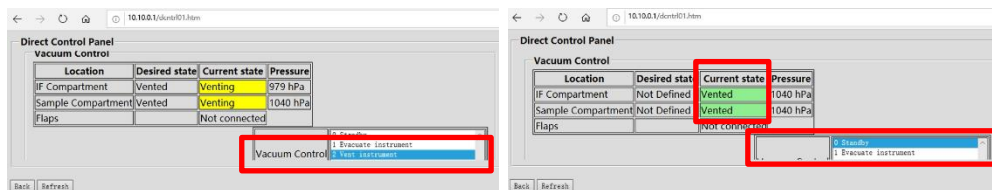
3.2 配置红外分束器

仪器当前的分束器不是红外分束器时才进行此步操作！

- 1) **打开真空泵**。在 IE 浏览器中输入网址并进入：10.10.0.1，点击“Direct Control Panel”。



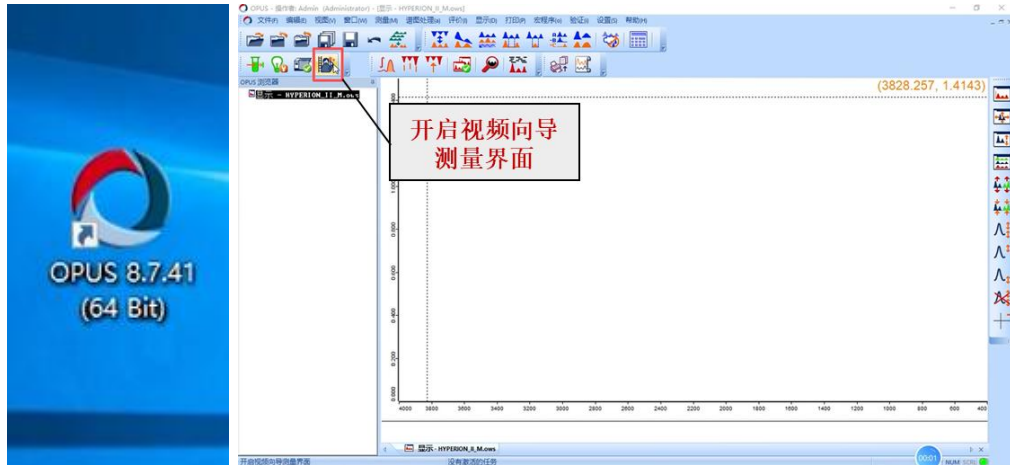
- 2) **通大气**: 点击“Vaccum Control”中的“2 Vent instrument”开始通气，“Current state”显示为绿色“Vented”，通气完成。点击“Vaccum Control”中的“0 Standby”。



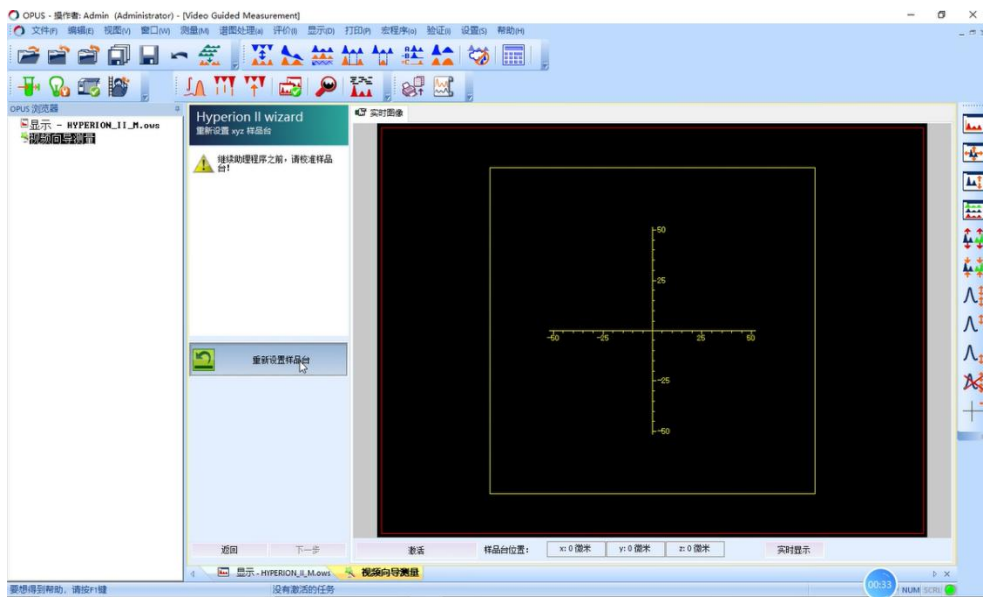
- 3) **放置红外分束器**: 通气完成后，旋开分束器仓门旋钮，将红外分束器放置在左侧仓内，关好仓门。
- 4) **抽真空**: 点击“Vaccum Control”中的“1 Evacuate instrument”开始抽真空，“Pressure”降至 8 hPa 左右时“Vaccum Control”会显示为绿色的“Evacuated”，待压力继续降至 1.03 hPa 时点击“Vaccum Control”中的“0 Standby”，抽真空完成即可开始测试。结束测试后关闭真空泵！

3.3 开启操作软件

- 1) 打开软件 OPUS 8.7.41(64bit)，输入口令 **OPUS**，点击登录，进入操作页面。



- 2) 点击“开启视频向导测量界面”，初始化。
- 3) 重新设置 xyz 样品台：点击“重新设置样品台”，“确定”。



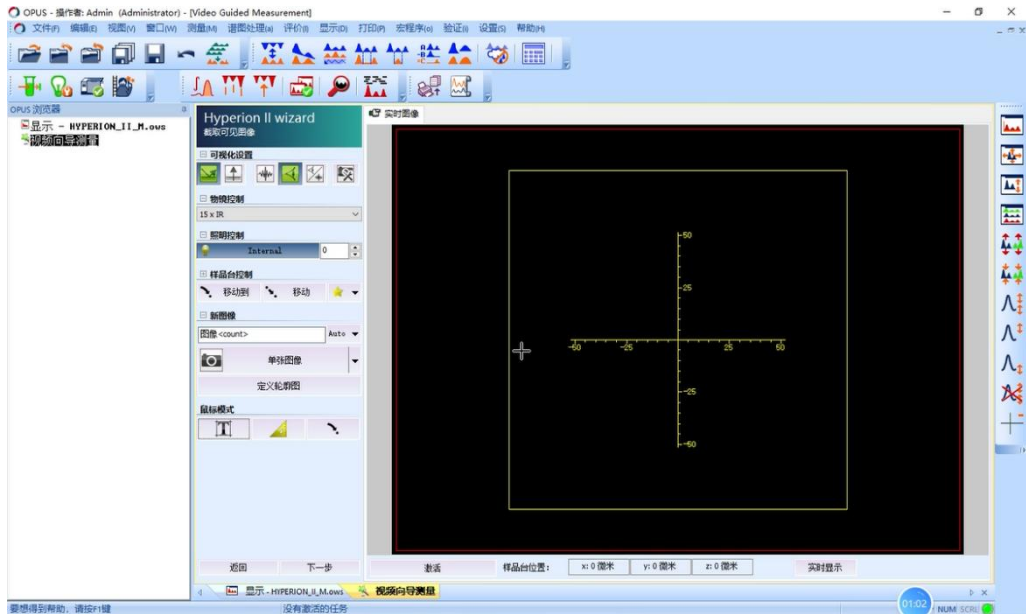
样品台归至零位，如图所示，白色光点定位至样品台白框左下角。

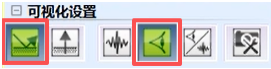



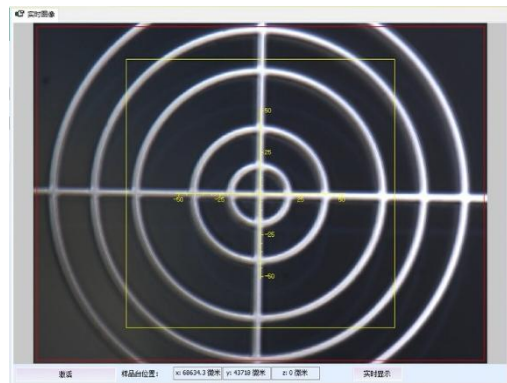
红外显微镜——反射模式

3.4 反射模式

3.4.1 “截取可见图像”



- 1) **可视化设置**: 选择反射和可见光模式。 
- 2) **照明控制**: 适时调整数值，使视野亮度合适。
- 3) **样品台控制**:  选中“Crosshair”，待白色光束移至样品台十字板位置后，调节显微镜两侧 z 轴旋钮实现 z 轴调焦（大旋钮粗调，小旋钮细调），直至看到清晰的十字板，并比较十字板和屏幕坐标是否对齐。



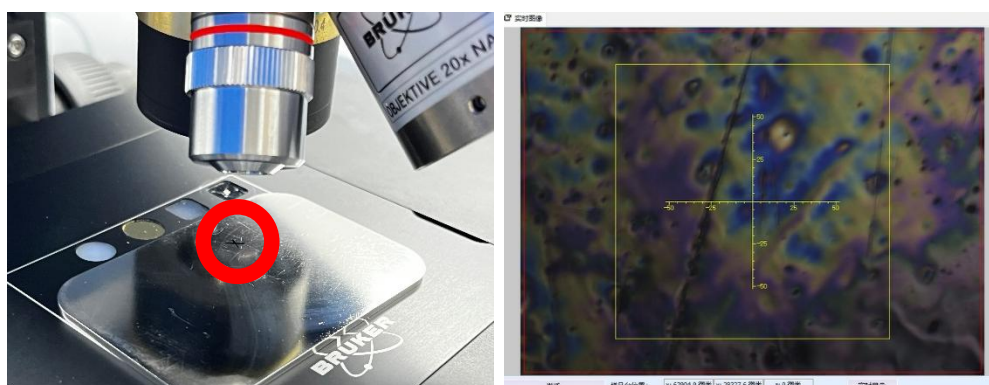
如果不对齐，点击鼠标右键，选择“硬件设置”，选择“更新”

样品台原点”，根据提示信息，操作游戏杆对齐光标后点击“确定”，完成位置校正。

[注：验证板是布鲁克的 HYPERION II 红外显微镜的标准配件，配备了仪器自动校准的参考位置和标准，并允许放置标准 KBr 窗口。标准参考位置从左至右依次为：PS 聚苯乙烯薄膜、金镜、PA 尼龙、十字板，正中为透射测试孔。在“样品台控制”中选择相应选项即可自动定位到这些标准参考位置。]



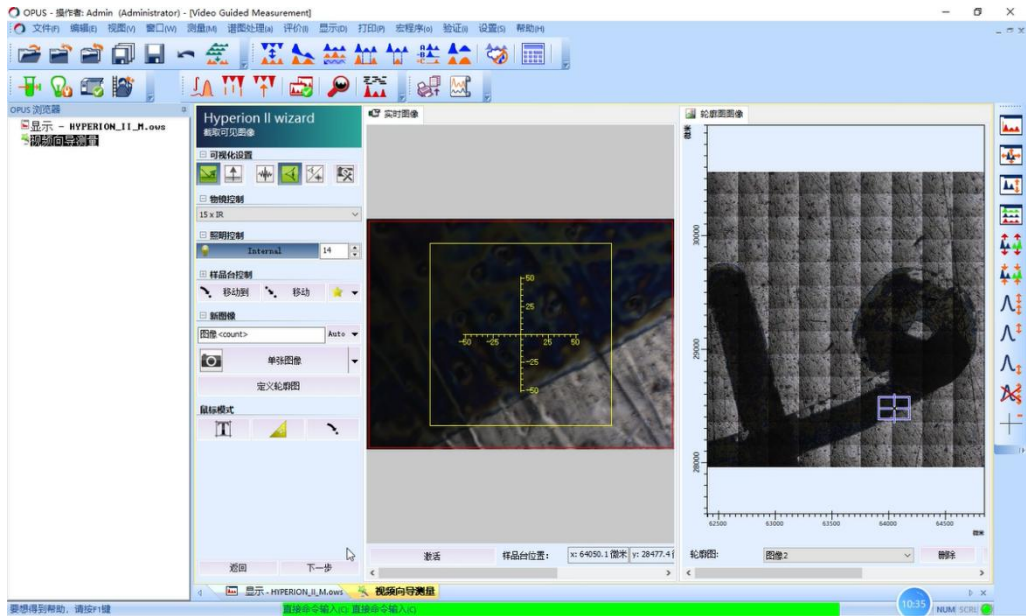
- 4) **放置样品并对焦**：将样品置于样品台的白色框内，使用游戏杆将白光移至待测样品处，完成 xy 轴水平对焦；调节 z 轴旋钮直至样品图像清晰，完成 z 轴聚焦。



- 5) **新图像**：


点击“单张图像”，即截取一张当前视野的图像；

点击“定义轮廓图”，移动游戏杆选择一个左上角后点击“添加新边界点”；移动游戏杆选择一个右下角后点击“添加新边界点”（至少选定两个边界点）。最后点击“采集所定义的图像”将得到边界点限定的矩形区域的完整图像（拍摄多张图像拼接组成，如图所示）。



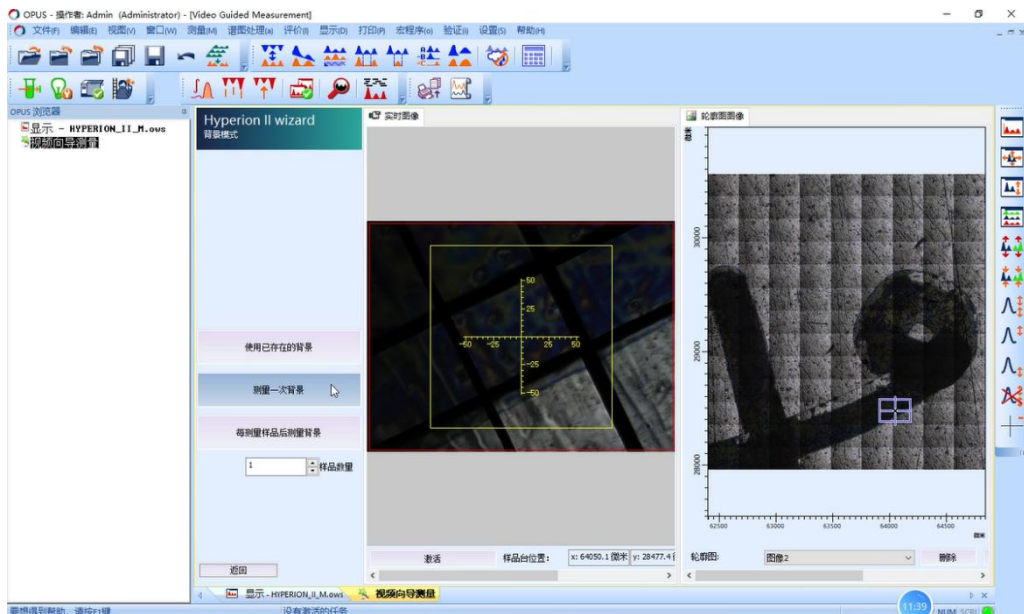
6) 鼠标模式:



添加标注（可保留）；测量距离（可保留）；
 点击位置移动样品台，点亮该按钮后  可直接由鼠标控制样品台的移动。鼠标点击右侧轮廓图图像中任意位置，视野中心自动移至该处（双击点亮后可连续选点）。

7) 点击“下一步”。

3.4.2 “背景模式”



- 1) **设置刀口光阑**：光阑旋钮在显微镜右侧面。将操作杆扳至右侧方框模式，拨动齿轮旋钮调节光阑宽度；将操作杆扳至左侧旋转模式，拨动齿轮旋钮调节光阑角度，以适应样品方向。光阑围出的中心矩形为红外光检测区域。

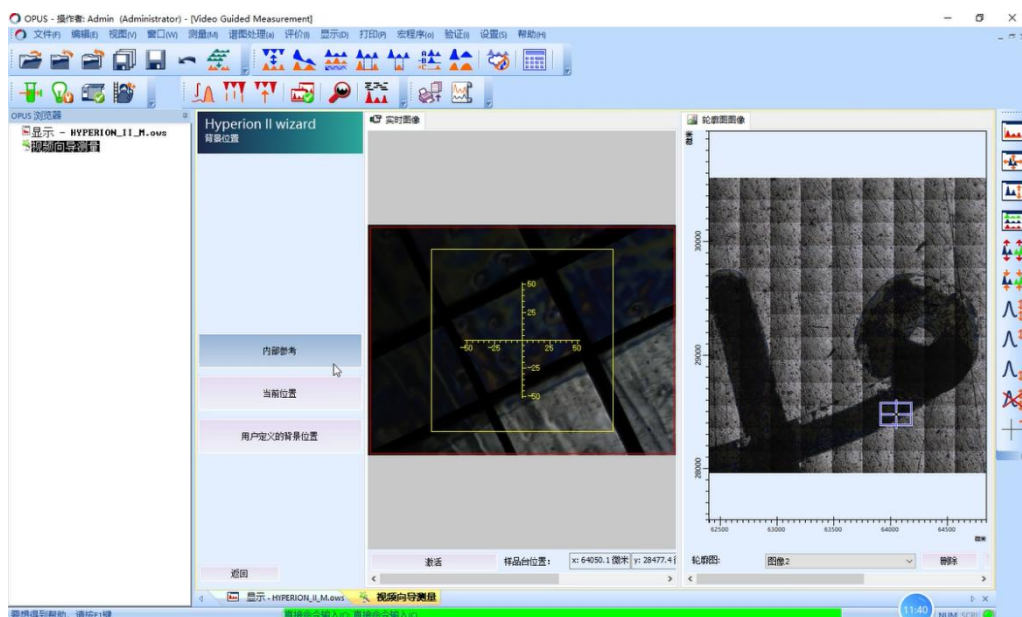
务必在测量背景前设置好光阑！



- 2) 通常选择“**测量一次背景**”。

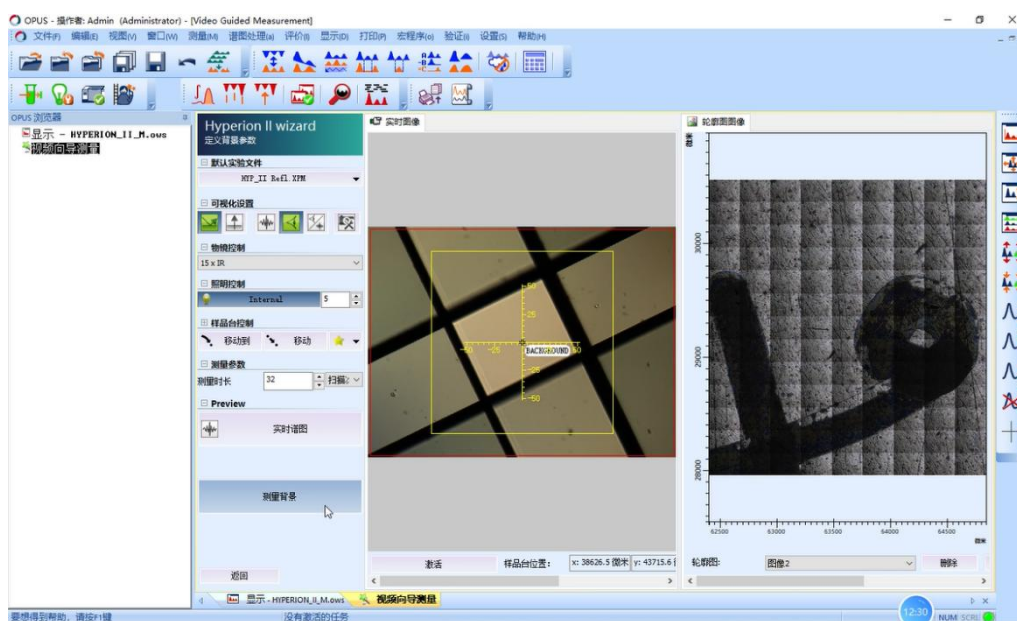
3.4.3 “背景位置”

- 1) **内部参考**：反射模式下为金镜，有高反射率；点击该选项，样品台会自行将光斑移至金镜处。点击前确保已设置好刀口光阑！
[注：由于金镜与样品存在高度差，光斑移至金镜处后视野会变得一片漆黑，此时需调 z 轴旋钮对焦。金镜反射率较高，注意将亮度调暗，可借助金镜上的灰尘对焦。]



- 2) **当前位置**：自行选择基底空白位置作为背景，反射率不如金镜。

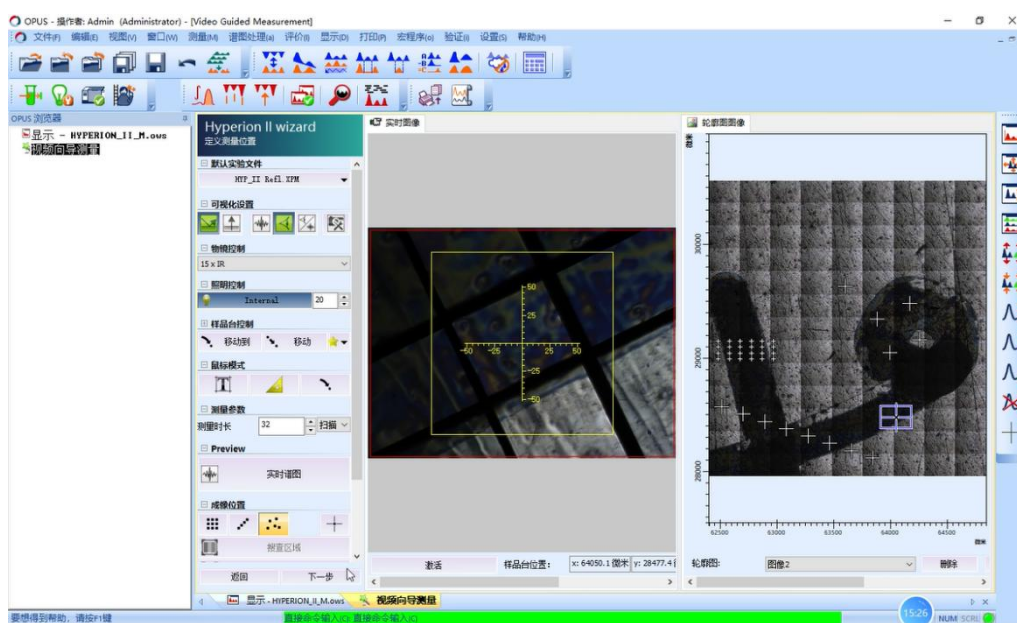
3.4.4 “定义背景参数”



- 1) **默认实验文件**：选择 HYP_II Refl.XPM；
- 2) **测量参数**：根据需要自行设置测量时长；
- 3) **测量背景**：点击“测量背景”，出现提示框，已完成聚焦可直接点击“确定”。

[注：在“内部参考”模式下测量完成后，样品台会自动回到之前的样品位置。由于高度差，视野再次黑暗，将亮度调高后，需调节 z 轴旋钮重新对焦。]

3.4.5 “定义测量位置”

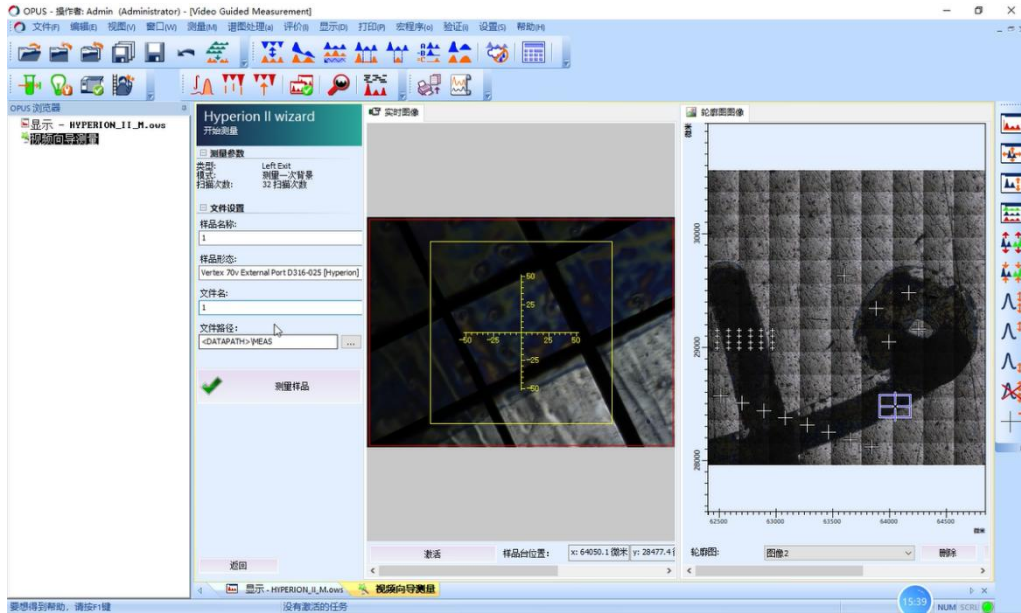


1) **成像位置**：按需选择矩阵、直线或散点的取点方式，在右侧轮廓图中选取扫描点位。

[注：取点处单击右键，“编辑”可“设置测量位置数目”。]

2) 点击“**下一步**”。

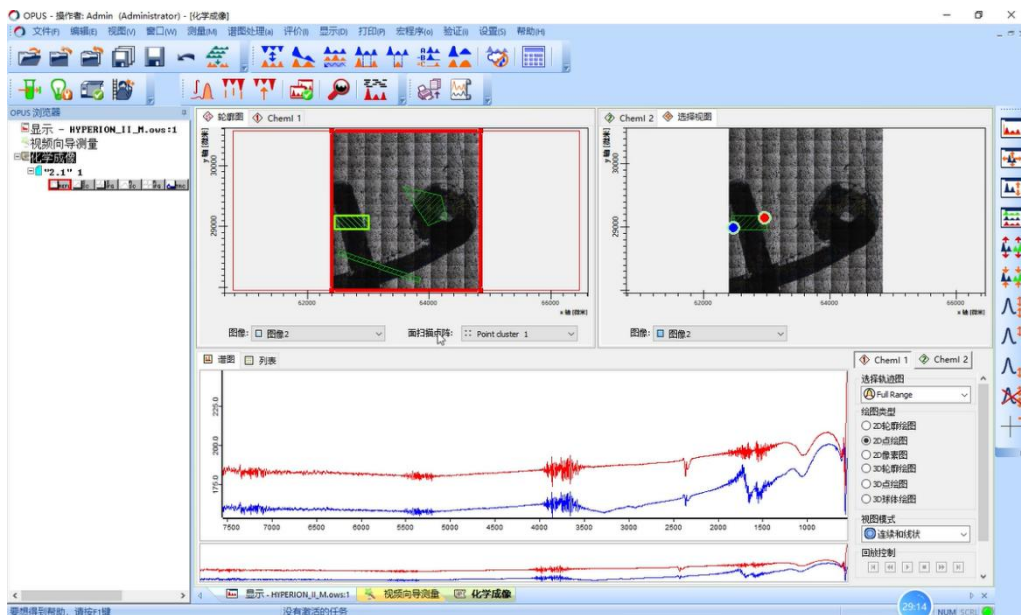
3.4.6 “开始测量”



1) **文件设置**：修改“样品名称”、“文件名”、“文件路径”。

2) 点击“**测量样品**”，待测量完成后点击“下一步”。

3.4.7 完成测量



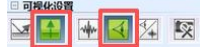

- 1) **轮廓图**：所有采集点位按照取点方式分组（矩阵、直线、三点），在“面扫描点阵”中选择目标组别。
- 2) **选择视图**：在此勾选或取消点位，以查看和分析不同点位的反射谱图。
- 3) **谱图**：展示各点位反射谱图原始数据。
[注：2400-2200 波数处为二氧化碳干扰。]

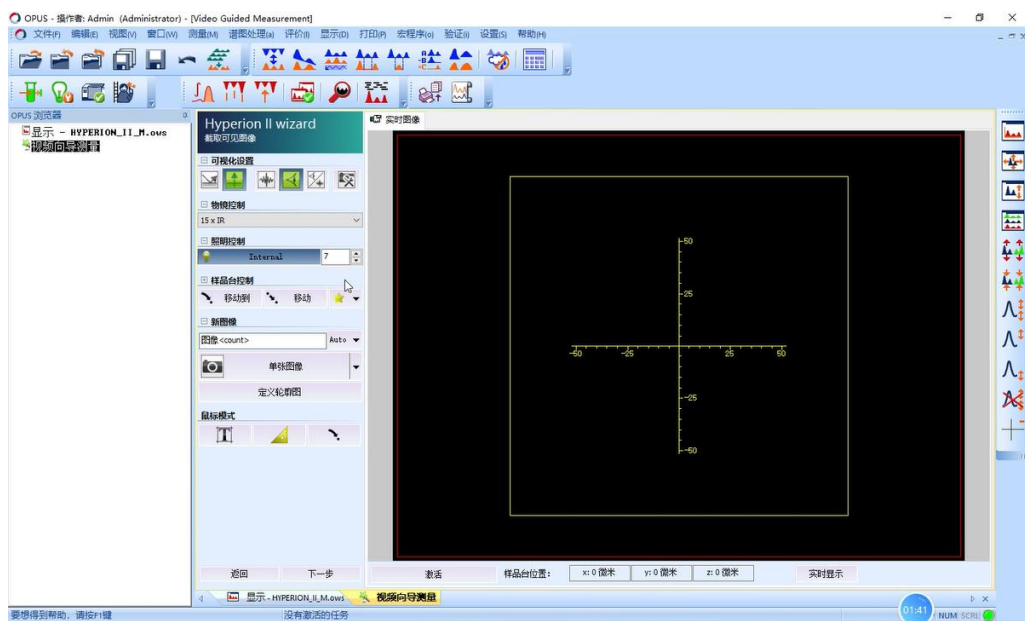
红外显微镜——透射模式

3.5 透射模式

注：透射操作多数步骤与反射相同，不同之处已标红！

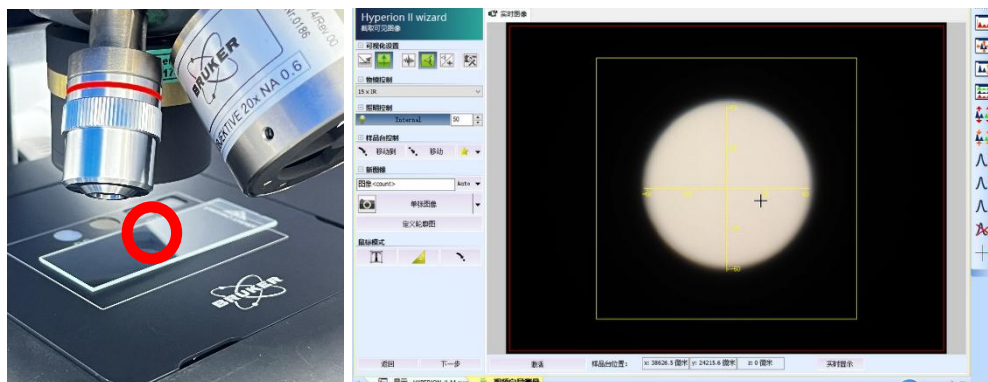
3.5.1 “截取可见图像”

- 1) **可视化设置**：选择**透射**和可见光模。
- 2) **照明控制**：适时调整数值，使视野亮度合适。
- 3) **样品台控制**：点击下的“**Transmittance Background**”，白色光束将对准样品台中间的透射测试孔。此时视野黑暗。



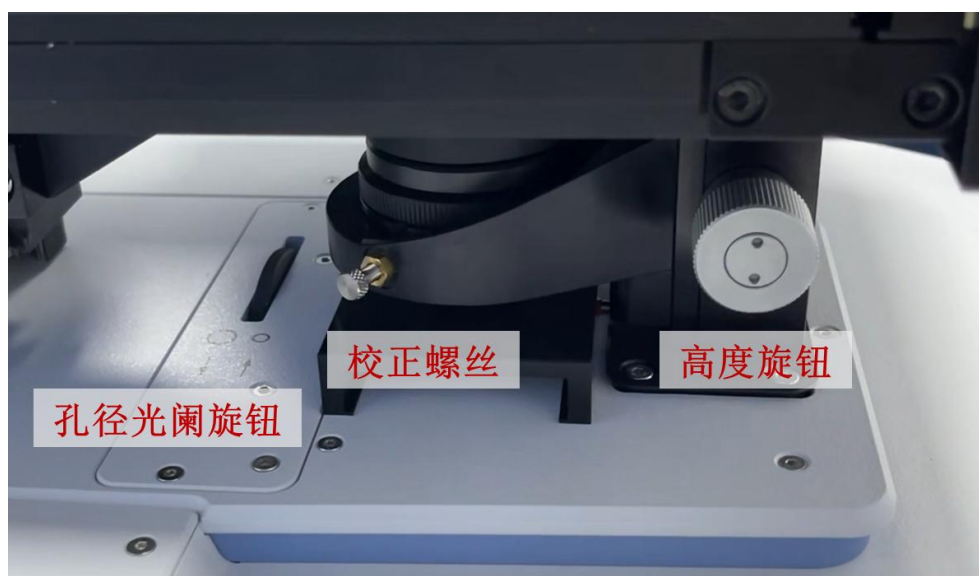
- 4) **放置样品**：将样品置于透红外光的基底上，将基底置于样品台白框内，保证样品处于透射测试孔径范围内。

[注：此时样品不位于光路中心。]

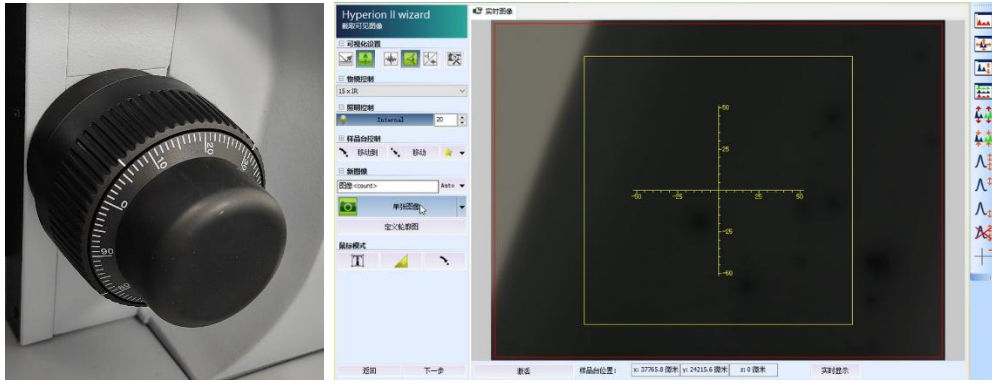


- 5) **对焦**：将样品台后侧下方的**孔径光阑**向右边滚动直至听见“咔哒”声，调节样品台下方**高度旋钮**至视野中出现圆形光斑直至边界清晰（注意调节亮度）。调节左右两颗**校正螺丝**沿对角线移动光斑，使光斑对准屏幕的十字坐标。对焦完成后将孔径光阑向左边滚动至听到声响。

调节旋钮时不要触碰样品台！



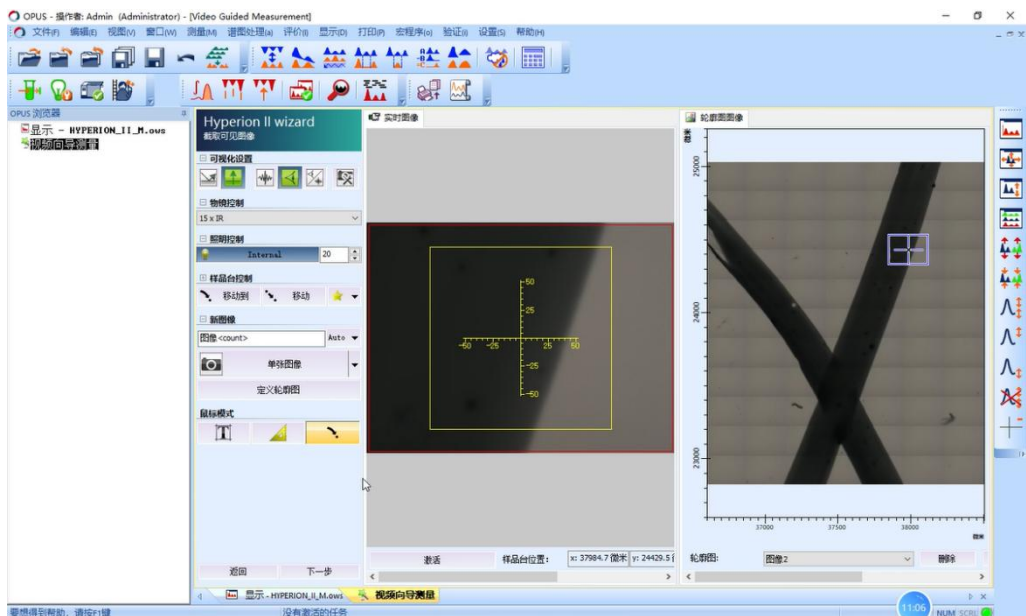
使用游戏杆将白光移至待测样品处，完成 xy 轴水平对焦；调节 z 轴旋钮直至样品图像清晰，完成 z 轴聚焦。



6) 新图像:

点击“单张图像”，即截取一张当前视野的图像；


点击“定义轮廓图”，移动游戏杆选择一个左上点后点击“添加新边界点”，移动游戏杆选择一个右下角后点击“添加新边界点”（至少选定两个边界点），最后点击“采集所定义的图像”将得到边界点限定的矩形区域的完整图像（拍摄多张图像拼接组成，如图所示）。



7) 鼠标模式:

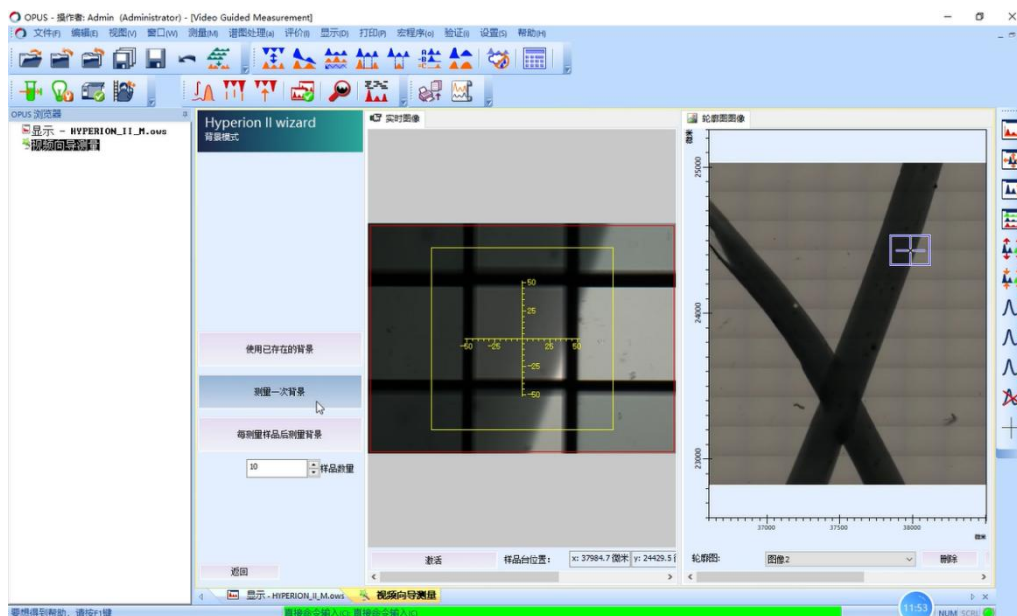
添加标注（可保留）；测量距离（可保留）；



点击位置移动样品台：点亮  后可直接鼠标控制样品台移动，鼠标点击右侧图像中任意位置，视野中心自动移至该处。

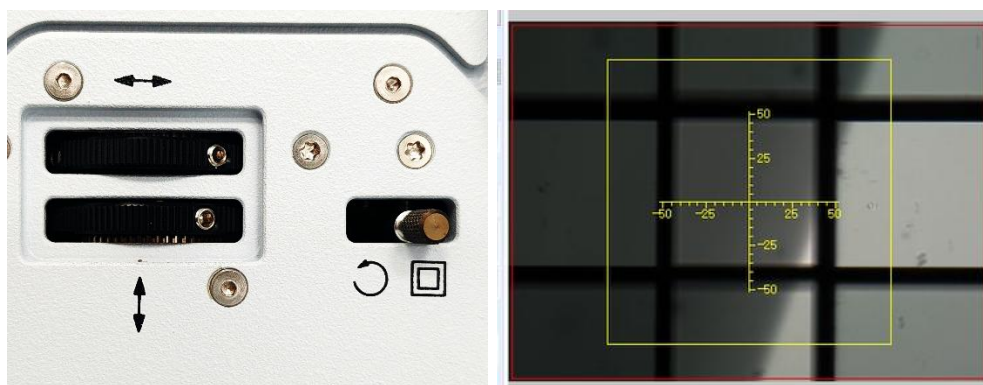
8) 点击“**下一步**”。

3.5.2 “背景模式”



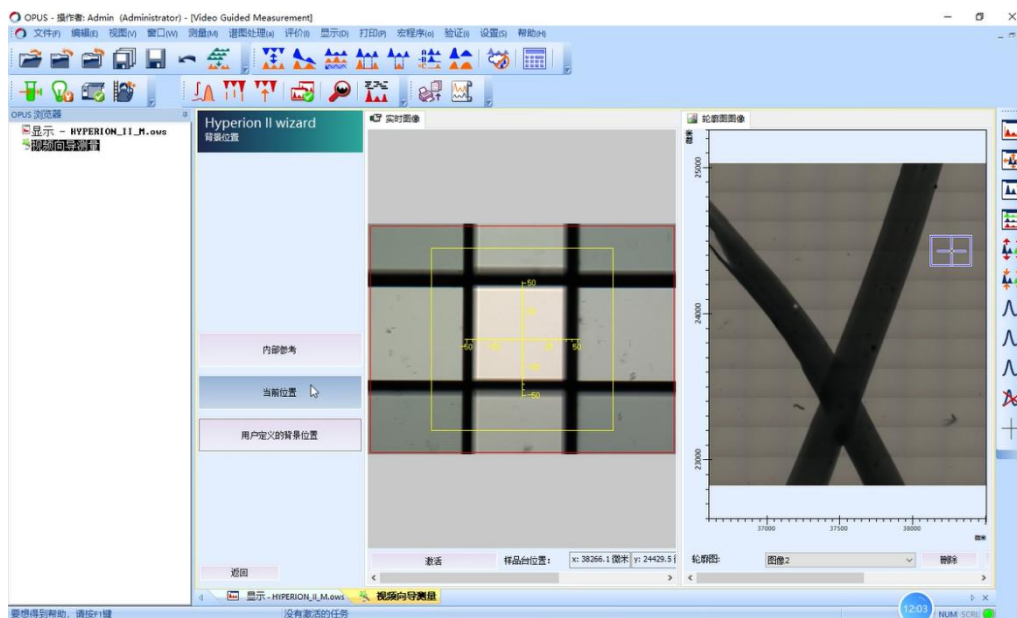
1) **设置刀口光阑**：光阑旋钮在显微镜右侧面。将操作杆扳至右侧方框模式，拨动齿轮旋钮调节光阑宽度；将操作杆扳至左侧旋转模式，拨动齿轮旋钮调节光阑角度，以适应样品方向。光阑围出的中心矩形为红外光检测区域。

务必在测量背景前设置好光阑！



2) 通常选择“**测量一次背景**”。

3.5.3 “背景位置”

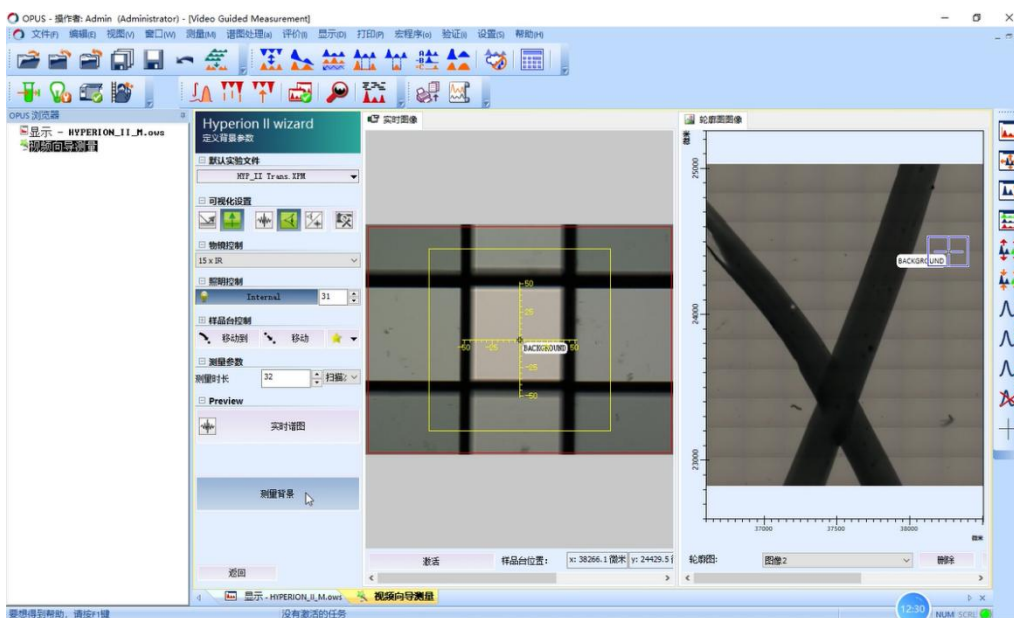


- 1) **当前位置**: 调整好光阑后, 在透红外光的基底上自行选择空白位置点击该选项, 作为采集背景的位置。

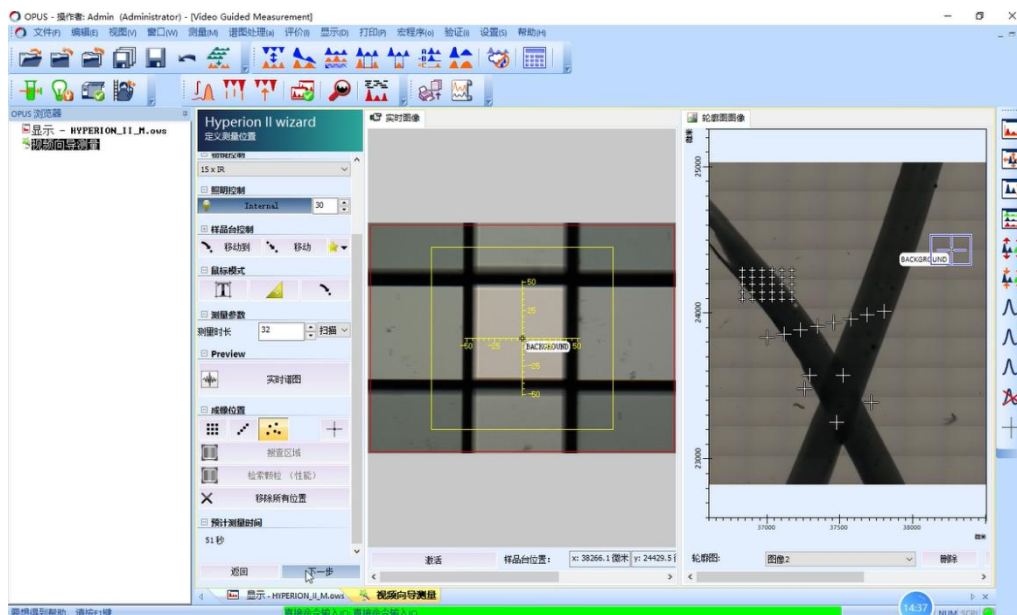
透射模式只能采用当前位置测量背景。

3.5.4 “定义背景参数”

- 1) **默认实验文件**: 选择 HYP_II Trans. XPM;
- 2) **测量参数**: 根据需要设置测量时长。
- 3) **测量背景**: 点击“测量背景”, 完成背景采集。



3.5.5 “定义测量位置”

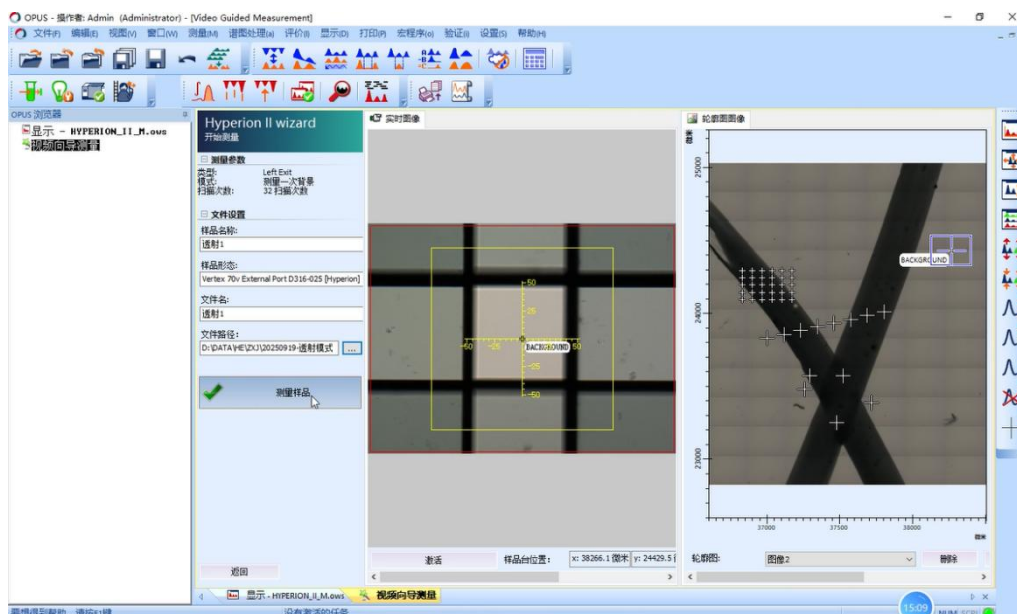


1) **成像位置**：按需选择矩阵、直线或散点的取点方式，在右侧轮廓图中选取扫描点位。

[注：取点处单击右键，“编辑”可“设置测量位置数目”。]

2) 点击“**下一步**”。

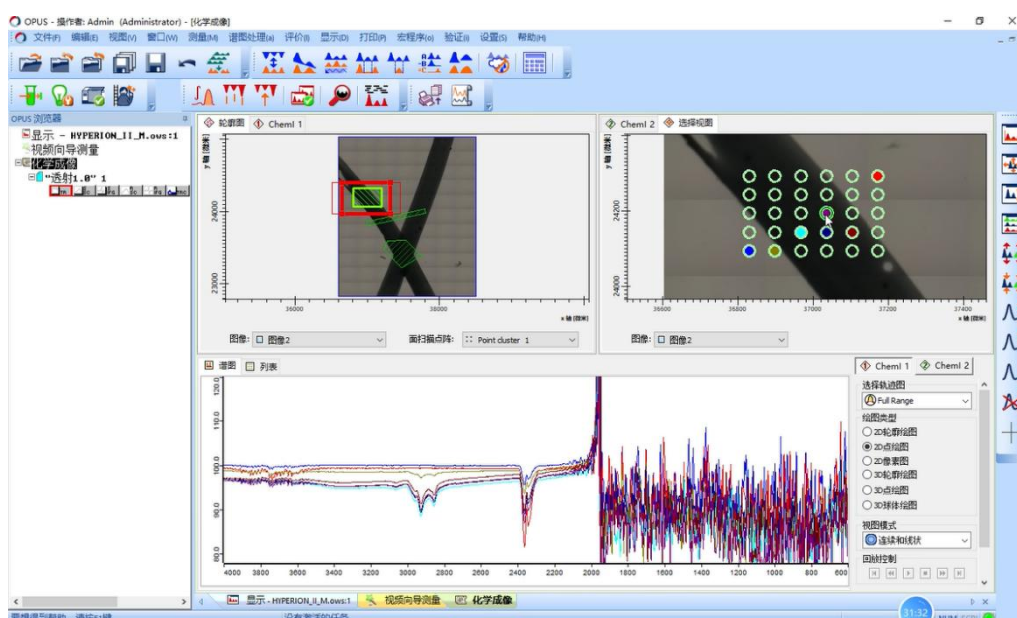
3.5.6 “开始测量”



1) **文件设置**：修改“样品名称”、“文件名”、“文件路径”。

2) 点击“**测量样品**”，待测量完成后点击“下一步”。

3.5.7 完成测量



- 1) **轮廓图**：所有采集点位按照取点方式分组（矩阵、直线、三点），在“面扫描点阵”中选择目标组别。
- 2) **选择视图**：在此勾选或取消点位，以查看和分析不同点位的反射曲线。
- 3) **谱图**：展示各点位反射曲线原始数据。

[注：2400-2200 波数处为二氧化碳干扰。]

四、数据处理及保存

4.1 原始数据保存

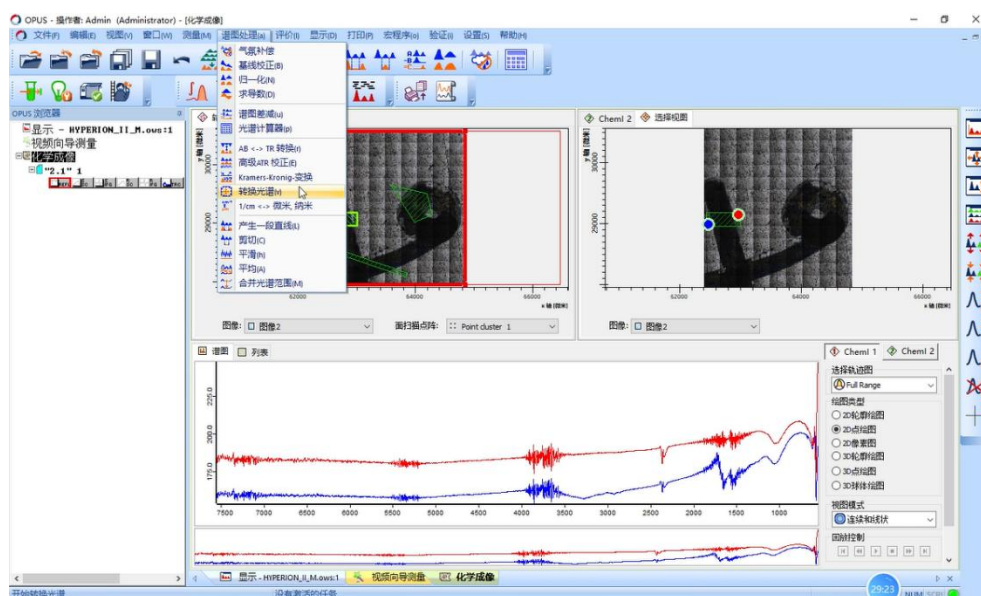
反射结果将自动保存至 3.3 反射模式和 3.3.6 “开始测量”步骤定义的文件路径中；透射结果将自动保存至 3.4 透射模式和 3.4.6 “开始测量”步骤定义的文件路径中。


4.2 数据处理

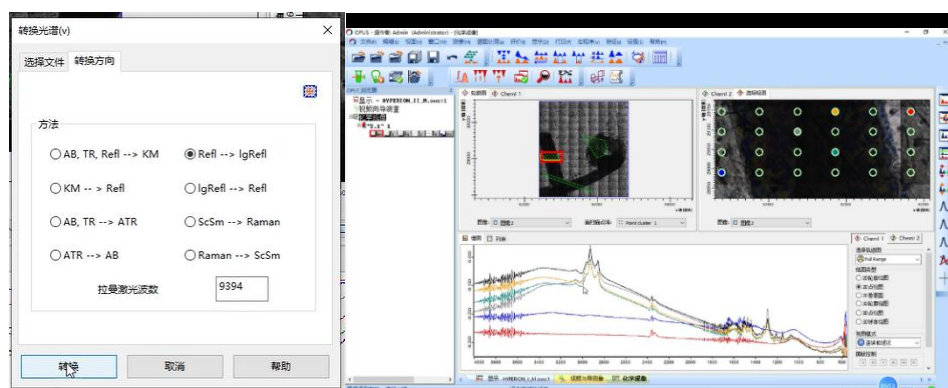
- 1) **左侧视图**：选择“轮廓图”，在下方的“面扫描点阵图”中切换矩形、线性、散点成像位置；

- 2) **右侧视图**：选择视图—“图像 2”，右键“激活放大模式”后，放大成像位置；再次右键取消“激活放大模式”，选择不同样品点；
- 3) **调整坐标**：下方谱图框中能看到对应的反射/透射原始谱图，右键—属性调整坐标，找到特征峰；
- 4) **谱图转换**：

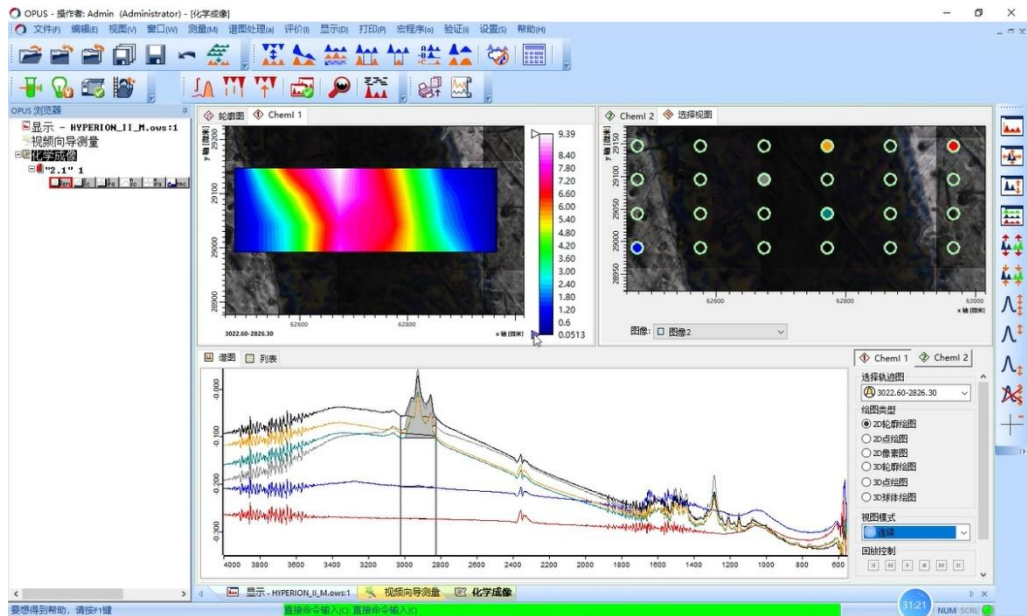
反射模式：上方工具栏中“谱图处理”——“转换光谱”——“转换方向”——“Refl-->lgRefl”，转换后下方谱图中得到吸收谱；



透射模式：工具栏中点击快捷键  点击 AB<->TR，选择“TR-->AB”转换，得到下方吸收谱。



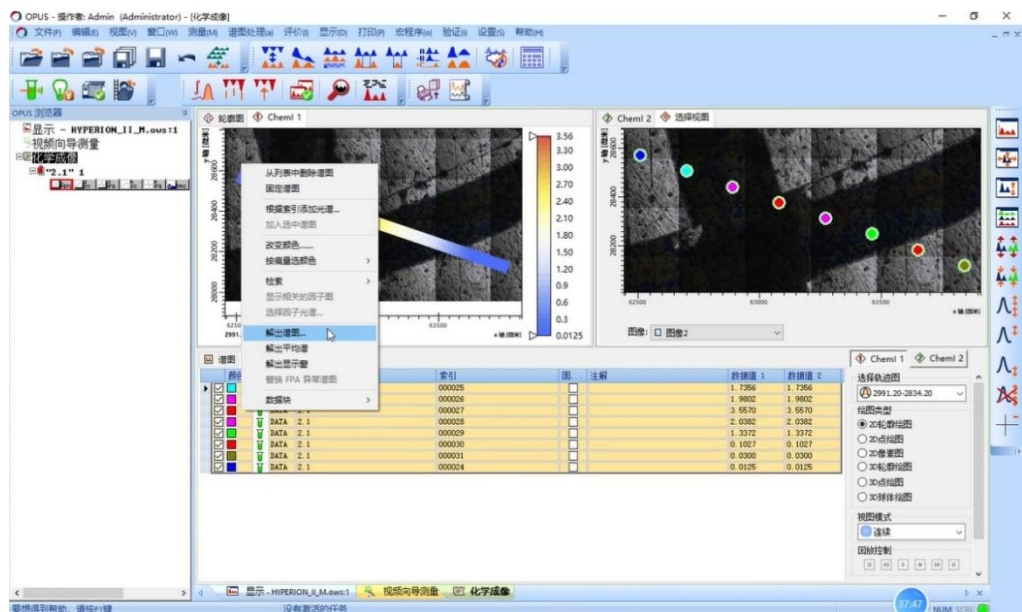
5) **积分**: 调整坐标, 找到特征吸收峰。对特征吸收峰积分;



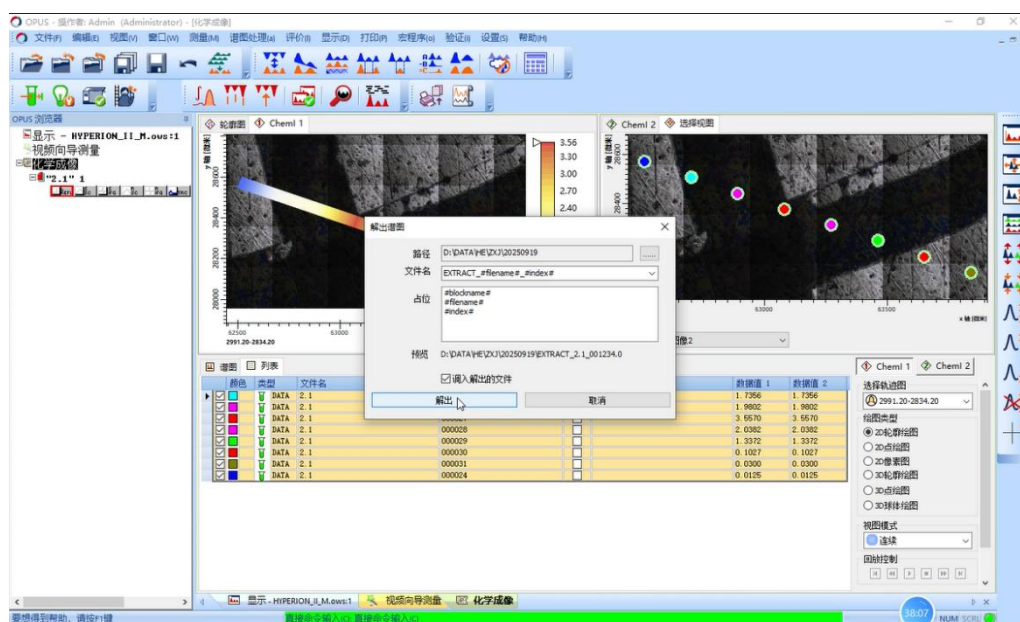
6) **谱图分析**: 积分后, 在左上谱图中选择“Chem”, 右下方轨迹图选择“2D 轮廓绘图”, 视图模式选择“连续”, 即可得到带有色条分析的显微图, 查看积分结果的二维分布。

[注: 色条可以右键进行编辑。仅矩阵取点和直线取点支持查看积分结果的二维分布。色条颜色的亮暗反映了当前成像位置样品量的多少: 颜色越亮, 该区域样品越多]

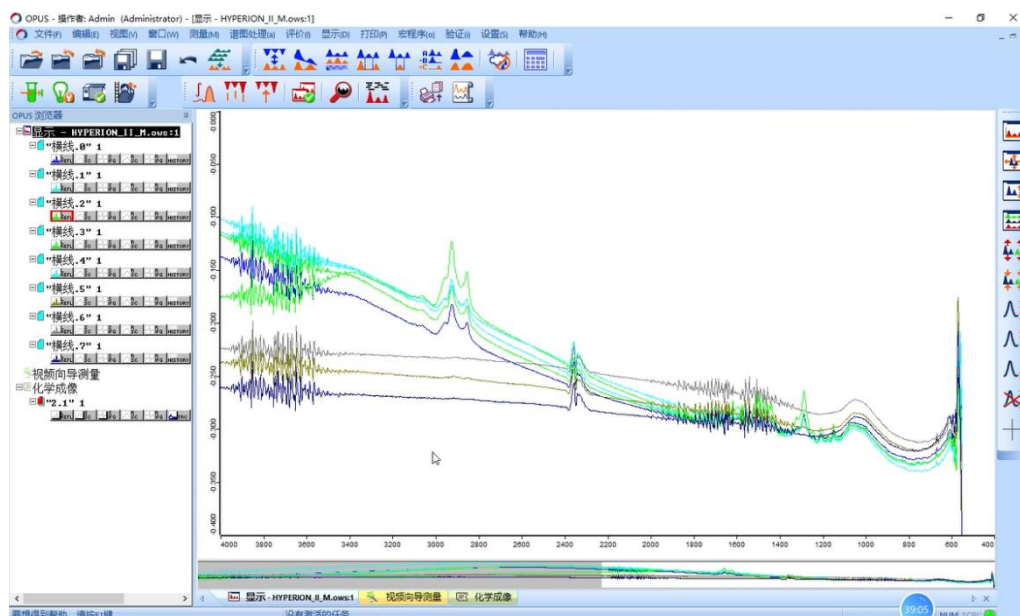
7) **解出谱图**: 下方谱图右侧点击“列表”, 选中所有点, 右键“解出谱图”。



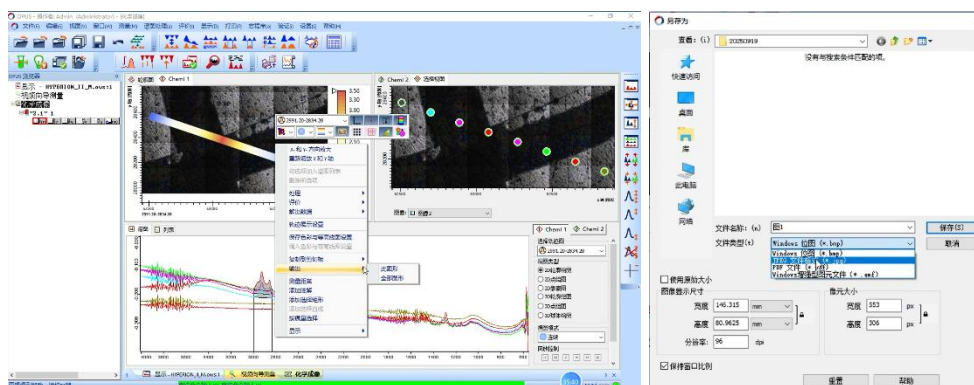
设置文件储存位置和命名后，“调入解出的文件”，即可查看解出的全部谱图。OPUS 文件自动保存。



点击左侧图标即可查看解出的图谱：



8) **保存图像**：在图像处右键选择“输出”，根据需要选择“此图形”或“全部图形”，修改保存路径和文件名称，并选择“JPEG 文件格式(*.jpg)”，即可保存处理后的图像数据。



五、实验结束

- 1) 测试结束后将刀口光阑和样品台归回原位、样品台降到低位，将灯光调暗。
- 2) 确认 VERTEX 70v 主机已抽真空！实验结束确认关系！
- 3) 先退出 OPUS → 关红外光源 → 关显微镜 → 最后关主机；禁止直接断电，否则 MCT 升温过快易裂。
- 4) 在大型仪器设备使用记录登记本中登记，并备注此次使用的分束器是红外分束器还是拉曼分束器！
- 5) 清洁桌面，带走实验垃圾！

六、常见故障处理

- 1) 编辑栏按钮缺失，在“编辑”目录下的工具库中找到目标按钮后长按鼠标左键拖动到工具栏。
- 2) 开始测量时提示检测器未准备好：检查是否加入液氮。
- 3) 单次使用红外显微镜时长过长时，测试中途需要继续添加液氮，保持检测器处于低温状态。
- 4) 当液氮的冷却效果降低，检测器温度超过一定值时，OPUS 中会出现检测器未就绪消息（“20230 检测器没有准备好”），OPUS 状态指示灯变为红色。冷却效果减弱或消失的其他迹象是信号强度低或根本没有检测到信号。

- 5) OPUS 显微镜向导的实时视图中不显示样品的图像时，可能是以下原因：样品不在光束路径中、样本未聚焦、激活错误的模式（透射或反射）、显微镜照明的亮度设置得太低等问题。
- 6) 抽真空和通大气无法达到对应压力时，检查真空泵连接和开关。

七、注意事项

- 1) 液氮安全：操作液氮时佩戴防护手套与护目镜，防止冻伤与窒息风险（液氮会降低空气中氧含量）。
- 2) 样品安全：若样品有挥发性、有毒或放射性，请按实验室法规处理并在合适防护条件下测量。
- 3) 易碎光学件：物镜与探测器极其昂贵且易损，如有裂纹、划痕应停止使用并联系管理员。
- 4) 调整旋钮时不要碰到样品台，不要振动桌子，以防镜头颤抖。
- 5) 校正光标对准屏幕十字坐标后放置样品时，若样品台出现无法避免的晃动导致光标错位，可以在不遮挡校正位点的前提下，先将样品放在样品台上再进行光标校正，校正完成后可轻轻调整样品位置并开始测量。
- 6) 由于处理不当会导致分束器不可逆地损坏。分束器是一个非常精密的部件。请遵守以下作说明，以确保较长的使用寿命：
 1. 请勿触摸分束器的光学材料，会对其造成不可逆转的损坏。仅通过手柄握住分束器。
 2. 部分分束器的光学材料具有吸湿性。请勿将它们暴露在潮湿或水蒸气中。将分束器存放在干燥条件下，例如在密封容器中或干燥环境中不要尝试清洁分束器的光学材料，因为这会对分束器造成不可逆转的损坏。
 3. 请勿将分束器（尤其是 KBr 分束器）暴露在温度变化中。

4. 小心处理分束器。避免任何类型的机械冲击，如冲程或跌倒。请勿尝试松开或拧紧螺钉，因为这会损害分束器的光学质量。
- 7) 仪器背后红色 LASER LED 亮时表示激光问题，例如：激光功率太弱、激光束被阻挡、激光模块有缺陷或激光模块未对准。该 LED 在光谱仪初始化期间也会亮起红色，在这种情况下，没有任何激光问题。光谱仪初始化成功完成后，该 LED 会自动变为绿色。
- 8) 仪器后 STATUS LED 亮红灯时表示光谱仪存在问题。该 LED 在光谱仪初始化期间也会亮起红色，在这种情况下，没有任何激光问题。光谱仪初始化成功完成后，该 LED 会自动变为绿色。

9) 关机前必须抽真空！保持检测器内部真空状态！

八、维护与保养

- 1) 不能徒手触碰任何光学面，禁用酒精、丙酮直接擦拭光学面，只能用干燥无绒布/擦镜纸轻拭。
- 2) 仪器外壳与显微镜载物台清洁：用干的或湿的布清洁仪器外壳。如果有顽固污垢，可以使用外用酒精（例如乙醇）。
- 3) 物镜清洁：使用市售的吹风机（例如摄影师的镜头喷枪）吹走灰尘。用一张清洁纸（干净的纱布）或不起毛的镜头清洁纸轻轻擦拭镜头。注意：仅使用适合显微镜物镜的镜头清洁纸巾。如果使用的镜片组织太粗糙，可能会导致镜片划伤。仅在清洁指纹或油渍时，用纯酒精稍微润湿一张清洁纸，然后用它擦拭镜头。
- 4) 不带着液体或金属碎屑移动样品台。

5) 不在未灌液氮的情况下给 MCT 加偏压。

以上为简明操作指南，关于每一步的具体设置细节，请参阅 Operation Manual 的相关章节。