

高端电子显微镜实验室环境设计与建设技术要点

郭振玺^{1,2*}, 张 斌³, 豆瑞发⁴, 茶丽梅⁵, 陈永圣⁶, 邵 博^{1,2}, 裴 霞^{1,2}, 韩玉刚^{6*}

(北京大学 1. 生命科学学院, 2. 冷冻电镜平台, 北京 100871; 3. 重庆大学分析测试中心, 重庆 401331; 4. 北方工程设计研究院有限公司, 河北 石家庄 050011; 5. 广东以色列理工学院材料系, 广东 汕头 515063; 6. 中国科学院生物物理研究所蛋白质科学研究平台, 北京 100101)

摘要 电子显微镜(以下简称电镜)是具有超高分辨率的高精密电子光学仪器,广泛应用于科研、工业、医疗、食品安全和生命健康等众多领域,已成为现代物质形态与微结构的重要测试表征与科学研究仪器。近年来,随着球差/色差校正技术、各类原位电镜技术等快速发展与应用,原子尺度(静态与动态)微结构图像的获取已不再遥不可及。冷冻电镜的发展与普及,更是为生物大分子复合物、软物质等的研究带来了革新。相对于性能指标的极大提升,高端电镜对于运行环境的要求亦越发严苛。以冷冻电镜解析大分子复合物结构为例,单次数据收集时间往往需要数天,因此环境指标及其稳定性对设备的运行至关重要。如何保证电镜稳定的运行,以获得连续的高质量图像、降低设备故障率、提高利用率、减少使用成本等问题,已成为电镜管理人员和使用者面临的首要问题。总之,稳定的环境是电镜良好运行的必要保障,环境磁场、振动、噪音、温度及其波动、湿度、独立接地、电源与附属机房等问题均会对电镜的性能与稳定运行产生重要影响,这也是电镜室环境改造的重要指标。本文将结合作者自身的电镜室环境改造些许经验,简略探讨高端电镜环境改造的技术要点,以期能为广大同行、用户提供一定参考与借鉴。

关键词 冷冻; 电子显微镜; 环境改造; 磁屏蔽; 独立接地

中图分类号: TN16; TB535⁺. 1; TB21; TU279 **文献标识码:** A **doi:** 10. 3969/j. issn. 1000-6281. 2021. 01. 015

电镜是20世纪最伟大的发明之一^[1],被誉为“人类的第三只眼”^[2],由于其巨大的科学贡献,荣获了1986年诺贝尔物理学奖^[3]。自1931年发明以来^[4],实现更高的分辨率是电镜发展的核心目标之一,目前电镜已由最初的数十纳米的分辨率(放大倍数十几倍)发展到了如今的亚埃级分辨,实现了真正的原子结构观察。特别是球差/像差校正电镜在空间分辨率、原位动态电镜在时间分辨率、单色器校正色差电镜在能量分辨率以及冷冻电子显微镜在含水样品上的分辨率等方面的巨大提升,使得在静态/动态原子尺度上分析各类样品的多重结构信息变为现实。值得一提的是2017年,冷冻电镜技术因其在解析溶液中样品高分辨结构方面的卓越贡献,获得了诺贝尔化学奖,由此引爆了全球的结构生物学研究与冷冻电镜平台构建热潮。在此背景下,国内也投入大量的经费与人力,近五年已兴建了20余个重量级的冷冻电镜平台。

透射电镜工作原理可简述为:由电子枪发射的电子,经过高压加速器加速后再经聚光镜磁场汇聚成电子束;随后入射的电子束与样品相互作用获取样品的信息,之后经过中间镜和投影镜的进一步放大,获得最终放大图像。通常情况下,高精密设备的正常运行与性能指标的获得,往往都对其所处的环境提出了一定的要求。早在电镜发明之初,人们就意识到环境中的磁场干扰,会影响其分辨率^[4]。1976年,外村彰在研制场发射透射电镜时发现,电镜室远处的火车对电镜具有明显的影响:白天火车运行时,会造成电子束抖动,严重影响电镜的性能与正常使用;而夜间火车停下来后,电子束也随之稳定下来了,设备恢复正常^[1]。因此,科学家们一开始就特别重视电镜室的运行环境。实际上,电镜需要一个稳定运行环境,使它们能够达到甚至超过制造商的性能指标^[5-6]。超出电镜允许的任何扰动都会对其运行产生影响,而电镜的配置、性能指标

收稿日期:2020-10-15;修订日期:2020-12-26

基金项目:北京大学仪器创新研制项目(No.620200080/003);北京航空航天大学工程训练中心合作项目(No.8300300194);深圳军民融合装备技术研究院合作项目(No.8430102318)。

作者简介:郭振玺(1986-),男(汉族),河北邯郸人,高级工程师,博士。E-mail: guozhenxi@pku.edu.cn

* 通讯作者:郭振玺(1986-),男(汉族),河北邯郸人,高级工程师,博士。E-mail: guozhenxi@pku.edu.cn

韩玉刚(1975-),男(汉族),河北张家口人,研究员。E-mail: yugangh@ibp.ac.cn

以及要求的分析精度等越高,对电镜室环境指标要求则往往越高,因此对于运行环境进行必要的改造对高端电镜的正常运行至关重要。

所谓电镜室环境改造,主要是在充分评估电镜室选址后,采用科学的设计与综合技术手段,对电镜室内的交直流磁场干扰、温度/空气扰动、湿度、振动、噪音扰动、电源干扰、独立接地、附属机房、操作室等进行有效控制,防止外界因素影响电镜的稳定运行。根据电镜室环境改造要求与指标不同,改造费用大约从十几万到上百万人民币不等,甚至更高。而电镜购置费用非常高昂,通常普通场发射透射电镜需要花费约百万美元,冷冻电镜和球差校正电镜甚至高达 600 多万美元^[1]。因此,相比之下,为了设备的良好运行,环境改造的花费也是必要和值得的。

我国电镜需求量大,发展迅猛,近年来更是以每年上百台的速度增加^[7]。然而,随着我国城市化进程的发展,电镜室日益充斥着电磁场、振动等因素的严重干扰,国内像北京大学、清华大学等很多重要单位的电镜或多或少都面临这些环境干扰问题^[8-10]。因此,为了电镜的良好运行和最佳性能的发挥,进行电镜室环境改造非常必要,相反如果因为环境问题影响设备性能,显然会造成更为严重的浪费。各种档次和型号的电镜(包括扫描与透射电镜),均对运行的环境指标有一定要求,且设备越精密要求越高。鉴于此,本文将以前端冷冻电镜的环境改造为例,从环境改造设计理念、改造原理等角度,结合作者自身积累的环境改造经验,探讨电镜环境改造的技术要点。需要提醒读者的是,在实际电镜环境改造中一定要根据设备自身特点和环境实际情况,设计合理的环境改造方案,避免环境改造失败和不必要的浪费。

1 设计理念

电镜室环境设计与建设往往具有深度交叉性,涉及众多单位与部门,需要充分协调,以保证工程顺利实施。建设过程中,可能涉及到基建、后勤、财务、安保等部门,以及原大楼设计、消防维保、电镜室设计、实际施工、设备供应等单位,只有各个部门、单位充分重视、有效沟通并共同协作,才能建造成高标准的电镜室,而且还能避免不必要浪费,大大节约成本。根据作者的经验,电镜室环境改造可遵循以下理念。

1.1 环境改造宜提前准备与规划

在设备购置初期即需考虑设备安装的环境问

题,这包括设备的选址、场地调研、电镜室建设方案设计等。备选位置要有足够的面积,房间高度应大于所购置的电镜安装要求的最小尺寸,最好超过 50 cm;宜选择建筑体中的最低楼层,即无地下室选一楼,有地下室选地下室,且避开室内外停车场、集水井和污水处理池。远离交通繁华的马路等,防止振动干扰;尽量远离有火车、地铁、电梯、电车等运动金属体的地方;远离高压变压器、局域高低压变电中心、建筑体内主干线电缆和高负载电缆信号发射塔、其他大型科研仪器等;旁边无较大的噪声源;室外要有足够的空间以安装空调外机和独立地线;能保证足够的电力,电压稳定性 $\pm 10\%$ 以下。如果选址环境情况较复杂,建议在改造前邀请相关专家进行现场勘察并对改造方案进行评估。此外,若能了解单位和当地政府的未来几年中的建设规划,并在选址中加以考量,可以有效避免周围环境的变化对电镜的影响。

1.2 根据设备实际情况选择合理的建设指标

不同型号不同配置的电镜,对安装的环境指标要求不一样,环境改造不应一概而论,而应根据设备运行需求进行设计。例如,部分 120 kV 低压透射电镜和扫描电镜对环境运行要求较低,其场地没必要按高端球差校正电镜/冷冻电镜进行建设。改造方案的制定需考虑:(1)根据设备运行环境指标要求;(2)结合实际的场地情况;(3)同时各个设计指标尽量留有足够的余量等因素。在设计过程中要充分考虑到外场影响,科学计算实际衰减,以满足设备运行的指标。表 1 以 300 kV 场发射 Titan Krios 冷冻电镜(含 GIF 能量过滤器)、200 kV 场发射 Talos Arctica 及双束扫描电镜 Helios G3 为例,列出了设备运行需求的参考设计指标,供读者根据自身设备的实际情况进行参考。

1.3 整体布局合理,完成规划方案

确认整体布局图,需将每一个设备的安装位置在设计图上按比例完成布局,特别是附属机房作为电镜室重要的组成单元,里面安装了电镜循环水、组合式空调、压缩机、UPS 等,建议将每台附属设备的安装位置按比例在规划图上标注完成。由于发热设备众多,电镜室附属机房的制冷量要有足够的余量,确保制冷效果。例如,仅一台 300 kV 电镜室机房空调应达到 5 HP 以上,否则制冷量不够将导致机房不稳定,影响电镜运行。条件允许时,建议附属机房空间尽量大一些,确保设备间的散热空间与维修通道;而电镜主机室则够用即可,如此既方

表 1 不同冷冻电镜环境改造的参考建设指标

Table 1 Reference construction indexes of different Cryo-EM environmental improvement

选址要求	建设要求	Titan krios G3	Talos arctica	Helios G3	
足够的面积,房间高度要足够	磁屏蔽尺寸	(5.5×6.5)m	(4.0×5.8)m	(4.0×6)m	
	磁屏蔽高度	3.8 m	3.03 m	普通标准	
	房间净高要求	4.5 m	3.9 m	2.9 m	
	门高	2 310 mm	2 290 mm	普通标准	
	温度(℃)	20	20	18~23	
要有足够的空间放置附属设备及室外机	温度波动	1 ℃/24 h	1 ℃ /24 h	1 ℃/h	
	房间内最大	5 m/min			
	气流速				
	湿度				<45%(越低越好)
	洁净度				ISO 8 级(10 万级)
独立接地(Ω)	<0.9				<0.9
室外有安装空间	减震基础	30 吨	无	无	
	地面	水平,容易清洗,耐油和化学物质、不易燃和防静电			
无地下室、车库等	振动要求	垂直(VC-E 3.12 μm/s)水平(VC-F 1.56 μm/s)			
	交直流磁场,远离地铁等	水平:10	水平:30	100	
		垂直:10	垂直:30		
旁边无大噪声源	噪音要求(dB)	250~1 000 Hz	250~1 000 Hz	低于 50	
		低于 34	低于 34		
足够的电力	供电	独立供电	独立供电	独立供电	

便机房使用,也可以更好地做好电镜室的环境控制。

1.4 严格控制材料和施工质量

电镜室环境改造属于精密工程,涉及众多参数指标,参与的每个人要具有精益求精、追求卓越的工匠精神。无论是在方案规划设计、现场施工还是指标验收等各个环节都要认真细致、时刻关注,容不得半点马虎。材料是环境改造的基石,要严格审核材料的检测报告,并在材料进场时进行现场检验,如测量材料厚度、长度等。做好施工工艺把关,每一个细节的落脚点都是施工工人,因此要积极与施工人员沟通、培养与提高他们工作认同感与追求卓越的理念。作者建议,对于高端电镜的环境改造即使是在全权委托公司处理的情况下,实验室管理人员也应时刻参与、高度负责,以保证环境改造工程的效果和质量,避免可能的隐患。

2 具体环境改造方案

电镜配置对环境要求影响非常大,其分辨率最敏感的部分决定了其允许的最大干扰场强。另外透射电镜从电子枪到成像系统的镜筒高度达 2 m,镜筒直径仅 20 cm 左右,长径比非常大,而要实现电镜的最佳性能,必须要保证从电子枪发射出来的电子,沿着镜筒从电子枪到成像系统严格按照电子束既定方向运动,而任何超过设备需求的环境扰动均会对镜筒或电子束造成影响,从而改变电子束的运动轨迹。而这些扰动包括杂散磁场、温度波动、振动、噪音等。

2.1 磁场改造

杂散电磁场对电镜的分辨率、成像质量等性能影响巨大。高速运动的电子在磁场中的偏转是电镜成像的先决条件^[4],杂散磁场的影响会改变电子束的运动轨迹或电子束抖动,引起图像失真或产生毛刺(如图 1)等。通常情况下,杂散磁场分为交流磁场和近直流磁场,其强度是时域空间中峰-峰值,存在水平和垂直两个典型方向,特别是水平方向的磁场会与电子束发生非常强的相互作用,从而产生洛伦兹力,改变电子运动轨迹,严重影响设备的分辨率与正常使用。

环境中交流磁场主要是由市电设备产生。针对我国,该类磁场频率多为 50 Hz,及其高次谐波 100 Hz,150 Hz 等;同时也可能存在部分高频磁场,如 12 寸芯片厂运送芯片的天车信号传送频率 9 kHz,雷达、电视台和寻呼发射塔等 10 kHz ~ 10 GHz^[11]。通常,高频磁场在环境中比较弱,对电镜影响相对较小^[12]。近直流磁场则主要是由电梯、电车、地铁和火车等金属体运动产生的 0 ~ 0.5 Hz 的低频磁场,它的方向随时间变化小,强度与距离、运动速度快慢等有关。

磁屏蔽技术是降低磁场干扰的重要方法,本文根据技术的差异分为被动磁屏蔽、主动磁屏蔽和复合磁屏蔽。对于被动磁屏蔽技术,与电磁屏蔽室原理基本相同。电磁屏蔽室是采用电磁屏蔽技术设计建造的对内外电磁环境隔离的封闭空间,可参考相关的技术规范^[13]。针对电镜室环境改造,被动磁

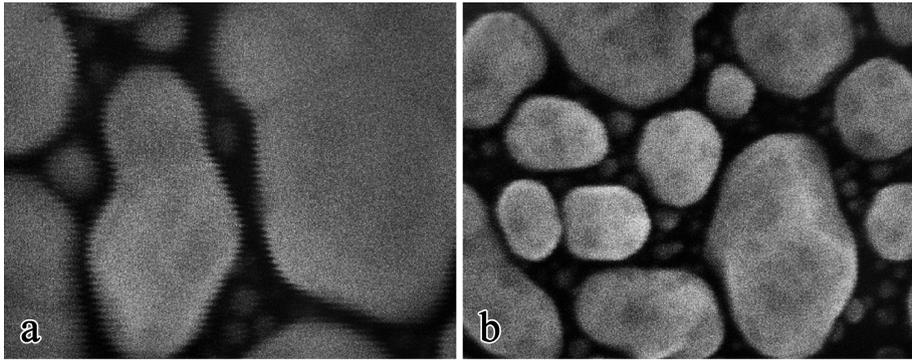


图1 交流磁场对成像的影响。a. 存在交流磁场干扰;b. 无干扰的正常图像。

Fig.1 Influence of AC magnetic field on imaging.

a. Image with AC magnetic field interference; b. Normal image without AC magnetic field interference.

屏蔽室则是采用屏蔽材料(高磁导率或者高电导率金属材料)制成多面体屏蔽室(通常六面体),外界磁场在进入屏蔽室壳体表面时会被吸收或抵消,进而极大减小了屏蔽室内的磁场,降低了磁场对设备的干扰。主动磁屏蔽主要是采用主动式消磁器完成的,一般由磁场探测器、控制器和赫姆霍兹线圈等组成。复合磁屏蔽则是采用被动磁屏蔽和主动屏蔽相结合的方式磁屏蔽改造。电镜室磁场改造完成后,理想情况下要求电镜室内的杂散磁场呈现出均匀磁场,即要求沿镜筒方向从光源电子枪高度(高度2.5 m)到样品台高度(高度1.5 m)再到能量过滤器图像采集系统高度(高度0.5 m),磁场变化梯度越小越好。下文中将具体说明各种磁屏蔽技术的屏蔽原理及效能。

2.1.1 被动磁屏蔽原理

被动屏蔽结构包括了支撑框架,人员或设备进出的屏蔽门,通风、循环水、强弱电、消防的截止波导窗和屏蔽室地面等。影响被动磁屏蔽效能的主要因素有屏蔽室的大小、屏蔽室壳体材料与厚度、屏蔽门、通风窗及截止波导孔、屏蔽材料接缝处的设计与处理等。在综合考虑电镜室实际条件下屏蔽室尽量小,屏蔽体设计与材料使用不要太薄,拼接缝要尽量少,在施工时接缝处要确保紧密无气隙,以免造成漏磁影响磁屏蔽效果。

2.1.1.1 低频磁场屏蔽原理

低频磁场(通常低于1 000 Hz),一般采用高磁导率材料进行屏蔽。如图2(a,b)所示,在普通的建筑中,外部磁场通常可以顺利通过墙体而对室内的设备(电镜)产生显著的影响。利用高磁导率材料进行屏蔽改造后,当外部磁场进入屏蔽体时,由于屏蔽体磁阻远小于空气,构成外部磁场的低磁阻通

路,因此大部分磁力线从屏蔽体内流过,使磁场无法影响电镜室内的电镜,如图2(c,d)所示,我们称之为“磁路畅通”原理。利用该原理建造的电镜室屏蔽体的磁阻越小,屏蔽材料越厚,屏蔽效果越好,且屏蔽效能随磁场频率的增加而增加。该类屏蔽材料常选用坡莫合金、纯铁板、硅钢片和低碳钢等。在屏蔽要求较高的情况下,还可以考虑采用多层屏蔽^[13]。

屏蔽材料板厚度应以磁通密度不饱和为原则,根据时域磁场干扰的大小,屏蔽层的厚度可由式(2-1)计算^[12]:

$$t = \phi \frac{\mu_0 \times L \times W \times (H_0 - H_i)}{2 \times \mu_r \times (L + W) \times H_i} \quad (2-1)$$

ϕ :修正系数(取值在2.5~3.8之间选取,屏蔽体体积、工艺水平高可取小值,反之取较大值); H_0, H_i 分别为屏蔽室外与室内的磁场强度(nT); μ_0 :空气磁导率(H/m), $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ H/m; μ_r :屏蔽材料磁导率(H/m); L :垂直于 H_0 的屏蔽体长度(m); W :垂直于 H_0 的屏蔽体宽度(m); t :屏蔽层厚度(m)。

本案例中屏蔽室外磁场强度 H_0 为200 nT,设计指标 H_i 为10 nT,修正系数 ϕ 取3,DT4C电磁纯铁板的磁导率 μ 为0.0151 H/m^[14],磁屏蔽室长度 L 为7.35 m,磁屏蔽室宽度 W 为6.15 m,计算得出 t 为7.9 mm。需要考虑的是:(1)频率越低,所需的屏蔽材料越厚;(2)场地距地铁较近,产生的近直流磁场高达500 nT,被动屏蔽无法完全消除;(3)考虑到材料本身纯度、剩磁、屏蔽门、缝隙、波导孔和通风口等对屏蔽室屏蔽效能的影响。因此在屏蔽室设计过程中,采用了被动屏蔽结合主动消磁的方案。其中被动屏蔽方案,为了增加吸收,实现更好的屏蔽效能,本案例中采用6 mm纯铁板主要屏蔽

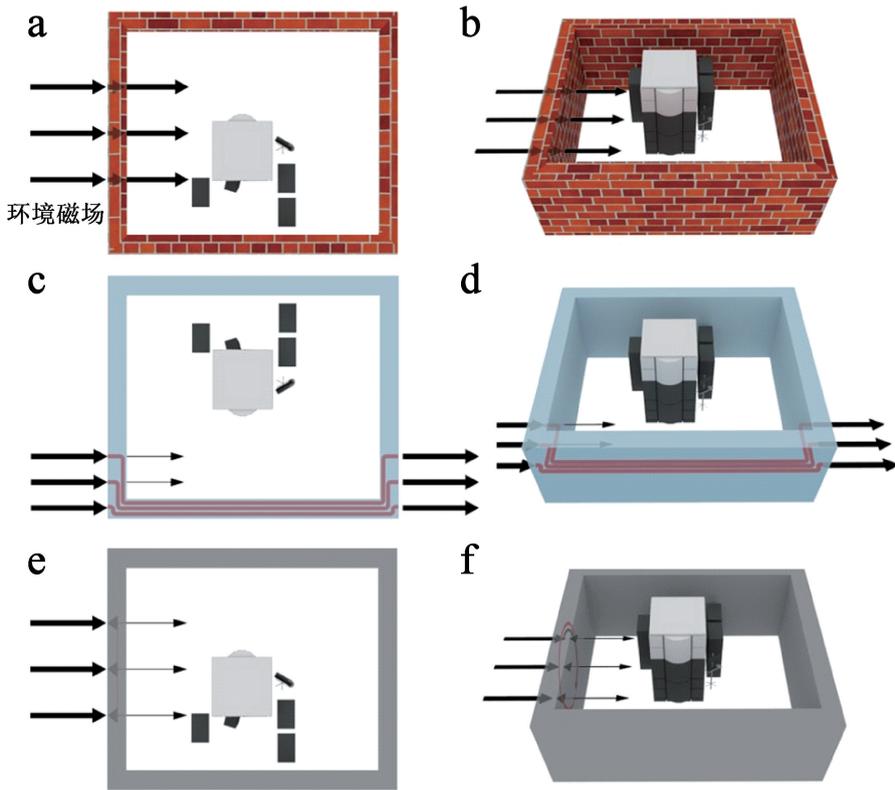


图 2 被动屏蔽原理示意图。a,b. 未屏蔽电镜室;c,d. 高导磁率材料;e,f. 高电导率材料。

Fig.2 Schematic diagram of magnetic shielding principle.

a,b. General laboratory; c,d. Magnetic shielding principle of high magnetic permeability materials;
e,f. Magnetic shielding principle of high electrical conductivity materials.

层和内层磁导率更好 2 mm 硅钢片 (4 层, 单层 0.5 mm 厚) 的被动屏蔽方法并结合主动消磁器进行环境改造。表 2 是改造前后磁场数据对比 (绿色为改造后指标), 交流磁场已降到 10 nT 左右。

2.1.1.2 高频磁场屏蔽原理

当外部时域内频率较高的变化磁场与屏蔽体相互作用时, 会产生涡流反磁场以抵消原环境磁场, 达到屏蔽目的^[15], 我们称之为“涡流原理”, 如图 2(e,f)。涡流原理可以理解吸收损耗^[15]。该类屏蔽, 常采用的屏蔽材料是高电导率材料, 如铜、铝等。这种屏蔽方法, 对近直流磁场几乎无屏蔽作用, 而当干扰电磁场的频域越高, 涡流效果也好, 屏

蔽效果越好。

2.1.2 主动磁屏蔽原理

随着城市化进程中轨道交通的快速发展, 越来越多已建成的电镜室也可能受到新建地铁等的干扰。现场测量数据显示, 对于距离地铁 70 m 左右的近直流干扰磁场高达 3 000 nT, 距离 150 米则降为 600 nT 左右, 而离地铁超过 500 m 后, 由地铁带来的近直流干扰磁场基本消失。

近直流磁场则主要是利用主动消磁器进行屏蔽 (即主动屏蔽技术), 该过程是通过线圈产生反向磁场, 来抵消环境干扰磁场, 达到消磁目的。主动消磁器一般最佳屏蔽空间范围比较小, 大约 1 m³ 左

表 2 改造前后指标对比

Table 2 Comparison of magnetic field indicators before and after construction

Height	EMI	Front to back		Left to right		Vertical	
GIF level(50 cm)	AC(nT)	142	15	72	15	402	16
	Near DC(nT)	21	2	62	5	172	11
Stage level(150 cm)	AC(nT)	138	15	44	15	459	16
	Near DC(nT)	20	2	23	4	466	11
Source level(250 cm)	AC(nT)	139	16	40	15	443	15
	Near DC(nT)	20	3	40	4	238	10

右^[16],因此改造透射电镜直流磁场需要相对精确。如此,需在电镜室设计前,确定好电镜的安装位置以达到最佳消磁目的。换言之,线圈一旦固定,电镜的安装位置就已经固定了,不能有大的移动(最好控制在 ± 10 cm以内)。如果是后期安装主动消磁器,则需根据电镜安装位置确定。直流消磁器安装后,电镜室内最佳情况屏蔽高度范围内残余磁场呈直线型(图3a),次之残余磁场呈“C”型(图3b),而避免出现的“S”型(图3c),不但磁场环境没有得到改善,反而造成磁场梯度太大。

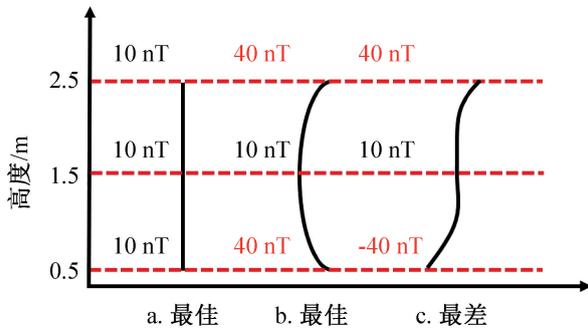


图3 主动屏蔽(直流消磁器安装)后,垂直方向上不同高度处的磁场梯度变化。剩余磁场 a. 最佳,弱且均匀;b. 较差,呈“C”字形;c. 最差,呈“S”型,变化梯度太大改造失败。

Fig.3 Magnetic field gradient changes at different heights in the vertical direction after active magnetic shielding. Residual magnetic field a. Optimal, weak and uniform; b. Poor, in the shape of “C”; c. Failed, in the shape of “S”, too large transformation of change gradient.

2.1.3 复合磁屏蔽

对于磁场环境比较恶劣的,特别是交流和近直流磁场都比较大的情况,建议采用被动屏蔽和主动消磁器结合的复合屏蔽方案。被动屏蔽改造完成后,屏蔽房间内磁场梯度变化很小,相对均匀。此时可以为直流消磁器提供一个更好的工作环境。

2.1.4 磁屏蔽室设计与建造的注意事项

屏蔽方案的选择应以环境磁场改造后指标为基础,以屏蔽效能、工程造价和施工难易程度等因素综合确定改造方案。通常,对高频交流磁场干扰较大时宜采用高电导率的金属材料作屏蔽体;相反对低频交流磁场干扰严重则宜采用高磁导率的材料,如果电镜室磁屏蔽工作频率包括甚低频段(<50 Hz),也可选择低碳钢板^[13]。对于近直流磁场较大的场地环境,可以选择主动被动结合的复合磁屏蔽,也可以采用交直流线圈屏蔽。

最终环境指标的获得取决于整体设计和实际施工两个方面,设计是出发点,施工是落脚点。在实际施工过程中,要达到完全设计指标是极不容易的,除了需要留有足够的设计余量,屏蔽体足够厚等注意事项外,就是要保证每一个施工细节处理到位,才能保证技术指标的获得。其中,支撑框架的横梁、立柱必须做防腐处理,强度以满足力学性能为准;在进行磁屏蔽结构设计时,要尽量减少拼接缝隙。屏蔽门的屏蔽效能最好优于屏蔽室的屏蔽效能2倍以上,门框与门扇之间的缝隙处设压紧装置;循环水管、各类气管、强弱电管等过壁孔宜采用长宽比较大的截止波导孔,图4a为截止波导孔示意图,图4b为安装完成后的一侧图。电镜通风口一般风量较大,宽度通常超过1 m,宜采用截止波导窗,应根据屏蔽效能、通风量、风速等要求将通风口设计为由多个小孔组成,可以更好的保证屏蔽效能,实物见图4c。

施工中,屏蔽材料需做防腐蚀处理,确保拼接缝要紧密无气孔。对于纯铁板,屏蔽体焊接完成后要对拼接缝进行满焊,之后检漏防止露磁,以免影响屏蔽效果。对于硅钢片,可采用粘接方式,拐角或接缝处需要用窄条密封,以防漏磁。为确保最终屏蔽效果,每一层屏蔽体检漏完成后,需要对其进行退磁处理。截止波导孔与屏蔽体均应采用焊接连接,且同样需要满焊、检漏和退磁等操作。另外电镜室地面可以做地骨架,保证地面屏蔽更稳定(图4(d~f))。屏蔽层上地面混凝土施工时,也可以添加骨架材料,如铝网、尼龙网、防裂格栅等,具体见图4g。最后,屏蔽室完成后,需注意屏蔽体接地保护。

2.2 暖通系统设计

作为高精密仪器,电镜对运行环境的温度、湿度、洁净度、噪音和振动等条件要求也很高。而这里的温度、湿度与洁净度等,我们统称为暖通系统。

2.2.1 温度

电镜室温度通常要求 $18\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 23\text{ }^{\circ}\text{C}$,建议工作时最好保持在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$,温度波动24 h内不超过 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$,即 $1\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$,镜筒周围的温度扰动会影响电镜的正常使用。对于高端电镜,温度的精确控制可采用冷水循环系统,其精度可达 $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$,甚至更高。但水系统维护起来较复杂,特别是北方冬天气温常处于零下的情况下,对水系统考验比较大。为了避免这个问题,也可以采用直膨式室外机,使用氟系统,在冬天气温零下也不受影响,其温度精度可达 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$,基本满足设备运行要求,但需要撰写复



图 4 a. 截止波导孔示意图;b. 为安装完成后的一侧图;c. 截止波导窗;d-f. 地面施工;g. 地面混凝土施工内骨架材料。

Fig.4 a. Schematic diagram of cut-off waveguide hole;b. Diagram on one side after complete installation;c. Cut-off waveguide window;d-f. Ground construction;g. Ground concrete construction within the skeleton materials.

杂的 PLC 程序来控制高精密温湿度的调节。

2.2.2 新风及送、回风方式

送、回风设计可采用顶送下侧回的方式。送风处理可在室内利用微孔板做二次吊顶形成整体静压箱,经热湿处理后的洁净空气直接送入静压箱内,除设备顶部区域的微孔板贴吸音膜做密闭处理不送风外(不能让送风直吹镜筒),其他区域均可作为送风面。送风面风速宜控制在 0.08 m/s 以下,越低越好。电镜室回风口尽量要均匀布置,空间允许的情况下最好 4 面回风,图 5 是两面墙上的回风口,保证回风均匀,防止回风集中,风速过大。新风处理新风量需达到总送风量的 $20\% \sim 30\%$,进入电镜室的新风可以通过高效过滤器处理,既能保证电镜室洁净度,也能确保室内人员的舒适性。

2.2.3 湿度

电镜本身能够承受的湿度是 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 时 80% 以下,但长期的高湿会引起或加速设备金属附件腐蚀,控制集成电路板和电缆绝缘性能降低等,另外电镜都是高真空设备,高湿度也会严重影响真空系统。对于冷冻电镜而言,高湿还会使冷冻设备表面快速结霜,污染样品。冷冻电镜室建议相对湿度 $\leq 45\%$,越低越好。但也要考虑到能耗问题,湿度指标越低,需配备的除湿设备的功率越大,日常能耗就越高。需要注意的是,电镜室不需要配置加湿器。

2.2.4 洁净度

电镜对悬浮粒子的浓度非常敏感。电镜内部及其控制系统的电路板设计先进、结构紧凑、集成度高,集成电路引脚间距非常小,当空气中悬浮粒子自然降落时会沉积到电镜控制单元内部,随时间



图5 电镜室内两面墙上回风口。

Fig.5 Return air inlet on both walls in EM laboratory.

灰尘沉积会越来越多。而灰尘中的粒子具有导电性,当灰尘积聚到足够多时,会导致电镜内部电路出现故障,严重时还可能引发火灾等危害。另外,电子枪发射腔内的高粉尘浓度会导致电子束不稳定,对电子枪尖端造成严重损害。因此,电镜室洁净度越高越好,通常情况下要求10万级,即空气中悬浮粒子浓度每立方米最大允许 $\geq 0.5 \mu\text{m}$ 的粒子数不超过3 520 000个, $\geq 1 \mu\text{m}$ 粒子数不得超过830 000个, $\geq 5 \mu\text{m}$ 的粒子数不得超过29 300个。为了达到10万级洁净度,可以从室外环境、室内装修、空气过滤、换气次数、压力梯度等五个方面来保证。第一、室外环境尽量选择环境相对清洁的地方,避开灰尘较多的区域;第二、室内装修围护材料宜选用在振动及温湿度等作用下,形变小和密闭性能良好的建筑材料;地面宜选用易清洁耐腐蚀的洁净材料,建设过程中尽量减少拼接缝隙。施工过程中,所有的边角拐弯处宜采用专用的洁净材料包裹,如铝材等。所有电器插座、线管、照明灯具等宜暗装,并要密封好与墙面、顶面等的接缝处;第三、空气过滤,室外新风和回风混合后,需经初效、中效和高效过滤器三级过滤后进入室内;第四、换气次数,为了稀释空气含尘浓度,保证空气质量,应确保快速的置换室内空气,每小时换气次数应达到10~15次^[17]。第五、压力梯度,为了避免因开门进入电镜室等原因而把室外粒子带入室内,电镜室与室外应具有 $\geq 10 \text{ Pa}$ 的微正压。如果条件限制,达不到的10万级的电镜室,建议要配备专用于吸附电镜身

上灰尘的吸尘器,保证电镜自身的洁净。

2.2.5 噪声

电镜室内噪声,会以振动形式干扰电镜正常工作,所以对噪声需要有一定限制^[18]。电镜室设备要求噪声最好能达到45 dB以下。电镜室内噪声来自于外部环境、送回风振动噪音等,在建设过程中需进行相应消音处理。首先对于外部环境,电镜室不是独立的区域,周围的配套设施以及其他实验室产生的噪声会传入到电镜室内,因此在建设装修时,围护材料应选用具备良好的吸音、隔音等性能。围护材料内层还需要安装微孔铝板并在微孔铝板内粘接吸音膜和玻纤板,以起到隔音、吸音效果。其次振动噪音,空调机组送风机、除湿机等的运行产生以及送、回风管内因空气的流动会导致风管的振动都会通过管道传入到室内产生噪声。在安装空调机组、除湿机和管道时需进行防振处理,且室外通风管与电镜室通风口宜采用软管连接。送回风管道内的空气快速流动与风管产生摩擦,以及送、回风百叶风口的翅片对风产生的阻力,都会产生噪声,因此室内宜采用酚醛风管,并且减小送回风在管道内的速度,相应的尽可能增大送、回风管和百叶风口的尺寸,或增加送、回风百叶风口的数量以减少每个风口的风速。

2.3 地面防震设计

地面震动的影响和交流磁场干扰类似,会使图像产生毛刺、扭曲等(图6)现象。通常,电镜室减震可以采用混凝土减震台和主动减震台等方式。

混凝土减震台主要针对高频振动,对低频减震效果不明显。建议混凝土减震台整体质量要超过20吨,质量越大,减震效果越明显,如果低于5吨,容易产生共振,反而起到相反效果。做混凝土减震台时,一定要做好防水,且减震台内不能使用易磁化骨架材料,如钢筋等,可使用铝或铜材料替代,图7基础内的角铝代替钢筋,防止材料磁化。如果是低频振动超标,特别是超低频0~5 Hz超标,则建议配置主动减震台予以消除。安装主动减震台需要避免主动减震台与电镜自带气浮减震器(频率在1~3 Hz范围内)发生共振。

2.4 电源与独立地线设计

2.4.1 电源设计

电镜要求电压波动最大不超过 $\pm 10\%$ 。为了保证供电电压稳定,以及突然断电等情况带来的严重危害,电镜通常会配置不间断电源(uninterruptible power system, UPS)。一方面,UPS在市电输入正常时,可以

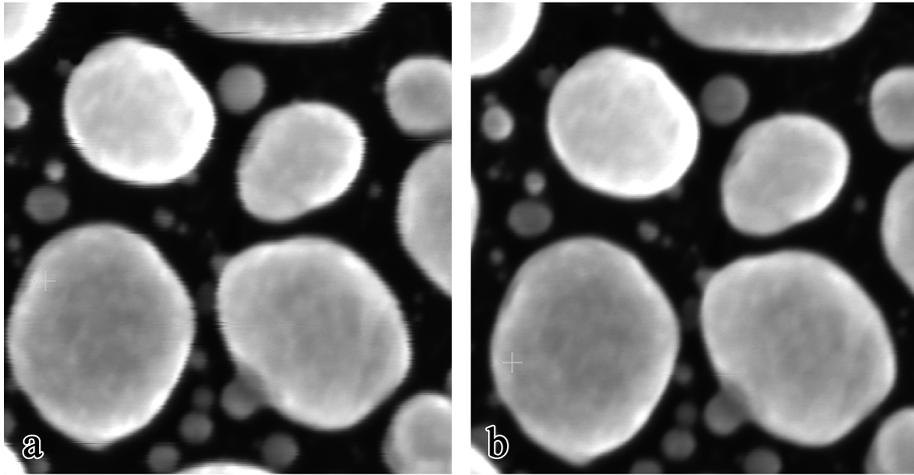


图 6 振动干扰对显微图像的影响。

Fig.6 Influence of vibration interference on images.



图 7 被动减震台内的角铝型材替代钢筋。

Fig.7 Replacing rebar with angular aluminum proximate matter for passive vibration table.

起到稳压作用,对市电稳压后供给电镜;另一方面当市电突然断电时,UPS 立即将电池的直流电通过逆变器切换转换后向电镜继续供应交流电,使电镜维持正常工作。高端电镜在考虑 UPS 配置及载荷时,应尽量将循环水、压缩机等都配置上 UPS,以保证短时停电下,电镜仍能正常使用。同时也可以保证使用双路电或者发电车时,实现无缝对接的切换。电镜室电源宜单独从大楼或者变电站引电缆做电柜,为了安全与管理方便,可将 UPS 开关预留在电镜室电柜内。电源线走向要合理布置,布线尽量沿墙角,原则上不横穿电镜室或绕电镜室成环形。

2.4.2 独立地线

电镜独立接地一方面是为了防止设备故障时其壳体带电危及人身安全,另一方面是为了保证电镜正常情况下可靠工作。接地电阻太大或不稳定,

会引入电场噪音,引起电镜运行不稳定、图像失真、高分辨率信息损失等问题。高端透射电镜必须安装专用的独立地线,且接地电阻要 $<1\ \Omega$ 。配置较低的透射电镜或扫描电镜可以多台共接一根独立地线,接地电阻 $<2\ \Omega$ 即可。需要注意的是,控制仪器的电脑也应与电镜一起接到电镜独立地线上。

独立地线设计与安装时,注意要远离地下高压电缆。在施工前一定要注意探伤,检查地下是否有管道,电缆等,防止施工过程中破坏管道、电缆;同时充分考虑土质的特点确保合理的设计方案与接地效果。以下将以中国科学院生物物理研究所的冷冻电镜场地改造为例,对独立接地改造进行简要说明。北京地区土壤以粉土、粘性土为主,其电阻率在 $10\sim 100\ \Omega\cdot\text{m}$ 之间^[19],电位分布衰减较快,宜采用垂直接地体为主的接地装置^[20]。改造场地的实际土壤电阻率情况,可通过先打一根垂直接地极测得其接地电阻,采用公式(2-3)计算得出。本方案中,采用3根垂直接地极直线布置的方式,水平接地极间距大于垂直接地极长度的2倍^[21],由于场地限制,设计地线距地面1 m,每根独立地线采用一根水平接地极长10 m宽50 mm扁铁和3根垂直接地极2.5 m长的DN 50镀锌钢管(外径60 mm,壁厚5 mm)组成,垂直接地极间距为5 m,垂直接地体与扁铁采用焊接方式串联到一起,图8示意图所示。图9是现场施工图及测量结果。

可以根据以下计算获得接地电阻值^[21]:首先水平接地极的接地电阻计算由式(2-2)获得:

$$R_s = \frac{\rho}{2\pi l_s} \left(\ln \frac{l_s^2}{hd_s} - 1 \right) \quad (2-2)$$

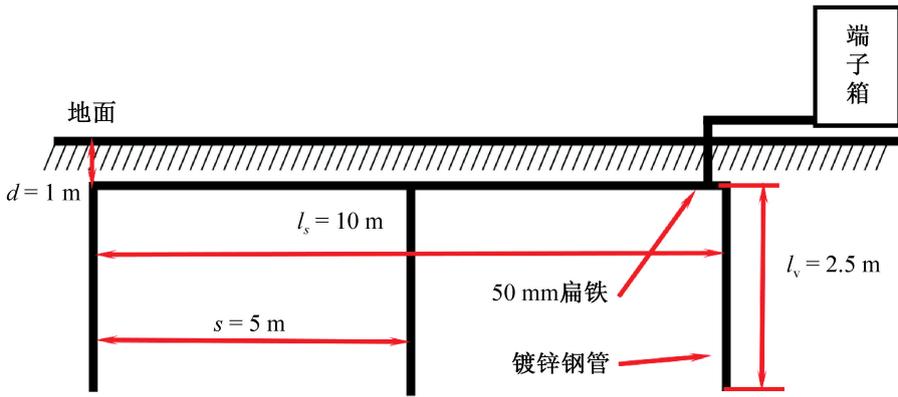


图8 独立地线安装示意图。

Fig.8 Schematic diagram of independent grounding wire installation.



图9 独立地线现场施工图。

Fig.9 Site working drawing of independent grounding wire.

R_s : 水平接地极的接地电阻 (Ω); ρ : 土壤电阻率; l_s : 水平接地极的总长度 (m); h : 水平接地极的埋深 (m); d_s : 水平接地极的等效直径 (m)。水平接地极采用 0.05 m 宽扁铁, 等效直径 d_s 为 0.025 m, 总长度 l_s 为 10 m, 土壤电阻率 ρ 取 $20 \Omega \cdot \text{m}$, 埋深 h 为 1 m, 代入式(2-2)得出水平接地极的接地电阻 R_s 为 2.32Ω 。

单根垂直接地极的接地电阻由式(2-3)获得:

$$R_v = \frac{\rho}{2\pi l_v} \left(\ln \frac{8l_v}{d_v} - 1 \right) \quad (2-3)$$

R_v : 垂直接地极的接地电阻 (Ω); l_v : 垂直接地极的长度 (m); d_v : 垂直接地极的等效直径 (m); 垂直接地极采用 0.06 m 镀锌钢管, 其等效直径 d_v 为 0.06 m, 长度 l_v 为 2.5 m, 代入式(2-3)获得每根垂直接地极接地电阻 R_v 为 6.11Ω 。

n 根垂直接地极并联的接地电阻由式(2-4)获得:

$$R_{nv} = \frac{R_v}{n} \left[1 + \frac{\rho}{\pi s R_v} \left(\frac{1}{2} + \frac{1}{3} + \dots + \frac{1}{n} \right) \right] \quad (2-4)$$

R_{nv} : n 根垂直接地极并联的接地电阻 (Ω)。垂直接地极每两根之间的间隔 s 为 5 m, 代入式(2-4)获得 3 根垂直接地极并联的接地电阻 R_{nv} 为 2.40Ω 。水平接地极与垂直接地极之间的互阻系数由式(2-5)获得:

$$R_{sv} = \frac{\rho}{\pi l_s} \ln \frac{2l_s}{l_v} \quad (2-5)$$

R_{sv} : 水平接地极与垂直接地极之间的互阻系数。

由式(2-5)获得水平接地极与垂直接地极之间的互阻系数 R_{sv} 为 1.32Ω 。

水平接地极与垂直接地极的并联电阻由式(2-6)获得:

$$R_0 = \frac{R_s R_v - R_{sv}^2}{R_s + R_v - 2R_{sv}} \quad (2-6)$$

R_0 : 地线的接地电阻。

将水平接地极的接地电阻 R_s (2.32Ω), 垂直接地极的接地电阻 R_v (2.40Ω), 互阻系数 R_{sv} (1.32Ω) 代入式(2-6)获得该设计方案的地线理论接地电阻值为 1.83Ω 。

为了保证接地电阻,本项目在实际施工过程中水平接地极和每根垂直接地极的埋深尽量大,水平接地极埋深达 1.2 m,垂直接地极达 4.5 m,施工过程中又加入了大量降阻剂,有效降低了接地电阻^[20],另外可能是由于研究所所在位置曾经地势低,有河有水,最终实现接地电阻在 0.5~0.8 Ω 之间。施工时注意埋深一定要足够,特别是水平埋深。

3 讨论与总结

环境中多个因素对电镜运行都有影响,有些因素影响较为明显,一旦有问题会直接影响电镜使用,如地面振动、交直流磁场过大、风速过大等;有些影响因素,短期内不会对电镜性能造成致命性影响,但长期看,电镜的性能衰减、使用寿命等会受到严重影响,如洁净度、湿度等;环境因素对于电镜的运行非常关键,越是高端的电镜对电镜室环境的要求越严格。电镜问题一旦出现,多数情况并非是单一因素影响,需要逐一排查。如图 10 扫描透射电镜图像样品发生扭曲,这可能是振动、噪音和气流等造成的影响,需要逐一排查。而电镜室环境改造很多都是隐蔽工程,一旦改造完成,后续排查问题和整改难度都特别大,因此尽量设计和施工阶段将指标完成。

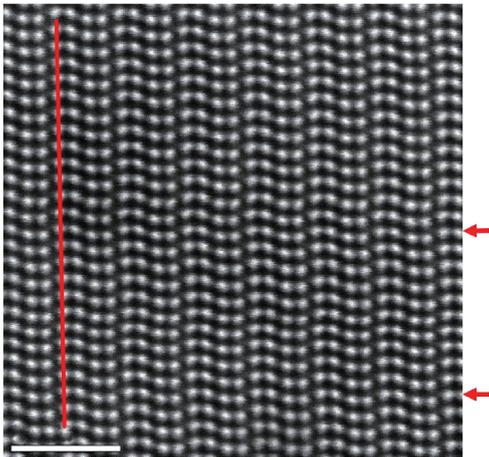


图 10 场地影响造成的 STEM 图像扭曲。Bar=2 nm
Fig.10 STEM image distortion caused by site impact.

本文从交直流磁场、暖通系统、振动和电源设计等方面全面阐述了电镜室指标建设方案,并且在实际工作当中,做到了从建设指标设计、施工、验收全程参与,指标全部达到设备要求且国内领先。经过实践验证,在电镜室环境改造上,如果能达到更高的指标,可明显降低设备的故障率,提高仪器的

稳定性,并能有效延长仪器的使用寿命。电镜实验室建设并没有定于一尊,一成不变的套路,有多种建设方案,可以根据需求选择,把科学的设计原则同现场的实际情况、测试结果、美观舒适、学校或研究所特色等相结合,才能建设成高质量的电镜室。电镜室环境也不是一成不变的,需要时刻关注,如线圈、空调等设备老化、材料氧化或外界环境变化等造成影响,避免因环境因素对电镜造成较大影响。希望电镜用户都可以通过电镜室环境改造,实现高端电镜优于厂家技术指标与稳定运行,打造高水平的显微平台,助力尖端显微研究。鉴于作者水平有限,系统改造涉及的学科内容较多等原因,本文中难免有所疏漏与错误,希望专家、同行、读者批评指正相互交流。

参考文献:

- [1] 章效锋. 显微传[M]. 北京:清华大学出版社,2015: 122, 287, 334.
- [2] 路甬祥主编. 科学改变人类生活的 119 个伟大瞬间[M]. 浙江:浙江少年儿童出版社,2012: 249.
- [3] The Nobel Prize. The Nobel Prize in Physics 1986 [EB/OL]. [2020-10-25]. <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/>.
- [4] RUSKA E. The development of the electron microscope and of electron microscopy [J]. Reviews of Modern Physics, 1987, 59(3), Part 1: 627-638.
- [5] HUBER D E, ORSBORN J, COLIJN H O, et al. Considerations for physical facility design and management of a state-of-the-art electron microscopy and analysis laboratory [J]. Microsc Microanal, 2015, 21 (Suppl 3): 525-526.
- [6] FARRER J K, VANFLEET R R, DAVIS R C, et al. Design and construction of an underground TEM lab at brigham young university [J]. Microsc Microanal, 2005, 11(Suppl 2): 892-893.
- [7] 张泽,张锦平,秦禄昌. 序[J]. 电子显微学报,2010, 29(3):4.
- [8] 仪器信息网.场地环境对电镜的这些影响,你真的知道吗? [EB/OL]. [2020-10-25]. <https://www.instrument.com.cn/news/20180724/468021.shtml>.
- [9] 杨宜谦,尹京,刘鹏辉,等. 清华大学精密仪器环境振动影响评价[J]. 桂林理工大学学报,2012, 32(3): 360-365.
- [10] 马蒙,韩嵩,刘维宁,等. 地铁与路面交通振动对精密仪器的影响测试[J]. 北京交通大学学报,2012, 36(4): 50-54.
- [11] 闫允杰,唐国翌,郑大力. 场发射电子显微镜实验室

- 设计[J]. 电子显微学报, 2000, 19(5): 728-734.
- [12] 张振林, 姚琪, 宫剑. 透射电镜磁屏蔽室设计[J]. 电子材料与电子技术, 2017, 2: 6-8.
- [13] GB/T50719 - 2011. 电磁屏蔽工程技术规范[S]. 实施: 2012-06-01.
- [14] 建材网. 纯铁磁导率 DT4C 电磁纯铁性能说明[EB/OL]. [2020-10-25]. <https://tyyqct.bmlink.com/news/1311537.html>.
- [15] 李广录. 简述电场、磁场、电磁场的屏蔽原理及屏蔽要点[J]. 广播电视信息(下半月刊), 2007(1): 52-56.
- [16] 张毅, 张承青. 消磁工作原理和性能测评[EB/OL]. [引用时间 2020-10-25]. http://www.chem17.com/Tech_news/Detail/1001671.html.
- [17] GB50472-2008, 电子工业洁净厂房设计规范[S]. 实施: 2009-07-01.
- [18] 百度文库. 环境对电子显微镜的影响及解决方案[EB/OL]. [引用时间 2020-10-25]. <https://wenku.baidu.com/view/526412264b35eefdc8d333bd.html>.
- [19] 丁万里, 任志善, 李从昀. 北京地区浅层土壤电阻率测试及影响因素[J]. 农村电气化, 2012, 11: 22-23.
- [20] 黄建忠. 单独接地工程设计与施工[J]. 现代建筑电气, 2013, 24-29.
- [21] 丛远新. 接地设计与工程实践[M]. 北京: 机械工业出版社, 2014: 40-41.

Key points of environmental design and construction of high-end electron microscope laboratory

GUO Zhen-xi^{1,2*}, ZHANG Bin³, DOU Rui-fa⁴, CHA Li-mei⁵,
CHEN Yong-sheng⁶, SHAO Bo^{1,2}, PEI Xia^{1,2}, HAN Yu-gang^{6*}

(1. School of Life Science, Peking University, Beijing 100871; 2. Cryo EM core facility Peking University, Beijing 100871; 3. Analytical and Testing Center of Chongqing University, Chongqing 401331; 4. Norendar International LTD, Shijiazhuang Hebei 050011; 5. Material Department of Guangdong Technion Israel Institute of Technology, Shantou Guangdong 515063; 6. Core Facility for Protein Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract As a high-precision electronic optical instrument with ultra-high resolution, electron microscope (EM) has been widely used in the scientific research, including industry, medical care, food safety, life health, and many other fields, and becoming an important tool for conducting testing, characterization as well as scientific research on the modern material form and microstructure. In recent years, with the rapid development and application of the spherical/chromatic aberration corrector and the state-of-the-art in-situ EM technology, it is no longer so difficult to obtain atomic-scale (static or dynamic) micro-structure images. Moreover, the development and popularity of Cryo-electron microscopy has brought innovation to the study of biomacromolecules, soft matter, etc. Associated with the great performance improvement of EM, the requirements for the operating environment become even higher. For instance, it usually takes several days to perform data collection in a single case regarding the structure analysis of macromolecular complexes using cryo-TEM, which raises stricter requirements for the EM stability. Therefore, environmental index and its stability are crucial to the device operation. Now, it is a priority for the EM workers/users to build a stable condition for EM, particularly the high-end EM, in order to continuously obtain high-quality images, improve the utilization rate of the EM, and decrease equipment failure rate as well as the cost. Generally, the stable environment is the foundation and prerequisite for the high-performance achievement of EM. Environmental magnetic field, vibration, temperature and its fluctuation, humidity, independent grounding, supply systems (e.g., electron power and cooling water) and auxiliary machine room and others factors will affect the stable operation and performance of EM significantly. These factors are also key performance evaluations for environmental improvements. In this paper, based on the authors' relevant experience, some key points for the environmental improvement of high-end EM are briefly discussed, providing references/advice for the EM users.

Keywords Cryo; electron microscope; environmental improvement; magnetic shielding; independent grounding

* Corresponding author