文章编号：1000-5773(2012)05-0481-06

一种高压光学样品池系统的设计与实验研究*

朱瑞滨[1]，刘伟龙[1]，宋云飞[1]，王　伟[1]，张福长[2]，罗利军[2]，王文田[2]，
贾培起[2]，刘晓旸[3]，杨延强[1]，苏文辉[1]

(1.哈尔滨工业大学凝聚态科技中心，黑龙江哈尔滨　150080；
2.天津华泰森淼生物工程技术有限公司，天津　300384；
3.吉林大学无机材料合成与制备化学国家重点实验室，吉林长春　130012)

摘要：设计和研制了一种用于溶液样品光学特性原位检测的高压光学样品池成套系统，组件包括手动泵、增压器和高压样品池。其中样品池开有3处光学窗口，以水为传压介质，设计的最高使用压力为600 MPa。当用JGS1石英作窗口时，密封和保压效果良好；由于受到石英材质强度的限制，使用压力应控制在300 MPa以下。为检验该系统在高压原位检测方面应用的可行性，进行了色氨酸高压荧光光谱的采集。

关键词：高压光学样品池；原位检测；色氨酸；荧光
中图分类号：O521.3；TH6　　**文献标识码**：A

1　引　言

自20世纪初以来，高压极端条件广泛应用于物理学、材料科学、地球科学、生物学和化学等诸多研究领域，取得了一系列常压下意想不到的结果，有力地推动了相应学科的发展。例如，在高压条件下可以发现一些新的物理现象，从而揭示一些新的物理规律[1-2]；在材料科学领域，除了用于材料合成外[3]，通过施加高压可以实现材料性质的重大转变[4]；在地球物理与地球化学方面，利用高压手段可以在实验室模拟自然条件下的一些物理、化学过程，研究元素的分布、迁移、富集以及岩石和矿床的形成，为人们更好地认识地学现象提供参考[5-6]；外加一定压力可以诱导新的化学反应[7]，提高多个反应途径中特定反应的选择性[8-9]；高压可引起DNA与蛋白质分子的变性、聚集和可逆解折叠[10-12]，为生物大分子结构与功能研究提供了新途径。此外，高压技术在应用方面，尤其是生物育种[13]、高压灭菌[14-15]以及食品加工与储藏[15]等领域也有着广泛的研究和经济价值。

高压科学所取得的进展与高压技术的发展密不可分，高压科学研究水平的高低依赖于高压下原位测量技术的先进程度。只有对中间变化过程进行实时监测，才能更好地考察高压条件对物质结构、性质与性能的影响。20世纪70年代以来，日臻完善的对顶砧高压技术不仅为实验室研究提供了范围较宽的压力条件(数百兆帕至数百吉帕)，也使多种原位测量形式得以实现，如红外[16]、拉曼散射[17]、中子衍射[18]、布里渊散射[19]、电学测量[20]、同步辐射[21]等。然而，对顶砧高压技术也存在一些明显的缺憾：(1) 加样和加压操作较繁琐；(2) 采用内标物进行压力标定，对实验设备有一定要求，如通常采用的红

* **收稿日期**：2011-02-17；**修回日期**：2011-06-15
基金项目：国家自然科学基金(40902014)；中国博士后科学基金(20080430918)；哈尔滨工业大学创新基金(HIT.NSRIF200811)
作者简介：朱瑞滨(1963—)，男，学士，工程师，主要从事液压技术研究. E-mail：zhurb@hit.edu.cn
通讯作者：王　伟(1980—)，男，博士，讲师，主要从事高压极端条件下生物分子的结构与功能研究. E-mail：wwang_ol@hit.edu.cn

宝石荧光法需要激光器和光谱仪等;(3) 内标压形式存在不足,如低压区标定不准、不适用于水体系等[22],使其在一些特殊样品尤其是生物样品的研究方面受到限制;(4) 对顶砧压机样品腔体积过小(一般小于 1 μL),不便于光的通过和产生足够的光学信息以供采集;(5) 对于特定的检测方式,如荧光光谱,无法消除背景干扰。

因此,在稍后的几十年里人们积极探索和研制新的原位高压设备,其中包括一类以液压泵为压力源、液体为传压介质、压力表指示压力、多开透光窗口的设备,从而克服了对顶砧压机在原位检测方面的不足。此类设备多被称为高压光学样品池,其设计形式多样,应用特色各异,已很好地应用于实验室研究[23-33],但目前国内尚未见报道,国外相关工作也只是局限于样品池部分,对压力源未及详述。尽管国外已有商业化生产,但价格偏高。如前所述,高压技术受多个学科的广泛关注,使原位检测高压技术和设备的需求日益突出,而满足此类研究的仪器设备却较为少见。因此,在前人工作的基础上,本工作设计制造了一种原位高压光学样品池成套系统(包括样品池、压力源和增压元件),以期为我国相关实验室的研究工作提供参考。

2 选材、结构设计与制造

2.1 选材

主要涉及压腔和窗口材料的选择。一般而言,为了缩短光程、减少光损耗和保证窗口在高压下不发生碎裂,高压光学池以水作为传压介质,腔体容积不宜过大(10 mL 左右),压力不应过高。由于常温下纯水在约 670 MPa 压力处将凝固结冰,因此设计的使用压力上限为 600 MPa。在上述压力和体积条件下,高压安全性问题退居其次,选材方面需要考虑更多的是腔体材料和窗口的强度要求。

基于上述考虑,通过比较多种高强度金属材料的各项机械性能,最终选定 Maraging C300 合金钢作为样品池压腔材料。该钢材经时效处理后,洛氏硬度 H_{RC} 为 54(时效前为 34),抗拉强度和屈服强度均高达 1 800～1 900 MPa,远超过大型超高压设备常用的优质不锈钢,满足实验要求。对于窗口材料,借鉴文献[23-33]中的做法,选用国产高品质石英。

2.2 结构设计

2.2.1 系统结构

采用 PA1000/700bar 手动泵产生一级压力,经增压器放大 16 倍后传递给样品池,形成稳态高静水压环境,整体结构如图 1 所示。手动泵的油压由压力表读数,放大后施加于样品池的二级压力通过压力传感器(PPM-101,量程 600 MPa)和控制器数显,精确度为 0.1 MPa。为使结构紧凑和避免占用过多空间,系统未设置补液装置和额外的卸压通道,压力的实现依靠压杆推进和样品池压腔内水的压缩。

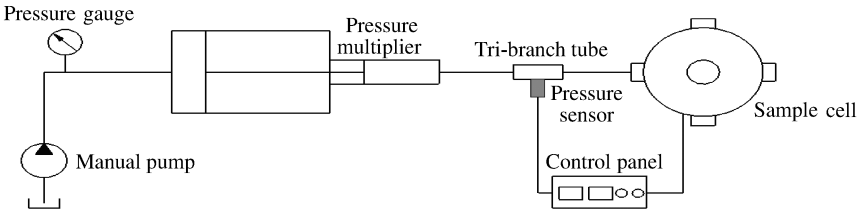


图 1 高压光学样品池系统示意图

Fig. 1 Block diagram of the high-pressure optical cell system

2.2.2 光学样品池结构设计

光学样品池是本设计的核心部分,其关键技术在于压腔结构和窗口的设计及二者间高压密封的实现。结合 Maraging C300 合金钢的相关机械性能参数,在进行必要的强度计算和充分考虑可能的疲劳损伤的基础上,设计的压腔结构如图 2 所示。

高压腔体呈圆柱形,中间镂空,并在压腔的顶端和外周5处位置开孔,其中:(1) 圆柱面上直线和垂

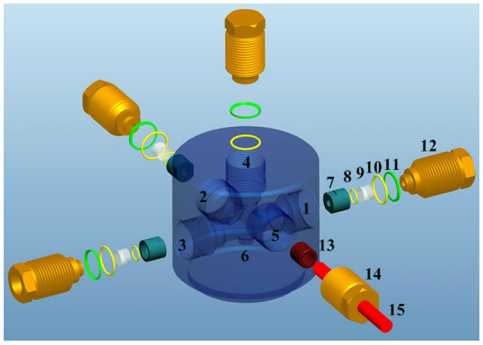


图 2　高压样品池分解图(按实际尺寸比例绘制)

Fig. 2　Exploded view diagram of the high-pressure bomb (The sketch map was drawn to scale)

直方向的 3 个通道(图 2 中标号 1、2、3)用于安装窗口,垂直方向开口便于需要克服背景干扰的荧光检测等;(2) 顶端开口(图 2 中标号 4)用于放置样品和加压前的排气泡;(3) 高压管接口(图 2 中标号 5)同样位于圆柱面上,但位置略高于窗口。光学窗口(图 2中标号 9)通过螺帽(图 2 中标号 7)、O 型圈(图 2 中标号 8)与螺堵(图 2 中标号 12)前端螺纹连接,一体化后固定在压腔上,其关键技术在于螺堵与腔体间以及窗口与螺堵间的高压密封。工程设计中,前者多采取 Bridgeman 密封[23-26],主要是以外力作用于螺堵并强行挤压软金属垫,通过金属变形填补螺堵与主件间承压面的缝隙来实现密封。该密封形式的优点是使用压力范围宽,最高能耐受高达 5 GPa 的压力[34];缺点在于每次安装都需要更换密封垫,且需要施加较大的预紧力。本研究选用两次密封法,即在 300 MPa 以下压力时主要依靠丁腈橡胶 O 型圈(图 2 中标号 10)密封,300 MPa 以上则凭借三角铜环(图 2 中标号 11)与螺堵间的锥面密封[34]。此密封形式操作简便,更适合本研究的设计压力范围。在压腔顶端放置样品的入口处采用相同密封方式。

窗口与螺堵间采用 Bridgeman 无支撑面积密封(见图 2)。由于螺堵上存在用于光路通过的孔道,使得窗口两侧(与水接触面和与螺堵接触面)的承压面积不同,从而产生压强差;利用这一压强差可以实现密封。此类密封形式简便,但对窗口和螺堵密封面的光洁度要求较高。本研究使用圆柱状 JGS1 石英窗口,尺寸为∅10 mm×10 mm,端面平行差小于 30″,光洁度 1～2 级,金属台面粗糙度 R_a=0.8。

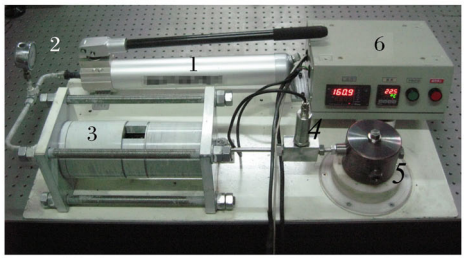
对于高压管路与压腔的连接,将高压管(图 2 中标号 15)穿过压紧螺母(图 2 中标号 14)后与调整螺母(图 2 中标号 13)螺纹连接;调整螺母为左旋螺纹,因此在将压紧螺母拧至压腔上时,可以自行调节高压管的行程;高压管前端锥面与样品池腔体通过挤压实现密封。

基于腔体和螺纹强度计算,在保证窗口强度和密封性能等环节的前提下,所设计的样品池腔体结构和尺寸可以实现 600 MPa 压力。

2.3　设备制造与调试

在上述设计的基础上,高压光学池及相关组件经加工和组装后集成在一块 90 cm×45 cm 的钢板上(如图 3 所示)。在加压调试过程中,整个系统运行正常,保压效果良好,重复操作显示 300 MPa 时压降小于 0.02 MPa/min。当压力稍有下降时,轻轻压按手动泵手柄即可完成补压。

由于石英不同于通用刚性材料,没有明确的牌号;因原料和工艺不同,机械强度差异较大,所以其没有明确可考的强度数值。本研究未对实际使用的石英进行强度测定,故此,石英的强度成为本设计中的一个未知数。通过多次调压实验发现,采用高品质石英作窗口时,压力上限应控制在 300 MPa 以内,高于此压力会导致石英碎裂。因此,本研究在 300～600 MPa 压力范围未进行正式试压。



1. Manual pump; 2. Pressure gauge; 3. Pressure multiplier; 4. Pressure sensor; 5. Sample cell; 6. Control panel

图 3　高压光学池系统实物图

Fig. 3　Assembly prototype of the high-pressure optical cell system

3 实验研究

设计本系统的初衷是用于溶液样品特定光学性质的高压原位检测，研究对象可以是无机物，也可以是有机分子，包括不同大小的生物分子。Lange 和 Balny 曾利用类似设备，在高压下蛋白质分子的紫外吸收[35]和荧光发射[36]及其揭示蛋白折叠/去折叠可逆结构变化等方面做了一些非常有意思的工作。

为了检验已完成的光学样品池在高压荧光光谱检测方面应用的可行性，以 500 W 汞氙灯为光源，辅以聚焦透镜、窄带滤光片(中心波长 280 nm，半高宽 10 nm)、紫外光纤、光谱仪(Chromax)和 CCD (Andor DU440)，搭建了用于荧光激发和采集的光路，对高压下色氨酸分子的荧光特性做了初步实验(见图 4)。首先将色氨酸溶于 Tris-HCl 缓冲液(pH 值为 7.3)中，并盛满紫外石英圆管(∅10 mm × 30 mm，厚 1 mm，一端开口)，其开口端用聚乙烯薄膜和 O 型圈实现与传压介质的隔离(加压时依靠薄膜变形将压力传给样品)[37]；然后将石英管从压腔顶部放入样品池底部沉孔内竖立(图 2 中标号 6)，压腔加满超纯水并排气泡，拧上顶部螺堵，加压后进行色氨酸荧光采集。实验结果如图 5 所示，从图中可以看出，当压力从常压增至 200 MPa 时，色氨酸的荧光光谱发生红移，荧光强度显著增强，可能与较高压力下水的介电常数增大以及色氨酸分子电离形式改变有关[38]。升压和降压过程中，相同压力下色氨酸的荧光强度能很好重叠，表明实验重复性较好。

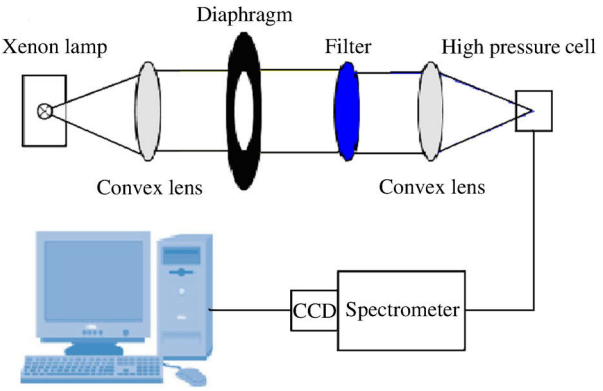


图 4 高压下色氨酸荧光激发与采集实验光路示意图

Fig. 4 Principle optical schematic for the high-pressure fluorescence experiments

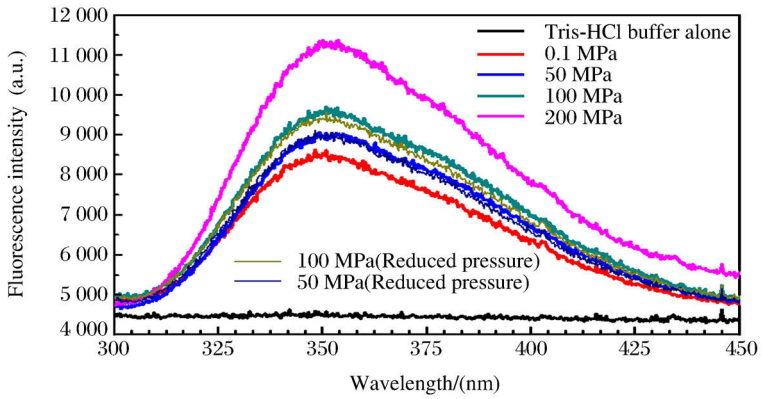


图 5 高压下色氨酸荧光发射光谱(浓度 0.2 mmol/L；激发光 500 W 汞氙灯经中心波长 280 nm 滤光片滤光；25 ℃，pH 7.3)

Fig. 5 Pressure effect on fluorescence spectra of tryptophan

(Experimental conditions: 0.2 mmol/L tryptophan aqueous solution at pH 5.9; 280 nm excitation wavelength; 25 ℃; pH 7.3)

4 结 论

设计和研制了一种用于溶液样品光学特性原位检测的高压光学样品池系统，设计的最高使用压力为600 MPa。经调试后整个系统工作正常；采用石英材质作窗口时，压力应控制在 300 MPa 以下，以免窗口碎裂；此压力下保压效果良好，多次加压显示压降小于 0.02 MPa/min。为检验该系统在高压原位检测上的可行性，采集了色氨酸在高压下的荧光发射光谱，发现高压对色氨酸荧光特征有显著影响。在今后的工作中，拟采用强度更高的蓝宝石作窗口，以期获得更宽的可用压力范围，相关实验结果也将陆续报道。

References:

[1] Mao W L,Mao H,Meng Y,et al. X-ray induced dissociation of H_2O and formation of an O_2-H_2 alloy at high pressure [J]. Science,2006,314:636-638.

[2] Ma Y,Eremets M,Oganov A R,et al. Transparent dense sodium [J]. Nature,2009,458:182-185.

[3] Graham R A,Morosin B,Venturini E L,et al. Materials modification and synthesis under high pressure shock compression [J]. Annu Rev Mater Sci,1986,16:315-341.

[4] Jin C Q,Zhou J S,Goodenough J B,et al. High-pressure synthesis of the cubic perovskite $BaRuO_3$ and evolution of ferromagnetism in $ARuO_3$(A=Ca,Sr,Ba) ruthenates [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2008,105:7115-7119.

[5] Spandler C,Hermann J. High-pressure veins in eclogite from New Caledonia and their significance for fluid migration in subduction zones [J]. Lithos,2006,89:135-153.

[6] Su W H,Liu S E,Xu D P,et al. Effects of local mechanical collision with shear stress on the phase transformation from alpha-quartz to coesite induced by high static pressure [J]. Phys Rev B,2006,73:144110.

[7] Jenner G. Comparative activation modes in organic synthesis. The specific role of high pressure [J]. Tetrahedron,2002,58:5185-5202.

[8] Hemley R J. Effects of high pressure on molecules [J]. Annu Rev Phys Chem,2000,51:763-800.

[9] Schettino V,Bini R. Molecules under extreme conditions:Chemical reactions at high pressure [J]. Phys Chem Chem Phys,2003,5:1951-1965.

[10] Krzyzaniak A,Salański P,Jurczak J,et al. B-Z DNA reversible conformation changes effected by high pressure [J]. FEBS Lett,1991,279:1-4.

[11] Lullien-Pellerin V,Popineau Y,Meersman F,et al. Reversible changes of the wheat γ46 gliadin conformation submitted to high pressures and temperatures [J]. Eur J Biochem,2001,268:5705-5712.

[12] Jackson A J,McGilivray D J. Protein aggregate structure under high pressure [J]. Chem Commun,2011,47:487-489.

[13] Li Y G,Su L, Li S P,et al. Effects of high pressure treated seeds on the growth and development of watermelon [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics,2010,24(2):143-153. (in Chinese)
李玉阁,苏　磊,李锁平,等.高压处理种子对西瓜生长发育的影响 [J].高压物理学报,2010,24(2):143-153.

[14] Kovac K,Diez-Valcarce M,Hernandez M,et al. High hydrostatic pressure as emergent technology for the elimination of foodborne viruses [J]. Trend Food Sci Technol,2010,21:558-568.

[15] Akasaka K. High pressure NMR study of proteins-seeking roots for function,evolution,diseases and food applications [J]. High Press Res,2010,30:453-457.

[16] Taniguchi Y,Takeda N,Ado K,et al. High pressure FT-IR spectroscopic study on the secondary structure changes in insulin amyloid fibril and aggregate [J]. High Press Res,2009,29:676-679.

[17] Goncharov A F,Struzhkin V V. Raman spectroscopy of metals,high temperature superconductors and related materials under high pressure [J]. J Raman Spectrosc,2003,34:532-548.

[18] Lowwitzer S,Winkler B,Tucker M. Thermoelastic behavior of graphite from *in situ* high-pressure high-temperature neutron diffraction [J]. Phys Rev B,2006,73:214115.

[19] Li F F,Cui Q L,Cui T,et al. *In situ* Brillouin scattering study of water in high pressure and high temperature conditions [J]. J Phys:Condens Matter,2007,19:425205.

[20] Han Y H,Luo J F,Gao C X,et al. Phase transition of graphitic C_3N_4 under high pressure by *in situ* resistance measurement in a diamond anvil cell [J]. Chin Phys Lett,2005,22:1347-1349.

[21] Liu H,Wang L,Xiao X,et al. Anomalous high-pressure behavior of amorphous selenium from synchrotron X-ray diffraction and microtomography [J]. Proc Nat Acad Sci USA,2008,105:13229-13234.

[22] Zheng H F,Sun Q,Zhao J,et al. Comment on the pressure gauge for the experiments at high temperature and high pressure with DAC [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics,2004,18(1):78-82. (in Chinese)
郑海飞,孙　樯,赵　金,等.金刚石压腔高温高压实验的压力标定方法及其现状 [J].高压物理学报,2004,18(1):78-82.

[23] Paladini A A,Weber G. Absolute measurements of fluorescence polarization at high pressures [J]. Rev Sci Instrum,1981,52:419-427.

[24] Johnson M R,Burgmair M,Trommsdorff H P. A high hydrostatic pressure cell for optical experiments at low temperatures [J]. Rev Sci Instrum,1995,66:3551-3554.

[25] Addleman R S,Hills J W,Wai C M. A simple high pressure flow cell for on-line absorption,Raman,and time resolved laser induced fluorescence spectroscopy in supercritical fluids [J]. Rev Sci Instrum,1998,69:3127-3131.

[26] Zhou J G, Koulas S, Chong P L. Shape memory alloy activated high-pressure optical cell for biophysical studies [J]. Rev Sci Instrum, 2000, 71: 4249-4256.
[27] Woenckhaus J, Köhling R, Winter R, et al. High pressure-jump apparatus for kinetic studies of protein folding reactions using the small-angle synchrotron X-ray scattering technique [J]. Rev Sci Instrum, 2000, 71: 3895-3899.
[28] Zahl A, Igel P, Weller M, et al. Compact high pressure unit for ultraviolet-visible-near-infrared spectroscopic measurements at pressures up to 400 MPa [J]. Rev Sci Instrum, 2003, 74: 3758-3762.
[29] Frey B, Hartmann M, Herrmann M, et al. Microscopy under pressure—An optical chamber system for fluorescence microscopic analysis of living cells under high hydrostatic pressure [J]. Microsc Res Tech, 2006, 69: 65-72.
[30] Kohlbrencher J, Bollhalder A, Vavrin R, et al. A high pressure cell for small angle neutron scattering up to 500 MPa in combination with light scattering to investigate liquid samples [J]. Rev Sci Instrum, 2007, 78: 125101.
[31] Ando N, Chenevier P, Novak M, et al. High hydrostatic pressure small-angle X-ray scattering cell for protein solution studies featuring diamond windows and disposable sample cells [J]. J Appl Crystallogr, 2008, 41: 167-175.
[32] Hoshihara Y, Kimura Y, Matsumoto M, et al. An optical high-pressure cell for transient grating measurements of biological substance with a high reproducibility [J]. Rev Sci Instrum, 2008, 79: 034101.
[33] Meier G, Kriegs H. A high pressure cell for dynamic light scattering up to 2 kbars with conservation of plane of polarization [J]. Rev Sci Instrum, 2008, 79: 013102.
[34] Shao G H, Wei Z C. Ultrahigh Pressure Vessel [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002: 124-134.
邵国华, 魏兆灿. 超高压容器 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 124-134.
[35] Lange R, Balny C. UV-visible derivative spectroscopy under high pressure [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1595: 80-93.
[36] Cioni P, Strambini G B. Tryptophan phosphorescence and pressure effects on protein structure [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1595: 116-130.
[37] Font J, Torrent J, Ribo M, et al. Pressure-jump-induced kinetics reveals a hydration dependent folding/unfolding mechanism of ribonuclease A [J]. Biophys J, 2006, 91: 2264-2274.
[38] Ruan K, Tian S, Lange R, et al. Pressure effects on tryptophan and its derivatives [J]. Biochim Biophys Res Commun, 2000, 269: 681-686.

An Instrument Design of High-Pressure Optical Cell and Its Implication in Experimental Research

ZHU Rui-Bin[1], LIU Wei-Long[1], SONG Yun-Fei[1], WANG Wei[1], ZHANG Fu-Chang[1], LUO Li-Jun[1], WANG Wen-Tian[1], JIA Pei-Qi[1], LIU Xiao-Yang[3], YANG Yan-Qiang[1], SU Wen-Hui[1]

(1. *CCMST, Harbin Institute of Technology, Harbin* 150080, *China*;
2. *Tianjin Huataisenmiao Biotechnology Co. Ltd, Tianjin* 300384, *China*;
3. *State Key Laboratory of Inorganic Synthesis and Preparative Chemistry, Jilin University, Changchun* 130012, *China*)

Abstract: An instrument design of a high-pressure optical cell system for *in situ* detection of aqueous samples was reported, including a manual pump, a pressure multiplier, and a high-pressure cell. The cell with three optical windows can be used within a pressure range of up to 600 MPa, using water as the pressure transmitting medium. When JGS1 quartz windows were employed, the safe pressure was around 300 MPa. The hermetic sealing effect of quartz was so good that the pressure was hold very well during experiments. In order to demonstrate the functioning of the system, the fluorescence spectra of tryptophane was determined at different pressures.

Key words: high-pressure optical cell; *in situ* detection; tryptophane; fluorescence