中 国 科 学 院 化 学 研 究 所
INSTITUTE OF CHEMISTRY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

分析测试中心通讯

第 3 期



分析测试中心 主办

2012 年 8 月 29 日

目　　录

评述

NMR 探头技术的进展 1

典型应用案例

单晶数据解析方法之降低对称性解析 7

共聚焦 Ratio 法在 pH 荧光探针方面的应用 10

MALDI-TOF MS 分析小分子化合物新方法 13

测试技术及技巧

电子衍射分析及晶体生长方向判定 26

双阳极 XPS 粉末样品压片制样步骤 35

红外制样方法 37

仪器及功能介绍

冷冻制样及扫描电镜传输系统 (Cryo-SEM)功能介绍 40

分析测试中心动态

Thermo Fisher 公司工程师访问元素分析实验室 45

分析测试中心 3 个机组将搬新址 45

《分析测试中心通讯》征稿启事 46

评 述

NMR 探头技术的进展

▶ 向俊锋 崔洁

(分析测试中心核磁组 Tel: 010-62627946 Email: jfxiang@iccas.ac.cn)

自核磁共振现象发现以来，经过六十多年的发展历程，核磁共振技术已经成为用于鉴定化合物结构以及研究化学动力学的重要手段。如今随着核磁共振应用领域的拓展和深入，核磁共振谱仪技术也不断地发展和完善。

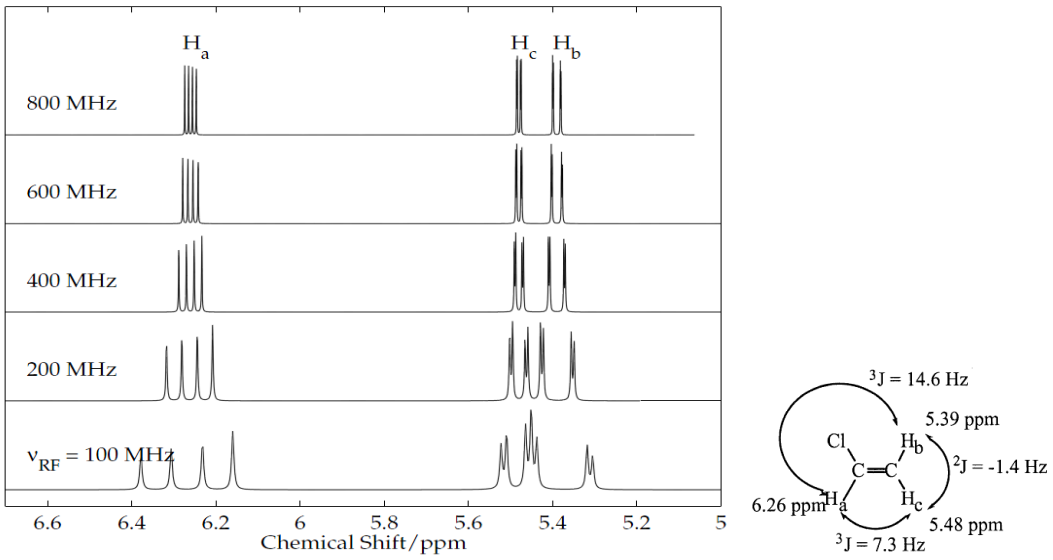


图 1. 1—氯乙烯的核磁共振氢谱，核磁参数和偶合常数

核磁共振谱仪的硬件主要构成可以分为四个部分，磁体、探头、数据采集和接收系统、操作系统。简单来讲，磁体的功能是产生一个恒定的磁场；探头则置于静磁场之中，用于激发检测核并探测核磁共振信号；数据采集和接受系统是将共振信号放大处理并显示和记录下来；操作系统是整个核磁共振谱仪的控制平台。核磁共振技术的一个弱点就是其灵敏度最少比光谱低 4 个数量级，这主要是核磁共振的能量低，导致核磁场下上下两个能级的布局数差异过小所致（400 兆核磁强度下上下两个能级之间布局数差为 10 万分之 3）。提高检测灵敏度一直是 NMR 所追求的目标，磁场强度的增强是一个最有效的方法，但是磁场强度增强的成本太高，场强每增加 100M 价格要高出大约 10 万美元，因此相比之下，对

探头功能的开发改造成为一个更加可行的方法。本文主要介绍 NMR 探头的相关进展。

当前市场上常见的探头类型有双核探头，四核探头，宽带探头，低频探头，低温探头，微量探头，固体探头，成像探头等。通常一台核磁共振波谱仪可以配备多个探头，按照不同的测试目的，随时进行探头更换。此外，根据杂核线圈和氢核线圈在探头内的位置不同，探头还可以分为正向探头（杂核在内，碳谱灵敏度高）和反向探头（氢核在内，氢谱灵敏度高）（图 2）。理论上，一台核磁谱仪应该同时配备正向与反向探头，遇到进行正向或反向实验时可以分别更换使用，从而得到最佳的检测效果。现在多家公司已经推出同时具备正向和反向功能的探头，避免了更换探头的繁琐以及可能带来的故障。

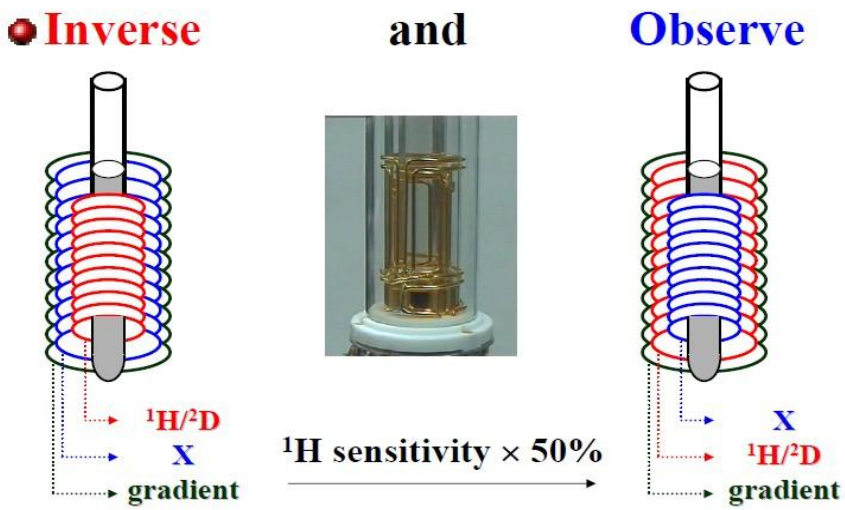


图 2. 反向探头（左）与正向探头（右）示意图

一般而言，核磁的检测灵敏度(S/N)可由下式来表征：

$$S/N \approx n\gamma^{5/2} I(I+1) B_0^{3/2} \phi Q^{1/2} V_c^{1/2} T^{-3/2} f^{-1/2} b^{-1/2}$$

其中，n 为测试样品单位体积中核的数目，B_0 为外加静磁场的强度，γ 为检测核的旋磁比，I 为自旋量子数，为填充因子 V_s/V_c（V_s 为样品的体积，V_c 为线圈的体积），Q 值为谐振回路品质因子，T 为检测线圈的绝对温度，f 为接收机噪声因子，b 为接收机带宽。从上式看出，降低检测单元的温度可以显著增加仪器的信噪比。

近年出现的超低温探头把低温技术与先进的射频硬件设计结合起来，用低

温的氦气来冷却探头检测线圈到 25K，前放电子线圈到 70K 附近，最大程度降低了检测到的电子噪声，探头检测灵敏度提高 4 倍以上。但是目前这种探头的附加设备以及运行时的花费非常昂贵，一个探头的价格可以购买一台普通的 400 兆液体核磁，同时一年的运行维护费不小于 10 万元人民币。目前瑞士布鲁克公司提出了一个新的折中方案，把低温氦气冷却换为液氮，这样也可以提高探头氢的灵敏度 2 倍左右，杂核灵敏度 2－3 倍，同时购买费用和维护费用也大为降低。目前这套低温系统的报价在 15 万美元左右，一年的维护费在 6 万人民币左右。

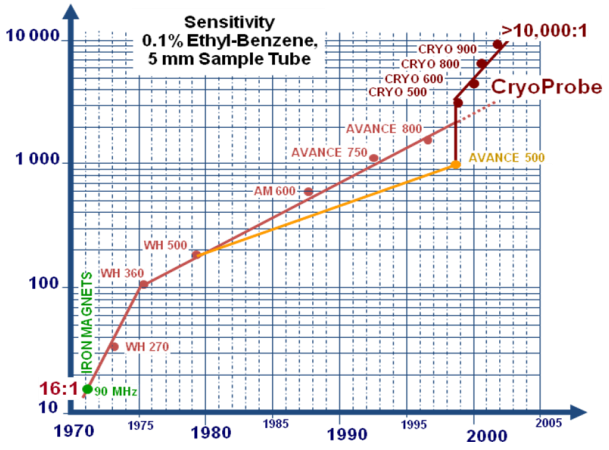


图 3. 核磁共振检测灵敏度的进展

微量探头是超小型探头，通过减少溶剂的体积而相应增加样品浓度，适用于样品量小的情况，特别是适用于天然产物研究领域，本身的线圈设计使得其能达到与低温探头相当的高灵敏，并且微量探头安装与维护简便。1991 年有多位研究者提出了微量探头的设想，从最初广泛应用的 2.5mm 和 3.0mm 的微量探头，发展至今，1.7mm 甚至 1.0mm 的超微量探头技术也已经渐渐成熟。

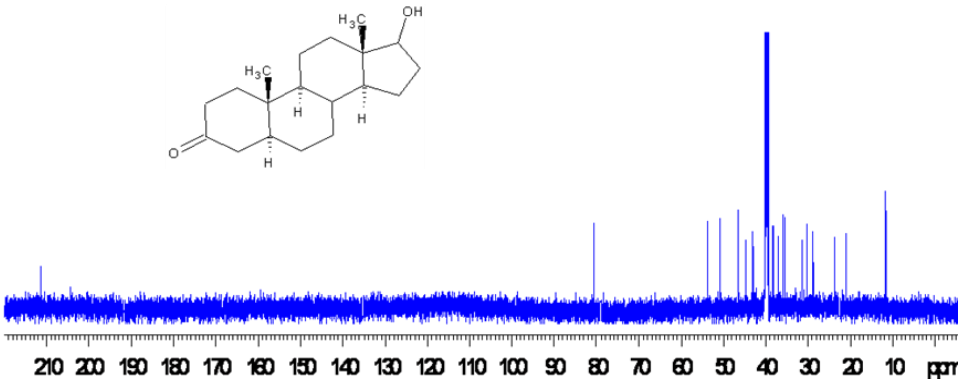


图 4. 120ug Androstan 的 ^{13}C-NMR

（1.7mm 微量探头，溶剂为 DMSO，扫描次数 8000 次）

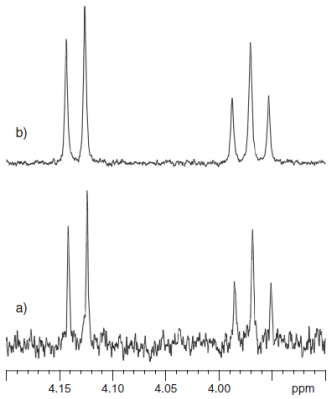


图 5. 50ug 糖的 D_2O 溶液中的 ^{1}H-NMR 图

(a)500ul 5mm 探头 (b) 5ul 1mm 探头

结合微量探头和超低温探头各自的优点，出现了微量超低温探头（见表 1）。这类探头灵敏度达到了更高的水平，在样品量极少的情况下，也可以在很短的时间内检测得到理想的谱图结果，使得之前不可能实现的事情成为现实。图 6 为其中的一个例子。

表 1. 各种探头的相对灵敏度 (数据来自布鲁克公司)

探头直径(反向构型)	样品体积/μL	相对质量灵敏度
5 mm	500	1
3 mm	150	1.5
1.7 mm	30	2
1 mm	5	4
5 mm 超低温探头	500	4
1.7 mm 超低温探头	30	14
毛细管微流动探头	5	10

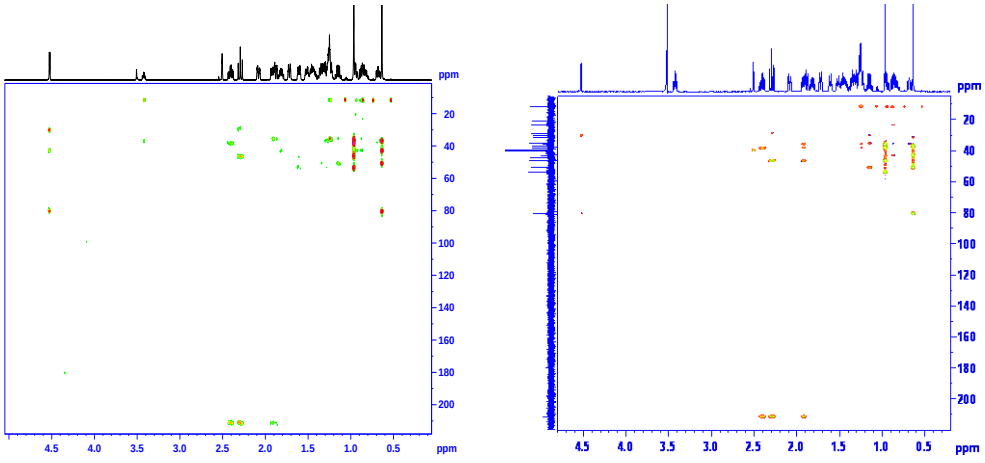


图 6. 30ulDMSO 溶液中 120ugAndrostan 的 HMBC 图谱

（左图：微量探头扫描 2.5h　右图：微量超低温探头扫描 11min）

除此之外，还有一类特殊的流动探头值得关注，这种探头能够在样品流动的情况下检测溶液中的结构信息。这种探头能够与 HPLC 和质谱联合在一起，组成了 LC－NMR－MS 的强大分析工具。另外，这种探头稍加改装，就能够完成有机反应过程的实时检测：样品能够在探头样品腔处实时反应，核磁提供反应的结构信息。目前最好的时间分辨率在 20 毫秒，商品化的探头在秒数量级。图 7 为流动探头进行检测的例子，流动探头的检测结果提供了详细的反应动力学信息。

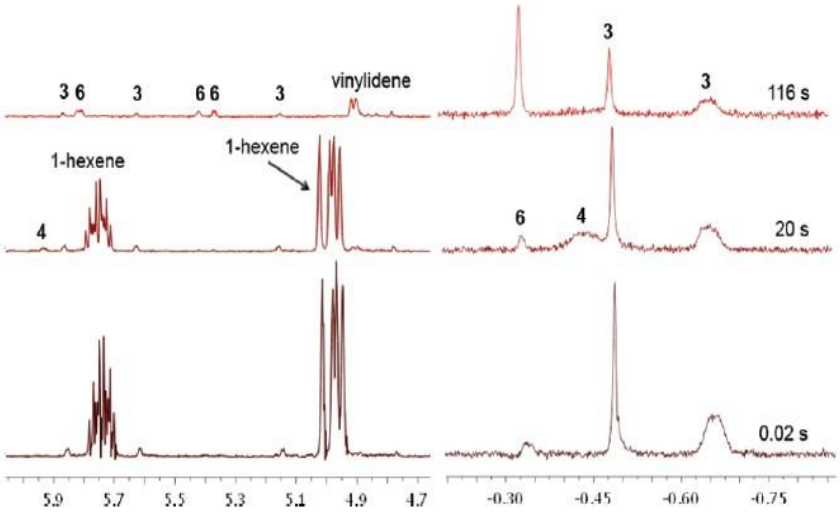


Figure 2. Stopped-flow NMR spectra acquired at 0.02, 20, and 116 s following the mechanical stop during the polymerization of 1-hexene (201 mM) using **1** (11.1 mM) and **2** (12.3 mM) in toluene-d_8 at ambient temperature (ca. 24 °C).

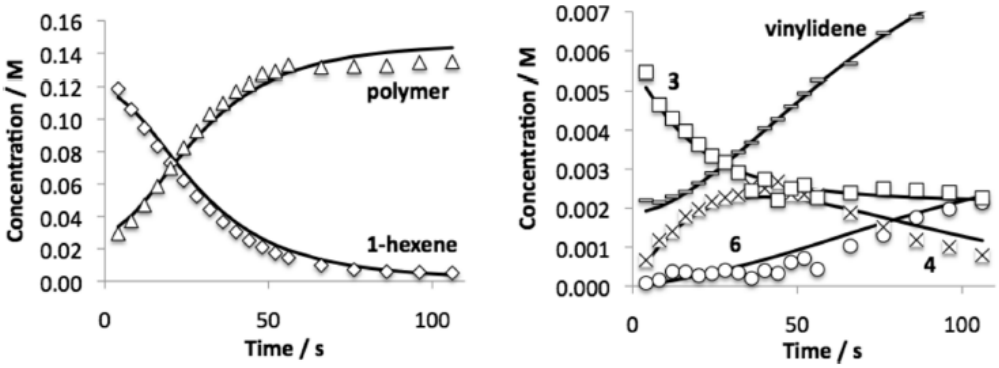


Figure 3. Plots of concentration vs time for the polymerization of 1-hexene (161 mM) using **1** (8.84 mM) and **2** (9.86 mM) in toluene-d_8 at ca. 24 °C. The solid lines were obtained from the kinetic model using rate constant values that best fit all shots.

图 7.　NMR 流动探头监测反应的实例

总之，几年来核磁共振谱仪相关新技术发展很快，其仪器的检测范围、检测灵敏度不断提高，核磁仪器的应用领域范围不断增加。除了传统的化学、生物学、药学之外，医学、食品、化工等领域也在广泛使用核磁共振谱仪。同时在化学领域，除了传统的有机结构分析外，核磁共振技术还应用于超分子体系中的结构－性能关系研究，分子间或分子内的相互作用研究等。相信随着核磁共振技术的不断普及、以及大家对核磁共振仪器的认识不断提高，核磁共振谱仪会越来越多参与到化学所的相关科研工作并提供重要的结构数据支持，并促进提高科研水平。

主要参考文献：

1、 Timothy D.W.,Claridge, High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry ,Second edition ,2009

2、 Matthew D. Christianson, Emily H. P. Tan, and Clark R. Landis, J. AM. CHEM. SOC. 2010, *132*, 11461–11463

3、 Gerd F. Nowack, Proceedings of the International Conference on Modeling and Simulation,July 2 - 4, 2007, Algiers, Algeria

4、 P Styles, N.F Soffe,C.A Scott, D.A Crag, F Row, D.J White, P.C.J White, J Mag Res 1984,60(3), 397

5、 M. Spraul ,A. S. Freund ,R. E. Nast ,R. S. Withers ,W. E. Maas ， and O. Corcoran ， Anal. Chem., 2003, 75 (6), 1536

典型应用案例

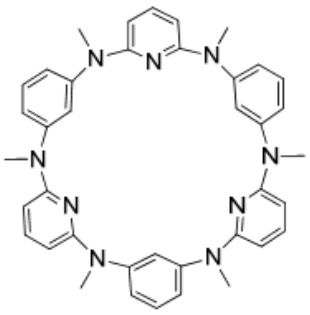
单晶数据解析方法之降低对称性解析

▶王林

(分析测试中心 X 射线衍射组 Tel:010-62658187 Email:wanglin84@iccas.ac.cn)

单晶结构解析的方法有很多，不论采用哪种方法解析单晶结构，解析之初正确空间群的指认往往是最重要的，而衍射数据中的系统消光规律是确定晶体空间群的重要依据。现在一般是利用计算程序（如 XPREP）分析衍射数据可能存在的系统消光规律。但是计算程序如果按照默认参数，有时也会有判断不了空间群或者给出错误的空间群的情况，进而导致无法解析晶体结构。遇到这种情况时，一种方法是更改程序默认参数（如“容忍值”参数）重新找空间群；另外一种方法是降低对称性求解，即在较低对称性的空间群中进行解析，然后通过 PLATON 软件中的 ADDSYM 选项转到正确的高对称性的空间群中，再进行数据精修。本文的例子即为降低对称性解析的实例。

该单晶衍射数据为我们组收集的一个典型实例，该单晶样品的晶胞参数为 a = 7.6467Å，b = 24.3390Å，c = 17.6150Å， α = 90°，β = 94.85°，γ = 90°，晶格为底心单斜，合成人员所提供的分子结构信息如图 1 所示。由 XPREP 程序找出的空间群为 $C2$ 空间群，但在该空间群中运用直接法（Direct methods）和 CF（Charge Flipping）的方法均解析不出合理的结构模型，解析的结果如图 2，图 3 所示。



$+ Tb(NO_3)_3$

图 1. 合成人员提供的分子结构图

从图 2 直接法解析的结果来看，其结构模型完全不合理，有三个 Tb 配位相连，因此考虑可能是只有配体自己单独结晶，但在 $C2$ 空间群中即使没有 Tb 依然无法解析得到合理的结果（如图 3）。最后我们采取降低对称性进行晶体结构解析的方法。

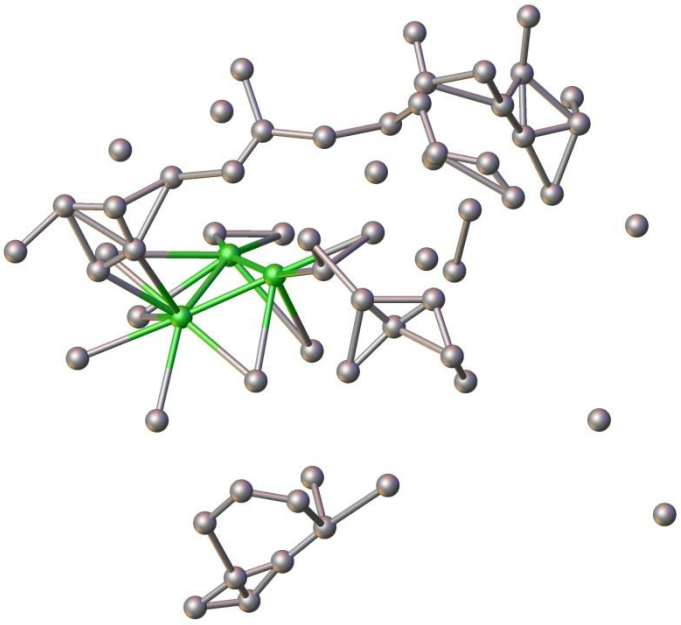


图 2. *C*2 空间群直接法解析结果（绿色原子为 Tb，灰色原子为 C）

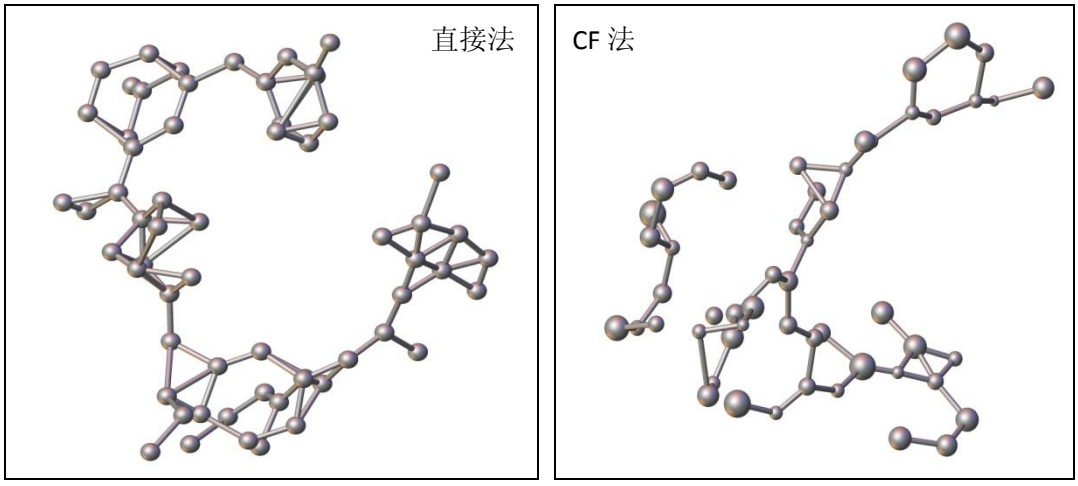


图 3. *C*2 空间群解析结果直接法（不含 Tb）和 CF 法

我们尝试在 *P*1 空间群中对该单晶数据进行解析，若考虑 Tb 参与配位，在 *P*1 空间群中运用直接法依然无法解析出合理的结构模型，解析结果如图 4 所示。若假设只有配体自己单独结晶，在 *P*1 空间群中运用直接法和 CF 法都能得到合理的结构模型，解析的结果如图 5 所示。

最后我们运用 PLATON 中的 ADDSYM 选项检查，发现该结构的正确空间群为 *Cm*，并将在 *P*1 中解析好的结构转换到更高对称性的 *Cm* 空间群中，最终结

果非常合理，如图 6 所示。

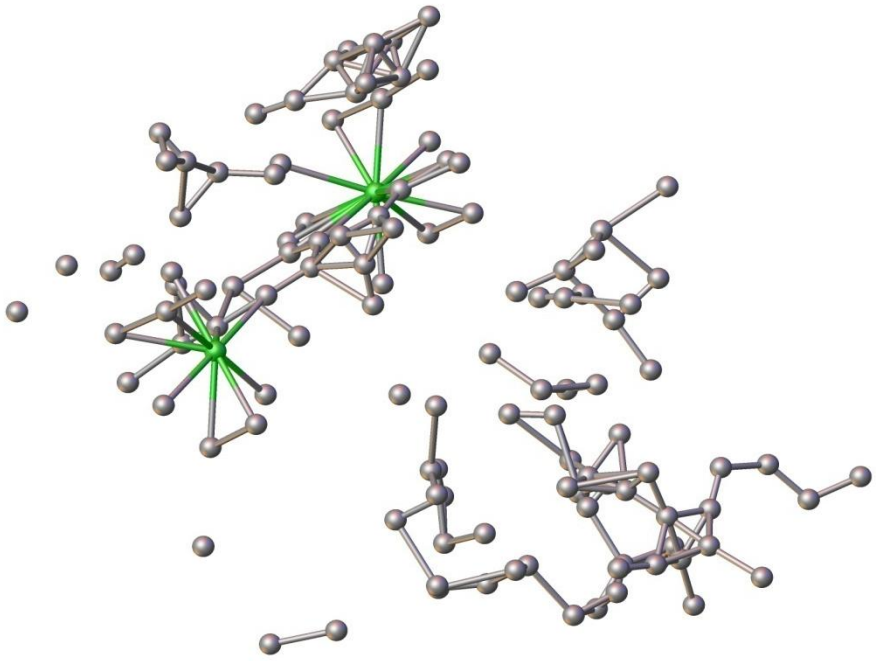


图 4. *P*1 空间群直接法解析结果（绿色原子为 Tb，灰色原子为 C）

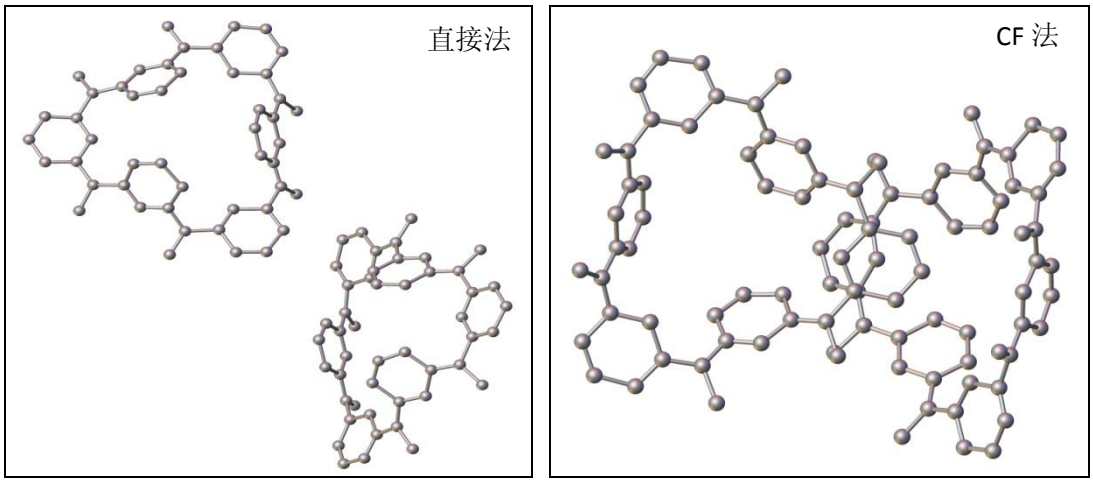


图 5. *P*1 空间群解析结果直接法（不含 Tb）和 CF 法

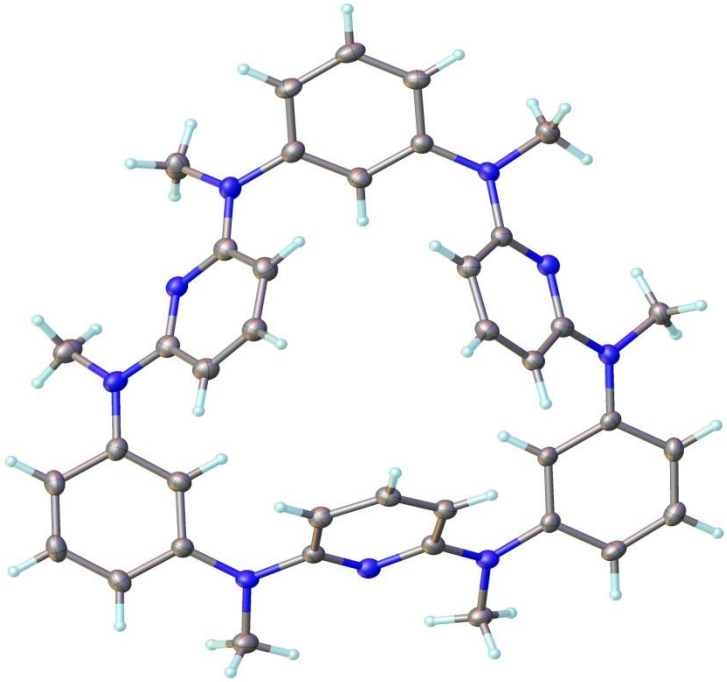


图 6. 最终解析结果

（灰色原子为 C，深蓝色原子为 N，浅蓝色原子为 H）

共聚焦 Ratio 法在 pH 荧光探针方面的应用

▶ 刘美蓉

(分析测试中心光谱组 Tel: 010-82613026 Email: mrliu@iccas.ac.cn)

分析测试中心共聚焦最多可同时采集三个荧光通道。两个荧光通道的荧光强度可做 Ratio 值，用于分析 pH 值、金属离子浓度等引起的荧光强度比值的变化。

碳纳米点上修饰两种不同荧光染料（异硫氰酸酯荧光素和罗丹明）(DLCD)，可形成一种可调式比率型 pH荧光探针，用于整个活细胞内pH的分布及其波动的定量检测。下图为Ratio法在pH荧光探针应用方面的举例。

图1为Hela细胞在pH6-8范围的荧光图。第一行为FITC通道（激发波长488nm，发射波长510-550nm）；第二行为RBITC通道（激发波长488nm,发射波长570-610nm）；第三行为微分干涉差图(DIC)；第四行为FITC通道与RBITC通道的荧光强度比值图(ch1/ch2)， 即Ratio图,不同的颜色代表不同的比值，绿色表

示Ratio值低，黄色表示Ratio值高，如图2颜色标尺所示。由图1可看出随着pH值的增加，FITC通道荧光强度增加，而RBITC通道荧光强度基本不变，两个通道的荧光强度比值增加。

图3为一幅Ratio图的Ratio值频率分布，即每个Ratio值对应的像素数，这样我们就可以知道一幅Ratio图中，每个Ratio值的权重或像素与Ratio值的对应关系。Ratio值与像素数的对应关系有excel数据，因数据太多不做展示。通过origin可算出一幅Ratio图的平均Ratio值及误差bar(平均值±标准偏差)。当颜色标尺相同时，一种颜色对应一个Ratio值，一幅图的平均Ratio值又对应细胞的一个pH值。这样，就可以做出pH-Ratio曲线。

图4 a）显示了pH—Ratio图及误差bar，在pH6-8范围内，成线性，图b)-f)为负载有碳纳米点的Hela细胞的Ratio图。图a为未经处理的完整细胞，图b)-f)为用不同的氧化还原剂处理后的Ratio图，有的颜色变蓝，有的基本没变。可看出不同的氧化还原剂处理细胞后，细胞内pH值有的发生变化，有的没发生变化。这样我们就可以很清楚地用Ratio图颜色的变化来判断pH值的变化。

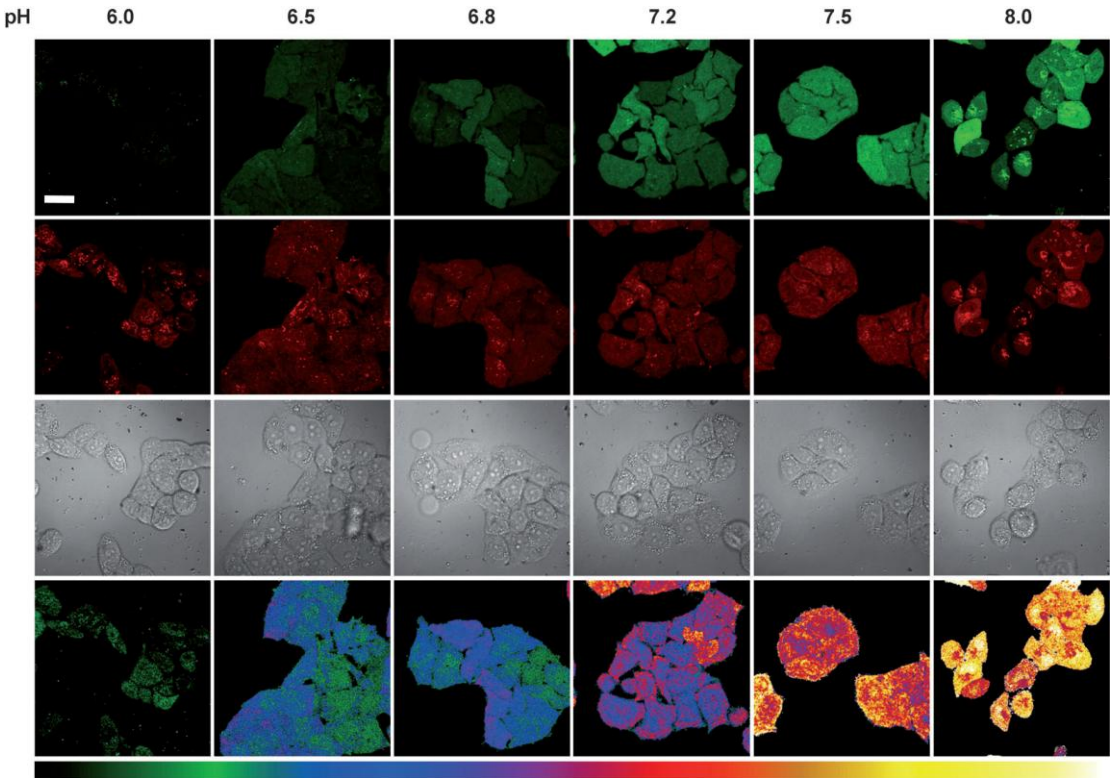


图1. Fluorescent images of HeLa cells clamped at pH 6.0, 6.5, 6.8, 7.2, 7.5, and 8.0, respectively. The images of the first row (FITC channel) and second row (RBITC channel) were collected in the ranges of 510–550 nm and 570–610 nm, respectively. The third row

shows the corresponding differential interference contrast images. The images of the fourth row (the Ratio channel) were generated by Olympus software (FV10-ASW); the bottom color strip represents the pseudocolor change with pH. Scale bar, 20 μm.

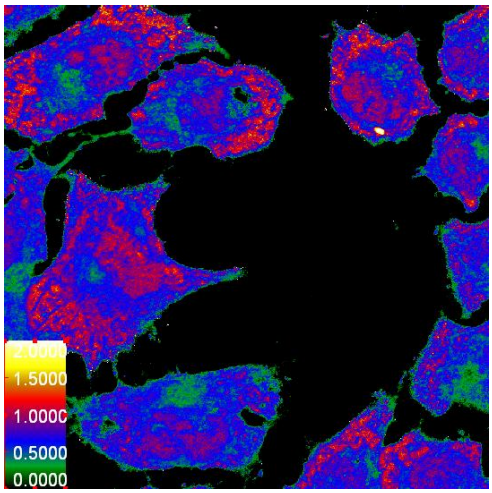


图2. Ratio channel, different color represents different Ratio value. Green indicates lower Ratio value, yellow indicates higher Ratio value.

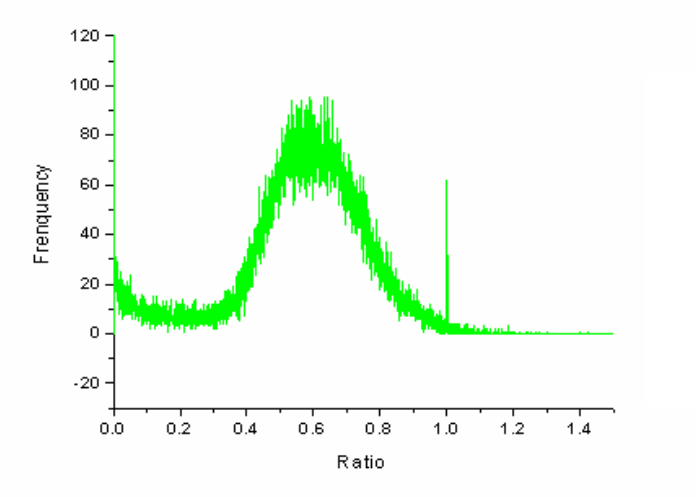


图 3. The relationship is between ratio value and pixel number. The pixel number at every ratio value can be obtained.

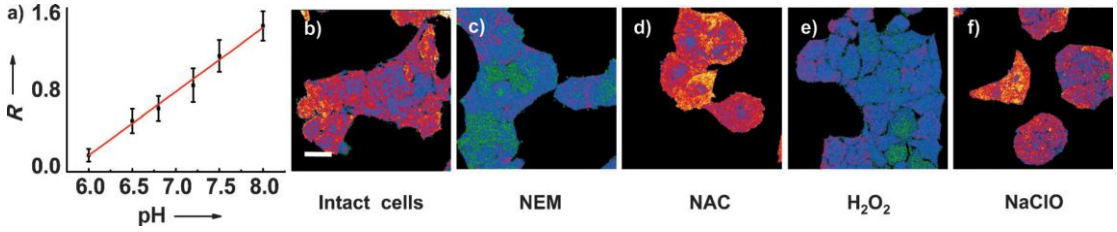


图 4. a) Intracellular pH calibration curve of DLCDs. R indicates the pseudo Ratio generated by Olympus software (FV10-ASW). b)–f) Ratiometric images of DLCD-loaded HeLa cells in PBS

(pH 7.4): b) intact cells, and cells treated with c) 1 mm NEM, d) 1 mm NAC, e) 100 mm H_2O_2, or f) 100 mm NaClO for 1 h. Scale bar: 20 mm.

主要参考文献：
Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 6432

MALDI-TOF MS 分析小分子化合物新方法

► 熊少祥

（分析测试中心质谱组 Tel: 010-62554495 Email：mscbj@iccas.ac.cn）

对于分子量小于 400Da 的化合物，使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS) 的常规方法难以检测，这主要是由于小分子基质带来的干扰。为此，本方法发展了一种 MALDI-TOF MS 分析小分子的新策略，将小分子转移到高质量区域测定，成功的分析了赤霉酸等一系列小分子化合物。

1 实验部分

Bruker 公司 AUTOFLEX III MALDI-TOF 质谱仪，氮分子激光，波长 355nm，使用前用混合多肽（购自 Bruker 公司，包括：血管紧张肽 I, 血管紧张肽 II, P 物质, 蛙皮素, 促肾上腺皮质激素 1-17, 促肾上腺皮质激素 18-39, 生长激素释放抑制激素 28）外标法校正仪器。

金属酞箐化合物的合成参照已发表的文献，最终产物经过紫外可见吸收光谱（UV-Vis），质谱（MALDI-TOF MS）以及核磁（NMR）表征。

样品和基质分别溶于适当溶剂，二者按照一定比例混合均匀，取 1μl 混合溶液滴在 MALDI 样品靶上，或者直接吸取 1μl 样品溶液滴在靶上，待溶剂自然挥发样品结晶后，送入质谱仪，进行质谱分析。实验中数据采集时所用参数如下：加速电压 19kV，反射模式，激光频率 10Hz，使用最大激光能量的 40-90%，累加 30-200 次。使用 Bruker 公司的 XMASS 软件，flexControl 和 flexAnaysis 软件进行数据采集和数据处理。

2 结果与讨论

2. 1 金属酞箐基质的发现

酞箐化合物是一类具有 π 电子共轭结构的大环化合物，具有良好的热稳定性和化学稳定性一直被广泛用作染料，此外，由于其独特的光、电、磁及对某些气体的敏感性等方面的特性而被应用于化学传感器、非线性光学材料、光盘信息记录材料、太阳能电池材料、燃料电池中的电催化材料、场效应晶体管、气体检测及光动力学治疗癌症等许多方面。

在用 MALDI-TOF MS 分析金属酞箐类化合物时，由于该类化合物在紫外可见区有吸收，可以吸收激光（波长 337nm）能量，所以，在没有基质的情况下能够解吸电离得到分子离子峰。当使用常规基质，如 α-氰基-4-羟基肉桂酸（CHCA）和 2, 5-二羟基苯甲酸（DHB）时，三价金属酞箐化合物对基质分子有加合作用，而二价和四价金属酞箐化合物与基质分子没有加合作用。因此，利用三价金属酞箐化合物用于分析小分子，它可以将小分子从低质量区域转移到不受干扰的高质量区域，从而消除传统基质带来的干扰。

2. 2 无基质时 MALDI-TOF MS 分析金属酞箐化合物

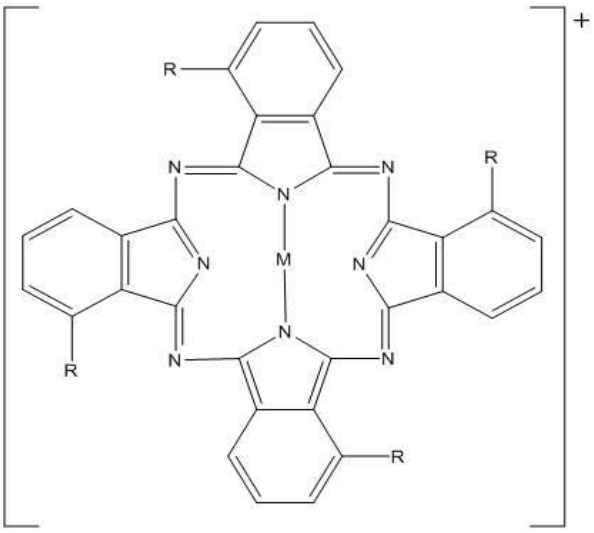
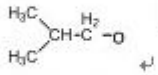
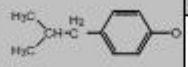
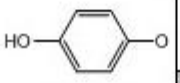
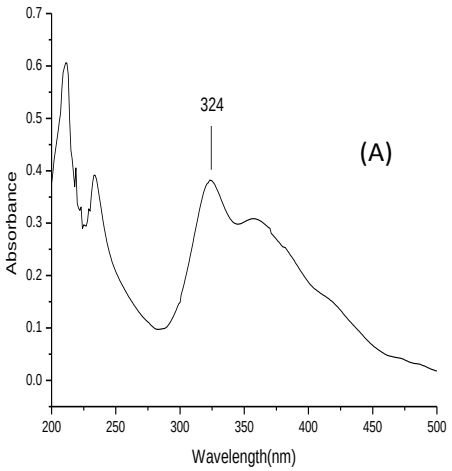
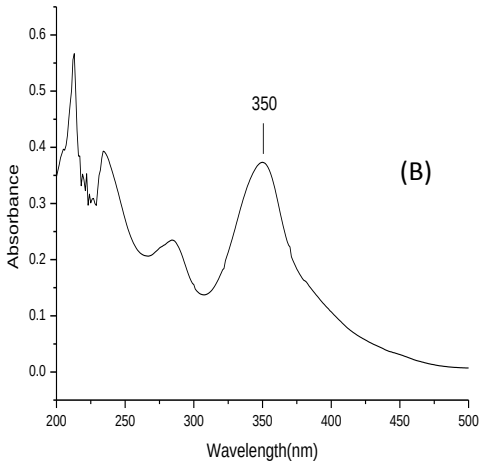


图 1 金属酞箐化合物（MPcs）的结构.

表 1

编号	M	R	缩写	准确质量	摩尔分子量
1	Al^{3+}	 (aPc)	[Al(aPc)]$^+$	827.3608	827.9269
2	Ga^{3+}		[Ga(aPc)]$^+$	869.3048	870.6683
3	In^{3+}		[In(aPc)]$^+$	915.2831	915.7633
4	Al^{3+}	 (pPc)	[Al(pPc)]$^+$	1131.4860	1132.3107
5	Ga^{3+}		[Ga(pPc)]$^+$	1173.4300	1175.0522
6	In^{3+}		[In(pPc)]$^+$	1219.4083	1220.1472
7	Mg^{2+}	 (hPc)	[Mg(hPc)]	968.2193	969.2070
8	Zn^{2+}		[Zn(hPc)]	1008.1634	1010.3120
9	SnO	Non (Pc)	[SnO(Pc)]	648.0469	647.2324
10	SnF_2		[SnF_2(Pc)]	670.0488	669.2299
11	TiO		[TiO(Pc)]	576.0926	576.3894





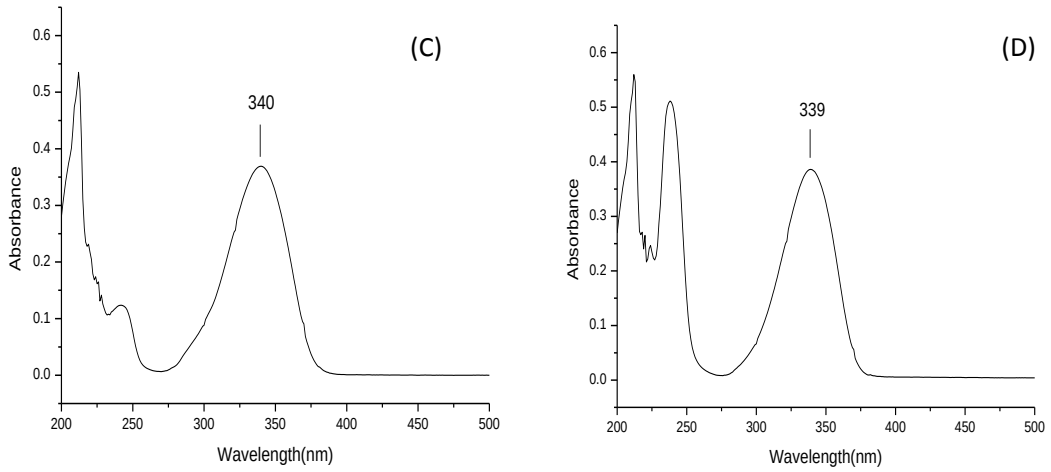


图 2. 紫外-可见吸收光谱 (A) 金属酞箐化合物 2 (B) 金属酞箐化合物 7
(C) 基质 CHCA (D) 基质 DHB

金属酞箐化合物（结构见图 1 所示）有 Q 带和 B 带两个吸收带，这是 π-π* 跃迁引起的。MALDI-TOF MS 所用激光波长为 337nm，此波长刚好位于金属酞箐化合物 B 带吸收带内，图 2 A 是酞箐化合物 2 在 200-500nm 波段的紫外可见吸收光谱，它在 324nm 处有较高的吸收；图 2 B 是酞箐化合物 7 在此波段的吸收光谱，它在 340nm 处有较高的吸收。MALDI-TOF MS 所用的基质 CHCA 和 DHB 能够吸收激光能量，其紫外可见吸收光谱见图 2 C 和 D。金属酞箐化合物的吸收峰和两个基质的吸收有很大相似之处，不同的是前者的吸收峰比较宽而后者较窄，吸收峰值不完全相同，CHCA 和 DHB 的吸收峰值分别是 340nm 和 339nm，更接近激光波长。金属酞箐化合物能吸收激光能量，理论上在不加基质的情况下它能直接解吸电离产生分子离子峰。图 3 为不加基质情况下酞箐化合物 2 的质谱图及实验所得同位素分布与理论同位素分布的对比。从对比中看到，二者十分吻合。

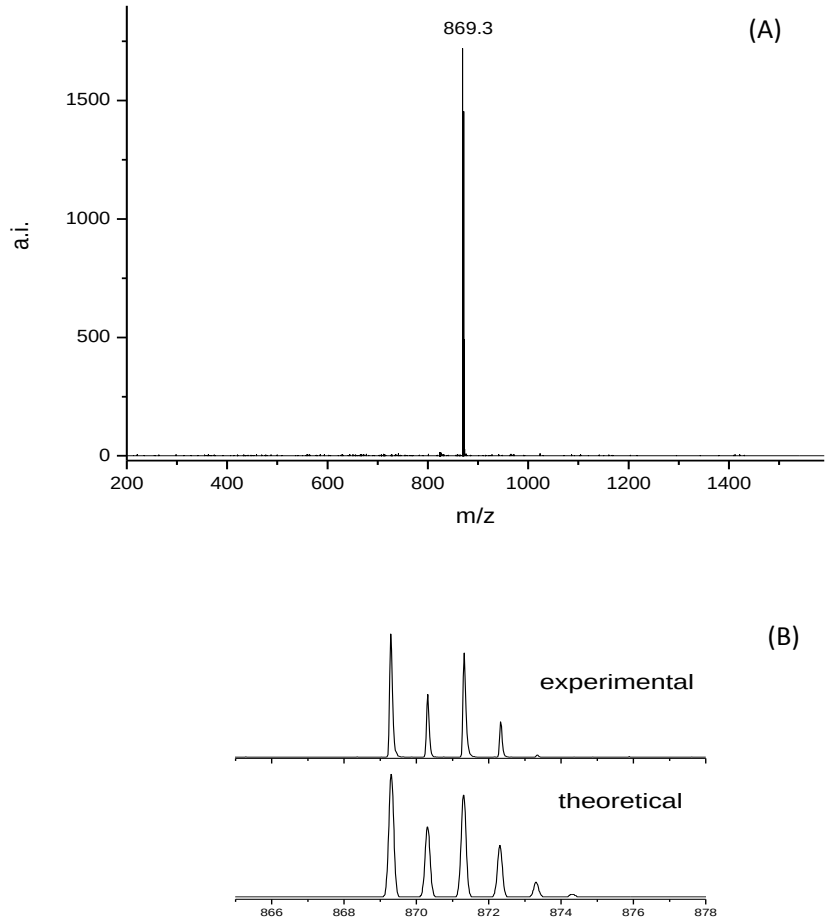


图 3 无基质情况下酞箐化合物 2 的质谱图(A)及理论与实际同位素分布的对比(B)

2. 3 使用常规基质时 MALDI-TOF MS 分析金属酞箐化合物

表 2 使用 CHCA 和 DHB 为基质分析金属酞箐化合物的 MALDI 结果

基质	编号	$Mass_{cal.}$	$Mass_{det.}$
CHCA	1	827.4	1016.5
	2	869.3	1058.4
	3	915.3	1104.4
	4	1131.5	1320.6
	5	1173.4	1362.5
	6	1219.4	1408.5
	7	968.2	968.2
	8	1008.2	1008.2
	9	648.0	648.0
	10	670.0	670.0
	11	576.1	576.1
DHB	1	827.4	981.5

	2	869.3	1023.4
	3	915.3	1069.4
	4	1131.5	1285.6
	5	1173.4	1327.5
	6	1219.4	1373.5
	7	968.2	968.2
	8	1008.2	1008.2
	9	648.0	648.0
	10	670.0	670.0
	11	576.1	576.1

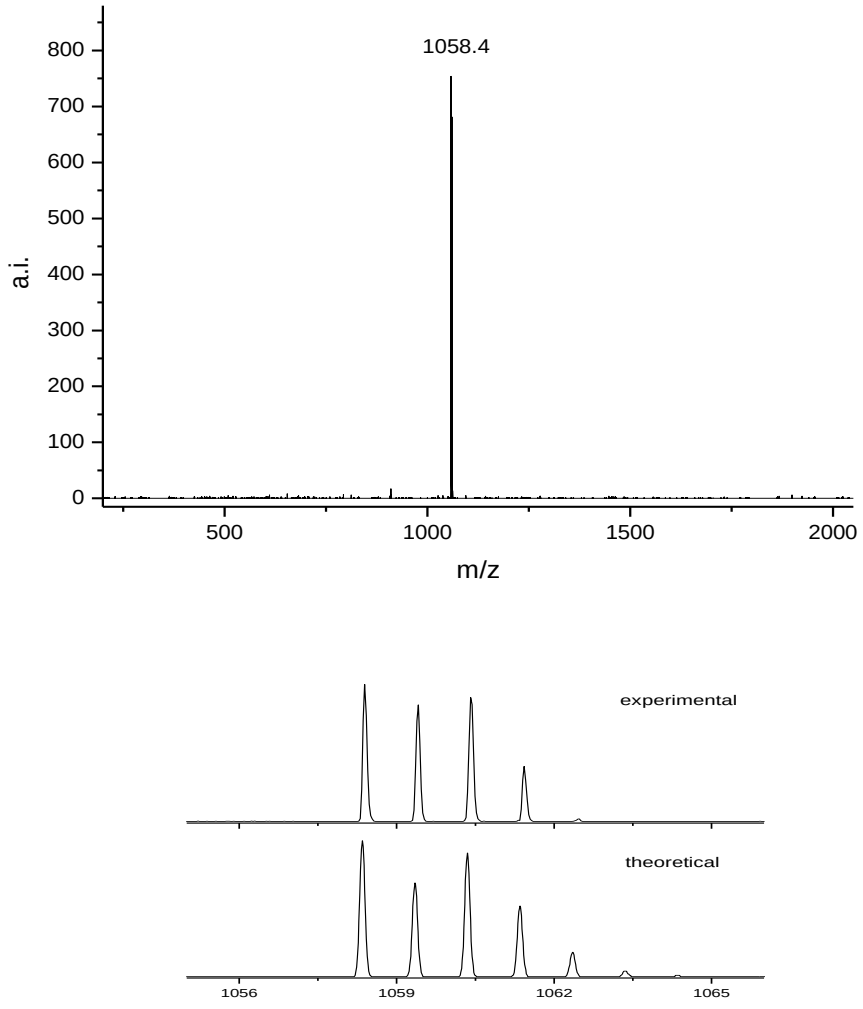


图 4　以 CHCA 为基质时（A）金属酞箐化合物 2 的质谱图以及

（B）实际与理论同位素分布的对比

使用 CHCA 和 DHB 作为基质，用 MALDI-TOF MS 对一系列金属酞箐化合

物进行分析，所得质谱结果见表 2。其中，三价金属酞箐化合物 1-6，检测得到的分子量比理论计算值大。以化合物 2 为例，当以 CHCA 为基质时（其质谱图见图 4 A），检测得到的质荷比（m/z）为 1058.4，而理论值为 869.3。用检测值减去理论计算值得到的值是 189.1，相当于 CHCA 的分子量。经过计算发现，其余五个化合物也是这种情况。因此认为，化合物 1-6 在检测的过程中与 CHCA 的分子发生了加合作用，且二者比例是 1:1。 用 XMASS 对化合物 2 与 CHCA 加合物 $[M+CHCA]^+$ 的同位素进行模拟，与实验得到的同位素分布相比较（见图 4 B），二者吻合得很好。实际上化合物 1-6 是酞箐阳离子，带一个正电荷 M^+，当它与中性的 CHCA 分子结合后形成$[M+CHCA]^+$ 带一个正电荷。而当以 DHB 为基质时，化合物 1-6 与 DHB 的分子发生了加合作用，二者的比例是 1:1。从表 2 中，还可以看到，对于金属酞箐化合物 7-11，包括二价金属酞箐和四价金属酞箐，检测得到的分子量与理论计算值相符。

基于以上的结果，可以大胆地设想：三价金属酞箐作为 MALDI MS 新基质分析小分子化合物，利用它与小分子的加合作用将小分子从低质量区域转移到高质量区域，就能解决 MALDI-TOF MS 无法分析赤霉素等小分子样品（<400Da）的难题。

2．4 金属酞箐用作 MALDI 基质分析小分子的新策略

从理论上讲，金属酞箐分子（结构见图 1 所示）具有进一步和含氧等配位原子或含大 π 键等分子形成络合物或加合物的潜力，它们能和小分子有机物等形成加合物，其质谱峰出现在 1000Da 以上的信号区域，如图 5 所示。

图 5 A 表示 MALDI-TOF MS 正离子模式下分析柠檬酸，使用传统基质 CHCA，只能在小于 500Da 的质量范围内产生杂乱的谱图，很难找到样品的分子离子峰，当使用铝酞箐 AlPc 基质，柠檬酸以加合物 $[Al(pPc)(citric\ acid)]^+$ 的形式在较高的质量范围检测到，信号强，分辨率高。此外，还能观察到 $[Al(pPc)]^+$，可作内标或参考，用于分子量的精确测定。AlPc 基质可用于更多小分子样品的分析，见表 3。

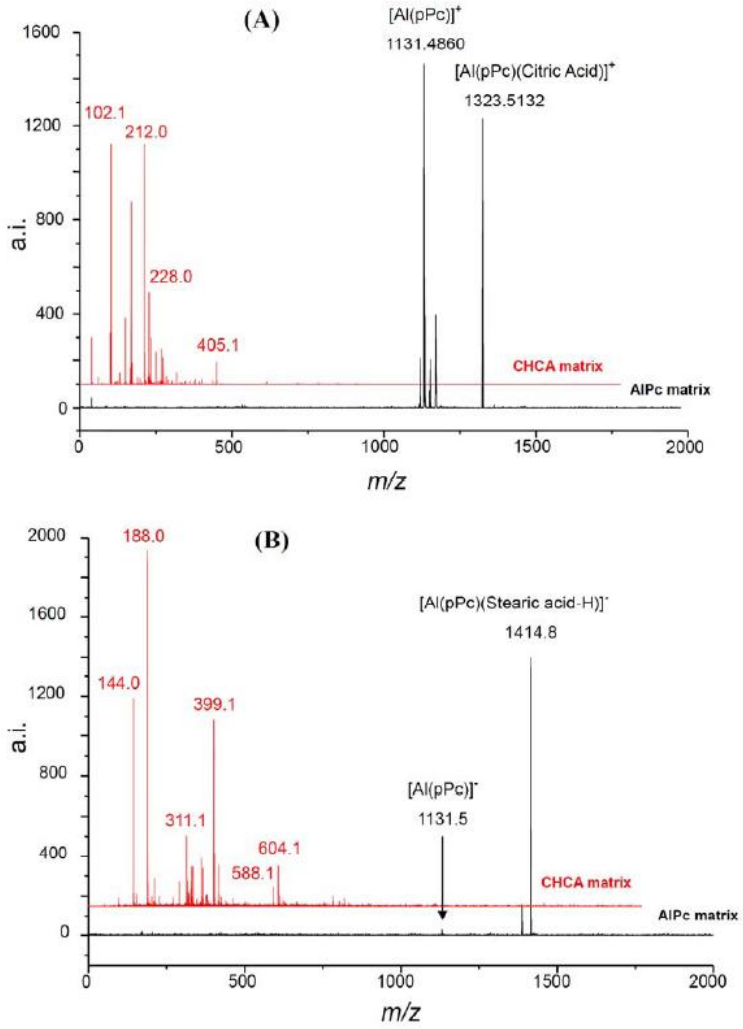


图 5 使用铝酞箐基质与 CHCA 基质的对比（A）在正离子模式下分析柠檬酸（B）在负离子模式下分析硬脂酸

表 3 使用铝酞箐作基质时 MALDI 分析结果，使用正离子模式，分析物/基质摩尔比为 5:1

样品 HA	分子式	$M_{[Al(pPc)\cdot HA]}$ [a]	M_{HA}[b]	M'_{HA}[c]	误差/ppm
α-cyano-4-hydroxycinnmaic acid	$C_{10}H_7NO_3$	1320.5295	189.0435	189.0426	5
2, 5-dihydroxy benzoic acid	$C_7H_6O_4$	1285.5131	154.0271	154.0266	3
salicylic acid	$C_7H_6O_3$	1269.5170	138.0310	138.0317	-5

citric acid	$C_6H_8O_7$	1323.5132	192.0272	192.0270	1
gibberellic acid	$C_{19}H_{22}O_6$	1477.6291	346.1431	346.1416	4
1,2,3,4-tetrahydro-9 -acridano-ne	$C_{13}H_{13}NO$	1330.5847	199.0987	199.0997	-5

[a] $M_{[Al(pPc)•HA]}$ = mass of $[Al(pPc)•HA]^+$.

[b] $M_{HA} = M_{[Al(pPc)•HA]} - M_{[Al(pPc)]} = M_{[Al(pPc)•HA]}$ -1131.4860.

[c] M'_{HA} = theoretical mass of HA.

在负离子模式下(图 5 B)，使用传统基质 CHCA 分析硬脂酸，能看到很强的与基质相关的离子：188.0 ($[M-H]^-$)，399.1 ($[2M-2H+Na]^-$)，但是，使用铝酞箐 AlPc 基质，硬脂酸以 $[Al(pPc)(stearic\ acid - H)]^-$ 离子的形式检测到。此时也能观察到$[Al(pPc)]^-$，但是信号很弱。该方法能用于分析赤霉酸（GA_3），还可以分析氨基酸、小肽、脂肪酸、黄酮等小分子样品，见表 4。

表 4 使用铝酞箐作基质时 MALDI 分析结果，使用负离子模式，分析物/基质摩尔比为 5:1

样品 HA	分子式	$M_{[Al(pPc)•A]}$ [a]	M_{HA} [b]	M'_{HA} [c]
α-cyano-4-hydroxycinnmaic acid	$C_{10}H_7NO_3$	1319.5	189.0	189.0
2, 5-dihydroxy benzoic acid	C_7H_6O	1284.5	154.0	154.0
salicylic acid	$C_7H_6O_3$	1268.5	138.0	138.0
citric acid	$C_6H_8O_7$	1322.5	192.0	192.0
Vitamin C	$C_6H_8O_6$	1306.5	176.0	176.0
Vitamin pp	$C_6H_5NO_2$	1253.5	123.0	123.0
gibberellic acid	$C_{19}H_{22}O_6$	1476.6	346.1	346.1
cholic acid	$C_{24}H_{40}O_5$	1538.8	408.3	408.3
Phe	$C_9H_{11}NO_2$	1295.6	165.1	165.1
Lys	$C_6H_{14}N_2O_2$	1276.6	146.1	146.1

Cys	$C_3H_7NO_2S$	1251.5	121.0	121.0
Phe-Phe	$C_{18}H_{20}N_2O_3$	1442.6	312.1	312.1
Asp-Phe	$C_{13}H_{16}N_2O_5$	1410.6	280.1	280.1
luteolin	$C_{15}H_{10}O_6$	1416.5	286.0	286.0
quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	1432.5	302.0	302.0
palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	1386.7	256.2	256.2
stearic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	1414.8	284.3	284.3
样品 HA	**分子式**	**$M_{[Al(pPc)\bullet A]}$ [a]**	**M_{HA}[b]**	**M'_{HA}[c]**
4,4'-(3,6-diethynyl-9H-fluorene-9, 9-diyl) diphenol	$C_{29}H_{18}O_2$	1528.6	398.1	398.1
4-*tert*-butylphenol	$C_{10}H_{14}O$	1280.6	150.1	150.1
2-methyl-1,3,4,10-trtrahydro-9(2 H)-acridinone	$C_{14}H_{15}NO$	1343.6	213.1	213.1
1,2,3,4-tetrahydro-9-acridanone	$C_{13}H_{13}NO$	1329.6	199.1	199.1
norharmane	$C_{11}H_8N_2$	1298.6	168.1	168.1

[a] $M_{[Al(pPc)\bullet A]}$ = mass of $[Al(pPc)\bullet A]^-$.

[b] $M_{HA} = M_{[Al(pPc)\bullet A]} - M_{[Al(pPc)]} + M_H = M_{[Al(pPc)\bullet A]} - 1131.5 + 1.0 = M_{[Al(pPc)\bullet A]} - 1130.5$.

[c] M'_{HA} = theoretical mass of HA.

2. 5 样品分子量的计算

在新方法中，所看到的质谱峰不是样品本身的分子离子峰，而是加合物的峰，样品的分子量只要简单的计算就能得到。正离子模式下(图 5 A)，样品的分子量为：$[M(Pc)\bullet HA]^+ - [M(Pc)]^+$。在负离子模式下(图 5 B)，样品以$[M(Pc)\bullet A]^-$形式出现，这时的样品分子量应该等于$[M(Pc)\bullet A]^- - [M(Pc)]^- + [H]$。

2. 6 影响灵敏度的重要因素

在这种方法中，样品与基质的比例、 M(Pc)的取代基和中心离子以及样品 pKa 会影响加合物的形成，进而影响质谱信号强度。

基质与样品发生加合作用，因此二者的摩尔比范围比较窄，通常为 10:1 - 1:10，当大于 10:1 的时候，正离子模式下金属酞箐化合物$[MPc]^+$本身的峰强度太高，就很难检测到络合物的峰；当小于 1:10 的时候，大量的样品结晶会妨碍激光能量的有效吸收和目标络合物的解吸和电离。

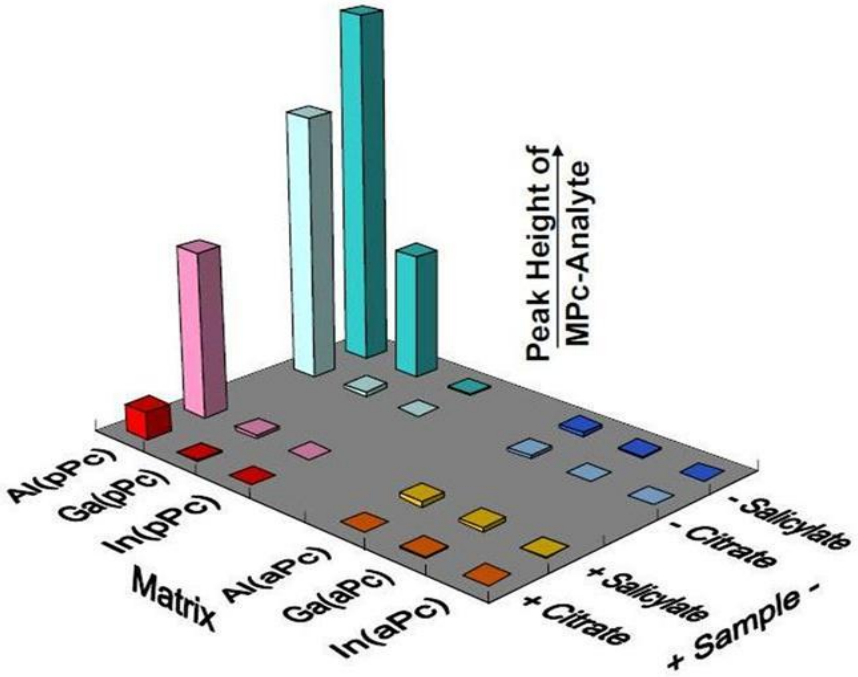


图 6 使用 M(pPc)和 M(aPc)做基质分析水杨酸和柠檬酸的结果比较，峰高使用 h/NP 均一化（h: 测得的峰高，N: 累加次数，P: 激光强度）

酞箐环上的取代基也会影响质谱信号强度，从图 6 可以看到，芳香取代的金属酞箐 M(pPc)比烷基取代的金属酞箐 M(aPc)产生信号强。相对于取代基而言，酞箐的中心金属离子对质谱信号有更大的影响。Sn^{4+}、Ti^{4+} 等高价金属离子或Zn^{2+}、Mg^{2+}等较低价金属离子，都不能产生理想的质谱信号，只有第三主族的Al^{3+}、Ga^{3+} 、In^{3+}等离子才能产生较好的加合物信号。从信号强度看（图 6），它们的优选顺序是 $Al^{3+} >> Ga^{3+} > In^{3+}$，这和它们形成络合物的能力相一致。因为 Al、Ga、In 的价电子结构分别为 $3s^23p^1$、 $3d^{10}4s^24p^1$、$4d^{10}5s^25p^1$，轨道杂化以后可以形成 3、4、6 配位化合物。事实上，它们可能与酞箐环的四个配位氮原子形成了四面体配位结构，当与有配位能力的小分子样品相遇时，可能会全部或部分转变成八面体配位结构（图 7 所示），从而出现了观测到的质谱峰。图 7 A 表示

的是金属酞箐和样品分子之间可能发生的反应。图 7 B 表示的是八面体配位 [MPc•A•HA] 结构和最可能的离子化路线。

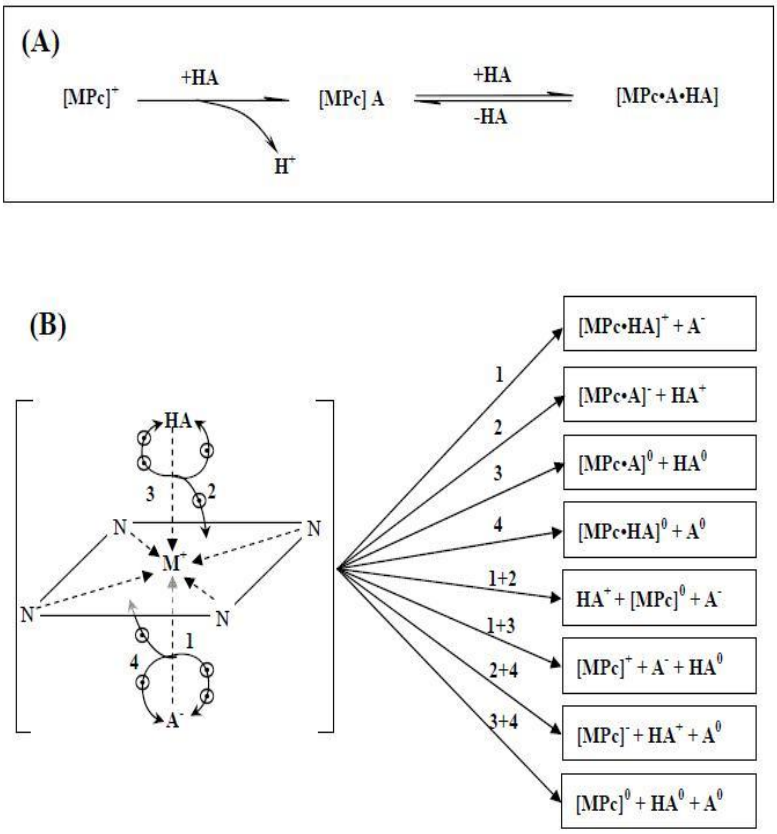


图 7 (A) 金属酞箐和样品分子之间可能发生的反应；(B) 八面体配位[MPc•A•HA]最可能的离子化路线

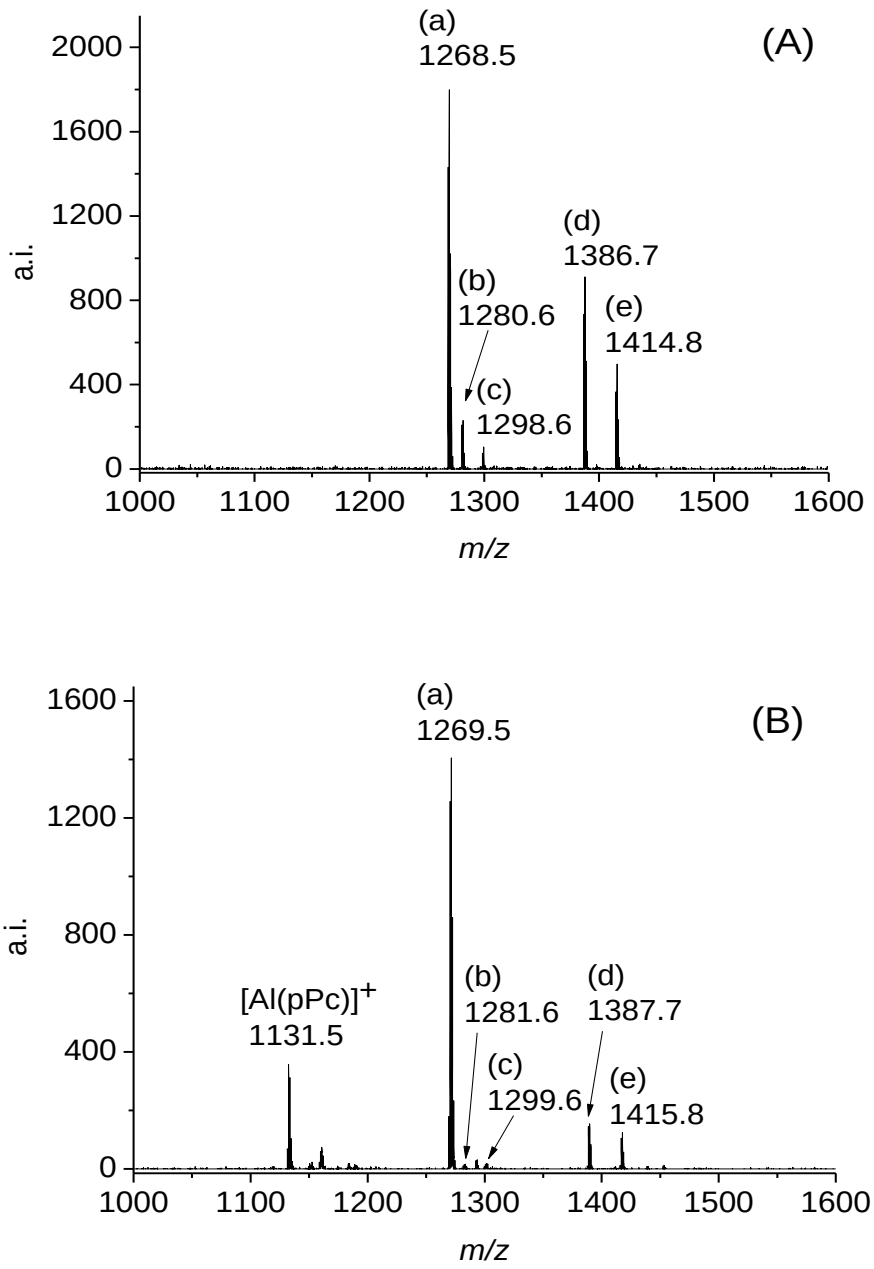


图 8 混合物样品的 MALDI 谱图使用铝酞菁作基质(A)正离子模式下 (B)负离子模式下，各个峰对应：(a) 水杨酸 (pKa=2.97) (b) 4-叔丁基苯酚 (pKa=10.39) (c) 咔啉 (pKa=14.9) (d) 棕榈酸 (pKa=9.7) (e) 硬脂酸 (pKa=10.15) (f) 吲哚 (pKa=16.2, 未检测到)

除了基质本身，样品的 pK_a 值也会影响质谱信号。检测了六种不同 pKa 的等摩尔的混合物，结果见图 8，谱图没有吲哚的目标离子峰，说明它可能没有与基质发生加合作用。从图中可以看到，目标信号随着样品酸性的增强（pK_a 值减小）

而增强，这表明在基质－样品络合物形成中，静电作用很重要。

由于质谱信号强度受到上述很多因素的影响，新方法的灵敏度也会随基质与样品的不同而有所变化，使用铝酞箐基质 Al(pPc)分析 CHCA (pK_a =1.2) 的检测限为 17fmol。

测试技术及技巧

电子衍射分析及晶体生长方向判定

▶ 关波 窦海啸

（分析测试中心电镜组 Tel: 010-62588935 Email：guanbo@iccas.ac.cn）

电子衍射基础

1.1 布拉格定律

晶体内部的质点是有规则的排列，由于这种组织结构的规则性，电子的弹性散射波可在一定方向相互加强，除此以外的方向则减弱，

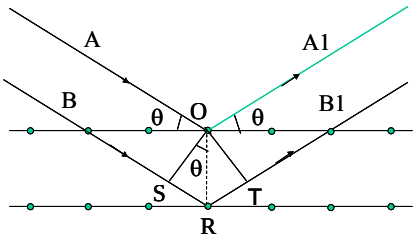


图 1 晶体对电子的散射

这样就产生一束或几束电子衍射波。晶体内包含着许多族晶面的堆垛，在每一族晶面的每一个晶面上，质点都按同样的规律排列且这族晶面的堆垛间距是一个恒定的距离，称之为晶面间距d_{hkl}。

当一束平面单色波照射到晶体上时，各族晶面与电子束成不同的角度，电子束在晶面上的衍射角为θ，将上述特征入射束标记为A、B，其散射束标记$A1$、$B1$，当第一层晶面的反射束$OA1$与透射束在第二层晶面反射束$RB1$间的光程差$\delta = SR + RT$，晶面间距为d，则$\delta = 2d\sin\theta$ 按波的理论证明，两支散射束相干加强的条件为波程差是波长的整数倍，即：

$$2d\sin\theta = n\lambda$$

这就是布拉格定律(Bragg's Law)，其中n 为整数，晶面间距d 代表晶体的特征，λ 为电子波长，代表入射电子束的特征，θ 为衍射角，代表入射束与d 代表的晶面间的几何关系。布拉格定律规定了一个晶体产生衍射的几何条件，它是分

析电子衍射谱的几何关系的基础。只要晶面间距d_{hkl} 和它对入束的取向θ 满足布拉格定律，可以同时产生衍射：

$$2\,(d/n)\sin\theta = \lambda$$

据晶面指数的定义，晶面间距小了n 倍就相当于晶面指数大了n 倍：

$$2\,d_{nh,nk,nl}\sin\theta = \lambda$$

n 为晶面的(hkl)衍射级数，因此，以上公式是把晶面(hkl)的n 级衍射换成晶面(nh,nk,nl)的一级衍射，nh,nk,nl 是干涉面的指数。因此，经简化后的布拉格定律公式可以不写n，即：

$$2d\sin\theta = \lambda$$

由以上公式可以估算产生布拉格衍射的衍射角θ ，通常透射电镜的加速电压为100~200kV，即电子束的波长为10^{-3}nm量级，常见晶体的晶面间距为10^{-1}nm数量级，由上式可得衍射角$\theta = 10^{-2}$ rad<10 °，这表明**能产生布拉格衍射的晶面几乎平行于入射电子束**。

1.2 Ewald作图法及电子衍射的几何关系

将布拉格定律改为$\sin\theta = (1/d) / (1/\lambda)$，这样电子束($\lambda$)、晶体(d)及其取向关系可用一个三角形AGO表示，如图2所示，其中，

g为垂直于晶面(hkl)的倒易矢量，$|g| = OG = 1/d_{hkl}$

$$AO=2/\lambda \ ,\ \angle OAG= \theta$$

以中心点O_1为中心，$1/\lambda$ 为半径作球，则A,O,G都在球面上，这个球称为Ewald球如图2。

AO表示电子入射方向，它照射到位于O_1处的晶体上，一部分透射过去，一部分使晶面(hkl)在O_1G方向上发生衍射。Ewald球是布拉格定律的图解，能直观地显示晶体产生衍射的几何关系。

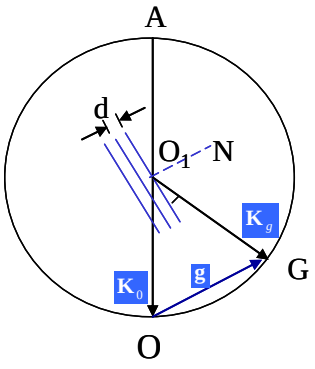


图 2． Ewald 作图法

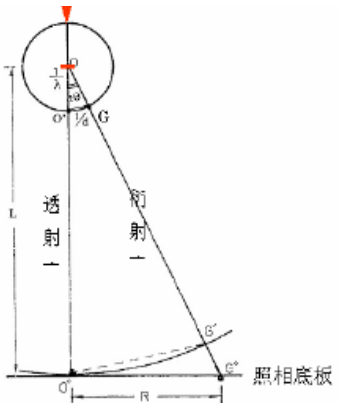


图 3 电子衍射的几何关系

在透射电镜中，我们在离样品L处的荧光屏记录相应的衍射斑点G”，O”是荧光屏上的透射斑点，照相底片或CCD相机上中心斑点到某衍射斑（G’ ’）的距离R为：

$$R=L\ \tan\ 2\theta$$

考虑到能满足布拉格定律的角度θ很小，故$\tan 2\theta = 2\theta$，再由布拉格定律$2d\sin\theta = \lambda$，可得：

$$\boldsymbol{Rd = L\lambda}$$

式中，d是满足布拉格定律的晶面面间距。入射电子束的波长λ和样品到照相底片的距离L是由衍射条件确定的，在恒定实验条件下，$L\lambda$是一个常数，称为相机常数(camera length)。此式是利用电子衍射谱进行结构分析的基础，在分析晶体衍射花样时，一般$L\lambda$是已知的，从衍射谱上可量出R值，然后算出晶面间距d，同时可以结合衍射谱算出的晶面夹角，确定晶体的结构。

电镜中使用的电子波长很短，即Ewald球的半径$1/\lambda$ 很大，Ewald球面与晶体的倒易点阵的相截面可视为一平面，成反射面，所以电子衍射花样实际上是晶体的倒易点阵与Ewald球面相截部分在荧光屏上的投影，即**晶体的电子衍射谱是一个二维倒易平面的放大，相机常数$L\lambda$相当于放大倍数**。

1.3 晶带定律及晶带轴

晶带定义：许多晶面族同时与一个晶体学方向[uvw]平行时，这些晶面族总称为一个晶带，而这个晶体学方向[uvw]称为晶带轴。

因为属于同一晶带的晶面族都平行于晶带轴方向，故其倒易矢量均垂直于晶带轴，构成一个与晶带轴方向正交的二维倒易点阵平面$(uvw)^*$。若晶带轴用正空间矢量 $\boldsymbol{r} = u\boldsymbol{a}+v\boldsymbol{b}+w\boldsymbol{c}$ 表示，晶面(hkl)用倒易矢量 $\boldsymbol{G}_{hkl} = h\boldsymbol{a}^*+k\boldsymbol{b}^*+l\boldsymbol{c}^*$表示，由晶带定义 $\boldsymbol{r}\perp\boldsymbol{G}$ 及 $\boldsymbol{r}\bullet\boldsymbol{G}=0$ 得：

$$hu+kv+lw = 0$$

该式即为电子衍射谱分析中常用的晶带定律（Weiss zone law）。

$(uvw)^*$为与正空间中[uvw]方向正交的倒易面。$(uvw)^*\perp$[uvw]，属于[uvw]晶带的晶面族的倒易点 hkl 均在一个过倒易原点的二维倒易点阵平面$(uvw)^*$上。如(h_1,k_1,l_1)，(h_2,k_2,l_2)是[uvw]晶带的两个晶面族，则由晶带定律可得：

$$h_1u+k_1v+l_1w = 0,$$

$$h_2u+k_2v+l_2w = 0$$

可解出晶带轴方向[*uvw*]如下：

$$u = \begin{vmatrix} k1 & l1 \\ k2 & l2 \end{vmatrix}, \quad v = \begin{vmatrix} l1 & h1 \\ l2 & h2 \end{vmatrix}, \quad w = \begin{vmatrix} h1 & k1 \\ h2 & k2 \end{vmatrix}$$

由以上可以看出，正空间的一个晶面族(*hkl*)可用倒空间的一个倒易点 *hkl* 来表示，正空间的一个晶带[*uvw*]可用倒空间的一个倒易面$(uvw)^*$来表示，对应关系如图 4 所示，这大大地方便了电子衍射谱的分析。

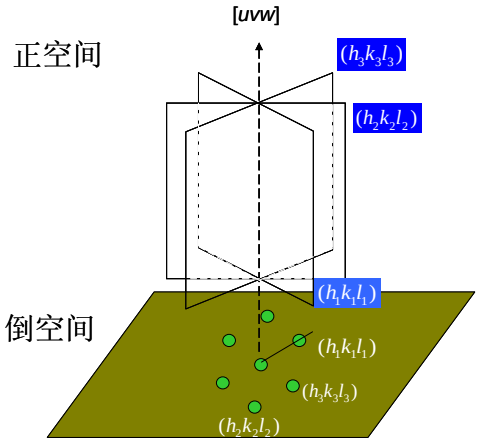


图 4 晶带正空间与倒空间对应关系图

2. 不同类型的晶体的电子衍射花样

根据晶体的类型及结构不同，可产生不同的电子衍射花样，常见的有以下几种：

单晶：单晶的、电子衍射谱的特点是具有一定对称性的衍射斑点，中心的亮点是透射斑点，对应 000 衍射，越靠近 000 斑点的衍射斑点的 *hkl* 指数越小，越远离 000 斑点的衍射斑点的 hkl 指数越大，如图 5a 所示。

多晶：完全无序的多晶可以看成是一个单晶围绕一点在三维空间作 4π 球面角旋转，因此多晶体的 *hkl* 倒易点是以倒易原点为中心，(*hkl*)晶面间距的倒数为半径的倒易球面。此球面与 Ewald 球相截于一个圆，所以能产生衍射的斑点扩展成圆环，因此多晶的典型衍射谱是一个个的同心环，如图 5b 所示。环越细，表示多晶体的晶粒越大，环越粗，多晶体的晶粒越小。

微晶/纳晶：当晶体的晶粒在微米/纳米级时，用选区光阑套住一部分晶粒得到的衍射图如图 5c 所示，由于各晶粒的取向不同，所以会出现类似单晶的一系

列衍射斑点，同时，由于各晶粒含有相同晶面间距的晶面，所以这些衍射斑点呈同心圆分布。

孪晶：孪晶从晶体学上可以看成是以某一晶面（孪生面）为对称面的两个或多个晶体，由于几何学的对称性，电子衍射谱上同时出现基体和孪晶部分的两套电子衍射花样，其特征是衍射斑有两套，有伴生点存在，而且一些斑点分数位置，就很可能是孪晶关系的存在。如图5d所示，为孪晶的高分辨及电子衍射图。

非晶：非晶的电子衍射谱一般由几个同心的晕环(diffused ring)组成，每个晕环的边界很模糊，如图5e所示。

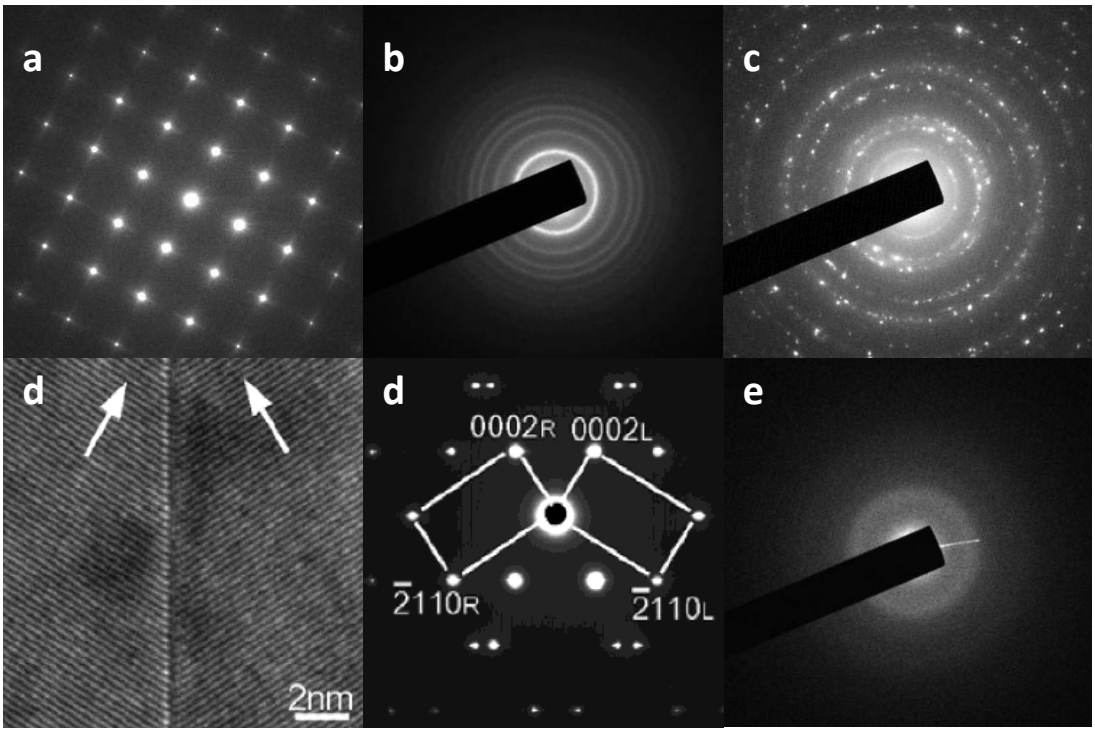
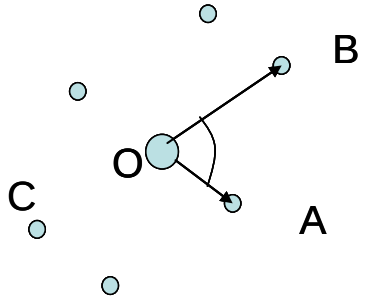


图 5. 不同晶型晶体的电子衍射图

3. 电子衍射的标定方法

3.1 单晶电子衍射花样的标定

对于电子衍射的标定主要是确定晶面指数及晶带轴，标定方法有多种，如平行四边形法、R^2 比值法、标准图谱对比法、a/d 及夹角查表法等，有普适性的是平行四边形法和标准谱图对比法，具体步骤如下：



平行四边形法

1.选择衍射斑 A, B，使 OA 和 OB 为最短和次短长度(可通过量 BC 或者更多的 R 求平均值以减小

误差)，并测量 OA 与 OB 的夹角；

2. 求 A、B 衍射斑对应的面间距 d_1 和 d_2，与物样标准数据(PDF 卡片或有机晶体数据库)比较，找出与 d_1, d_2 相吻合的面指数系列$\{hkl\}_1$和$\{hkl\}_2$；

3.在$\{hkl\}_1$中，任选$(h_1k_1l_1)$为 A 点指数，从$\{hkl\}_2$中试探计算确定 B 点指数$(h_2k_2l_2)$，根据晶型查询公式，计算夹角值与实测值相符；

4.按矢量叠加原理，标定其它衍射斑指数，并求出晶带轴指数$[uvw]= (h_1k_1l_1) \times (h_2k_2l_2)$，右手螺旋法则判定方向；

5.若有高分辨照片，可选取晶面量取 d 值，尽量取多一些晶面层以减少误差，与标准数据对应得到晶面指数，与电子衍射花样标定结果可进一步确认。

标准谱图法：

若已知样品的晶型，通过衍射谱计算 OA 与 OB 的比值及其夹角，与“常见晶体的标准电子衍射花样”对比，即可标定出各晶面指数。

图 6 是用平行四边形法标定的样品的电子衍射花样，可以看出与高分辨结果相符，进一步确认了标定无误。**注意，**现代的电镜一般都装有 CCD 相机，电子衍射谱也已经经过标定，**标尺是 1/nm，计算晶面间距时，测量并根据标尺计算出“R”值，直接取倒数即使晶面间距 d**。

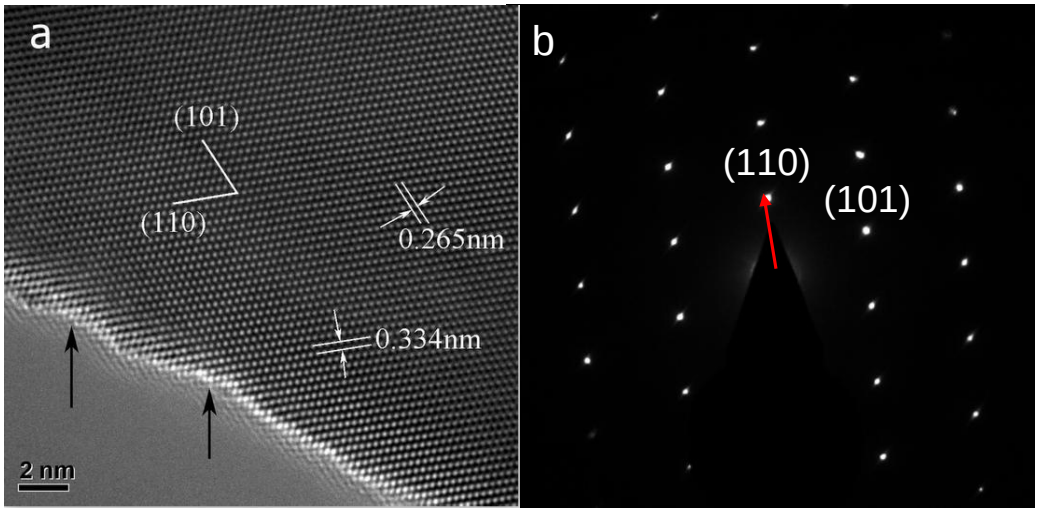


图 6 某金属氧化物的高分辨图像及电子衍射图

3.2 多晶电子衍射花样的标定

一般情况下多晶电子衍射花分析，较单晶简单，可以由d 值与标准库比较法去标定，也可以由衍射环R^2的比值来确定：若R^2比为简单整数比则可初步确定为立方晶系，若R^2比不为整数比，可基本确定为非立方晶系，初步确定后，再按六方及四方及其它晶系的R^2比的规律逐一排除最后确定分析样品中有关相的晶结构。各晶系R^2的比值规律如下：

三种立方晶系可能为：

简单立方为：1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16…，没有7, 15, 23…

体心立方为：2, 4, 6, 8, 10, 12…没有奇数，$h + k + l =$ 偶数

面心立方为：3, 4, 8, 11, 12, 16, 19, 20…, h, k, l为全奇全偶数

对四方点阵可能为：

1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 13, 16, 17

对六角（三角晶系）可能为：

1, 3, 4, 7, 9, 12, 13, 16, 19, …

其中, 3, 7 是六角晶系的低指特征，当出现 3 时，又不属于立方晶系，可以按六角晶系求解。

以上电子衍射标定方法是对于简单电子衍射谱的标定，是基本的标定方法，复杂的如孪晶、高阶劳厄带的标定要在基本方法的基础上进行更为复杂的计算。

3. 晶体生长方向的判定

在研究晶体结构时，很多情况下需要判断其生长方向，尤其是纳米线、纳米带等，由于晶体的电子衍射谱是一个二维倒易平面的放大，而透射电镜又能拍摄形貌，分别相当于倒易空间像与正空间像，所以根据倒易空间与正空间的关系可以判断晶体的生长方向，这是电子衍射一个特别的应用。具体的方法是：

首先拍摄形貌像，再在同一位置做电子衍射并进行标定，将形貌像与电子衍射花样对照，找出沿着一维长轴方向的晶面，此晶面为优势生长面，根据晶面指数标定生长方向。**注意，由晶面指数到生长方向的转换，实际是倒空间指数和正空间的指数转换，需要乘以转换矩阵，各晶系的转换矩阵见附表，对于立方晶系来说，晶面指数即是生长方向指数，而对于其他晶系则不是，需要进行计算，即：**

$$\begin{bmatrix} u \\ v \\ w \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \vec{a}^* \cdot \vec{a}^* & \vec{a}^* \cdot \vec{b}^* & \vec{a}^* \cdot \vec{c}^* \\ \vec{b}^* \cdot \vec{a}^* & \vec{b}^* \cdot \vec{b}^* & \vec{b}^* \cdot \vec{c}^* \\ \vec{c}^* \cdot \vec{a}^* & \vec{c}^* \cdot \vec{b}^* & \vec{c}^* \cdot \vec{c}^* \end{bmatrix} \begin{bmatrix} h \\ k \\ l \end{bmatrix}$$

图 7 是对一维纳米线的生长方向进行的判断，首先标出与纳米线平行的晶面的指数，确定优势生长面是(0-11)面，由于该物质是四方晶系，查附表四方晶系的转换矩阵，将(0-11)面转换为生长方向[0-12]。

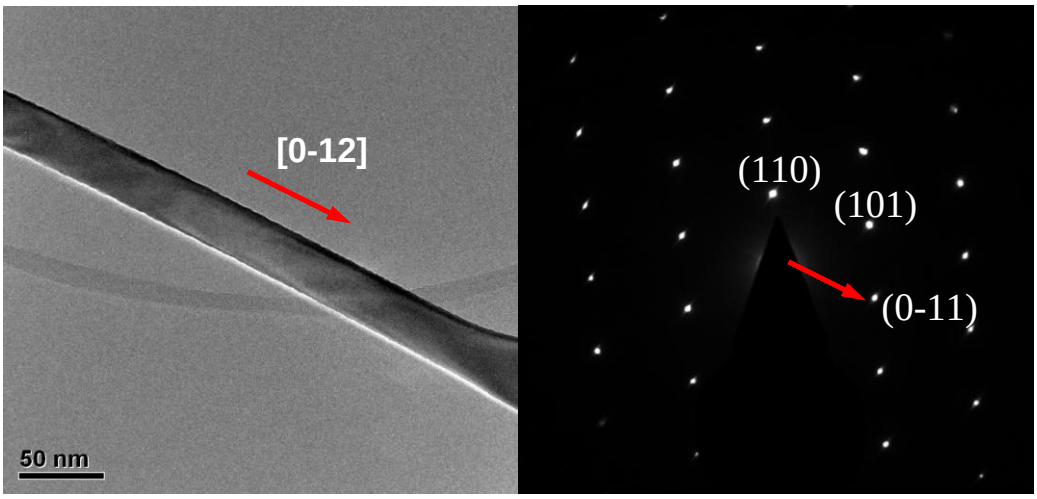
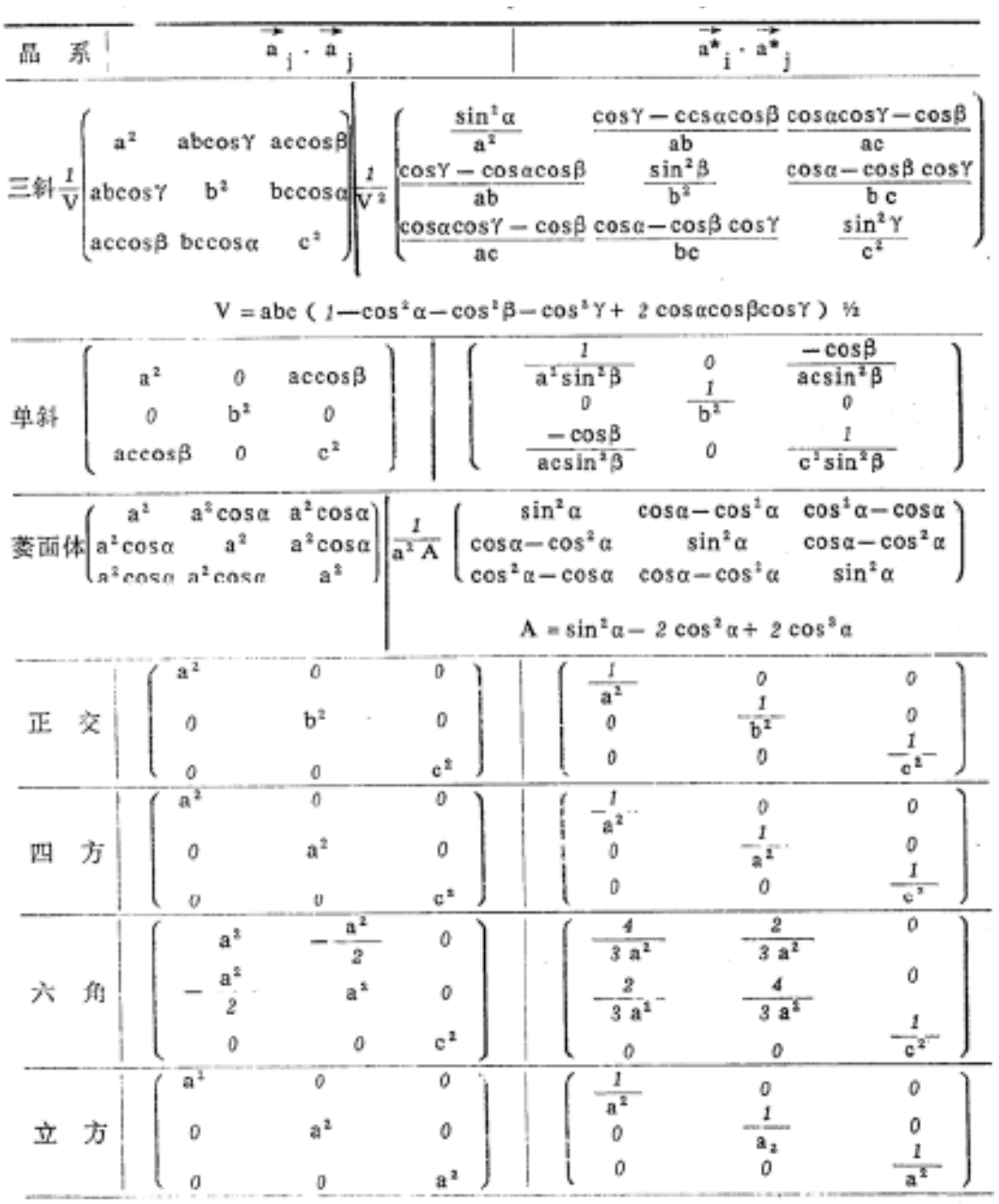


图 7 某金属氧化物一维纳米线的透射电镜及电子衍射图

附表　七大晶系正/倒空间和倒/正空间指数转换矩阵



主要参考文献:

1. 刘文西，黄孝瑛，陈玉如，材料结构的电子显微分析，天津大学出版社，1989.

2. 郭可信，叶恒强，吴玉琨，电子衍射图在晶体学中的应用，科学出版社，1983.

3. 章晓中，电子显微分析，清华大学出版社，2006.

4.Yong Ding , Zhong Lin Wang, Structure Analysis of Nanowires and Nanobelts by Transmission Electron Microscopy, *J. Phys. Chem. B* 2004, *108*, 12280-12291.

双阳极 XPS 粉末样品压片制样步骤

► 刘芬

(分析测试中心光电子能谱组 Tel: 010-62553516 Email: xps@iccas.ac.cn)

一、 样品要求

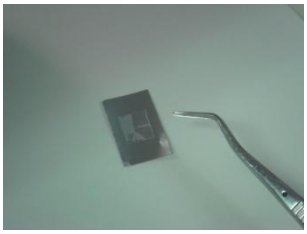
1. 样品用量:～10mg
2. 样品要充分干燥
3. 粉末尽量研细
4. 样品无磁性，无腐蚀性

二、粉末样品压片具体操作步骤

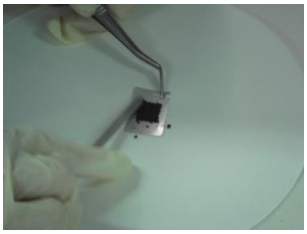
1. 准备干净的铝箔（＞1 cm×1cm），用丙酮将其表面擦拭干净。



2. 剪～1 cm×1cm 的双面胶带贴在铝箔中心位置。



3. 将样品铺在双面胶带上，并用干净的不锈钢取样勺将粉末均匀铺满整个胶带，尽量薄。



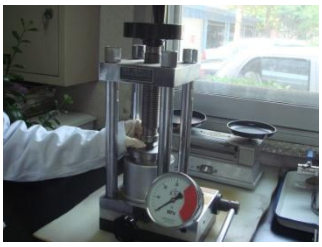
4. 取另一片用丙酮擦拭干净的铝箔覆盖住样品。



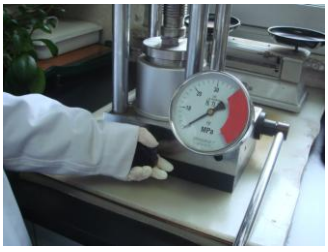
5. 将铝箔+样品放置于两块平整的不锈钢模块中间，准备压片。

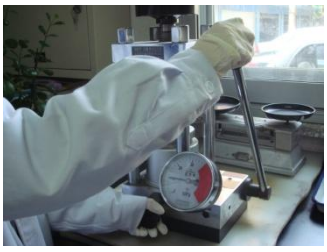


6.将不锈钢模块+样品放置在压片机的平台上，左手固定住不锈钢块以免其移动，右手顺时针将压柱旋下压紧模块（压机上方）。

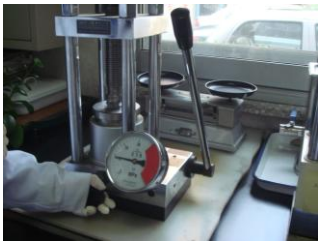


7.顺时针旋紧放油旋钮(压机前方旋钮)，拉动右侧压杆，将压力升至约 10MPa，保持十几秒。



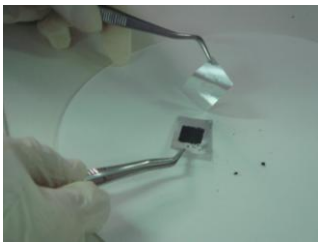
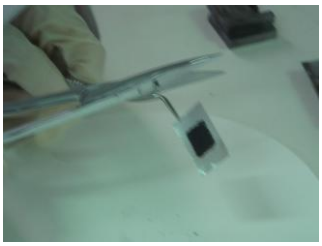


8.卸压时先逆时针旋松放油旋钮，再逆时针将压柱旋松，从压片机上取下不锈钢模块+样品。

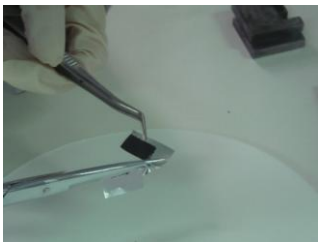
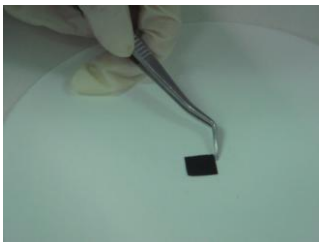




9．将覆盖住样品的铝箔去掉，轻轻磕一下粘有样品的铝箔，磕掉表面残余的粉末。

10．沿压制好的样品四周剪去铝箔，制成～1 cm×1cm 的压片样品，待测 XPS。

红外制样方法

► 徐媛

(分析测试中心光谱组 Tel: 010-62566250 Email：xuyuan@iccas.ac.cn)

固体颗粒样品

（1）压片法：把固体样品的细粉均匀分散在碱金属卤化物中并压成透明薄片。一般用溴化钾做基底，将 1-2mg 试样与 200mg 纯 KBr 研细均匀，置于模具中，用(5-10)x10^7Pa 压力在油压机上压成透明薄片，即可用于测定。样品和 KBr 都应经干燥处理，研磨粒度小于 2 微米，以免散射光影响。

（2）粉末法：把固体样品研磨成 2μm 以下的粉末，悬浮于易挥发溶剂中，然后将此悬浮液滴于金属卤化物窗片上铺平，待溶剂挥发后形成均匀的粉末薄层。

（3）调糊法：大多数固体检材都可以使用调糊法测定它们的红外光谱，尤其是含有羟基的检材采用此法特别合适。因为压片法中溴化钾易吸水，干扰羟基的鉴定。首先在玛瑙研钵中将样品研成粉末，然后滴入几滴悬浮剂，研磨成均匀的糊状，最后涂在金属卤化物窗片上成一薄层进行测定。常用的悬浮剂是石蜡。

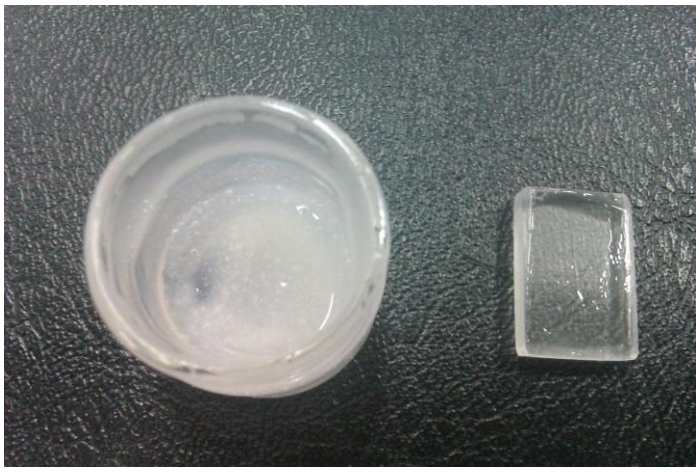
其中最常用的是压片法，但此法常因样品浓度不合适或因片子不透明等问题需要一再返工。

液体样品

（1）液膜法：在可拆液体池两片窗片之间滴上 1-2 滴液体样品，使之形成一薄的液膜（由于实验室没有液体池，此法不适用）；

（2）薄膜法：取适量的液体样品均匀涂于窗片上，然后将另一块窗片盖上，稍加压力，来回推移，使之形成一层均匀无气泡的液膜。此法所使用的窗片是由整块透明的溴化钾（或氯化钠）晶体制成，制作困难，价格昂贵，稍微使用不当就容易破裂，长期使用也会被样品中微量水分慢慢侵蚀，寿命有限。

（3）涂膜法：取适量的液体均匀涂于窗片上，若峰强度较低可以采用反复涂抹的方法增加样品量，若峰强度较高可用刀片轻刮来减少样品量。此法较薄膜法操作简便，但只适用于粘度较大的液体样品。



液体红外制样-涂膜法

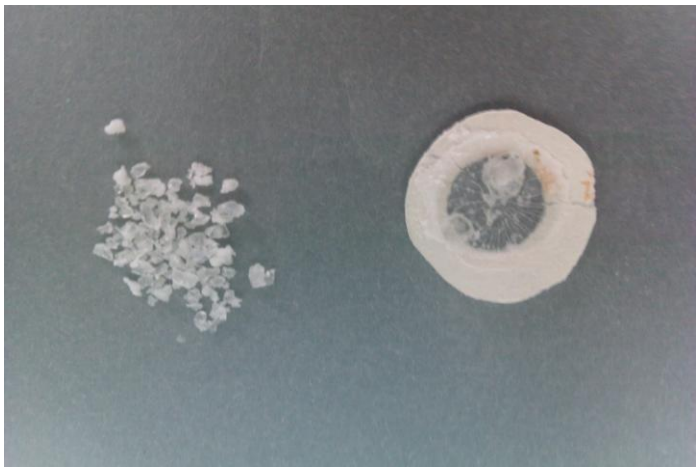
聚合物样品

(1)浇铸薄膜法，是在一定条件下将聚合物溶解于适当的溶剂中，然后将样品溶液滴在适当的载体上，挥发掉溶剂，将膜取下，制得样品膜。这是一种最常用的制样技术，但此法揭膜困难，而且还可能由于铸膜引起分子取向和晶形的改变。若是在盐窗上成膜，虽可直接用于测定，但盐窗比较昂贵，稍微使用不当就容易破裂，因此该法较少使用。

(2) 热压薄膜法：将样品放在模具中加热到软化点以上或熔融后再加压力压成厚度合适的薄膜。由于此法要求在一定的热压装置和较高的温度条件下进行，在制样过程种，某些聚合物会因受热而氧化，或者在加压时产生定向，从而使光谱发生某些变化。

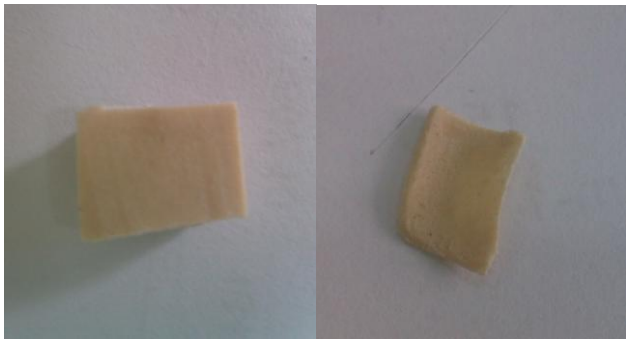
(3) KBr 压片法：将高聚物样品研细或者剪细后与 KBr 粉末混研，待样品与 KBr

混合均匀，装入模具内放在油压机上加压，使其成为透明的薄片。但多数高聚物难于直接研成很细的粉末，因此难于制作成透明的 KBr 薄片，所得红外谱图效果不佳。



聚合物红外制样-压片法

(4) 切片法：适用于不能采用溶解、熔融或加压等手段改变其物理状态的高聚物样品。此法关键是要掌握切削技巧，选择正确的切削条件，尽量使切削面平整光滑。



聚合物红外制样-切削法

其它方法如溶液法、悬浮法在聚合物鉴定中很少使用。

仪器及功能介绍

冷冻制样及扫描电镜传输系统（Cryo-SEM）功能介绍

► 关波

(分析测试中心电镜组 Tel: 010-62588935 Email: guanbo@iccas.ac.cn)

高压冷冻制样及扫描电镜冷冻传输系统计划配置于扫描电镜 S-4300，可实现从制样到观察整个过程在冷冻状态下进行，从而可观察液体、半液体、生命材料及对电子束敏感的样品（如溶胶、高分子材料等）。应用新购置的高压冷冻仪、冷冻喷涂仪、冷冻传输杆及冷台进行低温扫描电镜样品制备及观测过程如下：

高压冷冻 ⇨ 冷冻断裂/喷涂 ⇨ 真空冷冻传输 ⇨ Cryo SEM



Leica EM HPM 100
High Pressure Freezing

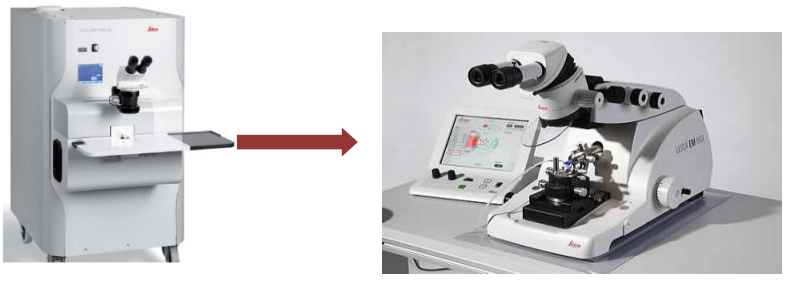
Leica EM SCD 500
High Vac Sputter Coater

Leica EM VCT100
Vacuum Cryo Transfer

Cryo Stage in SEM

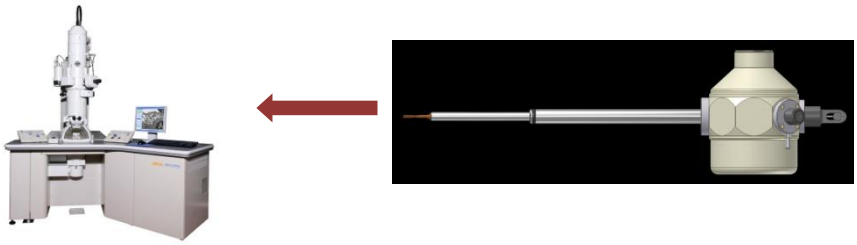
图 1 低温扫描电镜样品制备及观测流程

同时，高压冷冻仪可与现有的超薄切片机及冷冻样品杆配合，进行低温透射电镜观察，流程如下：



高压冷冻仪

超薄切片机



透射电镜　　冷冻样品杆

图 2　透射电镜低温样品制备及观测流程

一、仪器功能及应用实例

常规的低温实验是采用液氮冷冻样品后，进行电镜观察，这种制样方法存在一个很大的问题，即在制样过程中会产生大量冰晶，破坏样品的原始结构。而利用高压冷冻方法制备样品，能够彻底解决由冰晶造成的假相结构，可使含水样品保留最佳的超结构，不会由于形成冰晶体而变形。Leica EM HPM 100 高压冷冻仪在 2100bar 的高压下进行冷冻，由水的相图（见下图）可以看出在 2100bar 下水处于无定形态，另外，水的比热容很大，热传导性差，样品越厚冷冻速率越低，而 HPM 100 高压冷冻仪的表面冷冻速率为 80,000 K /s，制备的样品中水的玻璃态厚度可达 200μm。

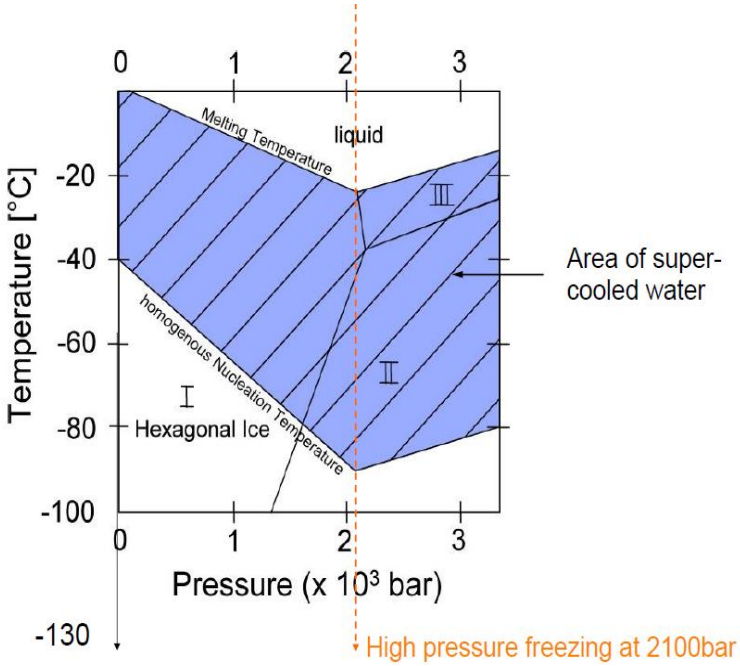


图 3　水的相图

EM VCT100 冷冻传输杆可将高压冷冻后的样品在冷冻的条件下传输到 EM SCD 500 镀膜仪上，然后在冷冻和真空的状态下断裂后，进行导电层喷涂，之后通过冷冻传输杆直接将样品送入扫描电镜的冷台上，进行扫描电镜观察，在观察过程中，冷台通过金属铜带保持冷冻状态。

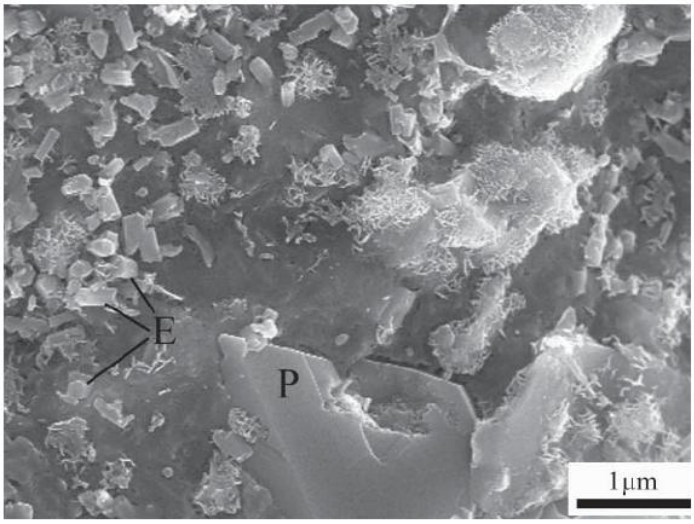


图 4 Cryo-SEM image of a high pressure frozen, freeze fractured cement suspension.

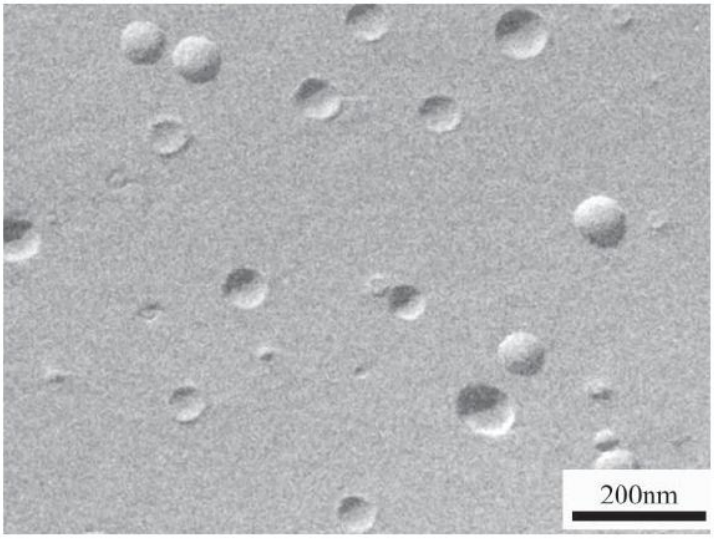


图 5 Cryo-SEM image of a high pressure frozen, freeze fractured liposome suspension.

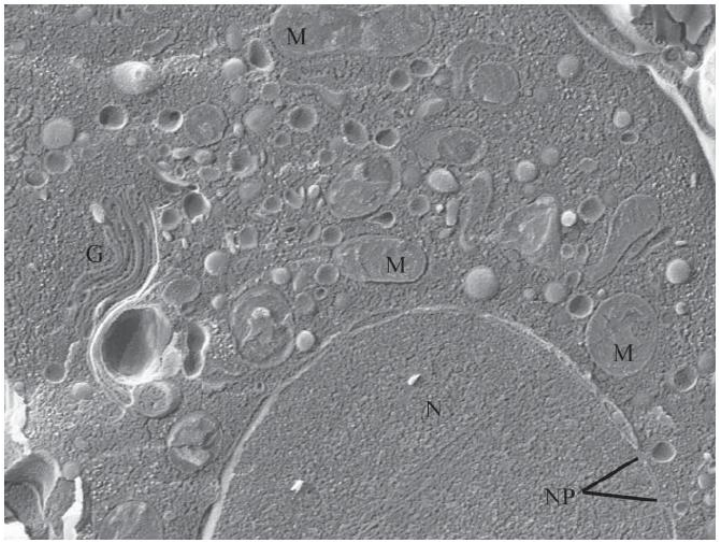


图 6 Cryo-SEM image of high pressure frozen, freeze fractured mouse intestine biopsy. M-Mitochondria, N- Nucleus, N-Nucleopores, G-Golgi, PM-Plasma membrane.

二、仪器特点

1. EM HPM 100 高压冷冻仪

- 2100Ba r 高压下工作

  水保持玻璃态，无冰晶产生；

  较好保持样品形。

- 隔热处理室

  样品表面冷却速率 80,000K/s；

  低液氮消耗；

  有效冷冻厚度达 200μm。

- 通用样品台

  操作简单；

  可冷冻直径达 6mm 的样品。

- 快速样品处理系统

  样品装载时间小于 3 秒。

- 控制面板

  一体化触摸屏设计，冷冻完成后波形图显示压强/温度曲线，数据可通过 USB 导出。

2. EM SCD 500 镀膜仪及 EM VCT100 冷冻传输系统

- 安装后在冷冻状态下能保持电镜的原始分辨率

- 独立制备与分析

镀膜仪真空镀膜后保持真空状态转移到 SEM，在制备与分析之间是无污染样品转移，对 SEM 不会造成污染，且在制备过程中全效利用 SEM，提高分析效率。

- 采用金属铜固体传冷，避免液氮振动

对 SEM 的机械及电子干扰最小化，确保电镜原始分辨率。

- 冷冻镀膜部分

具有氩气冲洗功能。

内置有高电压蚀刻/清洁功能。

带有预溅射遮挡，用于清除可能残留的靶材氧化物。

具有膜厚监控器，可精确控制膜厚，可根据设定的镀膜厚度/镀膜时间反控主机，适用于高分辨扫描电镜观察。

无油真空系统：真空度小于 $8x10^{-5}$mbar，采用涡轮分子泵、无油隔膜泵，无二次污染。

触摸屏控制面板（用于控制冷台、EM VCT100 与预抽室）。

- 冷冻传输装置

样品杆高真空、磁控耦合操纵 （无漏气风险）；

自动气动真空阀；

带有小型液氮罐及冷冻保护。

- 冷冻样品台

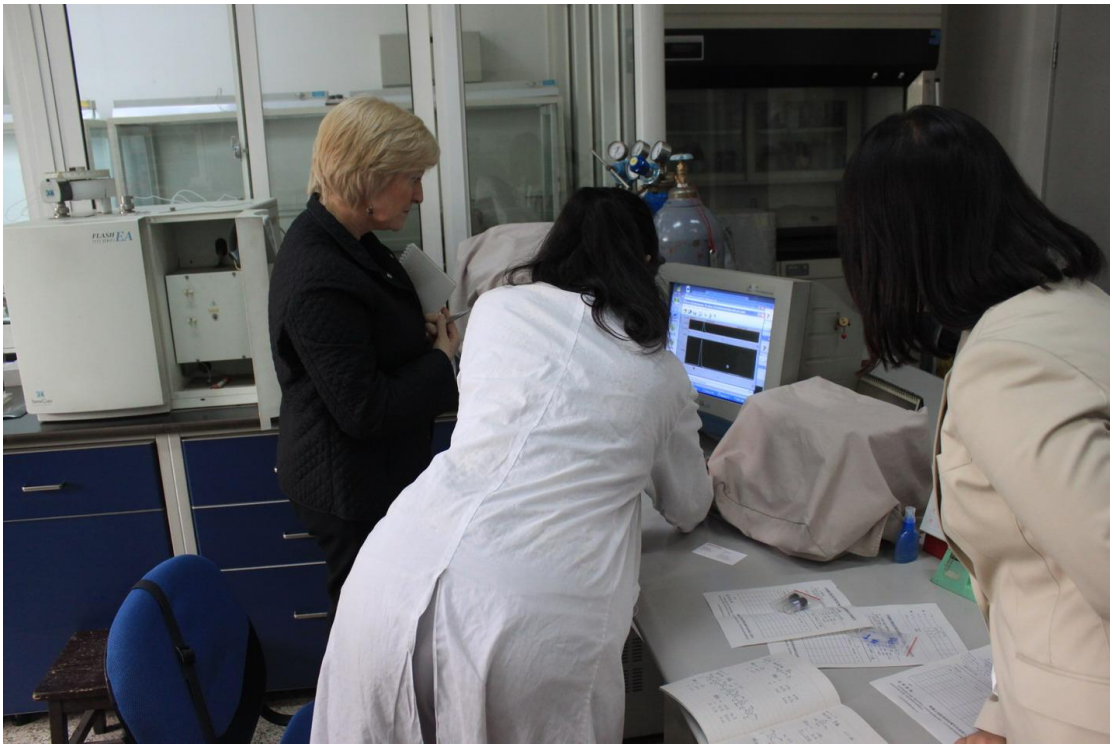
样品台温度范围为-150℃-+60℃，温度可调；

带有预抽室，LN_2 杜瓦瓶，样品室中冷冻保护装置。

分析测试中心动态

Thermo Fisher 公司工程师访问元素分析实验室

2012 年 4 月 26 日，Thermo Fisher 公司 Liliana Krotz 工程师参观访问了化学所分析测试中心的元素分析实验室——此次到访的唯一中方客户。Liliana Krotz 工程师多年从事元素分析仪的研发和应用研究。元素分析组的工作人员和来访者对仪器使用中的一些问题进行了探讨，并深入地了解了新型元素分析仪的功能、特点。



分析测试中心 3 个机组将搬新址

分析测试中心的光电子能谱组、X 射线衍射组、光谱组将搬入新楼 1 层实验室。届时新购买的 X 射线衍射仪、光电子能谱仪在完成安装、调试、验收后，就可以进行测试服务。这将大大地缓解测试机时紧张，提升对科研的支撑力度。另外，因搬新址的过程带来的不便，请您谅解！

《分析测试中心通讯》征稿启事

《分析测试中心通讯》由分析测试中心主办，以促进测试技术的应用为理念，提供深度的科研支撑为宗旨，设置了评述、典型应用案例、测试技术及技巧、数据处理技巧、仪器的功能介绍和分析测试中心动态等栏目。为了进一步提升《分析测试中心通讯》的水平和作用，现向广大读者征稿，欢迎您的来稿，分享科研中的点滴！

联系人：丁丽萍 电话：010-62566250 邮箱：npns@iccas.ac.cn

主编：唐亚林

编委：（按姓氏笔画排序）

关　波　向俊锋　刘　芬　刘美蓉　宗文杰　郝　项　熊少祥

编务：丁丽萍