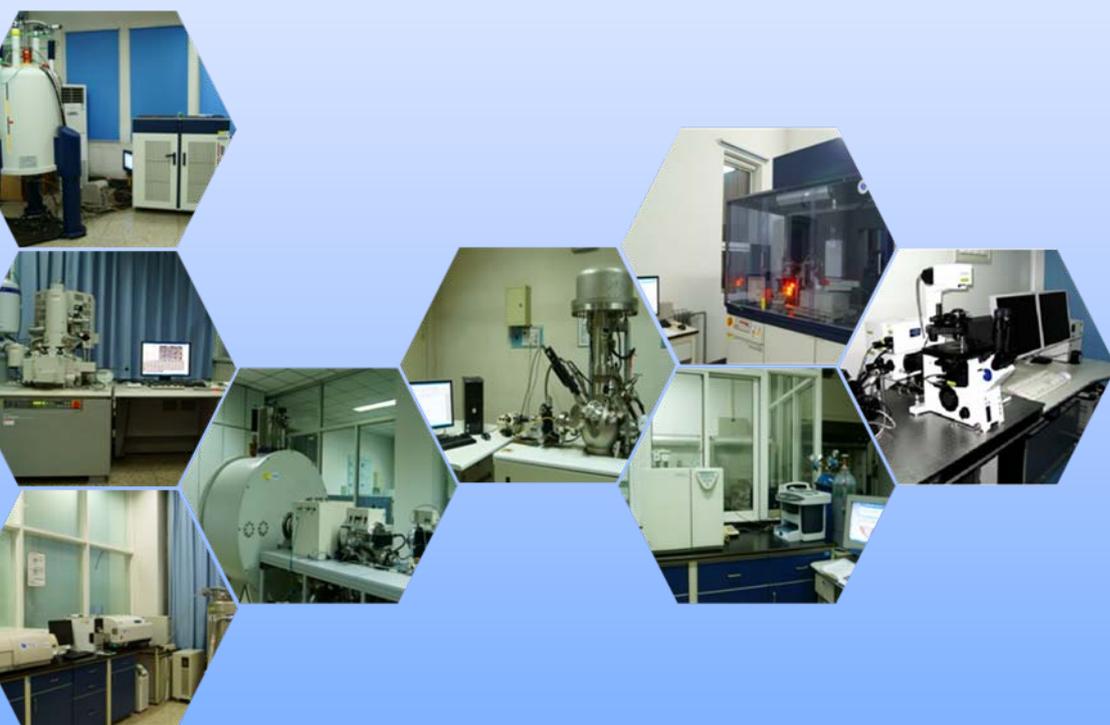




中国科学院化学研究所  
INSTITUTE OF CHEMISTRY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

# 分析测试中心通讯

第9期



分析测试中心 主办  
2019年1月25日

# 目 录

## 评述

实验室 X-射线衍射仪光源介绍 .....	1
质谱在蛋白组学中的应用 .....	4

## 新技术应用

硬 X 射线光电子能谱 ( HAXPES ) 技术与应用 .....	10
------------------------------------	----

## 典型应用案例

FIB-SEM 技术在维纳米级单颗粒三维重构中的应用 .....	16
----------------------------------	----

## 测试技术与技巧

荧光数据的可靠性分析 .....	20
高质量单晶样品的挑选与判断 .....	23
电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)对易挥发元素 Se 的定量方法 .....	27
杂核扩散序谱技术及应用 .....	31
制备高质量液体核磁样品--核磁制样三要素 .....	35

## 仪器及功能介绍

气质联用仪原理以及在绿色碳科学中的应用 .....	43
---------------------------	----

## 分析测试中心动态

《分析测试中心通讯》征稿启事 .....	52
----------------------	----

## 分析测试中心论坛动态

北京大学孙俊良教授作化学所分析测试中心论坛报告 .....	52
-------------------------------	----

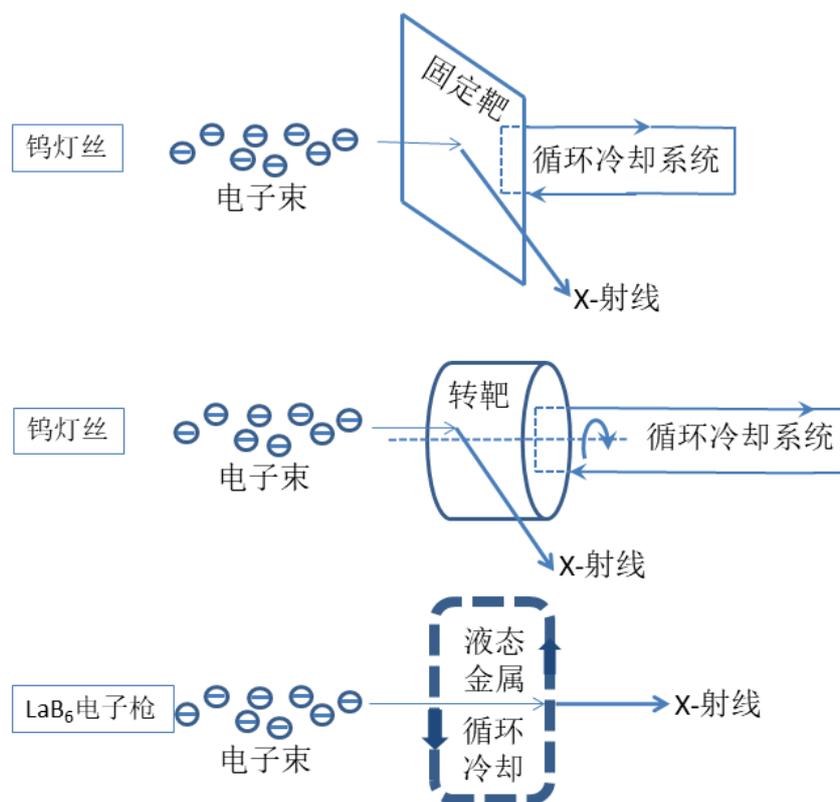


## 实验室 X-射线衍射仪光源介绍

► 郝项

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

实验室 X-射线衍射仪的光源有 3 种类型，分别为固定靶、转靶和液态金属靶（见图 1）。固定靶按照电子束的聚焦类型，分为常规固定靶和微聚焦固定靶；转靶按照电子束的聚焦类型，分为常规转靶、细聚焦转靶和微聚焦转靶。其中，常规固定靶、常规转靶和细聚焦转靶属于比较老的技术，微聚焦固定靶和微聚焦转靶相对较新，大约有 10 年的历史，液态金属靶是近几年出现的新技术。

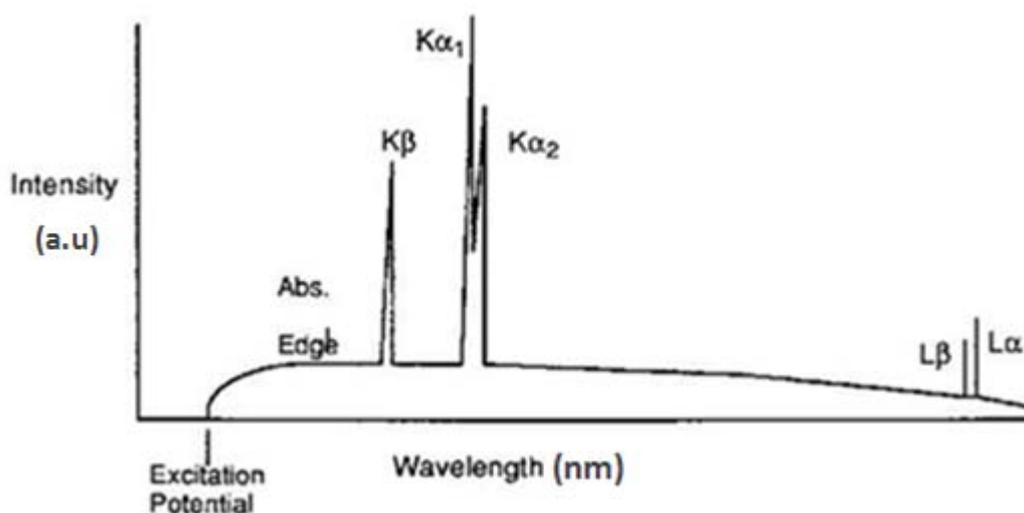


● 图 1. 实验室常见 3 种 X-射线光源示意图。

所谓常规固定靶或常规转靶，就是电子束的聚焦比较“粗”些，即电子打在靶上的面积较大，靶加载的功率高，单位面积产生的 X-射线通量低，属于高功耗型光源。微聚焦固定靶/转靶，包括液态金属靶，则是将电子束聚焦到靶上很小的面积，比如日本理学公司的 MM007HF 型微聚焦转靶的电子聚焦尺寸只有

700 $\mu\text{m} \times 70\mu\text{m}$ ，靶加载的功率低，单位面积产生的 X-射线通量高，属于低功耗型光源，因此微聚焦光源受到用户的普遍欢迎。从用户的角度看，大家普遍关心光源的出射光强度，排序如下，液态金属靶>微聚焦转靶>微聚焦固定靶。从维护的角度看，上述顺序的维护成本依次递减，购置价格也递减。作为主流产品的微聚焦固定靶和微聚焦转靶，德国布鲁克和日本理学都有自己的产品。液态金属靶属于新技术，生产商是瑞典的 Excillum 公司，德国布鲁克和日本理学也都能将其整合到各自的衍射仪上。

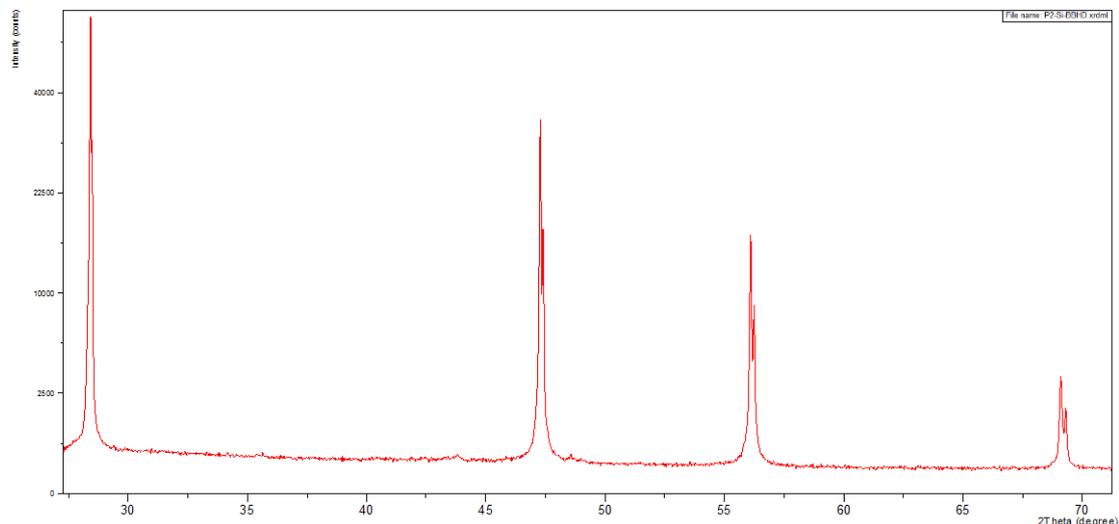
固定靶、转靶和液态金属靶的共同点是都采用热阴极技术，即阴极发射的热电子轰击到金属靶上，靶的内层电子被击出，外层电子跃迁到内层，从而发射特征 X-射线。这种技术的缺点是金属靶的发热是不可避免的，因此金属靶的制冷，稳定靶的温度，避免温度波动导致靶发生机械变形非常关键。



● 图 2. 采用热电子轰击金属靶产生的 X-射线谱。

固定靶、转靶和液态金属靶的另一个共同点是产生的 X-射线通常有很宽的波段范围（见图 2），但是目前的常见衍射实验都要求入射光具有单一波段，因此还需要配备单色器，从而得到强度和单色性都比较好的  $K\alpha$  纯 X-射线。目前的单色器都是兼顾光的纯度和强度，因此出射光既有  $K\alpha_1$  光，又有  $K\alpha_2$  光，以铜靶光源为例， $K\alpha_1$  和  $K\alpha_2$  光的波长分别为 1.54051 和 1.54433 $\text{\AA}$ ，能量差只有大约 20eV，一般不易分开。这样本来应该是单个衍射点/峰的信号都裂分为双点/双峰，在高角度尤其明显（见图 3），这个后果就是降低了图谱的空间分辨率。为了进

一步提高分辨率，可以采用更复杂的单色器将  $K\alpha_2$  光滤掉，只获得  $K\alpha_1$  光，但是强度将损失 30% 以上。



● 图 3. 多晶 Si 的 X-射线衍射图谱， $K\alpha_1$  和  $K\alpha_2$  的裂分在高角度明显。

对于微聚焦固定靶，由于金属靶固定不动，因此可以加载的功率最低，出射光强也最弱，对散热要求也最低，德国布鲁克采用风冷技术，而日本理学采用内置或外置循环水设备实现冷却。近期的一个进展是，德国布鲁克采用“金刚石导热+风冷”技术对金属靶制冷，由于制冷效率提高了，金属靶上可以加载更高的功率，因此使得出射 X-射线的强度有效提升。

相对于微聚焦固定靶而言，微聚焦转靶可以加载更高的功率，是因为靶做高速旋转运动，有效增大被电子轰击的面积，从而更有效地散热，出射 X-射线的强度高于微聚焦固定靶。德国布鲁克和日本理学都有各自的产品，日本理学的 MM007HF 型号微聚焦转靶在中国市场的占有率较高。

从靶的材料看，微聚焦固定靶和转靶都有钨和铜 2 种金属可以选择，排列组合成 4 种类型，即钨固定靶、铜固定靶、钨转靶和铜转靶。钨固定靶和转靶产生的 X-射线波长是  $0.71 \text{ \AA}$ ，铜靶是  $1.54 \text{ \AA}$ ，由于波长增长会引发 X-射线更强的吸收，因此铜靶更适合有机类型样品，而钨靶则通用性好，对于样品中含有大量重金属的测试，钨靶是最佳选择。另外，由于长波长可以提高空间分辨率，因此对于大晶胞/长晶轴的样品，由于衍射点过于密集，因此铜靶更合适，这也是大分子/蛋白晶体衍射仪一般配备铜靶的原因。如果同时对两种靶材都有需求，仪器公司还可以提供双靶仪器，靶的切换很方便，但是双靶不能同时使用。一般常

见的双靶仪器以微聚焦固定靶为主，日本理学还可以提供双微聚焦转靶。双靶仪器的价格高于单靶仪器。

液态金属靶作为目前实验室里最强的 X-射线光源，还只是刚刚开始，用户群非常小，口碑尚未建立，因此不好评价。需要注意以下几点。第一，靶材料的选取受到低熔点的限制，因此目前可选的为镓和铟，相应的 X-射线波长分别为 1.34 Å 和 0.51 Å，前者与铜靶类似，适合有机样品，而后者对于矿物比较合适，或者研究电荷密度等，对于化学类晶体，液态铟靶并不合适；第二，金属液体在真空腔体中的挥发问题不能忽视，可能会带来维护上的麻烦；第三，常见的阴极一般是经济实惠的钨灯丝，而液态金属靶则采用价格较高的 LaB<sub>6</sub> 电子枪，因此维护成本会增加；第四，液态金属靶的出射 X-射线光斑一般被聚焦到 100μm 以下，这对于仪器的整体稳定性，包括聚焦镜的稳定性和调整维护，以及测角仪的共心性都提出了更高的要求。

## 质谱在蛋白组学中的应用

► 韩娟娟

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

蛋白质是生物体行使其功能的基本单位，而蛋白质组学是在蛋白质的整体水平上对生物体进行研究，运用蛋白质分离、鉴定技术和生物信息学技术研究蛋白质组，可以分析细胞内蛋白质组成、表达水平与修饰状态的动态变化，揭示蛋白质功能与细胞生命活动规律。作为21世纪的核心学科之一，蛋白质组学及其研究技术得到了迅猛发展。目前蛋白质组研究采用的主要技术是双向凝胶电泳和质谱法，质谱和双向电泳技术的结合是现代蛋白质组学研究的基础。

### 一、蛋白质组学概述

蛋白质是生命存在和运动的物质基础，是细胞增殖、分化、衰老和凋亡等重大生命活动的执行者，亦是基因功能活动的最终执行者，是生命现象复杂性和多变性的直接体现者。1994年，澳大利亚的Wilkin和Williams等第一次提出了蛋白质组（proteome）概念，指由一个基因组，或一个细胞、组织所表达的全部蛋白

质。蛋白质组学（Proteomics）以蛋白质组为研究对象，分析细胞内动态变化的蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态，了解蛋白质间相互作用与联系，在整体水平上研究蛋白质的组成与调控的活动规律。蛋白质组研究是为了识别及鉴定一个细胞或组织所表达的全部蛋白质以及它们的表达模式，是对基因组研究的重要补充，是对生物体在蛋白质水平上定量、动态、整体性的研究。蛋白质组研究数据与基因组数据的整合，将在后基因组研究中发挥重要作用。

蛋白质组学就是从整体角度分析细胞内动态变化的蛋白质组成、表达水平与修饰状态，了解蛋白质之间的相互作用与联系，提示蛋白质的功能与细胞的活动规律。

## 二、蛋白质组学的分类

根据研究目的的不同，可将蛋白质组学分为表达蛋白质组学、功能蛋白质组学、转录后加工蛋白质组学、结构蛋白质组学。

表达蛋白质组学研究差异样品间蛋白表达量的变化，因此可以用表达蛋白质组学对整体或局部的蛋白表达情况进行比较、分析。利用这种方法找到的信息可以鉴定信号转导中的特殊蛋白，还可以鉴定与疾病有关的蛋白等。

功能蛋白质组学是一个宽泛的术语，包含许多详细的、直接的蛋白质组学方法。有时为了进一步的分析，还需要使用亲和层析技术对特异性亚蛋白组进行纯化。功能蛋白质组学的方法可以更好地分析、阐明被选择的蛋白组分的特征与功能，还可以提供关于蛋白质信号、疾病机制或蛋白类药物相互作用的重要信息。

结构蛋白质组学的目的是描绘出蛋白质复合体的结构图，亦或描绘出存在于特殊细胞器上的蛋白图谱（又被称为细胞图谱）。结构蛋白质组学试图鉴定出一个蛋白复合物或一个细胞器的所有蛋白，测定它们的位置、特性，研究蛋白质间的相互作用。例如对核孔复合体的研究。特异性地分离亚细胞器或蛋白复合物，可以很大程度地简化蛋白质组学分析。结构蛋白质组学所得到的信息可以帮助我们很好地理解细胞的整体结构，并且有助于解释某一特定蛋白的表达对细胞产生的特定作用。

## 三、生物质谱技术

基因工程的发展扩展了我们关于有机体DNA序列的认识，但是仍有许多新识别的基因的功能还不知道，也不知道基因产物是如何相互作用从而产生生活的有

机体的。功能基因组试图通过大规模实验方法来回答这些问题。但由于仅从DNA序列尚不能回答某基因的表达时间、表达量、蛋白质翻译后加工和修饰的情况、以及它们的亚细胞分布等等，因此在整体水平上研究蛋白质表达及其功能变得日益显得重要。这些在基因组中不能解决的问题可望在蛋白质组研究中找到答案。蛋白质组研究的数据与基因组数据的整合，将会在后基因组研究中发挥重要作用。

目前蛋白质组研究采用的主要技术是双向凝胶电泳和质谱方法。双向凝胶电泳的基本原理是蛋白质首先根据其等电点，第一向在pH梯度胶内等电聚焦，然后转90度按他们的分子量大小进行第二向的SDS-PAGE分离。质谱在90年代得到了长足的发展，蛋白质组学又为生物质谱提供了一个大舞台，质谱和双向电泳技术的结合是现代蛋白质组学研究的基础。

1906年，Thomson发明了质谱，在随后的几十年里，质谱技术逐渐发展成为研究、分析和鉴定生物大分子的前沿方法。质谱技术的原理是先将样品离子化，再根据不同离子间的荷质比 ( $m/z$ ) 差异来分离蛋白质，并确定其分子量。到20世纪80年代，因软电离质谱技术——基质辅助激光解析电离质谱技术 (matrix assisted laser desorption ionization, MALDI) 和电喷雾质谱技术 (electro-spray ionization mass spectrometry, ESI) 的发明，使得质谱技术取得了突破性进展。这两种质谱技术具有高灵敏度、高通量和高质量的检测范围等特点，使得在pmol ( $10^{-12}$ ) 乃至fmol ( $10^{-15}$ ) 的水平上准确分析高达几万到几十万的生物大分子成为可能。

基质辅助激光解吸电离技术是将待测样品与基质混合，样品均匀的分散在基质中并形成结晶，激光作用于混合有样品的晶体，化学基质吸收光子被激活，激活产生的能量作用于多肽，样品由固态转变成气态。通常与TOF质量分析器联用分析肽段的精确质量，适合分析简单的多肽混合物。

电喷雾质谱技术是在色谱毛细管出口处施加的电压能产生高电场，使流出的样品雾化成细小的带电液滴，细小液滴进一步去溶剂后实现离子化，形成大量带一个电荷或多个电荷的离子，使分析物以气相形式进入质量检测器。由于ESI源产生的为多电荷离子，使质荷比降低，大大扩展了分子量的分析范围。ESI源已应用到很多串联质谱中，如三四级杆 (triple-quadropole) 质谱、四级杆-飞行

时间 (QTOF) 质谱、离子阱 (ion-trap) 质谱、Orbitrap 高分辨质谱等, 通过碰撞诱导解离 (collision-induced dissociation, CID) 获取肽段的碎片信息。由于 ESI 使分析物从溶液相中电离, 适合与液相分离手段 (如液相色谱和毛细管电泳) 联用, 这种系统具有高峰容量、高灵敏度、分析速度快、易于实现自动化等优点。通过肽质量指纹谱 (peptide mass fingerprinting)、肽序列标签 (peptide sequence tag) 和肽阶梯序列 (peptide ladder sequence) 等方法, 结合蛋白质数据库检索, 可实现对蛋白质的快速鉴定和高通量筛选, 还可应用于定量蛋白质组分析、蛋白质翻译后修饰 (如糖基化、磷酸化) 及蛋白质相互作用等研究领域。但是质谱法还存在固有的局限, 如不能区分 Leu、Ile、Lys 和 Gln, 不能测定某些多肽的固有序列, 无法区分带电荷相同的同分异构体等。

软电离技术的出现大大拓展了质谱的应用空间, 而质量分析器的改善也大大推动了质谱仪器技术的发展。对于生物质谱来说, 最重要的性能是灵敏度、分辨率、质量精度和串级质谱能力。生物质谱的质量分析器主要有四种: 离子阱 (ion trap, IT)、飞行时间 (TOF)、四极杆 (quadrupole)、傅里叶变换离子回旋共振 (Fourier transform ion cyclotron resonance, FTICR) 和超高分辨的静电场轨道阱 (Orbitrap)。它们的结构和性能各不相同, 每一种都有自己的长处与不足。它们可以单独使用, 也可以互相组合形成功能更强大的仪器。离子阱和 Orbitrap 质谱灵敏度较高, 超高分辨率和高质量精确度性能稳定, 具备多级质谱能力, 可以在一次分析中对数千个完整蛋白的分子进行质量测定和定量得到单个肽段的精确质量, 结合其他一些易得的限制条件, 即可通过数据库搜索鉴定蛋白, 因此被广泛应用于蛋白质组学研究。

#### 四、应用质谱技术的蛋白质鉴定

质谱能清楚地鉴定蛋白质并准确测量肽和蛋白质的相对分子质量、氨基酸序列及翻译后的修饰, 因灵敏度高、速度快、易自动化, 已成为蛋白质组研究中主要的蛋白质鉴定技术。目前利用质谱的蛋白质鉴定主要有两种策略: 一种是基于凝胶电泳系统的自上而下 (top-down) 的策略, 对凝胶电泳分离后的蛋白质胶内酶解, 然后进行质谱鉴定; 另一种是自下而上 (bottom-up) 的鸟枪法, 即蛋白质复杂混合物不经电泳分离, 而是先将其酶解为肽段混合物, 然后经色谱分离, 再进入串联质谱进行肽段分析, 最后根据质谱图从检索出蛋白质。两种方法都能实现高

通量分析,但由于鸟枪法能在更短的时间内获得大量的质谱鉴定结果,在蛋白质组学研究中被广泛应用。鸟枪法产生的质谱数据量非常大,数据分析的复杂性和难度也随之增加,因此它的缺陷也显而易见,例如数据库搜索算法的局限性,较高的假阳性率,使得这种方法在蛋白质鉴定的质量控制方面问题显得十分突出。

#### 4.1 基于数据库检索的蛋白质鉴定

一种是肽质量指纹谱法(Peptide Mass Fingerprint, PMF),即蛋白质被特异性的酶解或化学水解的方法切成多肽片段混合物,通过质谱检测混合物中各多肽的分子量,得到具有特征性的多肽分子量实际图谱,然后在一定的误差允许范围内与数据库中蛋白质的理论酶切结果比对,将比对到的结果实行打分排序,实现待测蛋白质的鉴定。每种蛋白质的肽质量指纹图谱(PMF)都具有很好的特征性,但样品前处理中残留的杂质、蛋白质翻译后可变修饰会引起多肽离子质量迁移、多肽的可离子化程度不一致,导致图谱复杂难以解析,严重影响检索比对结果,应用受到一定限制。另一种方法是肽段碎片离子鉴定法(Peptide Fragments Identification, PFF),是将特定的多肽片段打碎,通过分析相邻的同类型峰质量差确定肽段的相应氨基酸残基。分析这种鉴定法产生的图谱时,需要结合母离子峰来解析。理想上肽段断裂时能产生各种带一个电荷的离子,可以比较简单的推出目标肽段上的氨基酸序列;但实际上肽段断裂不充分、中性丢失、肽段类型不单一、杂质等因素会让实际的质谱图更加复杂,给多肽序列的确定带来不利。

#### 4.2 基于质谱的定量蛋白质组学

在整体水平上研究蛋白质表达和修饰后的动态变化,对系统理解蛋白质的功能具有十分重要的意义。以质谱为基础的定量蛋白质组学,主要可以分成两类,第一种是稳定同位素标记的定量蛋白质组学,比如iTRAQ、TMT;第二种是非标记的定量蛋白质组学技术,比如label-free。iTRAQ定性定量结果更为准确,通量较高可同时标记2-8个样本,但是对样本数有一定限制且不适用于低丰度蛋白的定量,适合小样本量的项目;label-free检测肽段范围广,单次可鉴定和定量较多的蛋白质,但由于样品单独进行质谱检测所以重现性较低,在大量算法的基础上更适合大量样本的蛋白组研究。

近年来液质联用的定量分析技术发展迅速,基于谱和保留时间的归一化方法依赖LC-MS/MS色谱分离的重现性和质谱的精确性。稳定同位素标记与生物质谱

技术的结合是目前定量蛋白质组学中相对成熟的定量技术。在所有定量技术中没有一种技术能够解决所有问题，采用多种策略和方法联合应用才是正确的选择。

### 4.3 生物质谱数据分析

质谱得到的数据经过数据库检索才能得到解析，数据库是质谱数据库检索法分析的重要保障。对于模式生物和已知蛋白序列较多的物种，质谱数据分析通常会简单一些，得到的结果可靠且成功率高。如果所研究物种已知蛋白序列较少或者不完整，通常采用跨物种检索的办法检索近缘物种数据库，这种方法鉴定效率低且准确度差。SwissProt、TrEMBL是常见和重要的蛋白质数据库，收录有目前所有已知蛋白的具体信息。而NCBIInr几乎收录了所有公共数据库中的所有蛋白质序列，提供大量重要的蛋白质相关数据资源。数据库的选择直接影响蛋白质谱鉴定的得率。不同的检索工具会根据不同的算法对质谱数据进行整理组合，并对候选蛋白进行打分排列。Mascot是目前应用最广泛的蛋白质鉴定检索软件，具有其独特的算法。

## 五、展望

质谱技术不断发展为蛋白质组学研究起了积极的推动作用，蛋白质组学研究技术也得到了迅猛发展。蛋白质组学在研讨重大疾病机理、疾病诊断、疾病防治和新药开发，以及动植物生长、发育、进化及代谢条件等生命活动的规律等方面会有重大突破。并已成为寻找疾病分子标记和发现药物靶标的有效方法之一。相信随着蛋白质组学研究的深入发展，必将为疾病预防、早期诊断与有效治疗带来新的希望。通过色谱、质谱等分析方法，结合生物信息学手段，可以得到特定蛋白质分子在时间和空间改变下的变化情况，从而了解人体分子调控相关机理。相信随着生物质谱和相关技术的不断完善和改进，必将会在蛋白质组学研究中发挥更加重要的作用。

## 参考文献

1. 刘晓慧, 殷薛飞, 申华莉等, 表达蛋白质质谱分析, *中国科学*, 2014,5,739.
2. 高兴, 胡亚军, 陈佳佳, 金红, 生物质谱技术在生命科学研究中的应用, *化学世界*, 2016,10,668.
3. 赵楠, 王佳媛, 王玲姝, 杨雪, 李玉花. 蛋白质组学关键技术研究进展, *生物技*

术通讯, 2011,4,580.

4. Domon B, Aebersold R. Mass spectrometry and protein analysis, *Science*, 2006,312,212.

5. 杨倩, 王丹, 常丽丽, 孙勇, 靳翔, 王旭初, 生物质谱技术研究进展及其在蛋白质组学中的应用, *中国农学通报*, 2015,31,239.

## 新技术应用

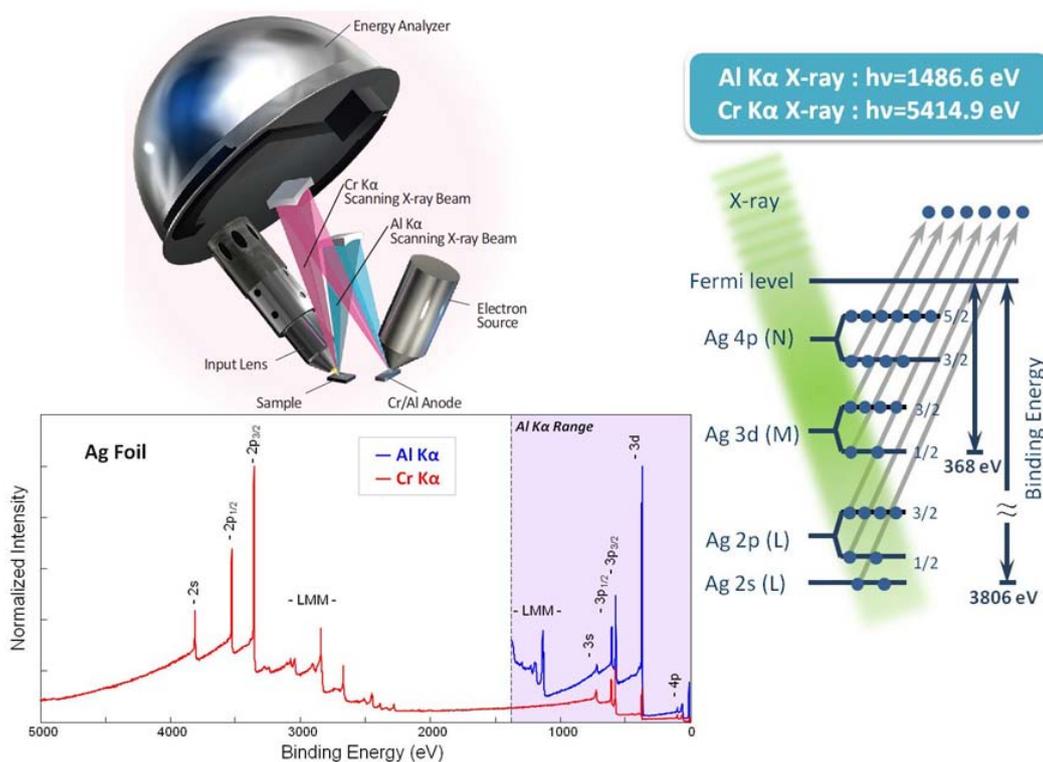
### 硬 X 射线光电子能谱 (HAXPES) 技术与应用

► 赵志娟 章小余 屈宝龙

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

#### 一、HAXPES 简介:

传统的 XPS 采用软 X 射线作为激发源, 通常为 Al K $\alpha$  (能量为 1486.6eV) 或者 Mg K $\alpha$  (能量为 1253.6eV), 其分析深度一般是 10nm 左右, 对于更深范围内的元素化学信息, 通常只能借助离子刻蚀的方法来获得, 但其不利因素是会引起材料表面化学结构的改变。而 HAXPES 技术采用更高能量的硬 X 射线为激发源 (如 Cr K $\alpha$ , 能量为 5414.9eV, 或者同步辐射源) 可以获取数倍于常规 XPS 分析深度范围内的化学信息 (见图 1), 大大减弱了来自表面污染层的干扰, 同时通过检测元素更接近芯能级的光电子信号可以对材料界面层进行无损剖析, 这对于固体材料表/界面化学分析是一个非常重要的应用。



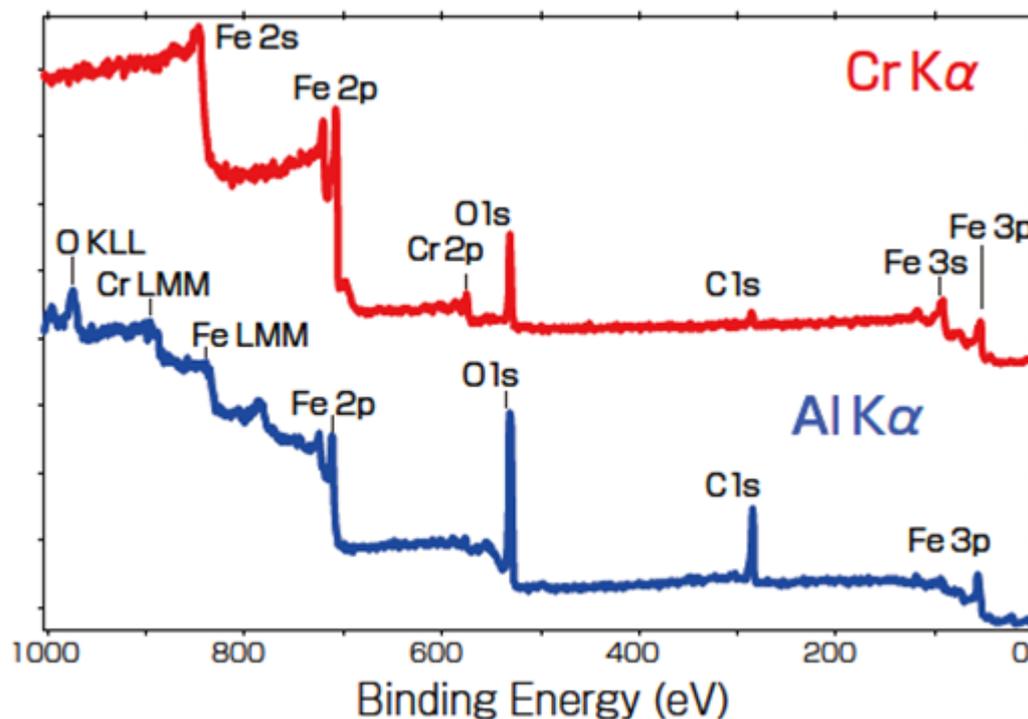
● 图 1. 硬 X 射线光电子能谱技术

## 二、HAXPES 的应用:

材料表面特性与内部存在很大差异,因此对于材料的深入研究必须包括材料本体特性的研究及材料表面特性的研究。目前材料表面及界面间相互作用的研究是材料研究领域中最前沿的研究方向之一。HAXPES 作为常规 XPS 技术的拓展,不仅可以广泛应用于与固体材料相关的基础科学和应用科学各个学科领域,例如催化、材料科学、高分子、固体物理、半导体等传统研究领域,而且在一些新兴前沿学科,例如纳米科技、微电子、能源、环境、生物等领域也有很好的应用。

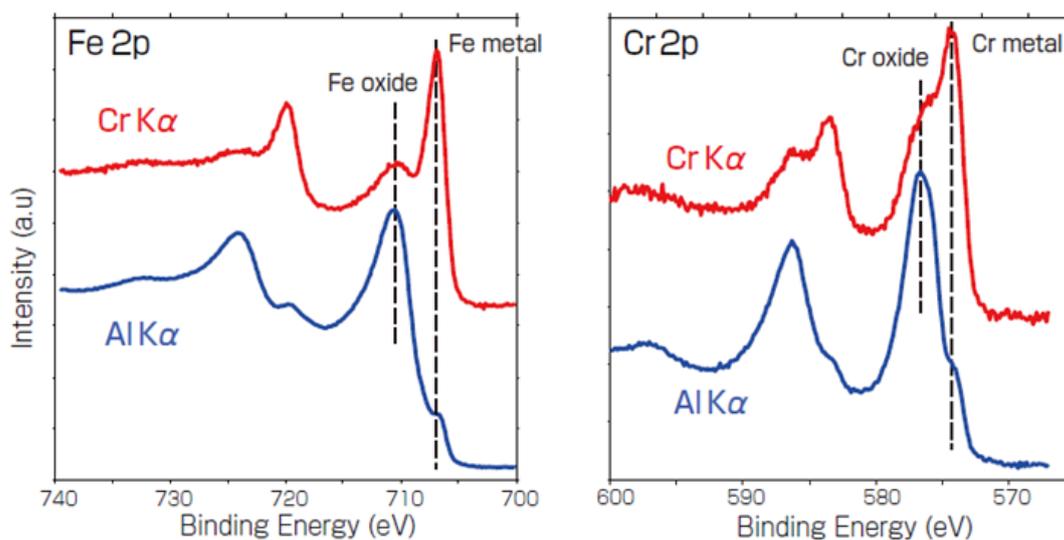
### 2.1. 合金中金属氧化物/氢氧化物分析

对于 Fe-Cr 合金,通过 Cr 靶和 Al 靶在样品同一分析区域的原位检测,可以清晰地得到合金中氧化物的分布情况。从图 2 可以看到,采用 Al K $\alpha$  测试时,survey 谱图上显示有较多的 C 和 O 元素,表明合金表面存在一定的污染层,Cr 元素信号不明显,而采用 Cr K $\alpha$  测试时,样品中 Fe、Cr 金属元素的信号相对更强,Cr K $\alpha$  具有更高的灵敏度。



● 图2. 用 Al K $\alpha$  与 Cr K $\alpha$  采集的 Fe-Cr 合金 survey 谱图

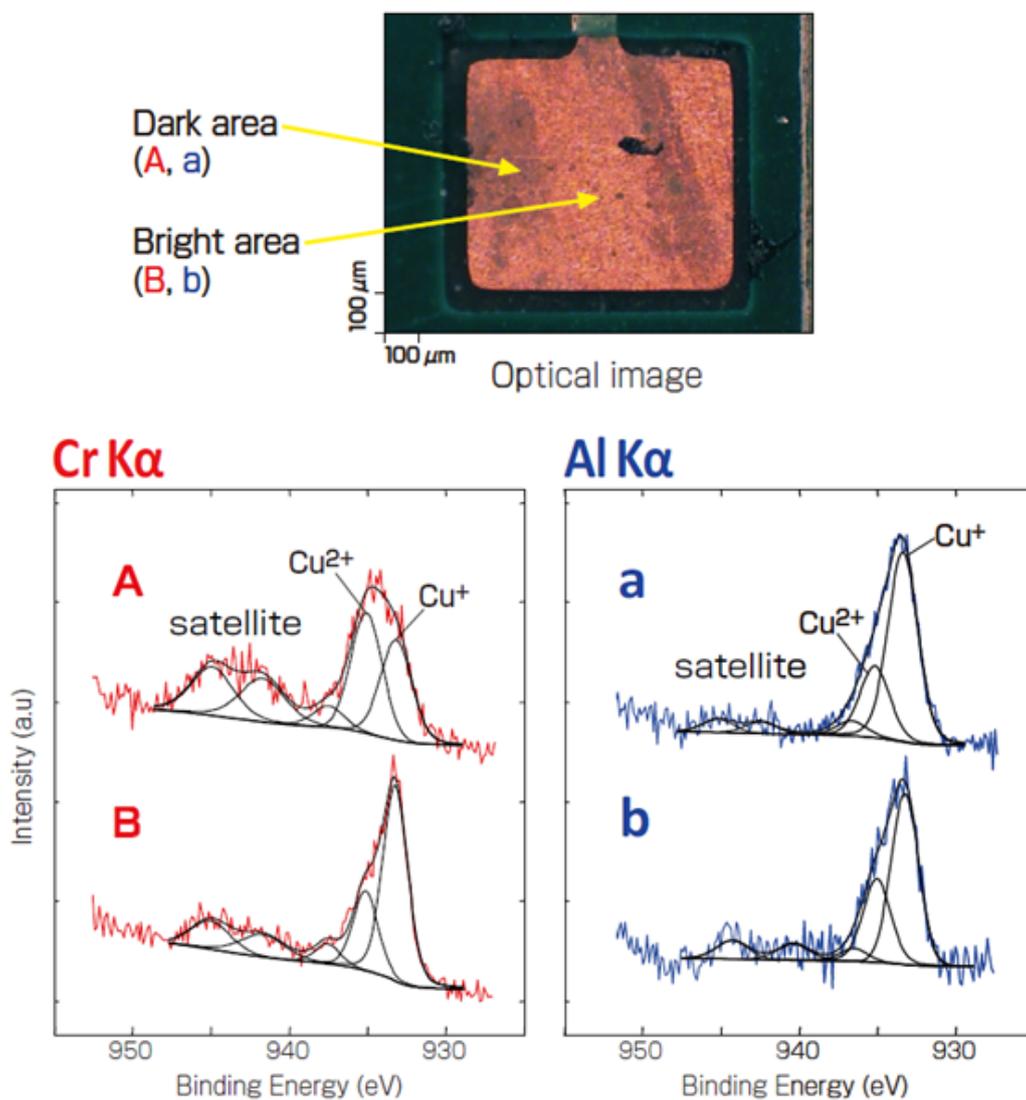
通过图 3 对金属元素的化学态做进一步分析,发现采用两种激发源测试时合金的表面都存在 Fe 和 Cr 的氧化物或者氢氧化物。而对于 Al K $\alpha$ , 结果显示合金表面基本是金属氧化物或氢氧化物, 相比较而言, Cr K $\alpha$  测得靠近合金内部金属元素是以金属态的形式存在, 更深入的分析还可以获得氧化物的厚度或者是分布的深度大约是十纳米多一点。



● 图3. Fe-Cr 合金中 Fe2p 与 Cr2p 谱图

## 2.2 电极缺陷/失效分析

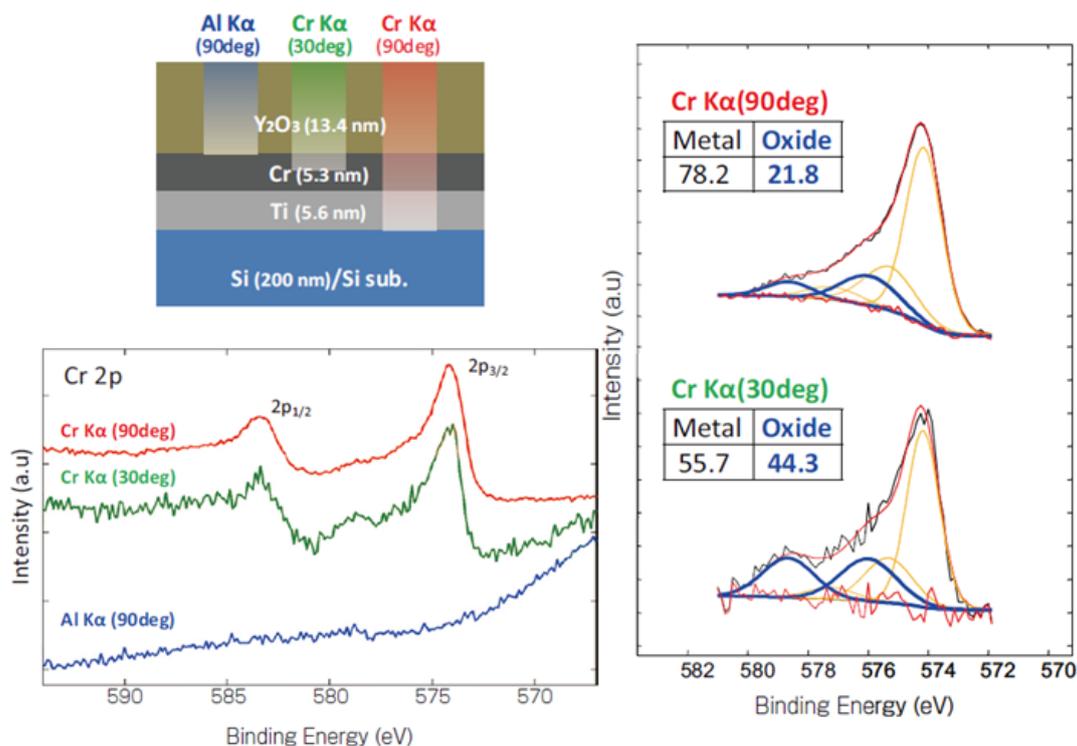
如图 4 所示,对于 Cu 电极片上两个颜色不同的区域 A 和 B 进行 XPS 检测,当采用 Al K $\alpha$  测试时,两个区域上的 Cu 元素均含有 Cu<sup>+</sup>和 Cu<sup>2+</sup>两种化学态,以 Cu<sup>+</sup>为主体,在不同区域上 Cu 元素两种化学态的相对比例没有明显差别,而当采用 Cr K $\alpha$  测试时,Cu<sup>2+</sup>和 Cu<sup>+</sup>的比例变化显著,在较暗的区域以 Cu<sup>2+</sup>为主,根据 Cu2p<sub>3/2</sub>的理论 IMFP 值可知,Cr K $\alpha$  的分析深度大约是 Al K $\alpha$  分析深度的 5 倍,表明 CuO 更多地存在于 Cu<sub>2</sub>O 之下。通过不同激发源的 XPS 测试可以得出,明暗两个区域中 Cu 电极表面的氧化物种主要是 Cu<sub>2</sub>O,在较明区域从表面到靠近内部 Cu<sub>2</sub>O/CuO 分布较均匀,而在发暗区域近表面层以 Cu<sub>2</sub>O 为主,靠近内部以 CuO 居多。



● 图 4. 用 Al K $\alpha$  与 Cr K $\alpha$  采集的铜电极片上不同区域 (A 和 B) 的 Cu2p<sub>3/2</sub> 谱图

### 2.3 多层薄膜器件界面分析

对于图 5 的多层薄膜器件，最表面是 13.4nm 的  $Y_2O_3$  层，若采用常规 XPS 测试无法检测到界面层的信息，而如果辅助离子刻蚀的方法将表面剥离，会对材料本身的化学结构造成一定的损伤，因此在不破坏薄膜结构的情况下，只有 Cr  $K\alpha$  XPS 可以检测到超过 10nm 厚的  $Y_2O_3$  层之下的 Cr 层。考虑到 Cr  $K\alpha$  的分析深度较大，为获得界面层处 Cr 元素及其化学态的深度分布信息，可以采用不同倾斜角度的 Cr  $K\alpha$  变角 XPS ( $90^\circ$  和  $30^\circ$ ) 进行测试，结果表明靠近  $Y_2O_3$  与 Cr 层界面处存在较多的 Cr 的氧化物，在界面层以下 Cr 元素主要以金属态形式存在。



● 图 5. 不同激发源采集的 Cr2p 谱图以及 Cr  $K\alpha$  变角 XPS 测得的 Cr2p 谱图

### 三、总结

相比于传统的 XPS 分析方法，HAXPES 作为一种新的技术在固体材料研究领域有很大的优势与应用潜能。HAXPES 提供的是不受表面污染影响的非破坏分析，可以分析材料表面下更深的区域，而且可以检测更芯能级的电子态信息。当实验室不具备有同步辐射源的条件时，利用 Cr  $K\alpha$  的 HAXPES 联合常规单色化的 XPS 将可以解决很多前沿性的科研问题。

## 参考文献

1. Surface charge neutralization of insulating samples in x-ray photoemission spectroscopy, P. E. Larson, M. A. Kelly, *J. Vac. Sci. Technol. A*, **1998**, *16*, 3483.
2. X - ray photoelectron spectroscopy studies of Ti - Al and Ti - Al - V alloys using Cr K  $\beta$  radiation, S. Diplas, J. E. Watts, P. Tsakiropoulos, G. Shao, G. Beamson and J. A. D. Matthew, *Surf. Interface Anal.*, **2001**, *31*, 734.
3. Calculations of electron inelastic mean free paths. X. Data for 41 elemental solids over the 50 eV to 200 keV range with the relativistic full Penn algorithm, H. Shinotsuka, S. Tanuma, C. J. Powell and D. R. Penn, *Surf. Interface Anal.*, **2015**, *47*, 871.
4. Recent applications of hard x-ray photoelectron spectroscopy, C. Weiland, A. K. Rumaiz, P. Pianetta, J. C. Woicik, *J. Vac. Sci. Technol. A*, **2016**, *34*, 030801.
5. Iron 1s X-ray photoemission of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, P. S. Miedema, F. Borgatti, F. Offi, G. Panaccione, and F. M. F. de Groot, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, **2015**, *203*, 8.
6. Loss for photoemission versus gain for Auger: Direct experimental evidence of crystal-field splitting and charge transfer in photoelectron spectroscopy, J. C. Woicik, C. Weiland, and A. K. Rumaiz, *Phys. Rev. B*, **2015**, *91*, 201412 .
7. Recoil Effect of Photoelectrons in the Fermi Edge of Simple Metals, Y. Takata, Y. Kayanuma, S. Oshima, S. Tanaka, M. Yabashi, K. Tamasaku, Y. Nishino, M. Matsunami, R. Eguchi, A. Chainani, M. Oura, T. Takeuchi, Y. Senba, H. Ohashi, S. Shin, and T. Ishikawa, *Phys. Rev. Lett.*, **2008**, *101*, 137601 .

## 致谢

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工！

## 典型应用案例

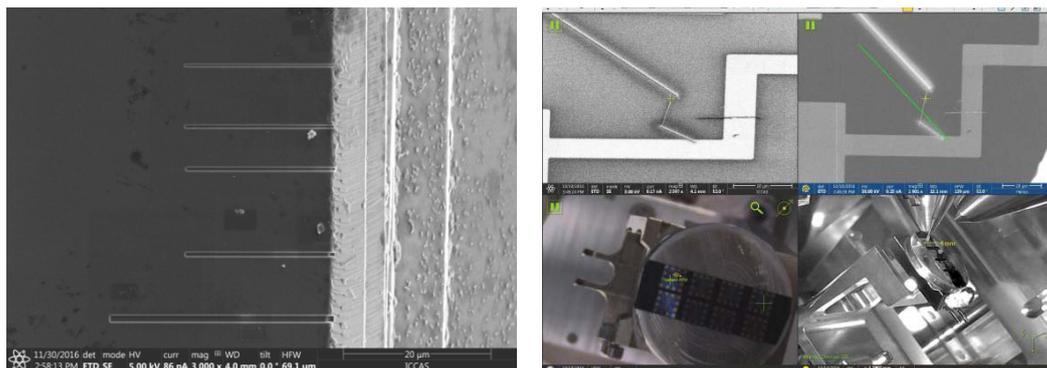
## FIB-SEM 技术在维纳米级单颗粒三维重构中的应用

► 李祥 关波

(分析测试中心电镜组 Tel: 010-62658935 Email: guanbo@iccas.ac.cn)

FIB-SEM 是聚焦离子束 (Focused Ion beam, FIB) 与扫描电子束 (Scanning Electron Microscope, SEM) 双束系统, 聚焦离子束可用于对样品进行微加工, 扫描电子束可用于样品表面形貌微观成像和“二维”表征分析, 也能对 FIB 加工过程进行实时观测, 因此, FIB-SEM 系统可实现对样品进行定点蚀刻、沉积, 截面切割、TEM 电镜样品制备、微纳器件制备、电路修复、三维结构表征等。分析测试中心电镜室负责一台 FIB-SEM 系统 Helios NanoLab G3 CX 的运行, 根据所内科研工作需求, 我们应用此台 FIB-SEM 开展了定点刻蚀、沉积、TEM 样品制备及三维重构等工作, 以下简要介绍各项工作, 重点介绍 FIB-SEM 技术在微纳米级单颗粒三维重构中的应用。

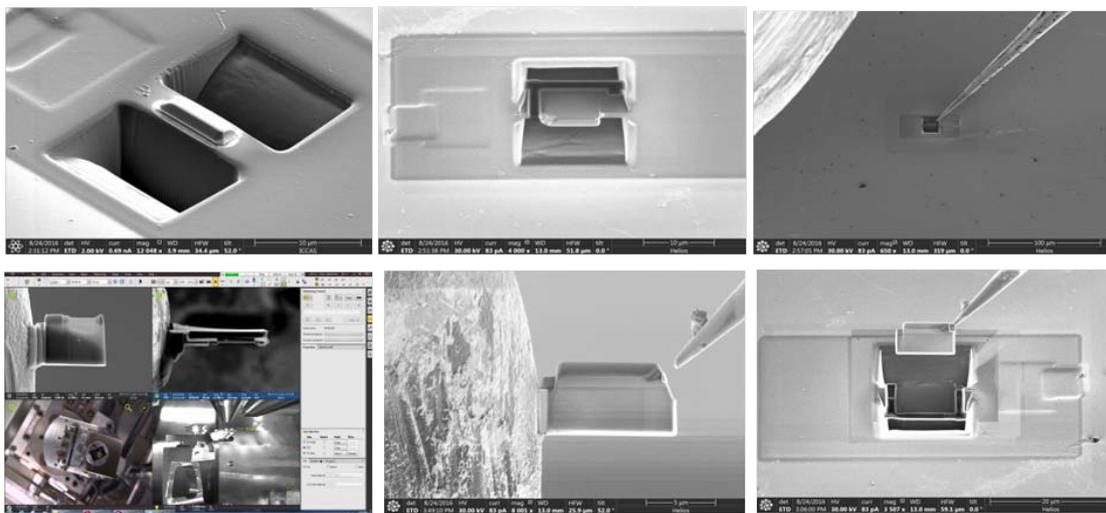
刻蚀和沉积是 FIB-SEM 的基本功能, 是实现所有应用的基础。刻蚀的原理是 FIB 的偏转系统控制高能量离子束入射到固体样品上, 与固体原子碰撞散射过程中将能量传递给固体原子, 当这些原子获得足够的能量时逸出固体表面, 这个过程形成了离子束溅射, 控制偏转系统让离子束进行有方向性、区域性、图案化的刻蚀, 以及通过一些辅助软件生成一些更复杂的图案, 图 1 所示是电镜室应用双束电镜在硅表面刻蚀出的不同深度、长宽不一的孔道。沉积是利用电子束或离子束来诱导特定区域发生化学气相沉积反应而形成沉积, 可实现微电路搭建或修复、图案排列、样品表面定点保护等。图 2 所示是利用离子束沉积 Pt 搭建电路, 将制备的纳米线与硅片上相应的电极连接导通, 通过电极外接电路即可实现对纳米线的电学性质进行测量。



● 图 1. 应用 FIB-SEM 在硅表面刻蚀的孔道

● 图 2. 应用 FIB-SEM 沉积 Pt 实现线路搭建

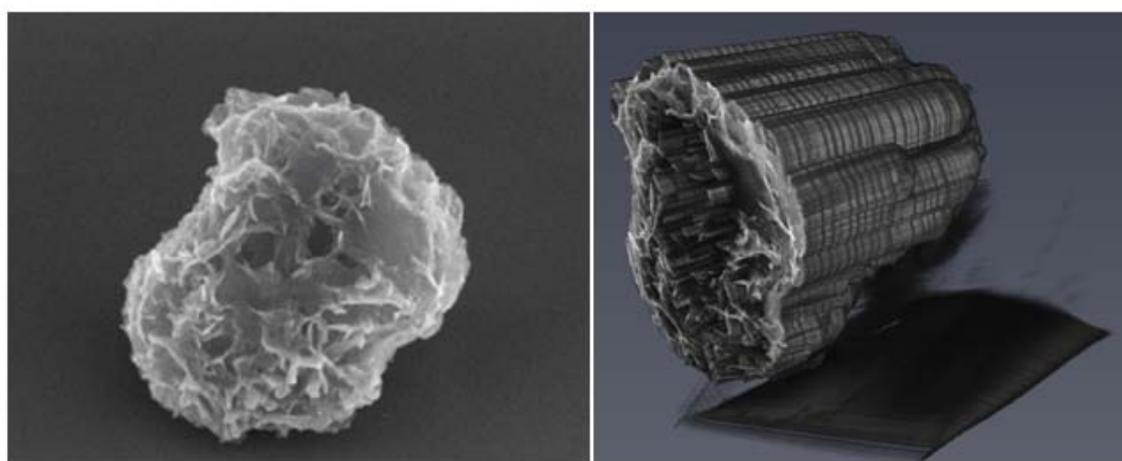
TEM 样品制备是基于定点刻蚀和沉积功能，可在样品感兴趣区域制备 TEM 样品，图 3 是电镜室制备硅表面多层膜的 TEM 样品制备过程，首先在电子束观察下，选择感兴趣区域，然后利用离子束对所选区域两侧进行切割，直至切出所需的薄片，再用纳米手将切好的薄片提取出来，通过 Pt 沉积把样品固定在专用的铜网上，最后把样品抛光逐级减薄至达到所需厚度。



● 图 3. 应用 FIB-SEM 进行 TEM 制样流程

聚焦离子束三维重构是在离子束序列切片过程中电子束序列拍照最终得到一系列的切片图像，对切片图像进行重构从而得到样品的三维结构，在地质、生物、材料等领域用于对油气矿岩、细胞组织、锂电池正负极材料等进行微观三维结构成像，在这些应用中样品为块状，只需在表面镀一层 Pt 作为保护层，在表面及截面分别做标记用于自动切割及采集图像，即可进行序列切片的数据采集。但是，对于微纳米级的单颗粒样品，如果只在表面镀一层 Pt 保护层，进行切片

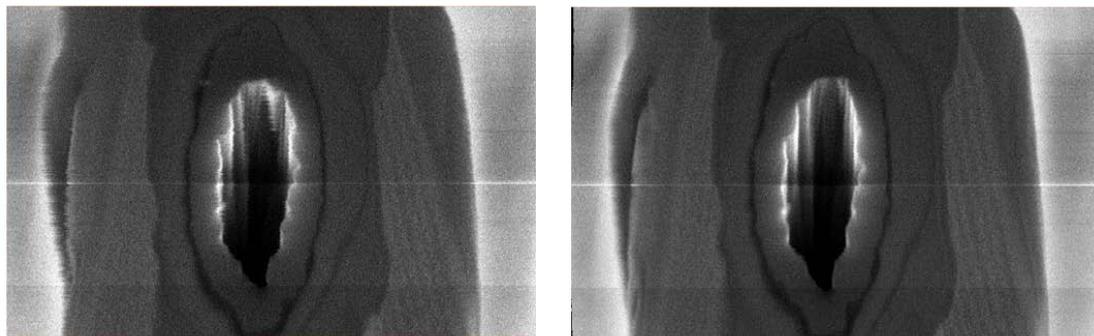
后将系列图像重构后得到的结果如图 4 所示,类球形结构的样品重构得到的是圆柱形结构,这是由于扫描电镜成像具有景深,系列拍照的每一张图像中不仅包含了本截面的信息,而且具有还未切片的样品信息,导致在三维重构时同一样品信息在 Z 轴方向上重复从而变形,通过 Pt 将整个颗粒包埋解决了此问题。而且,对于单颗粒样品,不像块状样品,无法在样品的截面和表面直接做标记,我们通过在基底上再沉积一块用于做标记的 Pt 块分别做电子束及离子束的标记,即可满足自动采集的要求,同时通过设计特别的样品台及切割-采集数据流程可实现垂直切割及观察。



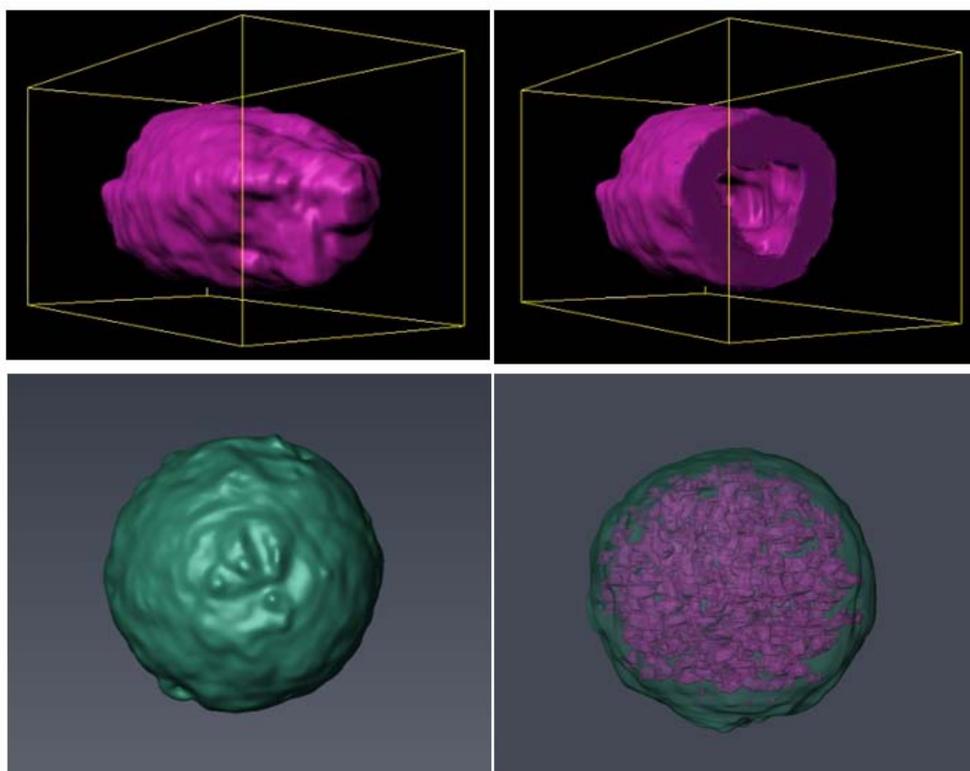
● 图 4. 应用常规流程对单颗粒样品进行三维重构的结果

通过此种方法得到系列的切片图像后,应用软件 Avizo 进行数据处理及重构。首先是进行图像的对中处理 (Align slices), 虽然在切割过程中, 程序会通过识别标记进行漂移校正, 但是得到的数据往往会有微小的偏差, 会导致重构结果失真或分辨率下降, Avizo 软件中提供了最小二乘法的方法进行自动对中调整, 自动对中调整完, 若结果不理想还需用手动方法进一步进行对中, 如图 5 是对中前后 XZ 方向的图像, 可以看出经过对中后图像细节处的分辨率有明显提升。对中的数据进行过滤降噪处理后, 进行数据分割工作 (Segmentation), 即选择样品中感兴趣的区域, 比如对于单颗粒样品, 由于用了 Pt 包埋, 首先需要将轮廓选择出来, 然后选择样品内部的细节如孔等。数据分割的工作量通常很大, 因为根据样品大小以及所需的分辨率可得到几百上千张的切片图像, 有时为增加过渡的平滑性会使用 resample 功能使得图像数量又增加数十倍, 因此尽量根据图像的衬度特点使用一些自动分割的方法如阈值分割、分水岭等, 然后再手动分

割进行补充修正。我们应用以上方法对微米级的梭形颗粒及多孔微球进行系列切割并处理数据得到了颗粒的三维重构结构，最终可通过视频方式展示颗粒表面及内部的三维结构，图 6 所示为三维结构视频的截图，可以看出梭形颗粒表面的形貌及内部空心的结构，多孔微球表面形貌及内部孔的微观结构，同时可以对孔的大小等参数进行统计分析。



● 图 5. 对系列切片对中处理前后 XZ 方向的图像。



● 图 6. 应用 FIB-SEM 技术对梭形颗粒及微球进行三维重构的视频截图

## 致谢

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工！

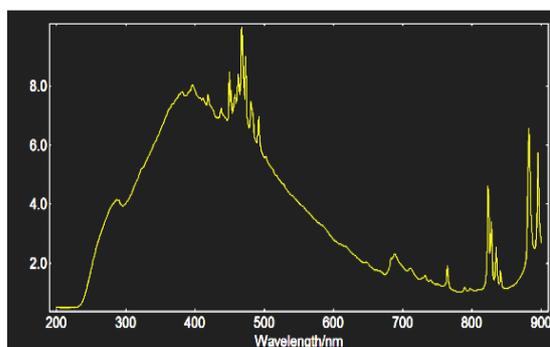
## 测试技术及技巧

## 荧光数据的可靠性分析

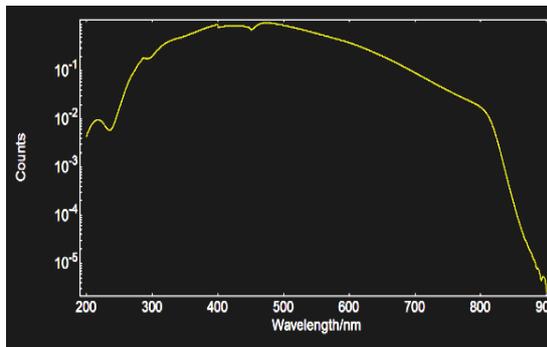
► 刘美容 李兴红

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

光谱仪器并不是理想的仪器，光谱测试得到的显微图像或谱图需进行判断，是否真实地反应了样品的性质。对于荧光光谱仪，光源Xe灯在各个波长下的能量不同（图1），光电倍增管（PMT）对各个波长检测的灵敏度不同（图2），激发和发射单色器（光栅）、滤光片和聚光镜等光学元件对各个波长透过率不同。因此，仪器工程师会用标准光源对PMT和整个光路进行校准，获得校正文件，对发射光谱进行校准。激发光谱的校正用一个参比检测器对光源各个波长的能量进行实时校正。因此，在进行发射光谱和激发光谱测定时，需要对仪器实际测得的数据进行校正，以接近样品真实的情况。但在PMT检测波长范围的两端，比如检测器范围为230–900nm，在230nm和900nm附近，PMT检测信号弱，校正文件经常把一些噪音认定为是信号，发生过校正现象。因此，校正过的光谱要与仪器实际测得的光谱进行比较，如仪器实际测得的光谱在检测器两端没有信号，而校正过的光谱有信号，那可能是过校正了。因此，在检测器两端的光谱校正要很谨慎。



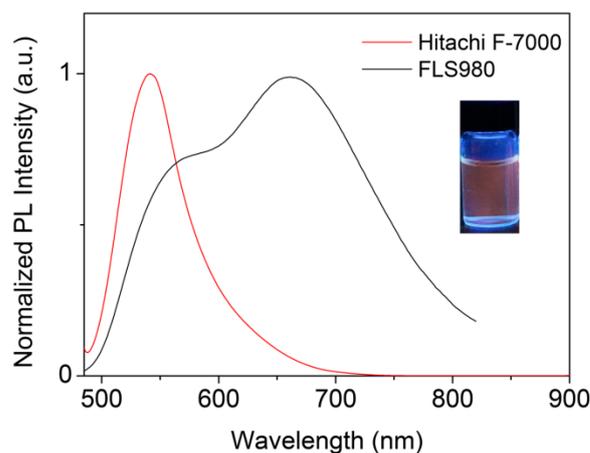
● 图1. Xe灯光源的能量分布



● 图2. R928PMT检测器随波长响应变化曲线

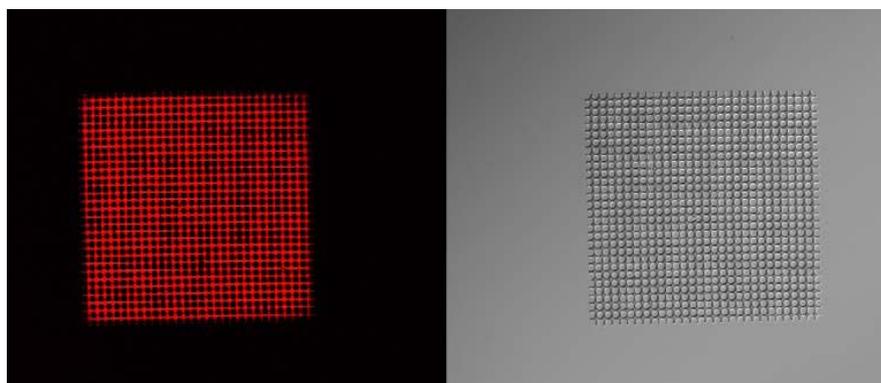
图3 是用不同的荧光光谱仪F7000和FLS980分别对量子点溶液做的发射光谱，从谱图看两台仪器做的完全不同，F7000发射峰在550nm左右，FLS980发射峰在670nm左右。用激发光激发样品，肉眼看样品荧光显示红色，发射峰应该在600nm以后。经分析，F7000使用的常规检测器R3788，最长可检测到730nm，但校正文件最长到600nm，600nm以后的光谱其可靠性大大下降。FLS980荧光光谱

仪检测范围230-900nm，矫正文件可做到900nm，但在检测器两端的发射光谱校正相对误差很大。实际矫正光谱准确范围在850nm左右。因此如果样品发红光，发射应该在600nm以后，就不适合用F7000进行测试，FLS980做得相对更接近事实，否则就会出现错误的荧光谱图。

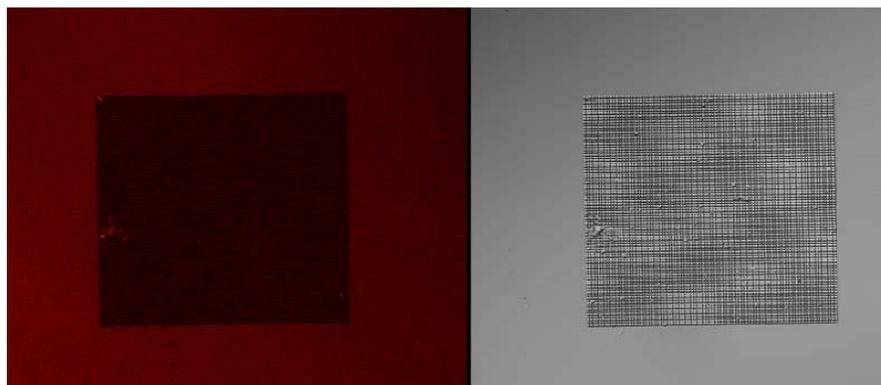


● 图3. 不同荧光光谱仪发射光谱的比较

共聚焦荧光成像过程中也会存在假象的情况。对于细胞样品，一般培养在confocal皿中，细胞在confocal皿底部的盖玻片上贴壁生长，细胞与盖玻片紧密贴合，观察到的细胞荧光是样品真实情况；一些固体颗粒、粉末或液体样品，如与盖玻片紧密贴合，观察到的样品荧光也都是真实荧光；但对于一些膜类样品，如样品较厚且表面不平整，与盖玻片不能紧密贴合，就会出现无法对样品聚焦或产生荧光假象的情况。比如，PDMS膜与盖玻片的紧贴程度会影响条纹图案中量子点荧光的观察，图4和图5显示。



● 图4. PDMS膜与盖玻片紧贴良好条纹图案中量子点荧光

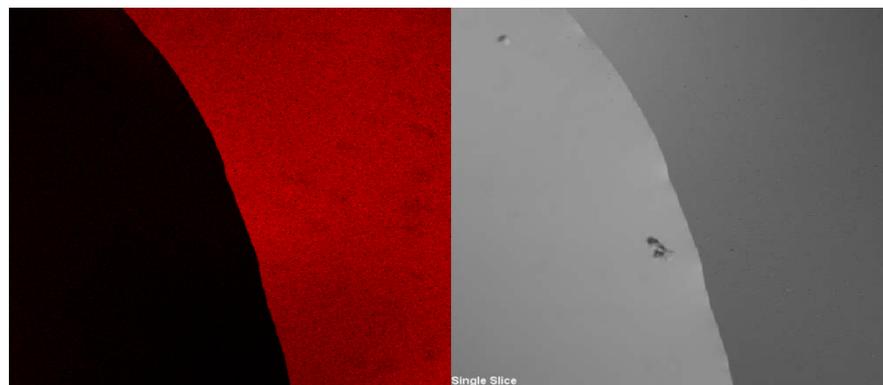


● 图5. PDMS膜与盖玻片之间有空隙条纹图案中量子点荧光

当 PDMS 膜与盖玻片之间有空隙，紧贴程度不太好时，PDMS 膜下表面与盖玻片的上表面不在一个焦平面上，条纹处量子点的荧光很弱，原因可能是激光穿透盖玻片后在 PDMS 膜上下两个面进行反射、折射，使得经过 PDMS 膜上下两个面的激光发生相消干涉，激光不能进入条纹处，因此条纹处没有荧光。是否发生激光的相消干涉与 PDMS 膜厚度、膜与盖玻片之间的空隙以及激光波长都有关系。因此，确保膜类样品与盖玻片的紧密贴合能够消除这种假象。

共聚焦成像过程中，观察到的样品荧光是否有时是样品和盖玻片的荧光和？为了回答这个问题，我们用两个实验来说明样品如与盖玻片紧密贴合，样品处的荧光仅是样品的荧光而不是样品和盖玻片的荧光和。

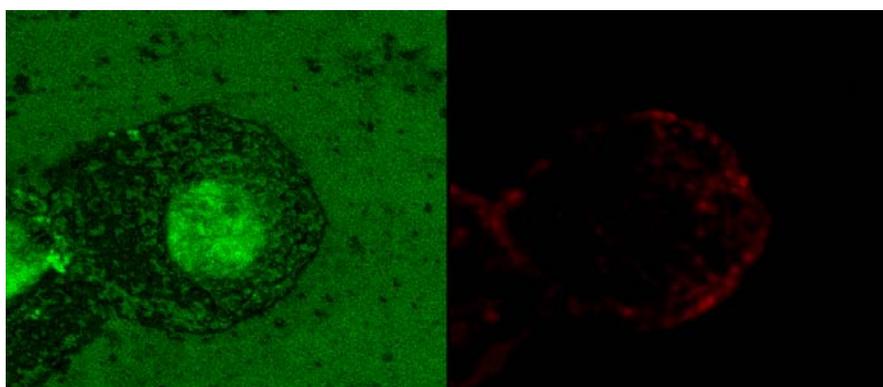
在一个盖玻片上滴了一小滴水，用 10 倍物镜在共聚焦下观察，559nm 激光激发，收集发射波长为 570nm-670nm。图 6 分别是荧光图和 DIC (differential - interference contrast) 图，左图不发荧光的是水。从图 6 可以看出，普通盖玻片 559nm 激光激发下在一定的参数下是有发光的，但有水的位置，无论如何聚焦也不会看到盖玻片的发光。因此盖玻片与水的界面处，只有水的发光信息，水没有荧光，因此显示黑色，(所用仪器为 Olympus FV1000 激光扫描共聚焦显微镜)。



● 图6. 盖玻片上水的荧光图和DIC图

图 7 为盖玻片上固定细胞的荧光图，中间为细胞，周围是盖玻片。发现左图绿色荧光通道，盖玻片有很强的发光。对于绿色荧光通道，细胞核有很强的荧光。但无论如何聚焦，细胞质中仅有零星的荧光，有些地方没有荧光，较盖玻片发光还弱，且玻璃片上的好多杂质没有发光，显示为一个个黑点。因此，细胞处的荧光也只是细胞的荧光没有盖玻片的荧光，杂质只显示其自身的发光信息。红色荧光通道只显示细胞膜及部分细胞质的荧光，盖玻片没有荧光。

因此，观察液体样品或紧贴盖玻片的样品时，盖玻片上表面与样品在同一焦面上，在样品位置的荧光只是样品的荧光，不会是盖玻片和样品的荧光和。



● 图 7. 盖玻片上固定细胞的荧光图

总之，在进行荧光显微成像或荧光光谱采集时，对所得数据的准确可靠性要进行判断，是否有矫正文件的影响，是否有杂散光或散射光的影响，是否存在荧光假象等，以免得到错误的信息影响后续的科学研究。

## 高质量单晶样品的挑选与判断

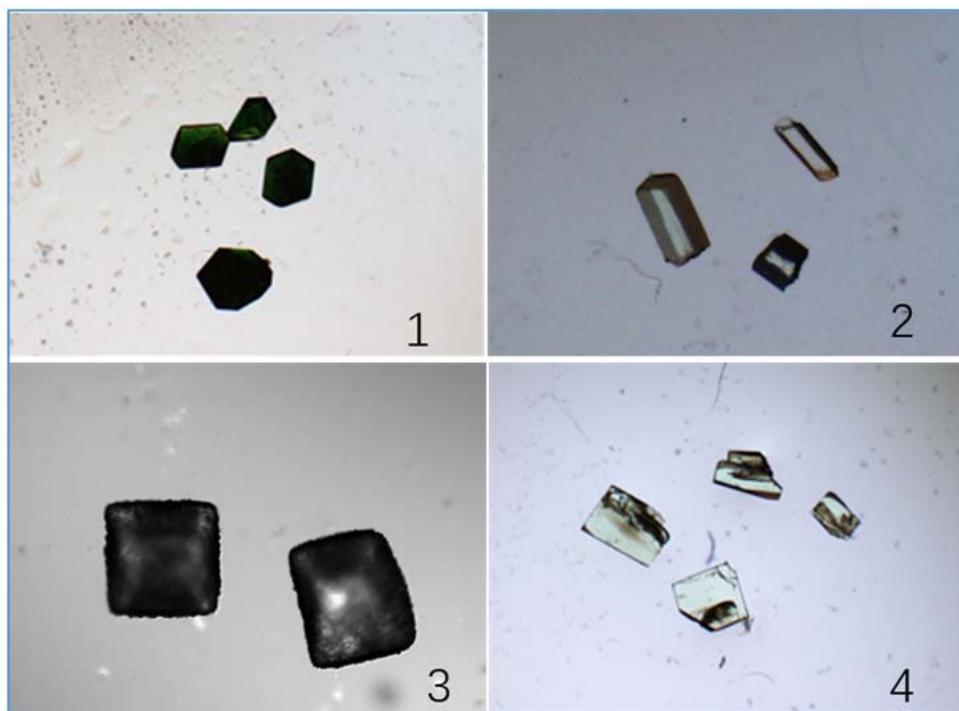
► 梁同玲

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

单晶结构测试中，晶体的质量决定了衍射数据的质量及后期结构解析结果的质量，所以单晶测试是否成功，晶体的质量是关键。本文对如何挑选和判断高质量的单晶样品做一简单介绍。

单晶质量初步判断及挑选在显微镜下进行。质量好的单晶样品一般都棱角分

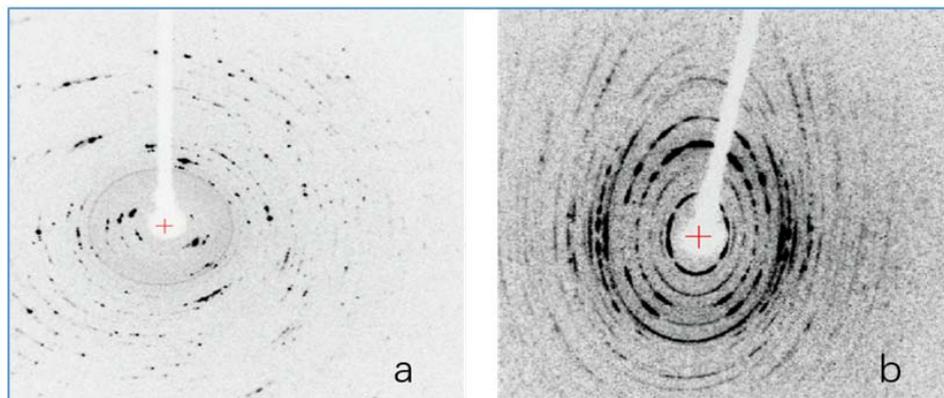
明，表面光滑无裂痕，不沾附微小的晶粒和粉末状的杂质。如果晶体是球状的或半球状的，这种情况很可能是很多个微小的单晶聚集到一起的，或者是非晶态的。还有一些样品是几颗晶体聚集到一起的，或者一颗晶体中部分质量好部分质量不好，这就需要在显微镜下对晶体进行切割，保留质量好的部分。另外晶体衍射强度与晶体的大小有关，太细、太薄的晶体衍射会很弱，所以质量好的晶体还要有一定的大小，其长宽高最好在 0.1mm 以上。



● 图 1. 晶体照片

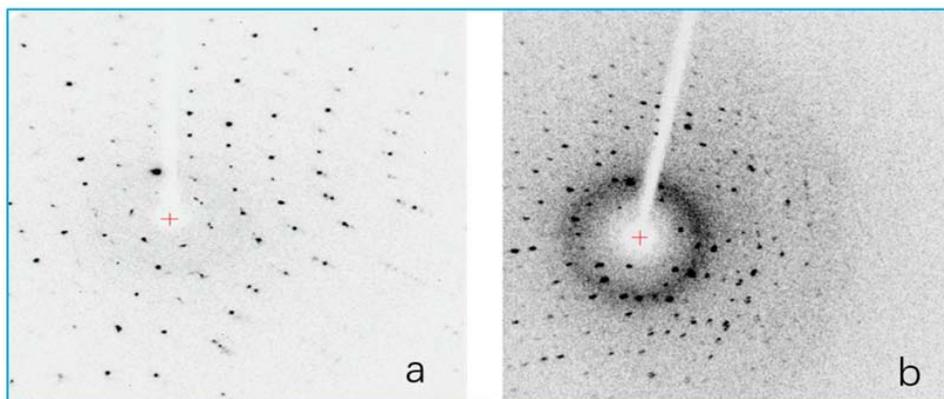
以上晶体照片中，1 号和 2 号 是在显微镜下观察质量很好的单晶样品，可以直接上机测试；3 号样品表面附着一层粉末状物质，测试时需要切掉这层附着物，4 号样品部分质量好，部分有裂纹或多颗晶体粘在一起，测试时需要切割掉有裂纹部分或附着的其他晶体。

在显微镜下挑选或切割到形貌好的晶体后，并不表明这颗晶体就是高质量的晶体，判断晶体质量最终要看晶体的衍射情况。晶体衍射照片中每个黑点代表一个衍射点，黑点的大小和黑度表示衍射强度，点越大越黑表明衍射越强。



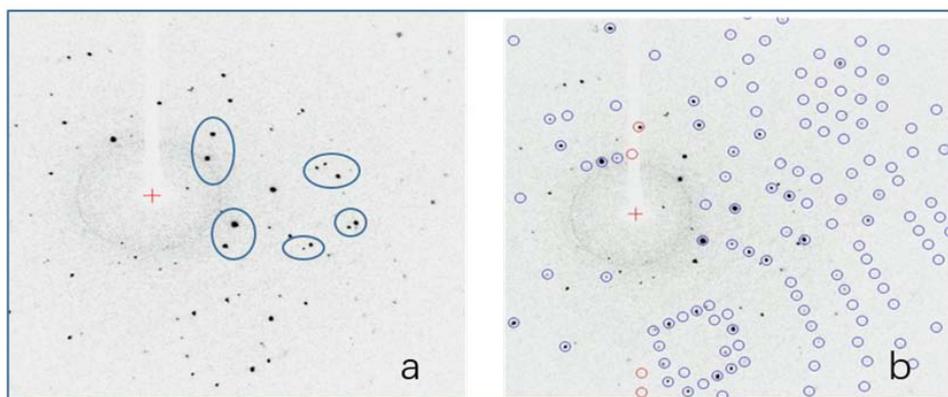
● 图 2. 孪晶样品衍射照片一

图 2 是孪晶严重的样品衍射照片，这类晶体类似粉晶，样品是有很多的微小晶体聚集到一起的，衍射点连成一片。这类晶体得不到晶胞参数，无法进行单晶结构测试解析。



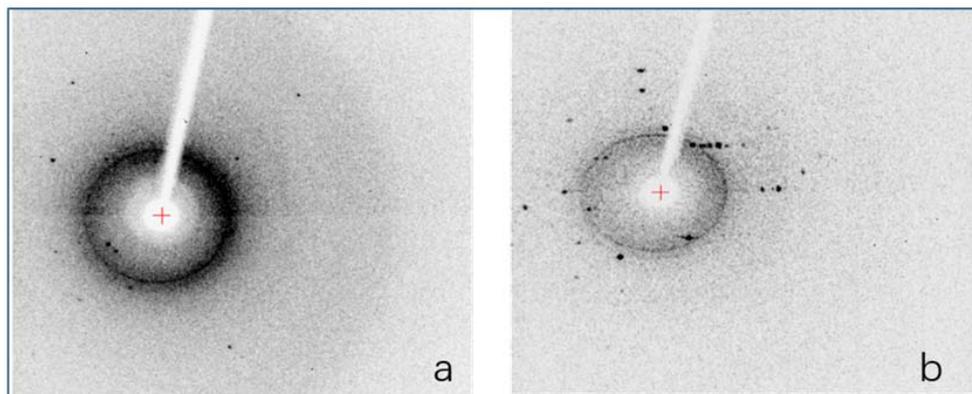
● 图 3. 孪晶样品衍射照片二

图 3 也是孪晶样品的衍射照片，衍射照片中很多对衍射点的距离很近，还有一些拉长和弥散的衍射点，这类晶体要么得不到晶胞参数，要么得到晶胞参数但指标化率很低，最后结构解析结果很差。



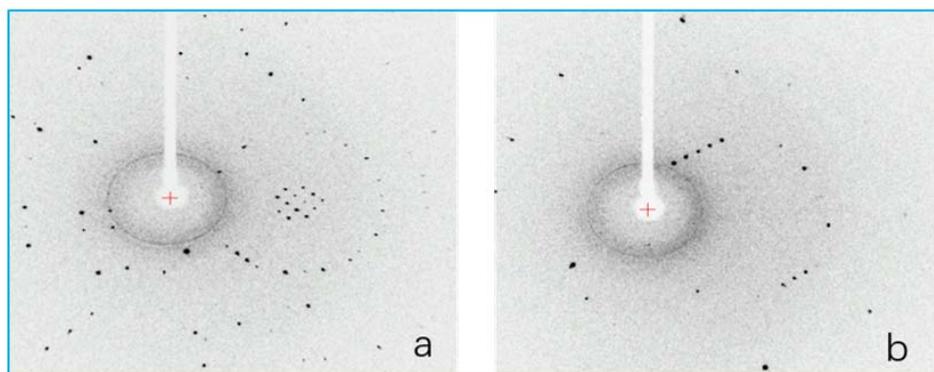
● 图 4. 孪晶样品衍射照片三

当然并不是所有的孪晶都不能进行单晶结构测试解析，两颗单晶形成的孪晶样品，如果两套衍射点不重叠（如图4所示a照片是衍射照片，b照片是其积分照片。），程序能把两套衍射点分开，虽然指标化率会较低，但是能得正确的晶胞参数，衍射数据质量也会不错，结构解析时再做一下孪晶处理，最后也能得到很好的单晶结构数据。



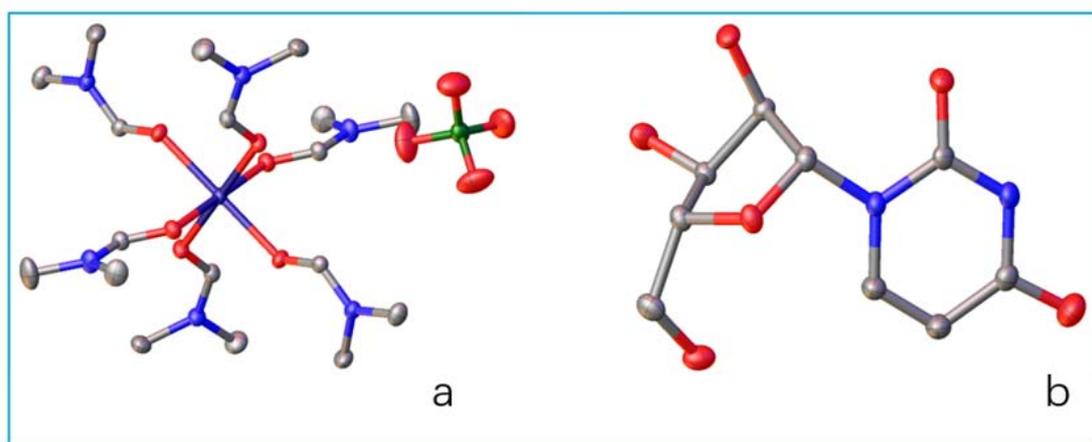
● 图5. 衍射强度弱的样品衍射照片

图5中照片a是晶体太小衍射太弱的衍射照片，照片b是低角度衍射强，高角度衍射弱的衍射照片。这类晶体增强曝光时间衍射强度增强效果不明显，需要重新培养晶体。



● 图6. 高质量单晶样品衍射照片

图6是高质量的单晶衍射照片，高低角度衍射强度都很强，衍射点周围没有杂点。这类单晶样品的指标化率较高，一般90%以上，能得到一套高质量的数据，其结构解析结果也很好。



● 图7. 高质量单晶样品结构图

图7是高质量的单晶样品结构椭球图。单晶结构中原子间的键长、键角合理；原子的温度因子均匀，原子的椭球接近球形；R因子较小。

综上所述，要想得到一套高质量的单晶衍射数据及结构解析结果，样品质量是关键；高质量的单晶样品可以是完整的单颗晶体，也可以通过切割样品获得；样品形貌好不代表就一定是好的单晶，其衍射效果才是判断晶体质量的最终标准。

## 致谢

感谢分析测试中心李兴红老师对获得晶体照片的帮助！

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工！

## 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)对易挥发元素Se的定量方法

► 李巧连 宗文杰

(分析测试中心元素分析组电话：010-62554625 Email：liqiaolian@iccas.ac.cn)

电感耦合等离子体质谱法对样品的前处理常规操作是样品加酸消解，消解完全后加热赶酸至近干，用与标准溶液酸度一致的酸溶液配制样品溶液。但是Se元素在高温条件下容易挥发，所以赶酸温度太高时容易发生Se元素损失，而元素是否容易损失是由元素存在状态决定，不同样品其赶酸的温度也不完全相同，文献中对Se的赶酸温度没有统一的定论<sup>[1-3]</sup>。所以建立一种不赶酸直接配样

的前处理方法对 Se 等易挥发元素的定量有重要的意义。

一般样品消解需要加入 8 ml 硝酸，消解完全后赶酸至硝酸少于 0.5 ml，用 2% 的硝酸水溶液稀释配样，这样保证了样品溶液的酸度与标准溶液酸度一致。

如果消解后不赶酸需要加水约 400 g，其溶液酸度才能降至 2%，但是 400 g 重量已经远远超出天平的量程，所以直接加水稀释的方法不可行。如果采用逐步稀释的方法，硝酸消解液中先加入水稀释到约 200 g，酸度约 4%，然后再取少量 4% 的溶液用 2% 的酸溶液进行稀释，但是这时候溶液的酸度是略高于 2% 的，与标液酸度不一致，所以必须要考察逐步稀释法得到的溶液酸度与标准溶液酸度不一致是否会对测试结果产生影响（表 1）。

表1 不同稀释方法配制样品溶液

稀释方法	消解介质	水(g)	酸度	二次稀释	酸度	可行性
直接稀释	HNO <sub>3</sub> 8 ml	400	2%	——	——	否-天平超重
逐步稀释	HNO <sub>3</sub> 8 ml	200	4%	是	>2%	不确定

用高纯硝酸（Trace Metal Grade）及超纯水（电阻率 18.2 MΩ·cm）配制 2%、4%、6% 的硝酸水溶液。

采用 2% 硝酸水溶液逐级稀释 Se 标准溶液，浓度 2 ng/g—250 ng/g（见表 3）。

采用 2% 硝酸稀释得到 10 ng/g Ge 内标校正液，通过三通在线加入内标。

称取一定量的标准溶液（ $c = 100 \mu\text{g/ml}$ ）分别用 2%、4%、6% 的硝酸溶液进行稀释，对应得到 2%、4%、6% 的待测溶液。

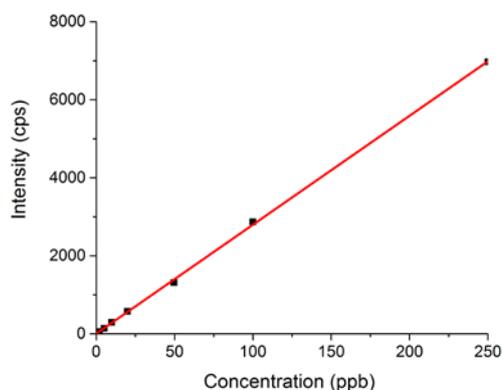
仪器调谐校正后，选择<sup>73</sup>Ge 做内标，KED 模式下测试梯度浓度的 Se 标准溶液（仪器参数见表 2），根据标准溶液的浓度与对应的<sup>77</sup>Se 信号强度（表 3）建立 Se 元素的标准曲线（图 1），标准曲线线性相关系数为 1，线性良好，检出限为 0.093 ng/g（表 4）。

表2 ICP-MS 测试参数

参数	数值	参数	数值
RF 功率	1550 W	冷却气流速	14 L/min
采样深度	5 mm	辅助气流量	0.8 L/min
雾化气流速	1 L/min	碰撞气流速	4.9 L/min

表3 KED模式下Se标准溶液的浓度及对应的离子强度

样品编号	<sup>77</sup> Se浓度(ppb)	<sup>77</sup> Se强度(cps)
blank	0	2
std1	1.879 (2.000)	57
std2	4.940 (5.000)	143
std3	9.802(9.870)	295
std4	20.113 (19.900)	576
std5	49.798 (49.640)	1316
std6	100.442 (99.930)	2873
std7	249.792 (250.040)	6969



● 图1. KED模式下Se元素标准曲线

表4 KED模式的检测方法参数

元素	线性范围(ng/g)	相关系数	检出限(ng/g)	背景等效浓度(ng/g)	在线内标
<sup>77</sup> Se	2-250	1.0000	0.093	0.065	<sup>73</sup> Ge

用Se标准曲线分别对2%、4%、6%的待测溶液中Se含量进行测试，并计算Se的回收率，

$$\text{Se回收率} = \frac{\text{Se 测试值}}{\text{Se 理论值}} \times 100\%$$

从表5中可以看到溶液的酸度对Se回收率有明显影响，酸度越大Se回收率越

低，这主要是因为溶液酸度越大，其粘度就越大，在雾化器中的雾化效率越低，因此得到的元素回收率越低。逐步稀释法得到的样品溶液酸度只是略高于2%（不超过3%），因此其回收率所受影响并不大，可以认为对测试结果基本无影响。

表5 溶液酸度对Se元素回收率的影响

溶液酸度	标准物质浓度(μg/ml)	称重(g)	定重(g)	Se理论值(ng/g)	Se测试值(ng/g)	Se回收率(%)
2%	100	0.10511	49.51580	194.75	193.37	99.3
4%	100	0.09065	48.88393	170.13	164.76	96.8
6%	100	0.10247	49.51939	189.84	172.95	91.1

为了检测逐步稀释法测试的准确性，用标准物质进行加标回收率测试，称取已知浓度的标准物质，按照表6方法消解样品，参照表7进行逐步稀释，测试得到的Se元素的回收率99.6%-104.3%，说明这种方法测试结果非常准确。对未知样品用逐步稀释法稀释处理后进行测试，得到Se含量33.33%（表8）。

表6 样品消解参数

消解介质	消解温度(°C)	消解时间(min)
HNO <sub>3</sub> 8 ml	150	10
	180	10
	220	35

表7 逐步稀释法对空白加标样品回收率的测试结果

样品编号	称重(mg)	定重(g)	取重(g)	终重(g)	Se理论值(ng/g)	Se测试值(ng/g)	Se回收率(%)
标1	0.6	55.85805	0.41130	50.39747	87.66	87.30	99.6
标2	0.6	56.97947	0.46790	50.69732	97.19	101.37	104.3

表8 逐步稀释法测试未知样品结果

样品编号	称重(mg)	定重(g)	取重(g)	终重(g)	Se测试值(ng/g)	Se含量(%)
1	4.18	190.25067	1.01270	50.96946	145.50	33.33

逐步稀释法省去低温赶酸步骤，可以节约大量的时间成本，非常适用于Se、

Hg这类易挥发元素的测试，大大提高了测试效率及测试准确性。

### 参考文献

- 1.HG-ICP-MS 同时测定生物样品中痕量 As, Se, Hg 陈树榆\*, 张志峰, 余华明 分析试验室. 2004, 23(5), 9.
- 2.ICP-MS 测定食品原料中微量硒 聂刚, 李忠宏, 杜双奎, 朱占焯 中国测试. 2015, 41(11), 40.
- 3.乙醇基体改进ICP-MS法直接测定植物中的痕量As、Se、Sb和Te 李艳香, 梁婷, 汤行, 刘先国, 胡兆初, 胡圣虹\* 分析试验室. 2010, 29(5), 29.

### 致谢

感谢朱道本先生课题组提供样品!

## 杂核扩散序谱技术及应用

► 崔洁 向俊锋

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

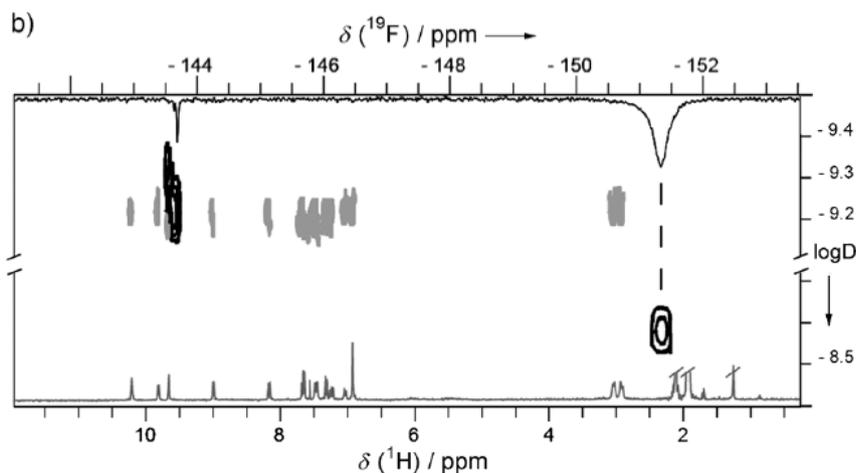
核磁共振的扩散序谱 (Diffusion Ordered Spectroscopy, DOSY) 是目前测量液体样品的自扩散系数的一个重要的方法, 它通过脉冲场梯度 (Pulsed Field Gradient, PFG) 对溶液中分子的平移运动进行空间编码, 在分子的扩散运动 (用扩散系数D表示) 与梯度场强度g之间建立起明确的关系:<sup>[1]</sup>

$$I = I_0 e^{-D\gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})} \quad \text{公式 (1)}$$

其中: I表示施加梯度脉冲之后测得的信号强度,  $I_0$ 是未加梯度场脉冲时测得的信号强度, D是分子的自扩散系数,  $\gamma$ 是所观测对象原子核的磁旋比, g是梯度场强度,  $\delta$ 是梯度场脉冲宽度,  $\Delta$ 是一对梯度场脉冲之间的间隔时间, 即扩散时间。

由于质子在核磁检测中具备高灵敏度的特点,  $^1\text{H}$ -DOSY实验已经成为一种较普遍使用的手段<sup>[2]</sup>, 广泛应用于超分子、分子自组装、分子探针、主客体识别等的研究中。但是, 当研究体系为无机成分或者氢谱中存在谱峰重叠无法分辨的

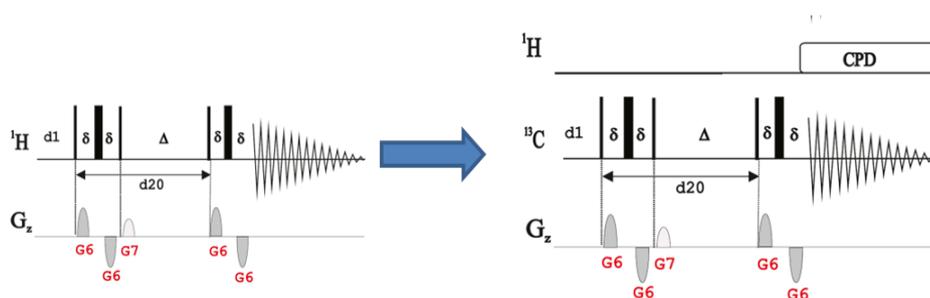
情况下， $^1\text{H}$ -DOSY无法满足分析的需要，只能借助其他磁性核进行表征，于是杂核DOSY方法填补了 $^1\text{H}$ -DOSY无能为力的领域，两者协同合作，有可能解决各类复杂体系的成分分析、分子间相互作用等，进而拓展了扩散序谱的应用范围。目前，根据文献报道，杂核扩散技术已经成功应用于主客体识别、分子相互结合的确证及其他相关领域<sup>[3]</sup>。如Freye等人就利用 $^1\text{H}$ 和 $^{19}\text{F}$ 的扩散核磁（图1），解释了一种新型的二聚体贯通式配位笼中卤离子的协同结合机制<sup>[4]</sup>。



● 图1. 化合物 $[\text{BF}_4@6]$   $^{19}\text{F}$ 和 $^1\text{H}$  DOSY叠加图谱，从图上可以清楚看出 $\text{BF}_4^-$ 离子被包含在双笼6中(其中， $\log D$ =扩散系数D的对数<sup>[4]</sup>)

但是，由于杂核一般弛豫时间长，检测灵敏度低，以及硬件、实验方法等方面的限制，目前杂核DOSY应用还不是特别普遍。结合化学所的科研需求，充分发挥扩散实验无需分离样品进行检测的优势，基于氢的扩散脉冲序列，在600M谱仪上探索了多类杂核DOSY实验方法，并在多个体系（离子液体、电解质等）的动力学检测中表现出非常优越的性能。

杂核DOSY与 $^1\text{H}$ -DOSY在实验方法上有所不同。首先，由于氢的偶合作用，杂核谱图裂分复杂，影响谱峰分辨。为了去除偶合裂分的干扰，需要在原扩散脉冲序列(stebpgp1s)基础上，增加第二个通道(图2)，用于在杂核DOSY采样阶段的氢去偶(stebpgpig1s)，从而克服偶合作用引起的碳谱或杂核谱裂分复杂的缺点。同时反门控去偶的设计也保证了碳谱或杂核谱的定量性能，确保数据处理过程中扩散系数拟合的准确性。

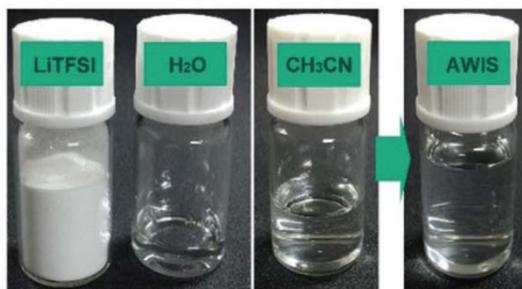


● 图2. 扩散序谱脉冲序列图

左：原扩散脉冲序列(stebpgp1s)；右：用于杂核的扩散脉冲序列(stebpgpig1s)

此外，从公式1中可见，信号衰减与梯度强度是 $\gamma^2$ 的关系，所用的梯度场强度与核的磁旋比 $\gamma$ 值密切相关，如，在扩散实验中直接观测 $^{13}\text{C}$  ( $\gamma=6.728286\times 10^7\text{rad s}^{-1}\text{T}^{-1}$ ) 所用梯度场强度是 $^1\text{H}$  ( $\gamma=26.75222\times 10^7\text{rad s}^{-1}\text{T}^{-1}$ ) 梯度强度的16倍。当使用与 $^1\text{H}$ -DOSY同样的DOSY参数 ( $\Delta$ 、 $\delta$ )，几乎很难看到衰减。为了提高衰减速率，根据实测体系的扩散速率及观测核的性质，适当增大扩散时间 $\Delta$ 及梯度场脉冲宽度 $\delta$ ，以得到信号衰减完全的曲线。

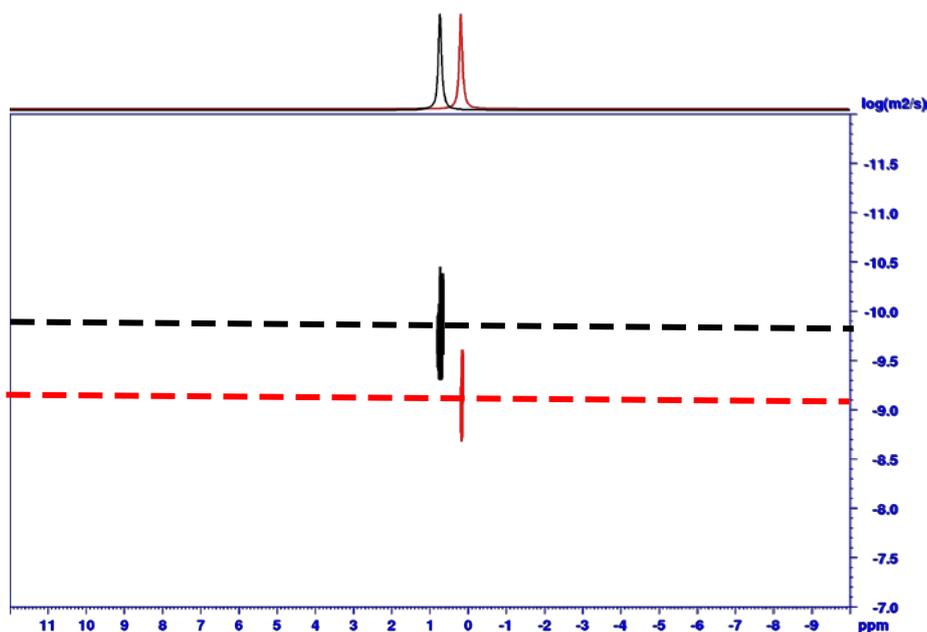
这是杂核 DOSY 应用到电解质中的例子<sup>[5]</sup>：超高浓度 21 M 的 LiTFSI/ $\text{H}_2\text{O}$ “water in salt” (WIS) 电解液，其具有比传统水系电解液更宽的稳定电压窗口，然而，该类高浓度的水系电解液由于 Li 阳离子和 TFSI 阴离子之间较强的相互作用，限制了离子的自由移动，导致电解液粘度高和电导率低。该工作中将乙腈作为共溶剂加入到上述 LiTFSI/ $\text{H}_2\text{O}$  体系，制备低浓度的“acetonitrile/water in salt” (AWIS) 混合电解液。



● 图3. AWIS (acetonitrile/water in salt) 混合电解液的准备

良好电导率、高锂离子迁移数、宽电化学窗口是电解质的关键参数<sup>[6]</sup>。在此工作中，利用脉冲场梯度核磁共振技术 (DOSY) 测量了电解质 LiTFSI 中锂离子

和TFSI阴离子的扩散速率，并计算得出锂离子的迁移数（公式2）。



● 图4. Li离子的扩散谱图：21M WIS（黑色）；5M AWIS（红色）

$$t_{Li} = \frac{D_{Li}}{D_{Li} + D_F} \quad \text{公式 (2)}$$

结果表明（表1），5M AWIS电解液中阳离子和阴离子的扩散率高于21M WIS电解液中的扩散率。从离子扩散率得到的5M AWIS电解质的锂迁移数（ $t_{Li}$ ）为0.58，该值低于21MWIS电解液（0.73），这是由于在WIS电解液中加入乙腈时，阴离子扩散率（11.3倍）的增加大于阳离子扩散率（5.9倍）。

表 5M AWIS和21M WIS电解液中测得的锂离子（ $D_{Li}$ ）和氟离子（ $D_F$ ）的扩散系数

	$D_{Li} (m^2 s^{-1})$	$D_F (m^2 s^{-1})$
5 m AWIS	$3.02 \times 10^{-10}$	$2.24 \times 10^{-10}$
21 m WIS	$5.15 \times 10^{-11}$	$1.98 \times 10^{-11}$

以上实验结果表明，乙腈的引入使得电解液的粘度降低的同时电导率升高。同时保证了不燃性和宽的稳定电压窗口。杂核DOSY技术为其新型电解质的性能改进提供了非常直接、有力的证据。

目前，杂核DOSY技术已经应用到了所内多个课题组研究工作中，如刘瑞刚课题组、刘志敏课题组、王丛洋课题组等，已经开展的有 $^{13}C$ 、 $^{19}F$ 、 $^{23}Na$ 、 $^7Li$ 的扩散序谱实验。新方法的应用效果还需要更多不同体系的进一步验证，希望在核

磁组和课题组的共同努力下,将该技术拓展到更多的活性核研究中,从而为不同的科研体系的开展提供坚实的技术支撑。

### 参考文献

1. Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications, Johnson C S. *ChemInform*, 1999, 30, 203.
2. Using pulsed gradient spin echo NMR for chemical mixture analysis: How to obtain optimum results, Antalek B. *Concept Magn Reson*, 2010, 14, 225.
3. Liquid Structure with Nano-Heterogeneity Promotes Cationic Transport in Concentrated Electrolytes, Oleg. Borodin. *ACS Nano*, 2017, 11, 10462.
4. Allosteric Binding of Halide Anions by a New Dimeric Interpenetrated Coordination Cage, Sabrina Freye, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51, 2191.
5. Safe and high-rate supercapacitors based on “acetonitrile/water in salt” hybrid electrolyte, Qingyun Dou. *Energy Environ. Sci.*, 2018, 11, 3212.
6. Hybrid Aqueous/Non-aqueous Electrolyte for Safe and High-Energy Li-Ion Batteries, F. Wang, *Joule*, 2018, 2, 927.

### 致谢

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!

## 制备高质量液体核磁样品—核磁制样三要素

► 王巍 向俊锋

(分析测试中心核磁组 Tel : 010-62627946 Email : wangwei429@iccas.ac.cn)

核磁共振技术直接研究固体样品时,信号相对较粗糙,反映不出所需的精细结构。因此,一般把固体样品溶解在合适的溶剂中进行采样。液体样品同样也需要合适的溶剂。可在有机溶剂中添加少量的参考成分,同时保证样品尽可能纯净。需要特别注意的是,样品中不能混有磁性杂质,否则会扭曲磁场降低谱仪的分辨

率。

优质的样品是核磁测试的关键，核磁样品的三要素是“选择材料、加工工艺优质的核磁管”、“溶解度良好且保存良好的氘代试剂”以及“适当的样品浓度及均匀的溶液”。以下作为详细说明：

## 一、优质的核磁管

选择符合条件的优质核磁管是确保核磁共振谱图准确的前提之一。

### 1. 同心度与凸度

同心度(concentricity)和凸度(camber)是核磁共振样品管用来区分适用磁场强度的重要指标。

同心度(concentricity): 核磁共振管壁厚度的最大变化，即指内壁和外壁的圆心不能完全重合度。同心度大，将使部分样品在旋转中不能保持严格的圆柱形，从而降低磁场在样品内的均匀水平，减低信号分辨率，导致图谱不准确。

凸度(camber): 将核磁管两端固定旋转，管体中部外表面偏离中心线的最大值与最小值的差称为凸度。凸度大，会直接引起核磁共振管在旋转时的配平，加大共振峰的宽度。过大的凸度甚至能引起管和探头内壁的碰撞，造成探头损伤。

总之，同心度与凸度越小的核磁管，越有利于核磁匀场，核磁图谱准确性更有保障。

### 2. 管体材质

不同的检测条件需要使用不同材质核磁管，才能保证检测结果的准确性。核磁管的材质主要有以下 4 种：

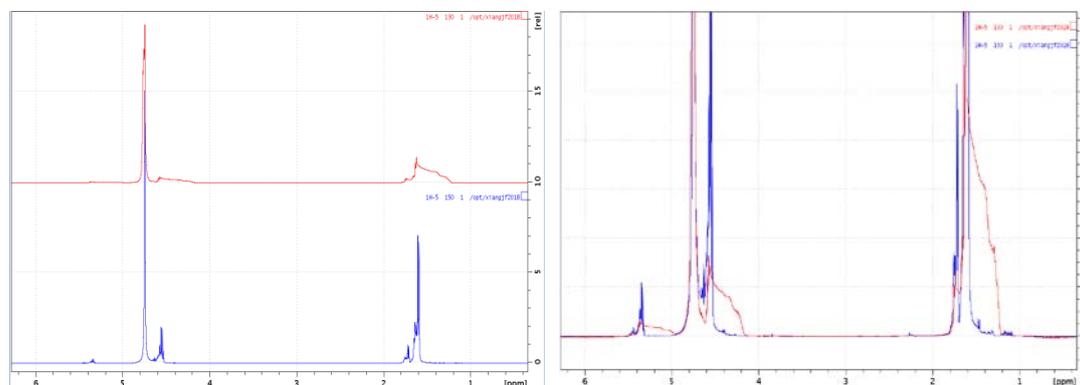
1) 美国材料试验标准(ASTM)一等 B 级硼硅酸盐玻璃(N-51A)材料：适用于常温常压下无热梯度变化的核磁检测。

2) 美国材料试验标准(ASTM)一等 A 级硼硅酸盐玻璃(Pyrex®)材料：具有很强的抗热变形能力和极低的热膨胀率，适用于在冷冻、融化循环和剧烈变温情况下的核磁检测。

3) 天然石英材料：265nm 以上光透过率超过 85%，适合光化学研究;同时硼含量 $\leq 0.1$  ppm，可用于 11B NMR 及电子顺磁共振检测。

4) 人工石英材料：190nm 以上光透过率超过 95%，适合光化学研究;同时硼含量 $\leq 0.01$  ppm，可用于 11B NMR 及电子顺磁共振检测。

制样时应针对不同测试条件选择合适的高品质核磁管。尤其是在做变温实验时，核磁管的质量是测试成功的关键。如图 1，更换高品质核磁管后，得到了理想的图谱。



● 图 1. 优劣核磁管样品测试图谱比较

### 3. 管体表面光洁度

样品管需保持清洁，避免沾染灰尘或划伤。不能使用试管刷刷洗样品管。需要注意的是，新的 NMR 样品管不一定是干净的。样品管可用丙酮或蒸馏水清洗。使用洗涤液后必须立即冲洗干净，以免腐蚀样品管。NMR 样品管可以进行烘干，但不能超过 50℃，否则会变形。干燥最好采用吹入干燥氮气的方法。

## 二、溶解性良好的氘代溶剂

样品充分提纯和干燥后，下一步就是选择合适的溶剂。由于氘是最常用的锁场核，样品一般溶解在氘代溶剂中（氘代溶剂是指溶剂中的大部分氢，一般大于 99%，被氘取代）。氘代溶剂有很多种，常用的有氘代丙酮（acetone-d<sub>6</sub>）、氘代苯、（benzene-d<sub>6</sub>）、氘代氯仿（chloroform-d）。

在选择溶剂时需要考虑以下因素：

1. 样品在所选择的氘代试剂中溶解度越大越好。争取在同等体积内溶进大量的样品，可以增大实验的灵敏度。当样品量很少时，高溶解度就显得非常重要；

2. 显然日常的 NMR 实验有许多样品需要测量，样品成本是必须考虑的因素，首要规则，氘代原子越多，价格越高。选择合适的、性价比高的氘代溶剂；

3. 尽量选择黏度低的溶剂以提高仪器的分辨率；

4. 对于室温以上或以下的实验，溶剂的凝固点和沸点必须满足需求。另外，

样品的溶解度会随温度而改变；

5. 对于溶解度不高的样品，尽量使用高氘代度的试剂以降低氘代溶剂残余质子峰的影响；

6. 带活泼氢的试样尽量选择不含活泼氢的试剂，避免该峰因氢氘交换而无法在图谱中表现出来；

7. 溶剂自身不可避免产生的 NMR 信号也会出现在频谱区域，这些溶剂峰不应和样品信号重叠。所选氘代溶剂的谱峰应尽量少，不掩盖需要观测的谱峰；

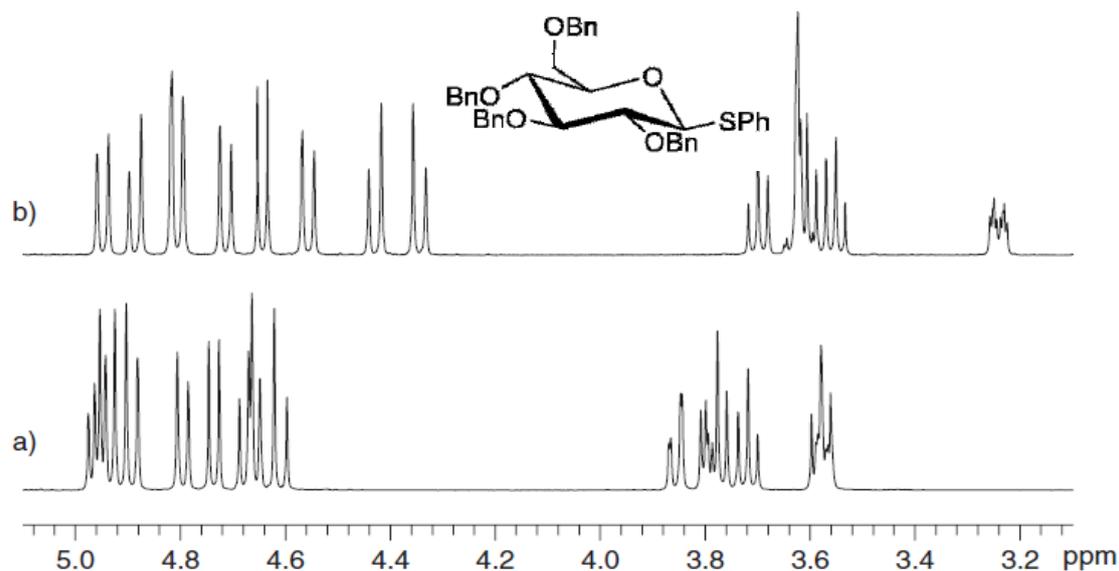
8. 氘代溶剂最好与测试样品不发生反应；

9. 适当的芳香氘代溶剂有可能简化图谱；

10. 几乎所有的 NMR 溶剂中都有水的痕迹。由于许多溶剂都有吸湿性（它们从大气中吸收水），储存时间越长，水含量越高。水峰的存在会极大降低 NMR 谱图的质量。降低水含量有两种有效的方法：使用干燥剂进行过滤、使用分子筛储存溶剂。

表 常用氘代试剂的相关物理化学性质表

氘代溶剂	化学式	分子量	熔点/°C	沸点/°C	$\delta_{1H}$	$\delta_{13C}$	$\delta_{H_2O/HDO}$
丙酮	$C_3D_6O$	64.12	-93.8	55.5	2.05	29.92, 206.68	2.84/2.81
乙腈	$C_2D_3N$	44.07	-46	80.7	1.94	1.39, 118.69	2.12
苯	$C_6D_6$	84.15	6.8	79.1	7.16	128.39	0.4
氯仿	$CDCl_3$	120.38	-64.1	60.9	7.24	77.23	1.55
二氯甲烷	$CD_2Cl_2$	86.95	-97	39.5	5.32	54	1.52
重水	$D_2O$	20.03	3.8	3.8	3.8		
二甲亚砜	$C_2D_6OS$	84.17	20.2	190	2.50	39.51	3.3
甲醇	$CD_4O$	36.07	-99	65	4.87/3.31	49.15	4.86
吡啶	$C_5D_5N$	84.13	-41	114	8.74/7.58/7.22	150.35/135.91/123.87	4.97
四氢呋喃	$C_4D_8O$	80.16	-108	64	3.58/1.73	67.57/25.37	2.42
四氯化碳	$C_2D_2Cl_4$	169.86	-43	146	5.91	74.2	1.5
三氟乙酸	$C_2DF_3O_2$	115.03	-15	71	11.5	164.2/116.6	11.5

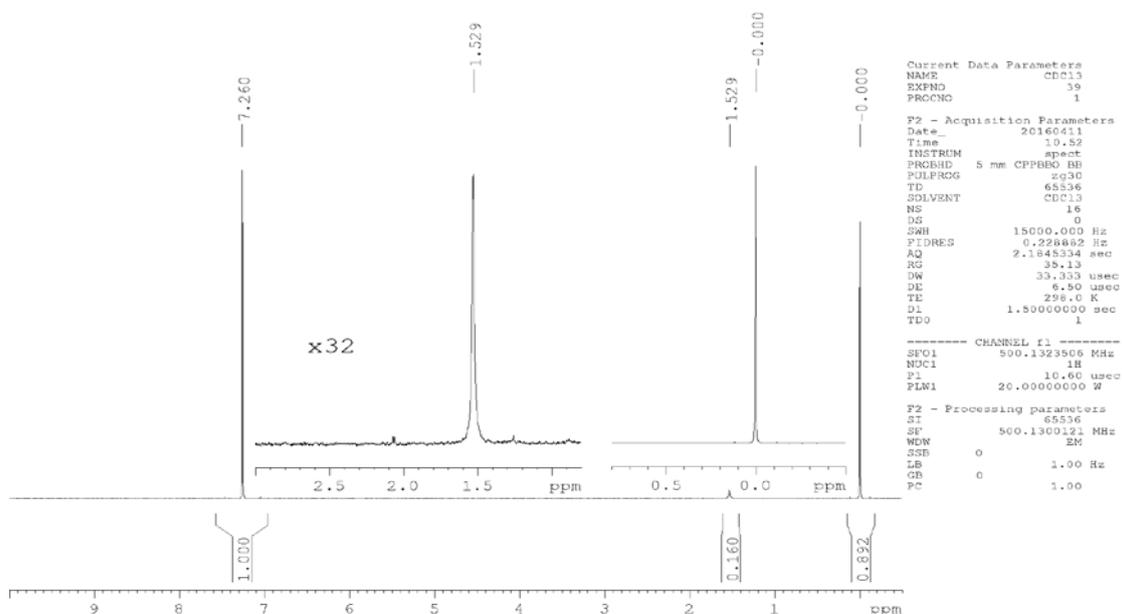


● 图 2. 变换溶剂提高谱峰分辨率

(糖在氘代氯仿(a)和氘代苯(b)中的氢谱:(b)中出现 3.2ppm 处的谱峰,该峰在(a)中被 3.6ppm 的谱峰所掩盖)

氘代溶剂在未使用时,需妥善保存。①氘代氯仿和四氢呋喃性质活泼,建议在-5-5℃避光保存,其中氘代氯仿每半年检测一次以防变质;②氘代乙腈避光和避湿保存,每年检测一次以防变质;③其它氘代试剂在避光和避湿条件下可长期保存。

不同厂家生产的不同溶剂质量不同,会得到不同质量的核磁图谱。如图 3,所库房提供的小瓶装氘代氯仿溶液核磁共振氢谱(CIL 产品)通过 500 兆核磁扫描 16 次进行测试,在 0.8-3.0 ppm 之间出现了两处微弱的杂峰。7.26ppm、1.529ppm 和 0.00ppm 谱峰分别归属于氘代氯仿的残余质子、微量水质子和 TMS 甲基质子峰。



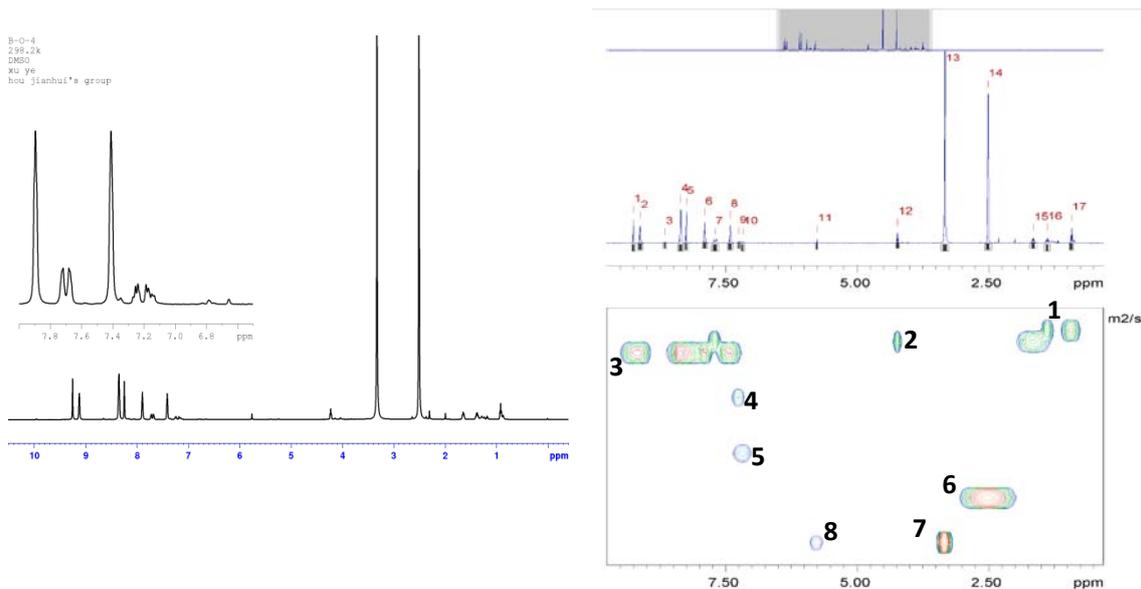
● 图 3. 氘代溶剂生产厂家不同对样品的影响 (500MHz)

### 三、浓度适当及溶液均匀的样品

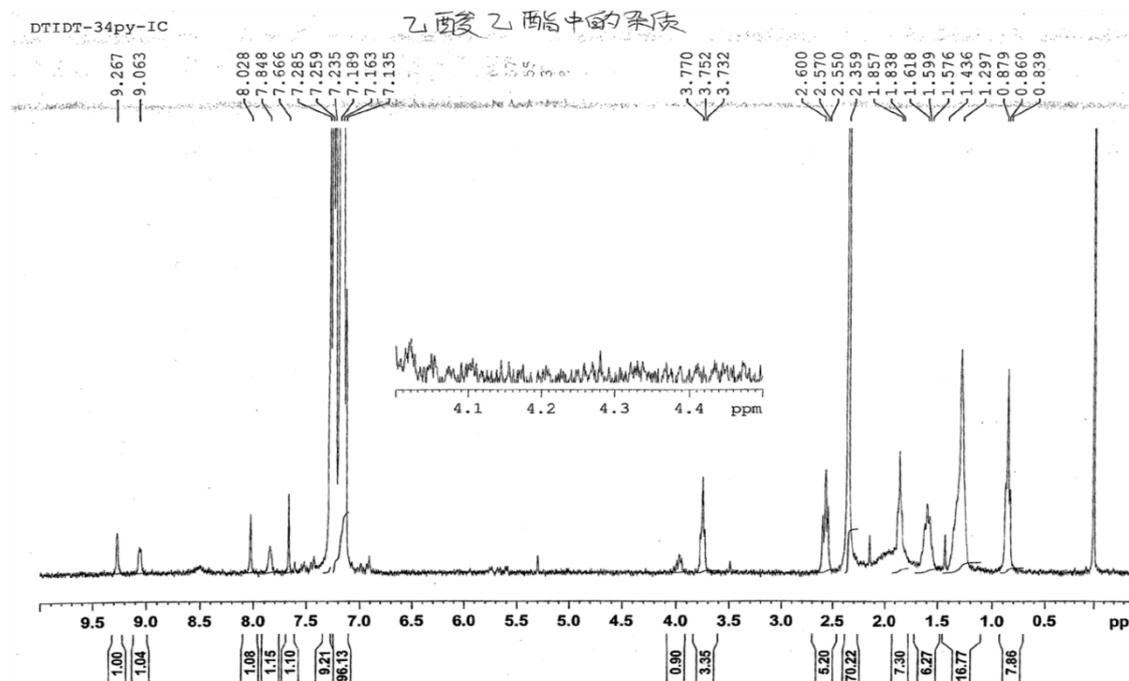
#### 1. 样品洁净度及纯度

制备样品时，最好能够直接将 NMR 溶液过滤进样品管避免沾染灰尘和其他污物。可能的过滤品有棉絮、玻璃纤维（注意当使用玻璃纤维时可能会出现的问题，特别是测量  $T_1$  值时）或者硅藻土。拿住样品管时要拿住上部。

另外，实验过程中的溶剂残留也是影响图谱质量的很大因素。常见的有石油醚、乙酸乙酯等溶剂。如图 4 所得测试氢谱，可看出样品不纯，含有其他成分。经扩散核磁测试分析得到，导致这一不良结果的是乙酸乙酯溶剂中所含的杂质所致。因此，为保证得到纯净的图谱，实验时应注意对溶剂纯化，避免溶剂及杂质残留。



● 图 4. 不纯样品图谱及扩散核磁分析



● 图 5. 乙酸乙酯溶剂残留物的核磁共振氢谱

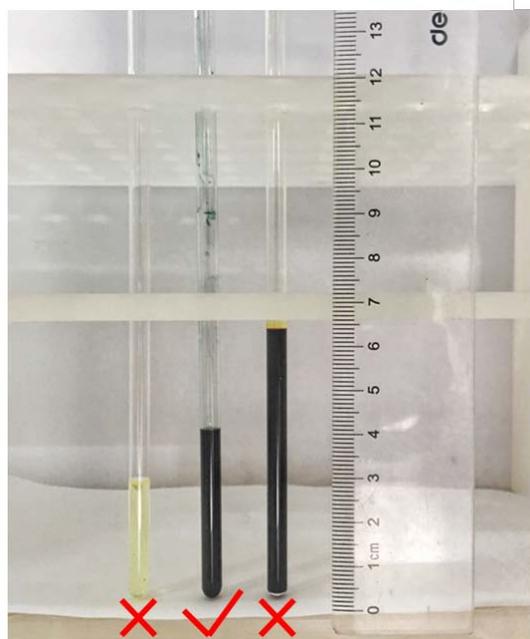
## 2. 氘代试剂

尽可能使用氘代试剂。可添加少量（大约 0.1%）参考化合物——四甲基硅（Tetramethylsilane, TMS）、确认 TMS 峰信号强度低于最强的样品或者溶剂峰（否则会降低接收器增益，使信噪比变差）。

## 3. 样品浓度

对于氢谱，3 到 10 毫克样品足够。对于分子量较大的样品，有时需要浓度

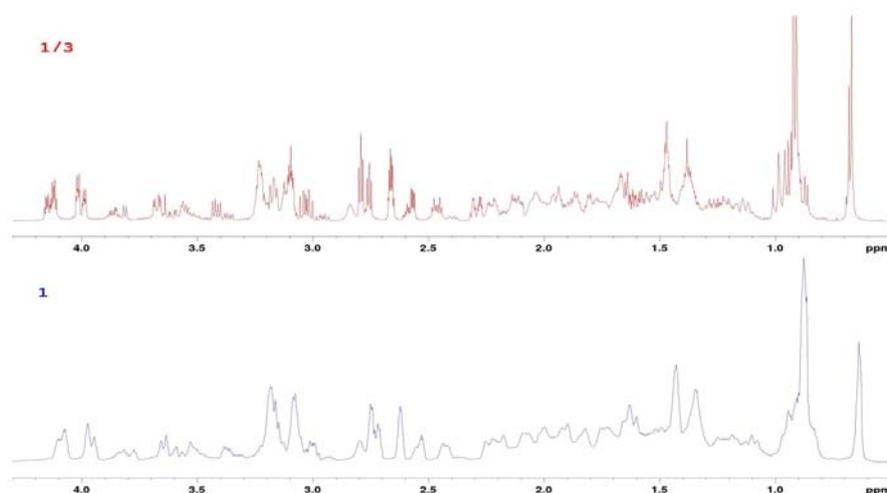
更大的溶液。但浓度太大会因饱和或者粘度增加而降低分辨率。对于碳谱和杂核谱，样品浓度至少为氢谱的 5 倍（一般在 100 毫克左右）。



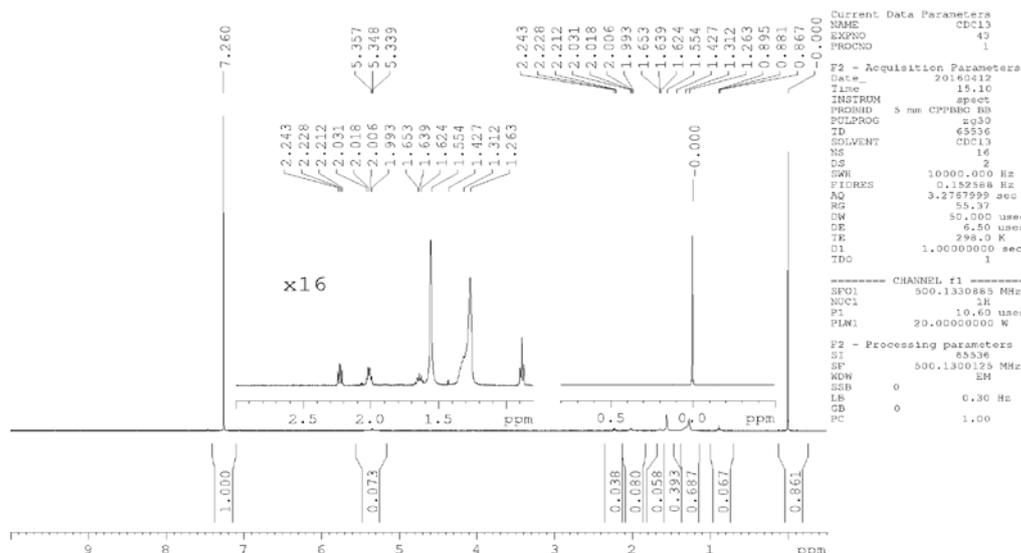
● 图 6. 样品管中样品高度比较

对于二维实验，为了获得较好的信噪比，样品浓度必须够。根据经验，25 毫克样品足以完成所有实验，包括氢碳相关 HMBC 实验。如果样品只有 1 到 5 毫克，只能完成同核氢氢相关实验，与碳相关的实验至少需要过夜。

保持样品高度或者体积一致。这将减少换样品后的匀场时间。对于 5 毫米核磁管，样品体积应为 0.6 毫升或者样品高度为 4 厘米。



● 图 7. 同一样品不同浓度下（稀释三倍）的氢谱（500MHz）



● 图 8. 制样过程中引入杂质后图谱 (500MHz)

(样品在转移过程中引入了大量杂质, 在 0.8-5.5 ppm 之间出现了多处明显杂峰)

综上, 选择材料、加工工艺优质的核磁管、选择溶解度良好保存良好的氘代溶剂、得到浓度适当溶液均匀的样品是制备高质量核磁样品得到优质核磁图谱极其重要的三要素。在制样时, 同样需要注意溶剂自身的影响以及在分析时核磁温度、频率等相关参数的选择。希望每位科研人员都能够熟练掌握样品制备技巧, 得到高分辨核磁图谱。

## 致谢

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!

## 仪器及功能介绍

### 气质联用仪原理以及在绿色碳科学中的应用

► 魏金超

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

气质联用 (GC-MS) 技术始于 20 世纪 50 年代后期, 随着计算机软件和电子技术的发展, 此技术日益成熟, 功能日趋完善, 兼有色谱分离效率高、定量准确以及质谱的选择性高、鉴别能力强、能提供丰富的结构信息、便于定性等特点,

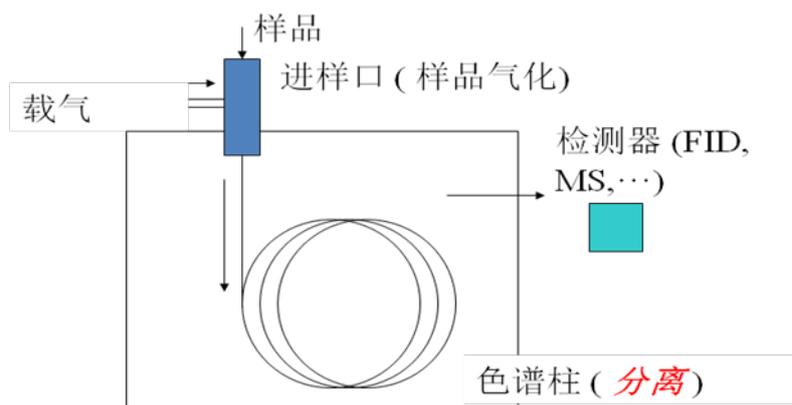
是一种很完善的现代分析方法<sup>[1]</sup>。本文主要介绍了 GC-MS 的原理、结合直接进样杆快速确定化合物分子组成以及在绿色碳科学中的应用。

## 一、气质联用仪的组成及原理

气质联用是由气相色谱和质谱两个部分组成的，气相色谱将复杂混合物试样各组分分离后，依次流入气相色谱仪与质谱仪器之间的接口装置，并顺序进入质谱系统，经质谱分析检测后，按时序将测试数据传递给计算机系统并存储，下面将分别介绍这两个部分。

### 1.1 气相部分

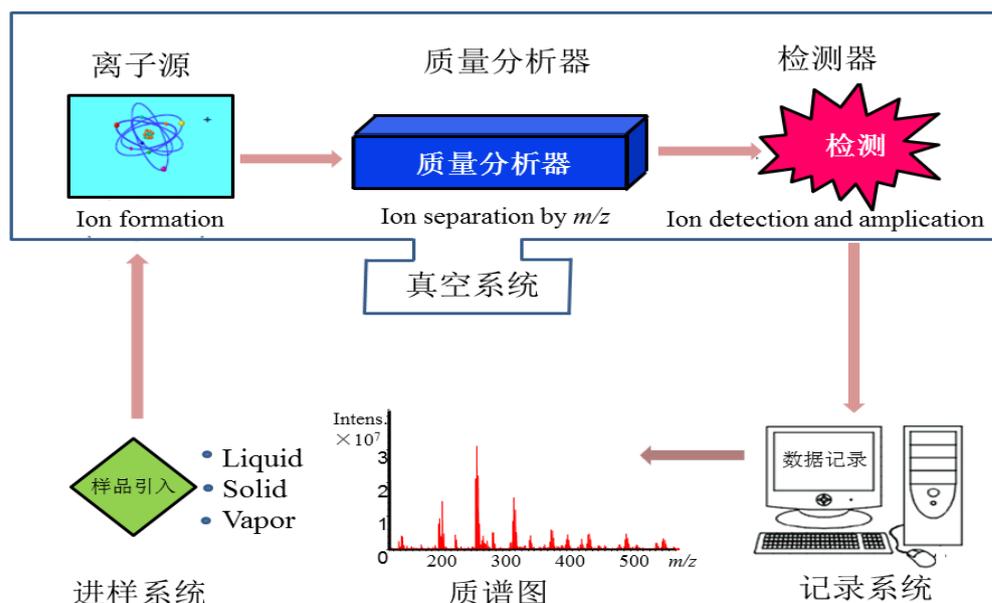
图1是气相的结构图，气相色谱目的就是分离样品组分。待分析样品在汽化室汽化后被载气带入色谱柱，柱内含有固定相，由于样品中各组分的沸点、极性 or 吸附性能不同，每种组分都倾向于在流动相和固定相之间形成分配或吸附平衡来实现混合物的分离。当组分流出色谱柱后，立即进入质谱。



● 图1. 气相结构图

### 1.2 质谱部分

质谱通常由进样系统、离子源、质量分析器、检测器和数据记录系统组成。为了保证质谱仪的分辨率和灵敏度，减少干扰信号，其中质量分析器和检测器需要在真空状态下工作，离子源和质量分析器是质谱的核心部件，决定着质谱的性能。如图2所示。



● 图2. 有机质谱结构图

进样系统的作用是根据电离方式的需要将样品送入离子源的适当部位，气质联用仪就是气相部分充当了质谱的进样器；离子源的功能是提供能量使中性原子或分子离子化，离子源的性能影响离子化效率，很大程度上决定了质谱仪的灵敏度。气质联用仪常见离子源是 EI 源；质量分析器是在电场或磁场的作用下，将离子源中产生的离子按质荷比大小依次分开的装置。对于定量分析，应选择灵敏度较高、重现性好的质量分析器；对于定性分析，应选择高分辨和质量精确度的质量分析器；检测器是记录质量分析器分离出来离子信号的装置，信号强度与离子多少成正比；记录系统是采集谱图和质谱信号输出的装置。

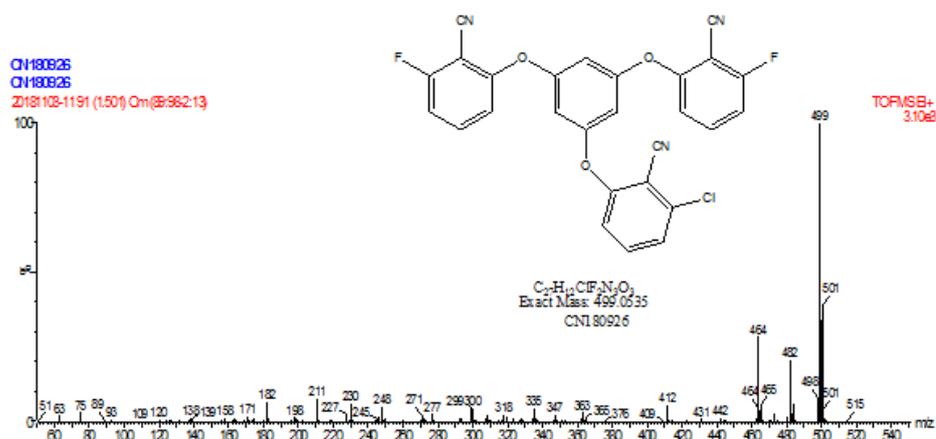
### 1.3 定性和定量分析

通过 GC-MS 得到质谱图后，可由计算机检索标准谱库对未知化合物进行定性，常用的标准谱库有 NIST、Wiley/NBS，以及鉴定特定类化合物的专用谱库。由于 GC-MS 得到的总离子流色谱图的色谱峰面积与相应组分的含量成正比，可以采用色谱分析法中的归一化法、外标法、内标法等进行定量。

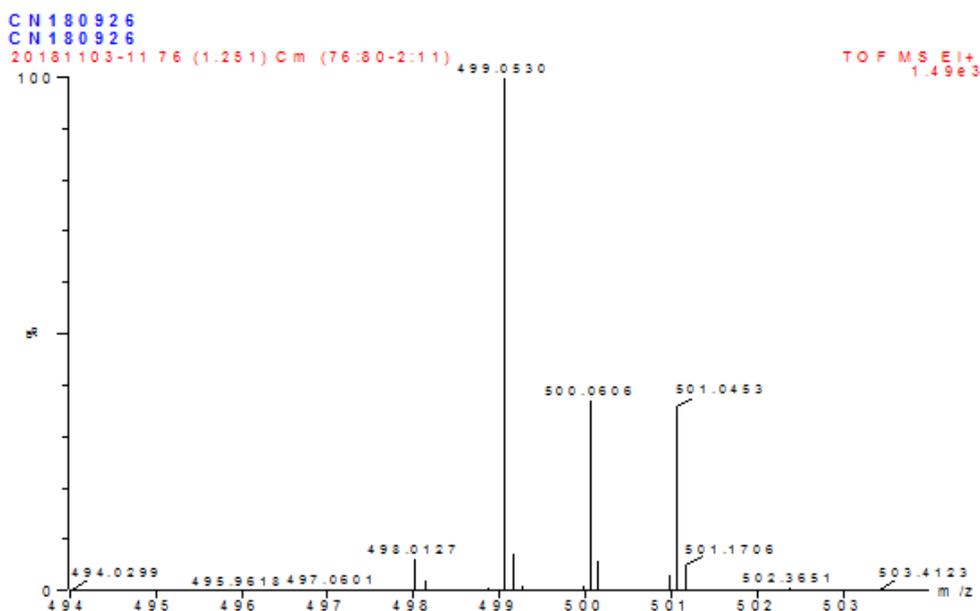
## 二、GC-MS 结合直接进样杆快速确定非极性、弱极性和难溶化合物分子组成

直接进样杆结合高分辨质谱联用技术具有快速、高效、针对性强的特点，在合成化合物和单一物质快速测定方面具备优势。GCT MS 具备高分辨率和高质量精度保证数据准确可靠，同时进样杆温度可升到 500 °C，可以准确确定非极性、弱极性和难溶化合物的分子组成。每年为所内 61 个课题组测试 EI 样品约 3000

多个, 这些化合物经统计分为 6 大类: (1) 含有 C、H 和 B 化合物(2)含有 C、H 和 Si 化合物(3)含有 C、H、S 和 卤素化合物(4)含有叠氮化合物(5)只含有 C 和 H 化合物(6)难溶化合物, 这些化合物共性是没有可以离子化的官能团或者是没有溶剂溶解, 使用其它离子源检测经常没有信号。下面以一个样品为例分析一下测试结果, 该样品沸点高、在常见溶液中溶解性差, 无法通过气相色谱分离, 故采用直接进样杆结合高分辨全扫描采集模式进行分析解决这一难题, 结果如下图所示。



● 图3. EI低分辨图



● 图4. EI高分辨图

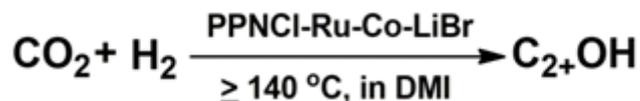
根据样品信息, 初步认为该化合物化学式  $C_{27}H_{12}N_3O_3F_2Cl$ , 从 EI 低分辨图

3 可以看到该化合物分子离子峰是 499, 从 EI 高分辨图 4 可以看到实测值是 499.0530, 理论值是 499.0535, 其质量偏差是-1.1ppm, 经计算得到该化合物的分子组成是  $C_{27}H_{12}N_3O_3F_2Cl$ , 与提供信息相符。同时, 进一步利用其同位素峰形, 其实测值与理论值完全吻合, 因此可正确判定该化合物。

### 三、气质联用技术在绿色碳科学中的应用

能源和环境是人类赖以发展的基础, 大约 80% 的能源供应来自于化石能源的燃烧, 燃烧过程中释放的二氧化碳 ( $CO_2$ ) 带来的温室效应是导致全球变暖和气候变化等问题的重要因素。近半个世纪以来, 地球的平均气温以每十年增加  $0.1 \sim 0.15 \text{ }^\circ\text{C}$  的幅度上升<sup>[2]</sup>。因此, 通过开发清洁能源从源头上实现  $CO_2$  的减排, 同时开展  $CO_2$  的固定及资源化利用, 是国内外普遍关注并且亟需解决的问题。 $CO_2$  是一种丰富、清洁、廉价、无毒、可循环利用的碳资源, 利用  $CO_2$  并使之转化为高附加值的化工产品, 具有重要的生态与社会意义。

近期科研人员发现, 在钌配合物和铈配合物等催化下, 二氧化碳和氢气发生氢化反应, 生成甲醇及多碳醇 ( $C_2+\text{OH}$ ), 合成路线如图 5 所示。该反应制得的多碳醇混合物有甲醇、乙醇、丙醇、2-甲基丙醇、丁醇、2-甲基丁醇、戊醇等, 通过使用 GC-MS 我们进行了详细研究。



● 图 5.  $CO_2$  加氢制  $C_2+\text{OH}$  的反应研究

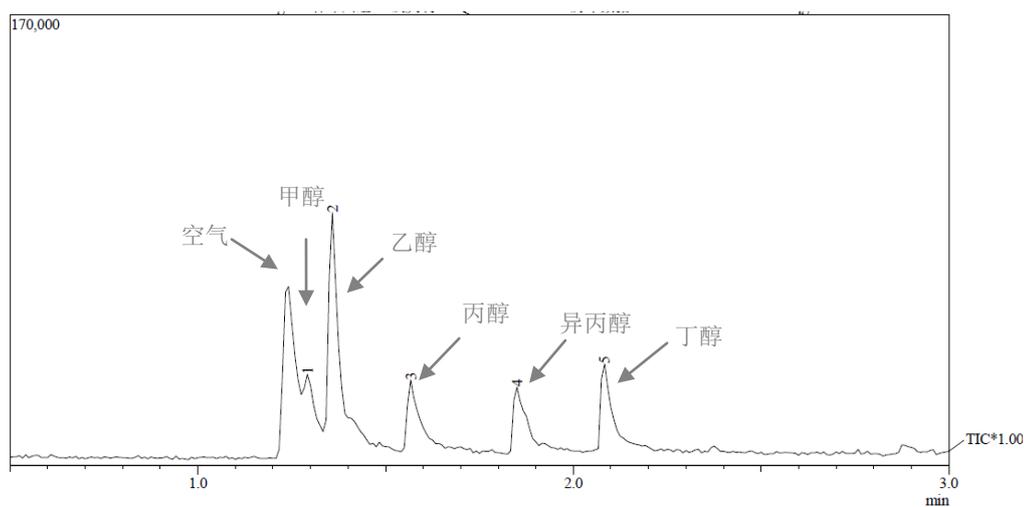
#### 3.1 优化液相和质谱条件

二氧化碳氢化反应使用的溶剂是 1,3-二甲基-2-咪唑啉酮 (DMI), 沸点高、热稳定性好。为了保护灯丝和倍增器, 在设定质谱条件时, 一定要考虑溶剂去除时间, 使溶剂峰通过离子源之后再打开灯丝和倍增器, 避免灯丝烧坏。

二氧化碳氢化产物为多碳醇, 极性相似, 色谱柱分离非常困难。通过调整进样量、载气流速、进样器温度、柱箱温度等条件, 确定了不同反应溶剂中不同多碳醇产物分离条件。表 1 是优化后的色谱和质谱条件。从图 6 中总离子流色谱图可以看到, 产物得到了很好的分离, 结合质谱数据, 这些分别是甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇及丁醇。

表 色谱和质谱条件

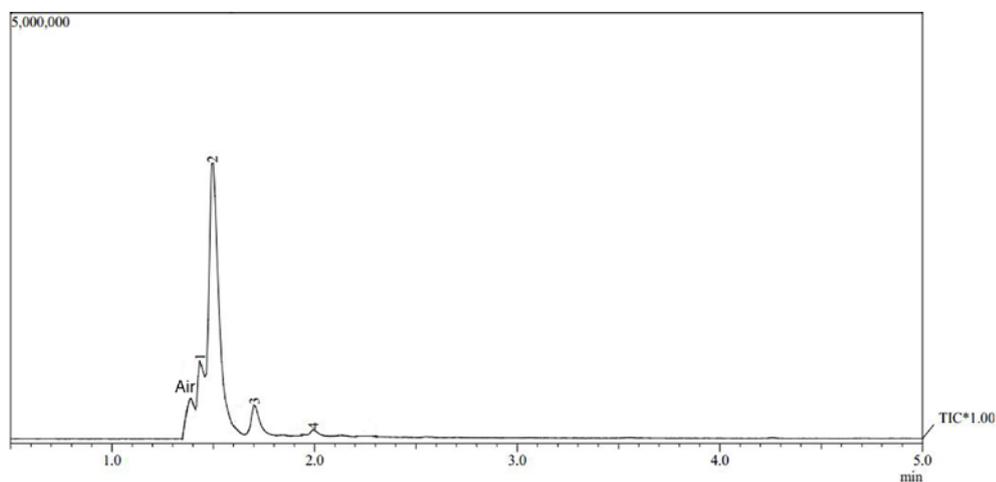
色谱柱型号:	DB-5MS	30m	0.25mm
柱温:	升温速率 °C/分	温度 °C	保持时间(分)
	-	50	5
	20	250	20
分流比:	10:1	离子源温度:	200 °C
进样口温度:	50 °C	电子能量:	70eV



● 图 6. 样品测试 GC-MS 图

### 3.2 反应机理的验证

通过分析不同反应时间段的产物，我们发现二氧化碳氢化反应，首先生成甲醇，随着反应时间延长，生成的甲醇含量逐渐降低，其他多碳醇含量逐渐升高。这种现象表明，二氧化碳氢化反应首先生成甲醇，之后甲醇再作为反应物用来生成其他多碳醇。为了验证这个设想，在反应前向反应体系中加入少量  $^{13}\text{CH}_3\text{OH}$ ，利用同位素进行示踪，对反应机理做进一步研究。

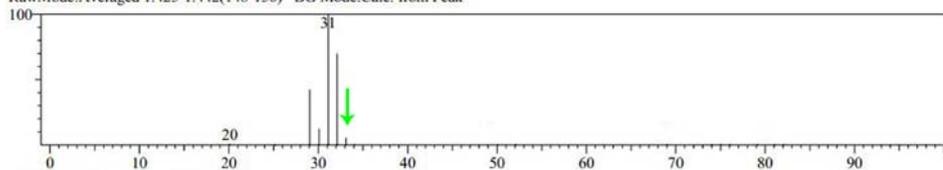


Library

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:1 R.Time:1.433(Scan#:149) MassPeaks:21 BasePeak:31.10(167434)

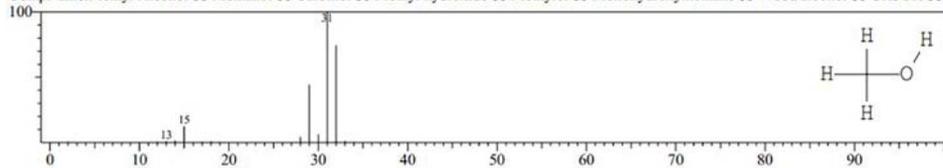
RawMode:Averaged 1.425-1.442(148-150) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:15 Library:NIST147.LIB

SI:96 Formula:CH4O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0

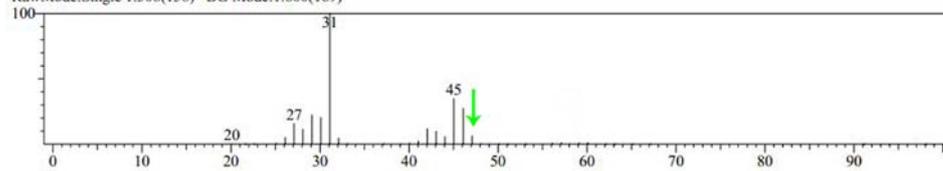
CompName:Methyl Alcohol SS Methanol SS Carbinol SS Methyl hydroxide SS Methylol SS Monohydroxymethane SS Wood alcohol SS CH3OH SS C



&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:2 R.Time:1.508(Scan#:158) MassPeaks:45 BasePeak:31.10(800308)

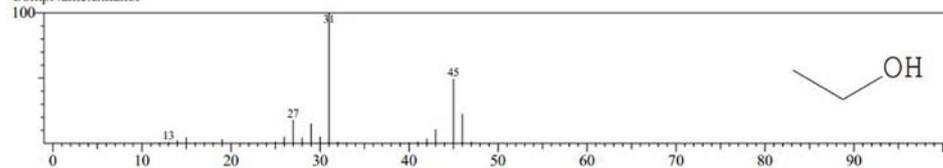
RawMode:Single 1.508(158) BG Mode:1.600(169)



Hit#:1 Entry:60 Library:NIST21.LIB

SI:84 Formula:C2H6O CAS:64-17-5 MolWeight:46 RetIndex:0

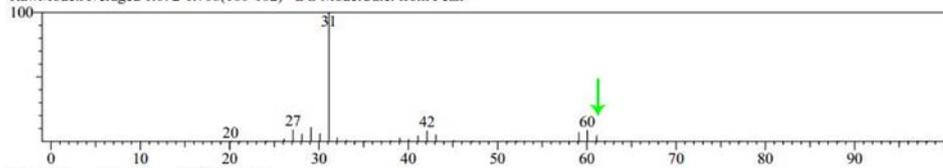
CompName:Ethanol



&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:3 R.Time:1.700(Scan#:181) MassPeaks:38 BasePeak:31.10(129421)

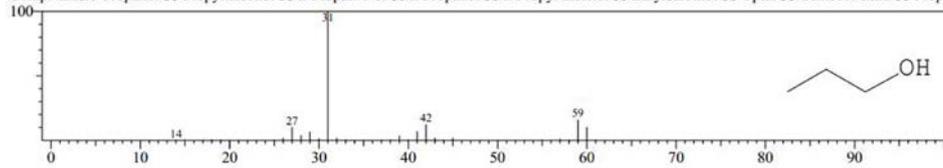
RawMode:Averaged 1.692-1.708(180-182) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:152 Library:NIST08s.LIB

SI:94 Formula:C3H8O CAS:71-23-8 MolWeight:60 RetIndex:562

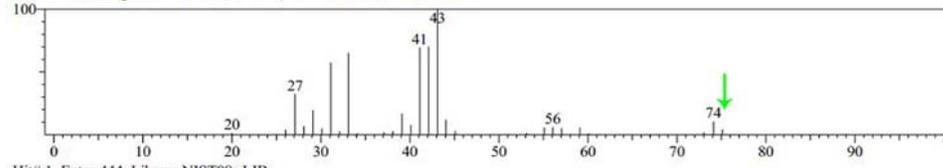
CompName:1-Propanol SS Propyl alcohol SS n-Propan-1-ol SS n-Propanol SS n-Propyl alcohol SS Ethylcarbinol SS Optal SS Osmosol extra SS Propa



&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:4 R.Time:1.992(Scan#:216) MassPeaks:43 BasePeak:43.10(8782)

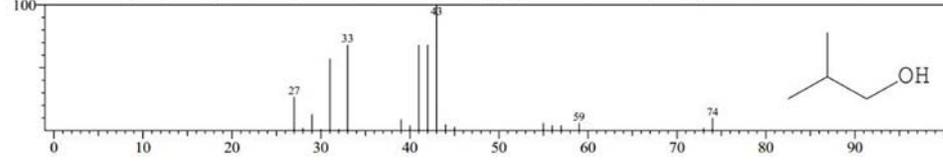
RawMode:Averaged 1.983-2.000(215-217) BG Mode:Calc. from Peak

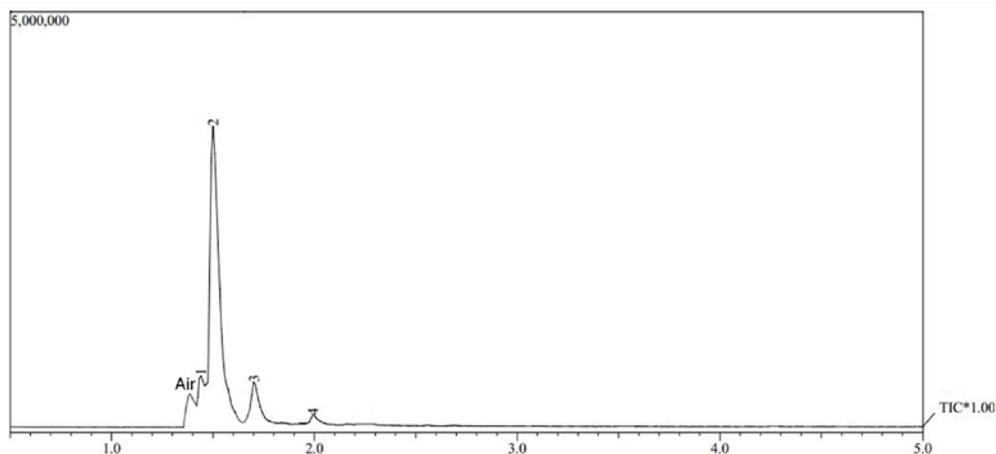


Hit#:1 Entry:444 Library:NIST08s.LIB

SI:94 Formula:C4H10O CAS:78-83-1 MolWeight:74 RetIndex:597

CompName:1-Propanol, 2-methyl- SS Isobutyl alcohol SS Isobutanol SS Isopropylcarbinol SS 2-Methyl-1-propanol SS iso-C4H9OH SS Fermentation

● 图 7. 加入少量  $^{13}\text{CH}_3\text{OH}$  进行同位素示踪试验的 GC-MS 图

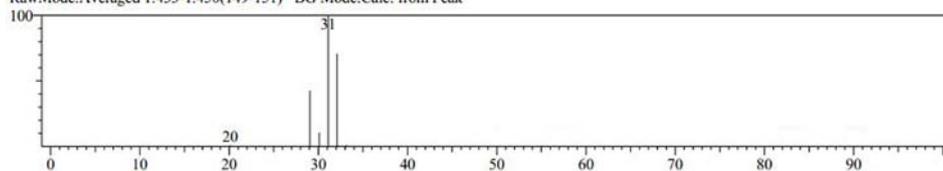


Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:1.442(Scan#:150) MassPeaks:23 BasePeak:31.10(130043)

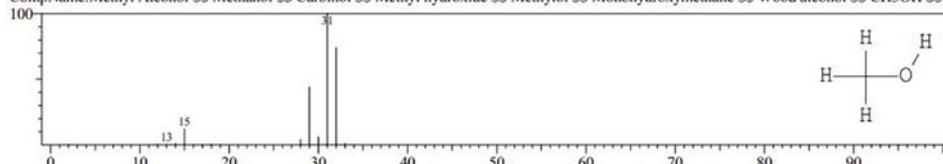
RawMode:Averaged 1.433-1.450(149-151) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:15 Library:NIST147.LIB

SI:97 Formula:CH4O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0

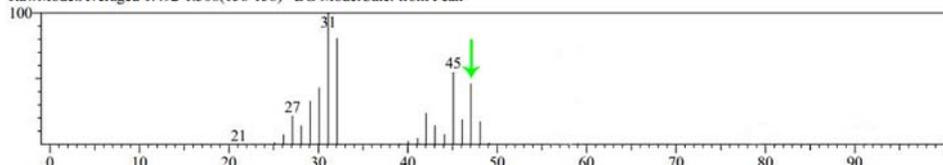
CompName:Methyl Alcohol SS Methanol SS Carbinol SS Methyl hydroxide SS Methylol SS Monohydroxymethane SS Wood alcohol SS CH3OH SS C



<< Target >>

Line#:2 R.Time:1.500(Scan#:157) MassPeaks:48 BasePeak:31.10(480053)

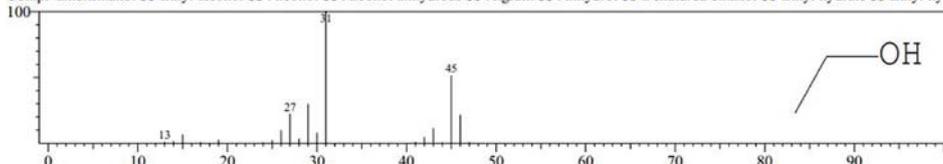
RawMode:Averaged 1.492-1.508(156-158) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:56 Library:NIST08.LIB

SI: Formula:C2H6O CAS:64-17-5 MolWeight:46 RetIndex:463

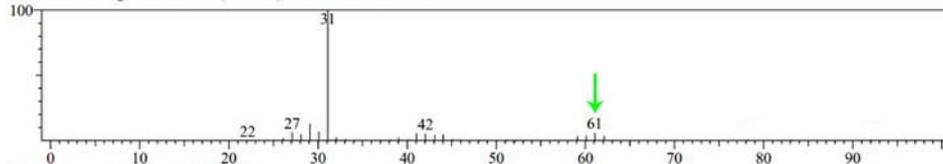
CompName:Ethanol SS Ethyl alcohol SS Alcohol SS Alcohol anhydrous SS Algrain SS Anhydrol SS Denatured ethanol SS Ethyl hydrate SS Ethyl hyd



<< Target >>

Line#:3 R.Time:1.700(Scan#:181) MassPeaks:35 BasePeak:31.10(154725)

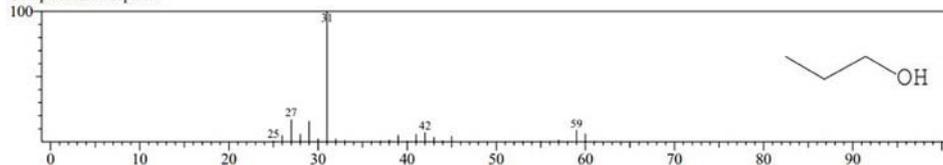
RawMode:Averaged 1.692-1.708(180-182) BG Mode:Calc. from Peak

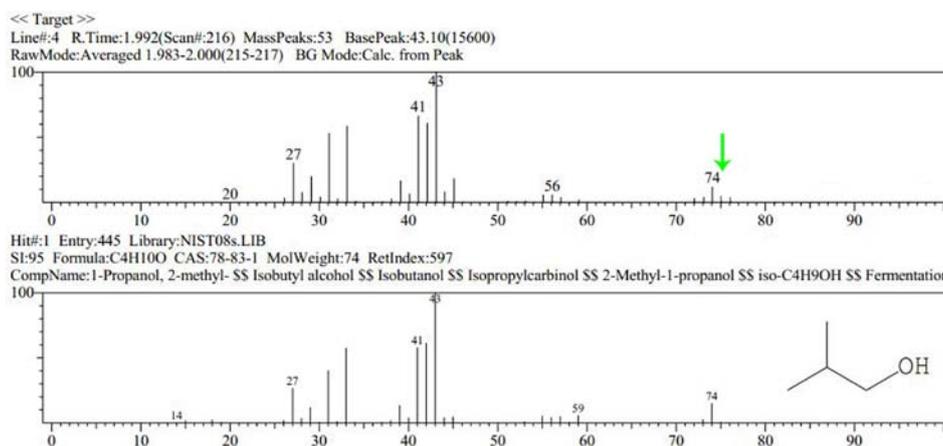


Hit#:1 Entry:162 Library:NIST21.LIB

SI:91 Formula:C3H8O CAS:71-23-8 MolWeight:60 RetIndex:0

CompName:1-Propanol





● 图 8. 加入少量  $^{13}\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  进行同位素示踪试验的 GC-MS 图

反应后的 GC-MS 结果表明, 生成的所有  $\text{C}_2+\text{OH}$  中都含有  $^{13}\text{C}$  (图 7), 从而证实了以上推测。我们还做了加入少量  $^{13}\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  的同位素示踪试验, 也得到了相同结果, 如图 8 所示。因此,  $\text{CO}_2$  氢化机理生成多碳醇的反应, 小分子醇是用于制备链长更长的醇的中间物。

近年来, GC-MS 的应用已经非常广泛, 随着 GC-MS 技术的发展及其优点的凸显, 其将在检测、分析中发挥越来越重要的作用。

## 参考文献

1. 钱敏, 刘坚真, 白卫东\*, 等, 气质联用仪在食品工业中的应用[J]. *中国调味品*, 2009, 9, 101.
2. Yu K M K, Curcic I, Gabriel J, Tsang S C E\*, Recent advances in  $\text{CO}_2$  capture and utilization, *Chem Sus Chem*, 2008, 1, 893.

## 致谢

感谢分析测试中心赵镇文老师、向俊锋老师和丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!

## 分析测试中心动态

## 《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

## 分析测试中心论坛动态

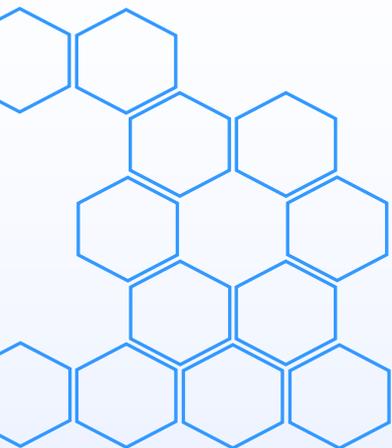
## 北京大学孙俊良教授作化学所分析测试中心论坛报告

2018 年 12 月 21 日上午，北京大学孙俊良教授应邀作题为“亚微米晶体复杂结构确定”的分析测试中心论坛报告，报告由分析测试中心电镜组关波高级工程师主持。

孙俊良教授现任北京大学化学与分子工程学院特聘研究员、博士生导师、无机固体材料化学研究组组长。他于 2006 年北京大学取得博士学位，随后在美国康奈尔大学和瑞典斯德哥尔摩大学从事博士后研究工作。2009 年得到瑞典科学院青年科学家基金资助在斯德哥尔摩大学开始独立研究，2012 年获中组部青年千人计划资助后开始在北京大学化学与分子工程学院开始科研工作，2016 年开始担任中国晶体学会秘书长。孙俊良教授长期从事无机微孔材料的合成和应用、结构解析方法的发展以及致密固相化合物等方面的研究工作并取得重要成果，已发表 SCI 学术论文 100 余篇，包括 Nature, Science 等国际一流期刊。

报告中,孙俊良教授介绍了复杂晶体结构的确定对于材料的开发和应用的的重要性,并且系统介绍了结构解析方法的发展以及适用范围,表明对于亚微米以上尺寸的晶体,单晶 X 射线衍射一般为最佳方法,而晶体尺寸小于亚微米级别时,单晶衍射的信号不够强,通常采用三维电子衍射结合粉末 X 射线衍射,并展示了此方法解析复杂结构的应用实例。报告会后,孙俊良教授同与会的化学所的老师 and 同学进行了深入的交流和讨论。





顾问： 唐亚林 何圣贵  
主编： 关 波 刘美蓉 向俊锋 郝 项  
宗文杰 赵镇文 赵志娟  
编辑： 丁丽萍