



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12期



分析测试中心 主办
2022年1月28日

目 录

新技术应用

NMR 样品高压原位检测装置的研制	1
先进高场核磁共振谱仪表征新技术及应用	5
冷冻电子断层三维重构和子断层平均技术	7

典型应用案例

同位素标记结合质谱碎裂原理追踪元素的反应轨迹	16
------------------------	----

测试技术与技巧

全分子特殊位置无序处理方法	18
一种扫描电镜用密封转移样品台	22

仪器及功能介绍

冷喷雾质谱的原理及应用	25
新购多晶 X 射线衍射仪 Rigaku SmartLab 9kW 功能介绍	32
真空显微傅里叶红外光谱仪和紫外可见近红外分光光度计功能介绍	35
X 射线光电子能谱 (XPS) 与拉曼光谱联用技术介绍	40
场发射透射电镜 JEM-F200 功能及应用案例	43
低 ^{11}B 、 ^{27}Al 和 ^{29}Si 核磁背景探头介绍	46

分析测试中心动态

《分析测试中心通讯》征稿启事	49
----------------	----

新技术应用

NMR 样品高压原位检测装置的研制

▶ 崔洁 袁震 向俊锋

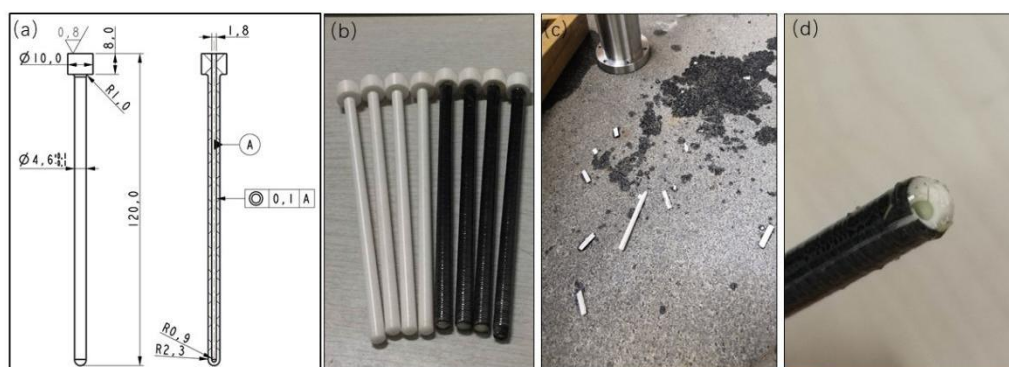
(分析测试中心核磁组 Tel: 010-62627946 Email: cuijie@iccas.ac.cn)

化学所的核磁共振谱仪不仅广泛用于测定与分子结构、分子间相互作用、动力学和热力学相关的化学位移、耦合常数、原子间连接、空间取向、弛豫时间等信息，还用于化合物反应新机制及反应新机理的表征^[1]。而新型材料的合成反应过程离不开温压环境系统，通过可变的温度、压力有效调控材料的合成反应，进而可以实现对功能材料结构、性质和性能的精确控制^[2]。现有的核磁谱仪能满足的温度可变范围-100℃~100℃，目前仍然缺乏可变压力条件的核磁原位表征技术，核磁组研制的 NMR 样品高压原位检测装置将实现高压原位的核磁检测，提供高压反应环境的基础上可动态追踪反应进程。

本项目研制的集成自动搅拌功能的 NMR 样品高压原位检测装置主要由三大部分组成：耐温耐压测试装置、融合了自动搅拌的实时变压装置以及增压稳压设备。

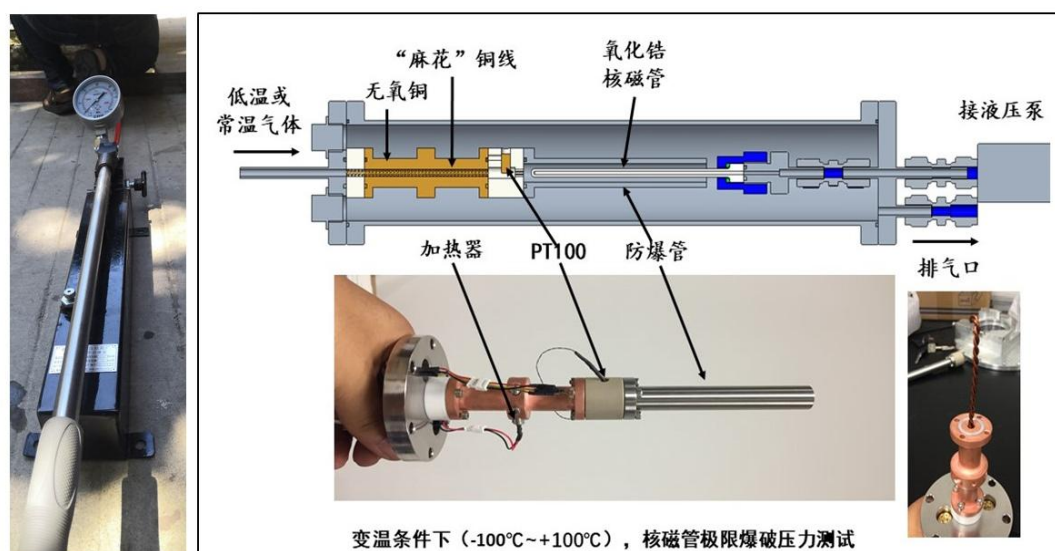
一、耐温耐压测试装置

非金属、无磁（或弱磁）、耐高压、耐高低温的核磁管是本项目的关键部件。结合文献调研结果，并进行了实际加工和爆破测试，实际测试表明氧化铝材质的核磁管爆破压力小于 60 MPa，安全余量不足；氧化锆材质核磁管爆破压力达 140 MPa，满足要求；蓝宝石耐压更高，但加工成本极高；且氧化锆的 NMR 背景信号极低，因此完全能够满足项目要求。



● 图 1、核磁管外形设计及材质选择

由于核磁管为氧化锆材质，使用气体进行爆破测试存在两个问题：一是爆破压力要求较高时，气体增压难度较大（成本快速增加），二是气体可压缩，爆破将产生极大的冲击力，十分危险。为此我们使用成本更低（气体增压泵成本的 2%）、压力更高（最高 300 MPa）的液压方式进行爆破压力测试。为了完全模拟 NMR 变温条件下的高压试验，在爆破测试中耦合了气氛控温装置，通过加热器加热低温（使用液氮制冷）或常温气体，使用控温仪控制气体温度（ $-100^{\circ}\text{C}\sim+100^{\circ}\text{C}$ ），将控温的气体通过半封闭管道冷却或者加热被增压的核磁管，获得变温条件下核磁管真实的耐压性能。实验结果表明，氧化锆核磁管在高（ $+100^{\circ}\text{C}$ ）低（ -100°C ）温条件下，爆破压力依然大于 100 MPa，具备足够的实验安全余量。



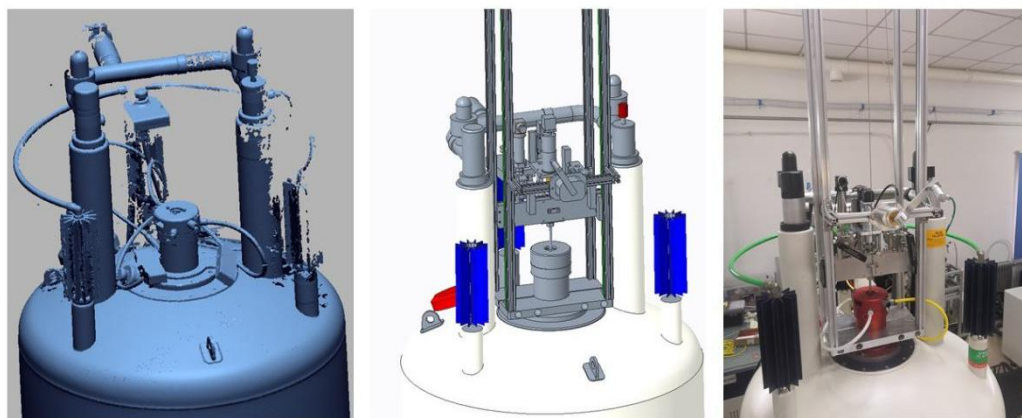
● 图 2、核磁管磁体外耐压耐温测试装置开发及实物图

尽管正常实验的压力远小于爆破压力，但为安全起见，我们进一步在核磁管外包裹了两层 T700 碳纤维薄膜，可有效降低意外爆破时的冲击力（见图 1c、1d 对比），最大程度保护设备安全。

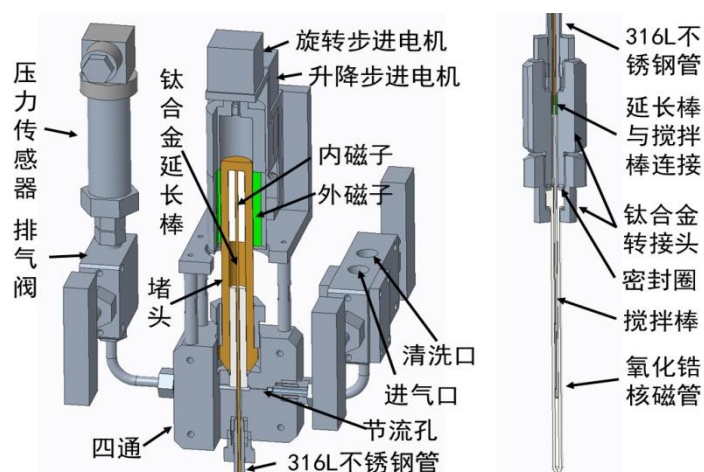
二、融合了自动搅拌的实时变压装置

可变压力的方案要求增压管路、阀门与核磁管实时连通，势必会造成进样复杂、装置质量大的问题。为此，设计一个与 NMR 稳固结合的支撑架，并确保核磁管准确进入磁体内部，而 NMR 接口处不规则的轮廓增加了设计的困难。我们使用三维扫描仪扫描了整个 NMR 的点云数据，使用逆向设计软件获得了 NMR

入口的精确尺寸，实现了升降装置与 NMR 的稳固耦合。



● 图 3、升降装置与 NMR 耦合的设计思路及实物图

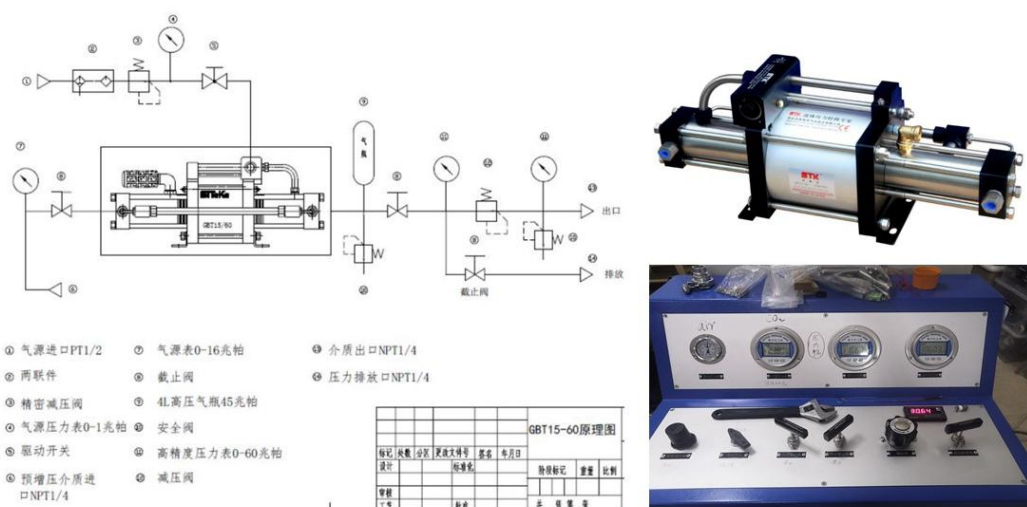


● 图 4、高压四通模块设计方案

原位高压搅拌是本项目的特色功能，为了实现搅拌与实时变压功能的兼容，我们采用了四通的方式：四通底部的 316 L 弱磁不锈钢管通过钛合金转接头、耐高压密封圈与核磁管相连，侧方通过高压进气针阀与耐高压软管连接，软管连接气驱气增压泵，实现实时变压（变压范围 0~30 MPa）的同时，也可通过手摇器方便快捷地进出样品；四通顶部设置堵头，堵头内放置内磁子和钛合金延长棒，堵头外部同轴设置外磁子，通过顶部旋转步进电机旋转带动外部磁子，内部磁子旋转带动延长棒和搅拌棒，实现搅拌功能。此外，还可以通过升降步进电机，带动外磁子升降运动，实现内部搅拌棒的升降运动，可以在需要时将搅拌棒深入样品内部，实现搅拌；旋转步进电机放置于一个升降滑台上，搅拌后，可将搅拌棒提起，避免搅拌棒干扰匀场。两个步进电机均由自行开发的 python 程序控制。

三、增压稳压设备

增压泵是本项目的基础设备之一，经过充分调研国内外增压泵类型、方案、参数、报价，结合项目实际需要，采用国产气驱气固定增压比试增压泵，该泵原理简单，适用气体种类多，适用安全可靠，成本只有柱塞泵、平流泵的五分之一，完全满足项目需要。针对超临界二氧化碳实验需求，在增压系统中配置了加热带（高停低启控制），确保高压储气罐中二氧化碳处超临界状态，满足实验要求。管道接口采用高压反丝接口，所有管道最低耐压 137 MPa（增压泵出口连接进气阀入口的软管），保证实验压力范围内的安全。



●图 5、增压泵工作流程设计方案及实物图

本项目研制的集成自动搅拌功能的 NMR 样品高压原位检测装置能够为高压反应提供接近于实际反应条件的样品环境系统，将核磁仪器的功能进一步拓展，实现变温、变压、搅拌与原位联用的核磁表征功能，期望能应用与化学所多样化的体系研究中，跟踪新材料的合成反应过程，更加明确的揭示反应机理、解释动力学过程等关键科学问题，为优化结构、改进性能提供更全面的实验依据^[3]。利用本项目发展的新技术方法研究温度、压力等外场作用条件对材料合成和组装过程的影响规律和机制，解决一些现有技术无法或难以解决的科学难题。

参考文献：

- 1、J. Jonas, NMR Basic Principles and Progress, Vol. 24, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991.

2、Scott L. Wallen, A Polymer NMR Cell for the Study of High-Pressure and Supercritical Fluid Solutions, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 4230.

3、李华, 高压 NMR 在蛋白质结构和动力学研究中的应用, *Chin. J. Magn. Reson.* **2016**, 33, 1.

先进高场核磁共振谱仪表征新技术及应用

► 李骞 向俊锋

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

一、700 兆液体核磁谱仪新技术及应用

2021 年度化学所新购置的 700 兆液体核磁共振波谱仪完成安装调试, 已经开始试运行。该谱仪是国内首台配置有宽带超低温正向探头的高场核磁系统, 可实现对于氢、碳、氮、磷、氟、硅、硼、锂、氘等超过 50 种原子核的高灵敏高分辨核磁表征(国内同类高场仪器最多氢/碳/氮/磷 4 种原子核), 非常适用于各种化学及材料学研究表征。该设备具有卓越的灵敏度及分辨率, 可实现亚微克级样品 $^1\text{H-NMR}$ 及亚毫克级样品 $^{13}\text{C-NMR}$ 表征, 可为复杂结构、混合体系、天然产物、反应动力学等研究提供重要支撑。



●图 1、化学所 2021 年度完成安装的布鲁克 AVANCE NEO 700 液体核磁谱仪, 配置有宽带超低温正向探头。可实现对于氢、碳、氮、磷、氟、硅、硼、锂、氘等超过 50 种原子核的高灵敏高分辨核磁表征(国内同类高场仪器最多氢/碳/氮/磷 4 种原子核)。

在某些研究体系（如化学反应监测及中间体捕捉）中，传统的核磁方法并不能完全发挥高场谱仪的优势。针对 700 兆高场核磁谱仪特点，核磁组开发了高灵敏高效梯度选择性噪声压制技术，可将宏量干扰信号强度降低几千至十几万倍，显著提升目标物表征灵敏度，有效实现微弱目标信号的超高灵敏核磁表征。

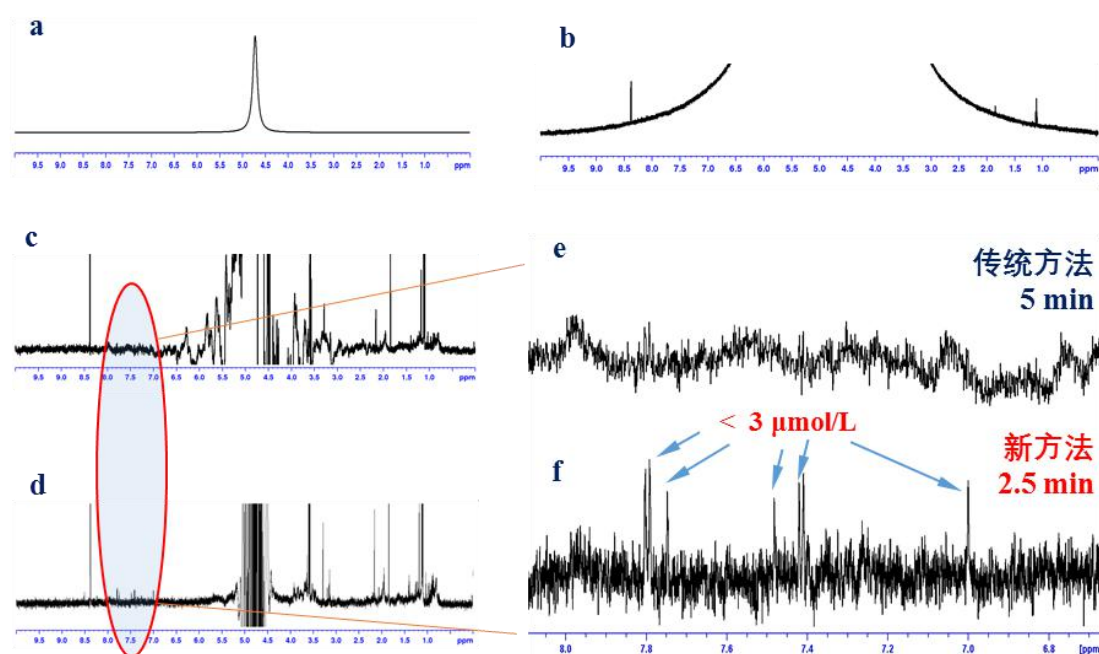


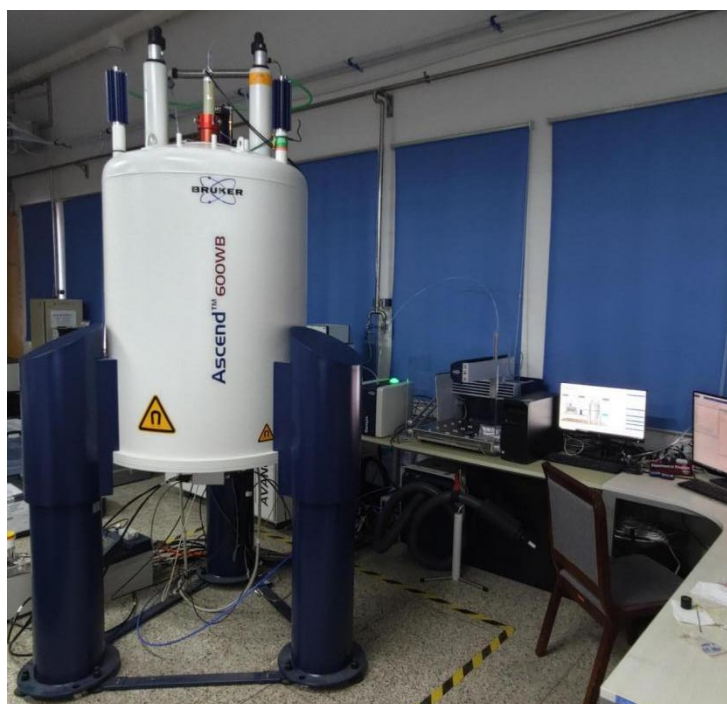
图 2、700 兆液体核磁谱仪表征化学所水相中微量目标样品（王健君组）。a)、一维核磁氢谱；b)、一维核磁氢谱(放大 1000 倍)；c)、预饱和 T_1 滤波水峰压制氢谱(扫描 64 次,5 分钟)；d)、脉冲梯度组合形状脉冲信号压制氢谱(扫描 32 次,2.5 分钟)；e)、f)：c、d 谱图局部放大。

新安装 700 兆液体核磁谱仪具有如下特点：① 700 兆液体宽带超低温探头具有极高的检测灵敏度，可有效开展低浓度、低溶解度、高分子端基等微量目标物质的表征与捕获；② 可表征原子核覆盖范围广，可实现超 50 种原子核的高灵敏核磁表征(同类高场仪器最多氢/碳/氮/磷 4 种原子核)；③ 可有效实现化学反应动力学核磁表征，以及微量中间产物的信号捕捉；为化学反应机理研究提供了有力的表征手段。

二、600 兆固体核磁谱仪高分辨表征技术及应用

2021 年度化学所新购置的 600 兆固体核磁共振波谱仪完成安装调试，已经开始试运行。该谱仪具有高灵敏度、高分辨率的特点；同时配备一系列宽带多功能探头，实现对于系列原子核如氢、锂、硼、碳、氮、氟、铝、硅、磷等的精确表征，并可实现 ($-150^{\circ}\text{C} \sim +300^{\circ}\text{C}$) 的常规变温固态核磁测定、最高 700°C 特种

固体核磁测定。为化学所课题组提供深度、高效的支撑服务。



● 图 3、化学所 2021 年度完成安装的布鲁克 AVANCE NEO 600WB 固体核磁谱仪，配置有 0.7 毫米、1.3 毫米、4 毫米、7 毫米等高分辨高灵敏固体宽带探头，实现对于系列原子核如氢、锂、硼、碳、氮、氟、铝、硅、磷等的精确表征，并可实现 $-150^{\circ}\text{C} \sim +300^{\circ}\text{C}$ 的常规变温固态核磁测定、最高 700°C 特种固体核磁测定。其中 0.7 毫米、1.3 毫米探头可分别实现 110 kHz 及 66 kHz 的超高转速魔角旋转，从而有效开展固体高分辨氢谱研究。

化学所 2021 年度新安装的 600 兆固体核磁谱仪具有以下特点：① 可开展核磁表征的原子核覆盖范围广(超 60 种原子核)；② 核磁表征可变温范围广，常规样品 $-150^{\circ}\text{C} \sim +300^{\circ}\text{C}$ ，特殊样品最高 700°C ；③ 利用 0.7 或 1.3 毫米超高转速魔角旋转技术可实现超高分辨固体核磁氢谱表征；④ 可在原子及化学键尺度，实现对于多种不同状态物质如粉末、薄膜、丝线、凝胶、晶态、玻璃态等的固体核磁表征，为固体物质或材料的原子尺度结构表征提供了一个有效的手段。

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！

冷冻电子断层三维重构和子断层平均技术

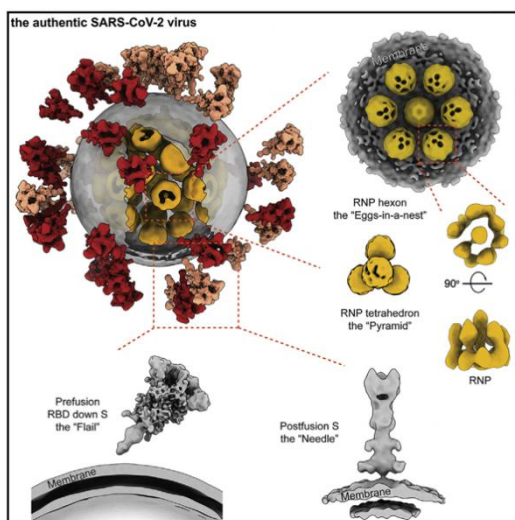
► 李昊 何万中

(分析测试中心生物电镜组 Tel: 010-82698318 Email: lihao9x@iccas.ac.cn)

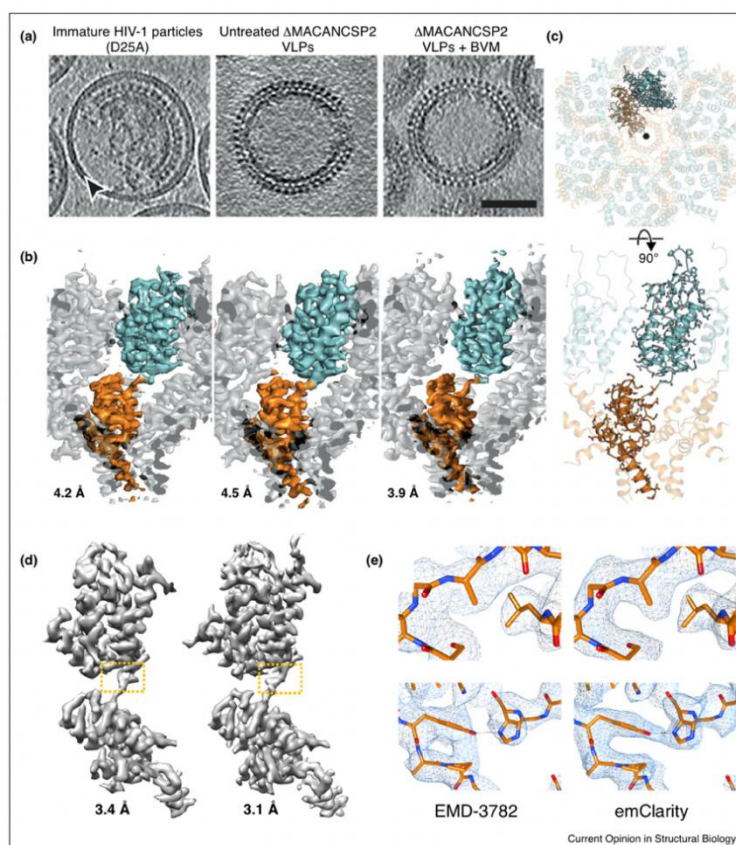
一、引言

2013 年以来, 随着新型直接探测电子相机技术和三维重构新算法在冷冻电镜领域的应用, 冷冻电镜技术现已成为结构生物学的主流研究工具。冷冻电镜单颗粒分析技术 (Cryo-EM) 目前已经成为解析生物大分子原子分辨率结构的常规工具; 而另一个冷冻电镜应用领域, 解析非均一样品三维结构的冷冻电子断层成像技术 (Cryo-ET) 目前也正在加速发展, 尤其是最近兴起的多种子断层平均技术 (sub-tomogram average, STA), 这项技术可以解析出非均一样品中 (病毒, 亚细胞器, 细胞等) 重复结构单元的高分辨率三维结构 (分辨率最高已达 3 \AA ^[1])。现如今, 冷冻电镜单颗粒分析技术已经相当成熟, 对于稳定均一的样品 (如蛋白质及复合物, 病毒颗粒等) 解析出原子级分辨率三位结构已经非常容易^[2]。然而, 对于非均一的样品 (如, 没有固定形状的病毒颗粒、不稳定的大型复合物、细胞原位复合物) 的三维结构, 则需要用冷冻电子断层三维重构技术结合子断层平均技术来解析^[3]。

目前研究人员利用 Cryo-ET 及子断层平均技术解析了越来越多的非均一样品三维结构。例如 Yao 等人成功解析出 SARS-CoV-2 病毒结构 (平均分辨率达到 $8.7 - 11 \text{ \AA}$), 揭示了病毒的结构细节及 RNA 装入腔体的分子机制^[4]; Liu 等人成功解析出 HIV 病毒的 GP120 与中和抗体形成的复合物高分辨率三维结构及并揭示其构象变化^[5]; Zhang 等人甚至将未成熟的 HIV-1 Gag 颗粒结构的分辨率提高到 3.1 \AA ^[6]。本文将简要介绍 Cryo-ET 及子断层平均技术的基本原理与实现方法, 展示一些应用实例, 并讨论 Cryo-ET 的可能的发展方向。



● 图 1、 SARS-CoV-2 病毒分子结构^[4]



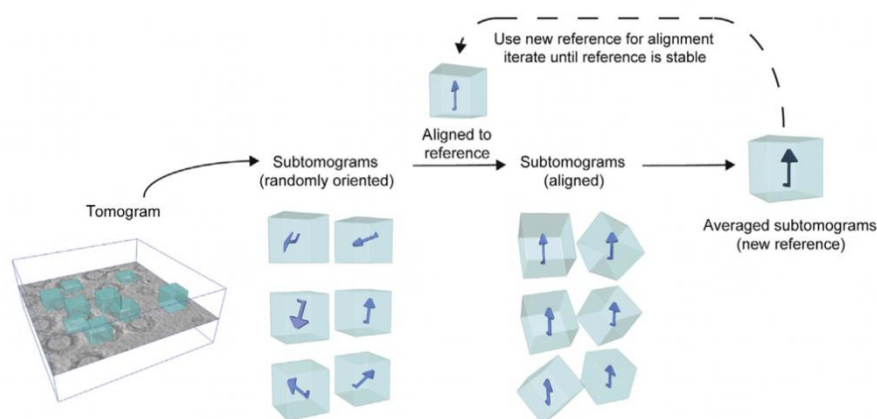
● 图 2、子断层图平均获得的 HIV-1 外壳蛋白高分辨率结构^[7]

二、Cryo-ET 技术原理

Cryo-ET 技术是在低剂量成像条件下采集样品同一区域的单轴倾斜系列电镜照片（一般在 $-60^{\circ}\sim 60^{\circ}$ 按 $2\text{-}3^{\circ}$ 间隔拍摄；总曝光电子剂量在 100 电子/ Å^2 以下），进行三维重构获得电子断层图。但是，倾斜角度限制及低剂量条件约

束的采样间隔限制导致电子断层图信噪比非常差，而且还存在“缺失锥”造成的 Z 轴拉长变形问题，通常无法从其中直接提取高分辨率结构信息。后期子断层三维平均技术可以通过平均多个重复单元提高信噪比且能依靠不同重复单元取向弥补“缺失锥”信息，获得高分辨率的重复单元结构。

子断层平均法类似于单颗粒重构中二维投影分类平均，也就是将形态类似的颗粒进行对齐和平均，只不过是针对重复的三维颗粒进行分类平均。像单颗粒重建一样，子断层平均法的工作原理是对大量的三维颗粒进行迭代调整和平均，从而逐渐提高信噪比（SNR）和分辨率（图 3）^[3]，直到最终得到高分辨率平均结构。



● 图 3、子断层平均工作流程^[8]

三、Cryo-ET 实现及软件介绍

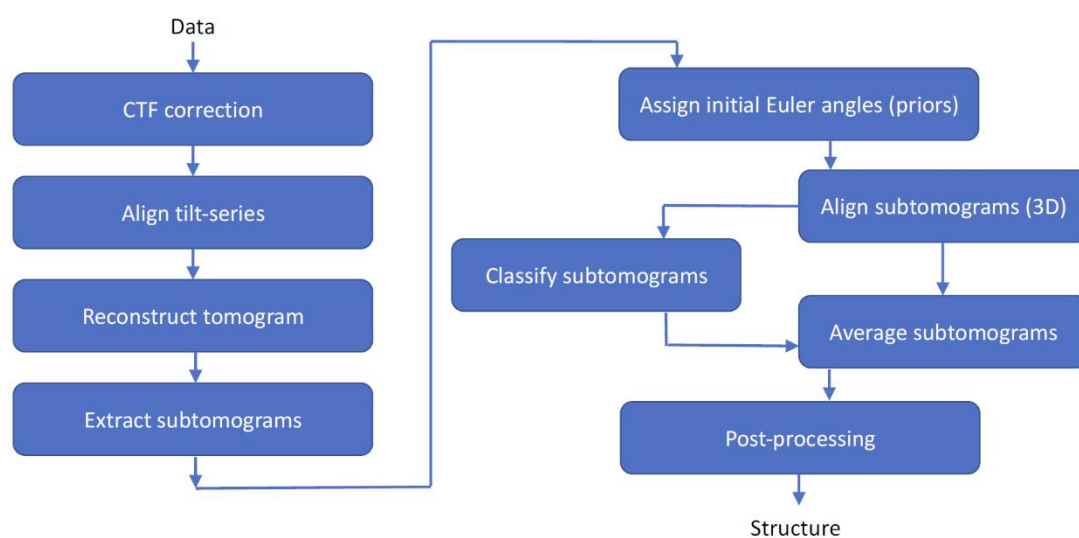
1) 计算平台

子断层平均需要用到 GPU 进行大量的计算。我们的平台配置为 2 块 10 核心 Xeon CPU，256 G 内存和 2 块拥有 24 G 显存的 3090 GPU，系统采用了 Ubuntu20.04，软件方面则使用了：MotionCor2, CTFFIND, Imod, Relion, Dynamo 和 ChimeraX。

2) 处理流程

多套倾斜系列电镜照片经过图 4 所示的流程，处理后得到多套电子断层图。整个流程包含预处理和子断层平均两个部分。预处理包括图像的抖动校正、CTF 校正、对齐和断层图重构。拍摄照片时因电子束引起的样品抖动，会导致照片模

糊不清，使用 MotionCor2 可以实现抖动校正。原理是将电子相机高速拍摄的一系列低剂量多帧照片通过叠加不同帧照片的相同特征来纠正，进而合成一张抖动校正的清晰图像^[9]。抖动校正后的照片可以用 CTFFIND^[10]程序来进行衬度传递函数（CTF）校正^[11]。接下来，用 IMOD 完成倾斜系列对齐。它是以样品表面的胶体金颗粒作为基准标记进行最小二乘拟合对齐。最后，用 IMOD 的加权背投影算法将对齐的倾斜系列照片计算得到三维重构图（断层图）^[12]，如图 5 所示。



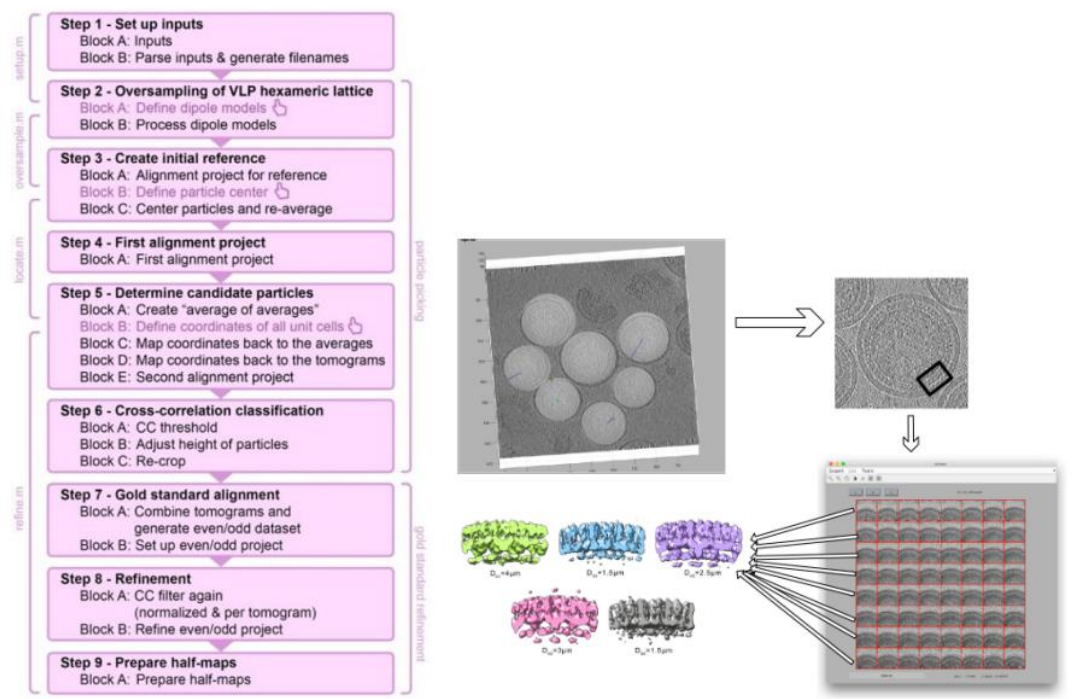
● 图 4、电子断层三维重构与子断层平均流程图

2D projections -> 3D reconstruction



● 图 5、背投影实现二维倾斜序列计算得到断层图——图片来源于 Baumeist

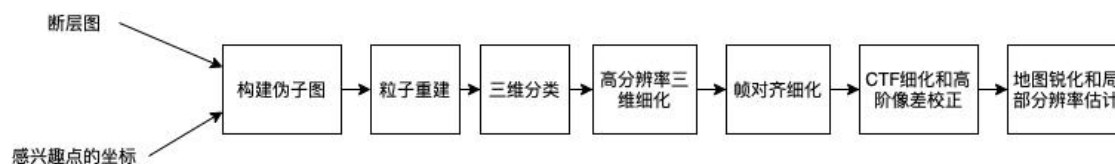
获得多套电子断层图后，接下来进行子断层平均。子断层平均常用软件有 Relion^[13]和 Dynamo^[14]等，下面以 Dynamo 为例简要介绍子断层平均的一般流程，如图 6 所示。



● 图 6、Dynamo 子断层平均流程^[15]

使用 Dynamo 的 dtmslice 工具对断层图中感兴趣的区域进行子断层标注和剪裁提取（类似单颗粒方法），随后创建参考模板，对多个子断层进行多次对齐平均迭代，最终生成平均的三维结构。

Relion 的子断层平均与 Dynamo 类似，也是需要多次分类、对齐和平均。但 Relion 不能直接标记子断层，需要借助第三方工具标记获取子断层坐标，将子断层坐标和原始断层图提交到 Relion 进行处理，详细流程如图 7 所示。



● 图 7、Dynamo 的详细流程

3) 子断层平均软件对比

Zhang 等人^[7]于 2019 年对多个子断层平均软件进行了系统的比较, 如表 1 所示。从表 1 可见, Relion 缺失 Dynamo 的模板匹配功能, 而 Dynamo 则缺失了 3D CTF 校正功能, 二者的缺失边缘修正方案也不同。需要指出的是, 两款软件缺失的功能, 都可联用整合其他工具进行弥补。

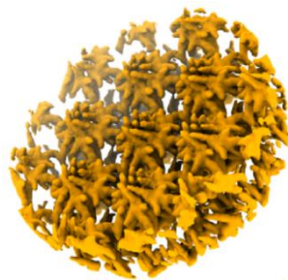
● 表 1、RELION 和 Dynamo 关于子断层平均的功能比较^[7]

Comparison of features of major subtomogram averaging software packages		
Major Software	RELION	Dynamo
Template Matching ^a	No	Manual
3D CTF correction ^b	Per-particle	No
Missing-wedge compensation ^c	3D-Sampling	WMD
Tilt-series refinement	No	No
GPU support	No <small>(Yes, Relion4.0 Already support)</small>	Yes
GUI	Yes	Yes

^a Method used for extracting subtomograms.
^b 3D CTF correction algorithm such as implemented in NovaCTF
^c Handling of missing-wedge in subtomogram alignment and classification.
^d WMD: wedge masked differences.

四、应用实例与讨论

实例 1: 我们用 Dynamo 对 HIV-1 病毒样颗粒外壳重复单元进行了子断层平均, 经过 19 天的计算, 成功得到了 HIV-1 病毒样颗粒外壳上 4.5 Å 的六次对称的结构 (如图 8 所示)。



● 图 8、HIV-1 病毒样颗粒表面的六次对称三维结构

实例 2: 我们用 Relion 4.0 对未成熟 HIV-1 病毒样颗粒的断层图进行了子断层平均处理, 经过 9 天时间计算, 获得了如图 9 所示的~3.4 Å 平均结构。



● 图 9、HIV-1 病毒样颗粒中的某个结构

从现有研究来看, AI 技术在冷冻电镜图像处理方面发挥越来越重要的作用。例如 Topaz^[16]的 AI 降噪、颗粒筛选; Isonet^[17]通过神经网络对断层图缺失数据部分进行补全获得了高质量的断层图; 以及 CryoDRGN^[18]可直接使用神经网络对子断层进行三维重构。此外, Alphafold^[19]已经在预测蛋白折叠的三维结构的精准度方面取得惊人进展, 将来可以跟冷冻电子断层技术相结合来分析更多数据。我们期待整合这些新技术, 在细胞组织原位电子断层结构分析方面, 开展一系列方法和应用研究。

(部分数据来自网络, 如有侵权请联系删除。)

参考文献:

- 1、Henderson, R. Von der Elektronenkristallographie zur Einzelpartikel-KryoEM (Nobel-Aufsatz). *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 10966.
- 2、Zhang, P. Advances in cryo-electron tomography and subtomogram averaging and classification. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2019**, *58*, 249.
- 3、Wan, W. & Briggs, J. A. G. Cryo-Electron Tomography and Subtomogram Averaging. *Meth. Enzymol.* **2016**, *579*, 329.
- 4、Yao, H. *et al.* Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus. *Cell.* **2020**, *183*, 730. e13.

- 5、Liu, J., Bartesaghi, A., Borgnia, M. J., Sapiro, G. & Subramaniam, S. Molecular architecture of native HIV-1 gp120 trimers. *Nat.* **2008**, *455*, 109.
- 6、Himes, B. A. & Zhang, P. emClarity: software for high-resolution cryo-electron tomography and subtomogram averaging. *Nat. Methods.* **2018**, *15*, 955.
- 7、Zhang, P. Advances in cryo-electron tomography and subtomogram averaging and classification. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2019**, *58*, 249.
- 8、Briggs, J. A. G. Structural biology in situ-the potential of subtomogram averaging. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2013**, *23*, 261.
- 9、Zheng, S. Q. *et al.* MotionCor2: Anisotropic correction of beam-induced motion for improved cryo-electron microscopy. *Nat. Methods.* **2017**, *14*, 331.
- 10、Rohou, A. & Grigorieff, N. CTFFIND4: Fast and accurate defocus estimation from electron micrographs. *J. Struct Biol.* **2015**, *192*, 216.
- 11、Cheng, Y., Grigorieff, N., Penczek, P. A. & Walz, T. A primer to single-particle cryo-electron microscopy. *Cell.* **2015**, *161*, 438.
- 12、James R. Kremer, David N. Mastronarde & J. Richard McIntosh. Computer Visualization of Three-Dimensional Image Data Using IMOD. *J. Struct Biol.* **1996**, *116*, 71.
- 13、Bharat, T. A. M. & Scheres, S. H. W. Resolving macromolecular structures from electron cryo-Tomography data using subtomogram averaging in RELION. *Nat. Protoc.* **2016**, *11*, 2054.
- 14、Castaño-Díez, D., Kudryashev, M., Arheit, M. & Stahlberg, H. Dynamo: A flexible, user-friendly development tool for subtomogram averaging of cryo-EM data in high-performance computing environments. *J. Struct Biol.* **2012**, *178*, 139.
- 15、Scaramuzza, S. & Castaño-Díez, D. Step-by-step guide to efficient subtomogram averaging of virus-like particles with Dynamo. *Plos Biol.* **2021**, *19*.
- 16、Scaramuzza, S. & Castaño-Díez, D. Step-by-step guide to efficient subtomogram averaging of virus-like particles with Dynamo. *PLos Biol.* **2021**, *19*.
- 17、Bepler, T., Morin, A., Rapp, M., Brasch, J., Shapiro, L., Noble, A. & Berger B. Positive-unlabeled convolutional neural networks for particle picking in cryo-electron micrographs. *Nat. Methods.* **2019**, *16*, 1153.

18、Liu, Y., Zhang, H., Wang, H., Tao, C., Bi, G. & Hong Zhou, Z. Isotropic Reconstruction of Electron Tomograms with Deep Learning. *bioRxiv. Preprint*. <https://doi.org/10.1101/2021.07.17.45212>.

19、Zhong, E. D., Bepler, T., Berger, B. & Davis, J. H. CryoDRGN: reconstruction of heterogeneous cryo-EM structures using neural networks. *Nat. Methods*. **2021**, *18*, 176.

典型应用案例

同位素标记结合质谱碎裂原理追踪元素的反应轨迹

► 王振鹏 刘健安 李书沐 魏金超 韩娟娟 辛 斌 汪福意 赵镇文*

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

绿色化学是指在生产和制造化学品过程中，在分子水平上通过巧妙设计，减少或消除危险物质的使用以及有毒有害物质生成的一门新兴化学。其特点是合理规划分子和设计化学合成以减少不良后果^[1,2]。本文利用 ¹³C 同位素标记，并结合质谱碎裂规律，研究了绿色化学中苯甲醚、CO₂、H₂ 催化反应生成乙酸中羧基碳的来源。研究表明：这种方法能准确鉴定出产物分子结构中的目标碳原子来源，为绿色化学研究反应机理提供了很大帮助。

一、仪器、试剂和分析条件

实验使用质谱仪为日本岛津公司GCMS-QP2010 Ultra气相色谱质谱联用仪，载气为氦气（纯度99.999%）。试剂：二氯甲烷（色谱纯）购自Sigma公司。被测样品为本所绿色化学实验室送来的含有¹³C同位素标记的乙酸反应体系。用色谱纯二氯甲烷将乙酸反应体系溶解成0.1 mg/mL待测溶液。

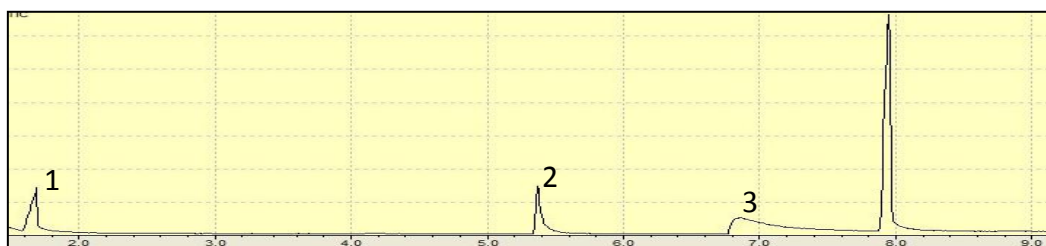
气相色谱条件：80 KPa恒压模式进样，分流模式（分流比：1/10），进样口250℃，色谱柱升温程序为：50℃保持2 min，以20℃/min升到250℃保持20 min，质谱条件为：激发电子能量70 eV，检测质量数：20-650 Da。

二、结果与讨论

被测样品是一个含有反应物（苯甲醚、二氧化碳、氢气）和产物（苯酚、乙酸）的混合体系（反应方程式见图1）。通过气质联用仪分析可以将产物和未反应完的反应物分离开（见图2）。



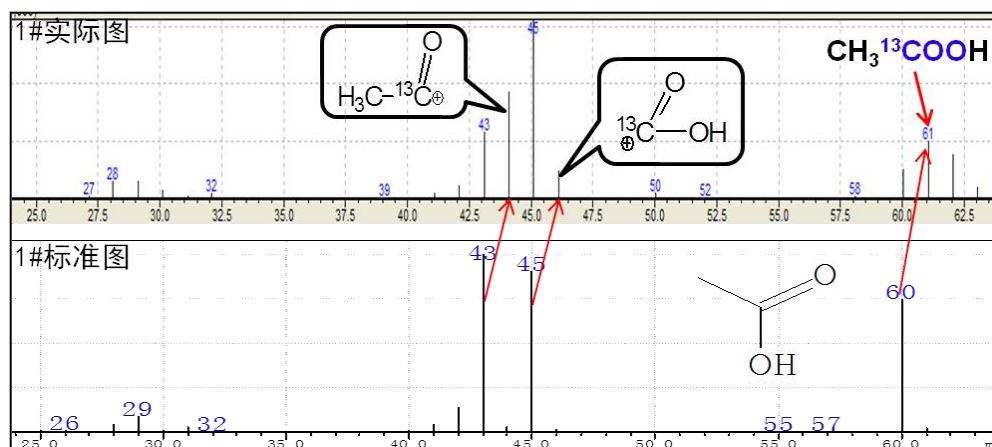
●图1、被测反应体系反应方程式



●图2、反应体系气相色谱图

对图中每个色谱峰进行质谱分析，并进行 The National Institute of Standards and Technology (NIST) 标准质谱图库检索后知道1#峰为乙酸、2#峰为苯甲醚、3#峰为苯酚、4#峰为乙酸苯酯。

通过深入分析乙酸实际质谱图和标准质谱图发现：分子离子峰和两个主要碎片离子峰都发生了 $[M+1]^+$ 质量数位移（见图3）。



●图3、乙酸实际质谱图与标准质谱图

根据质谱图中分子离子峰产生 $[M+1]^+$ 质量数位移可以推出产物乙酸分子结构中的1个碳原子被 ${}^{13}\text{C}$ 同位素标记。再根据质谱碎裂原理可以推出标准质谱图中

$[43]^+$ Da和 $[45]^+$ Da两个碎片离子分别是由 $\text{H}_3\text{C}-^{13}\text{C}=\text{O}^+$ 和 $^{13}\text{C}=\text{O}-\text{OH}$ 这两个离子产生，而在实际质谱图中，这两个碎片离子峰同时发生了 $[M+1]^+$ 质量数位移，从而可以推出 ^{13}C 同位素标记在乙酸的羧基官能团碳原子上。再结合化学反应方程式（见图1），就能确定在该反应中乙酸上羧基官能团的碳原子来自于反应物二氧化碳。

3、结论

选用含有 ^{13}C 同位素标记的底物作为反应物来研究反应机理，可以结合EI质谱碎裂原理推导出生成物分子结构中哪个原子被 ^{13}C 同位素标记，再结合化学反应方程式就可以推出这个同位素原子来源于哪个反应物，从而清楚显示出原子的反应轨迹，为研究化学反应机理提供很大帮助。

参考文献：

- 1、Dunn PJ, The importance of green chemistry in process research and development, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1452.
- 2、Jessop P, Leitner W, Green Chemistry in 2017, *Green Chem.* **2017**, *19*, 15.

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

全分子特殊位置无序处理方法

► 梁同玲

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

特殊位置是指该位置上存在一种或多种对称操作。特殊位置无序，是指无序是由于对称操作引起的。如分子处在对称心、对称轴、镜面及滑移面上等，如果分子本身的对称性和晶体学对称性不一致则会出现特殊位置无序的现象。出现特殊位置无序时，在结构解析初期会发现解析出的原子位置比较混乱，构型不合理；

如果分子含有较多原子则处理起来非常繁琐，需要对分子结构比较熟悉，有一定的无序处理经验，往往还需要花费很长时间来找到合理的结构模型进行精修。

以下这个案例就是典型的全分子特殊位置无序。该化合物的晶胞参数如下： $a = 24.4854(3) \text{ \AA}$ ， $b = 19.90573(19) \text{ \AA}$ ， $c = 29.2454(3) \text{ \AA}$ ， $\alpha = 90^\circ$ ， $\beta = 90^\circ$ ， $\gamma = 90^\circ$ ，晶系为正交，空间群为 $Cmce$ 。这个分子（如图 1）在垂直于纸面的方向上并没有镜面对称性，但是当分子堆积在晶胞中时，却刚好处于晶体学镜面的特殊位置上，导致分子关于镜面呈现全分子无序（如图 2）。

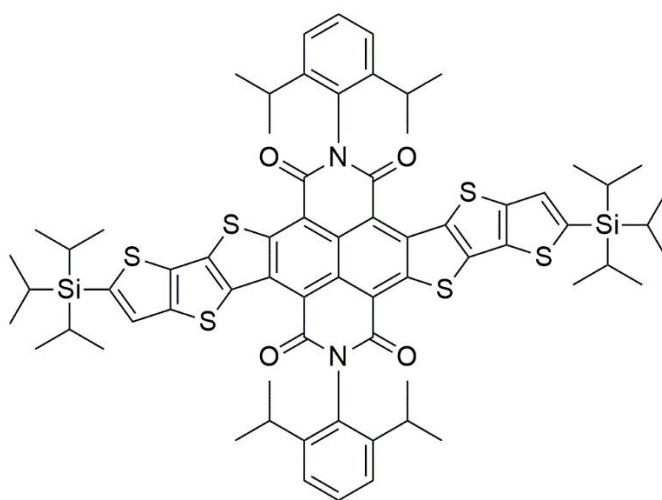


图 1、化合物的分子结构示意图

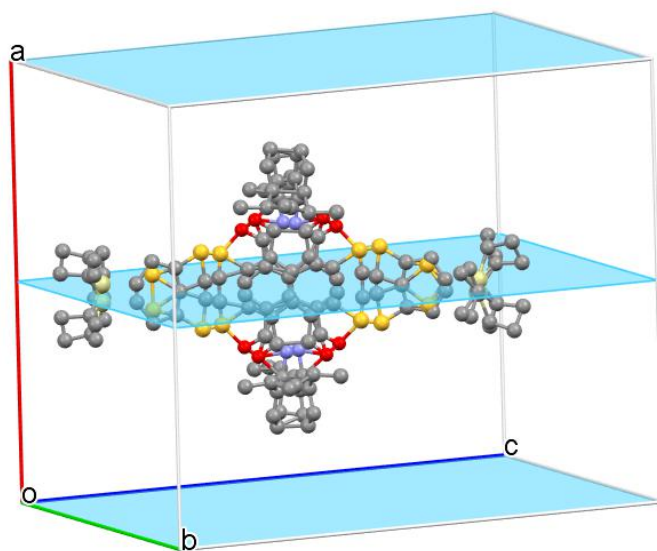
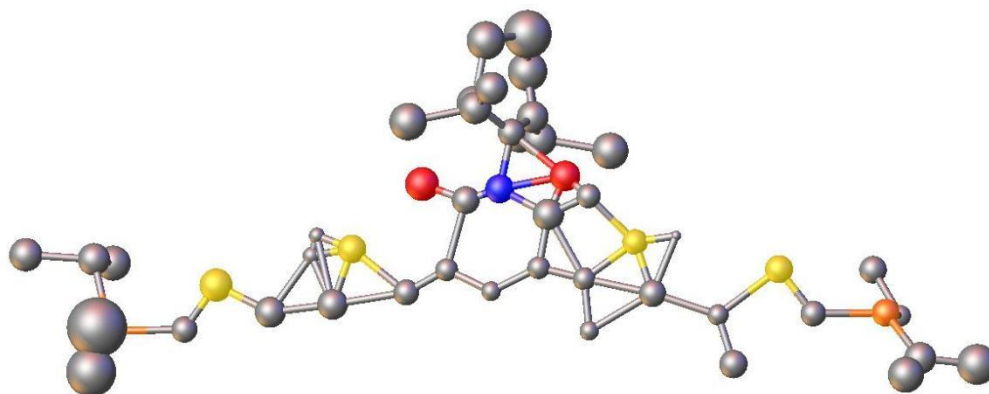
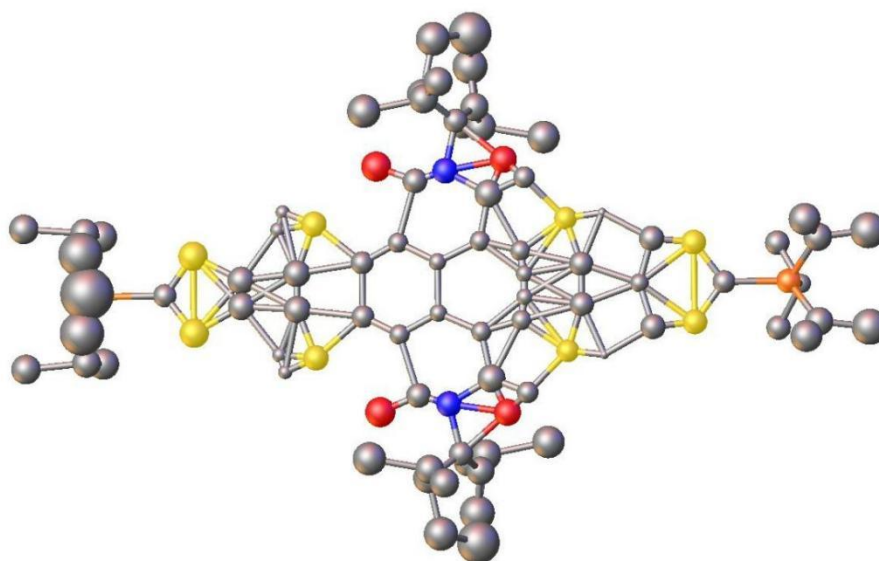


图 2、晶胞中分子处于晶体学镜面（浅蓝色面）的特殊位置，导致全分子无序。



● 图 3、结构解析精修初期独立分子（半个分子）结构图。

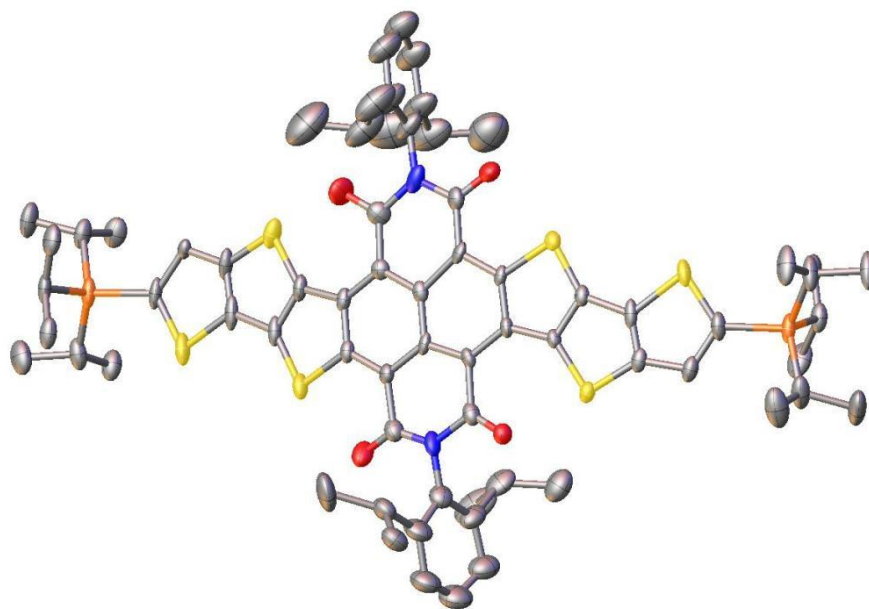
由于分子处于镜面的特殊位置，因此独立分子只有半个，即解析时只解析半个分子。全分子无序导致苯环扭曲和硫原子的位置不正确（如图 3），键长有些偏长，有些偏短，键角及原子的温度因子也都不正常。图 4 是通过镜面对称操作后的全分子，表现为两个分子（每个分子占据 50%）的无序叠加，这个构型同样不合理。



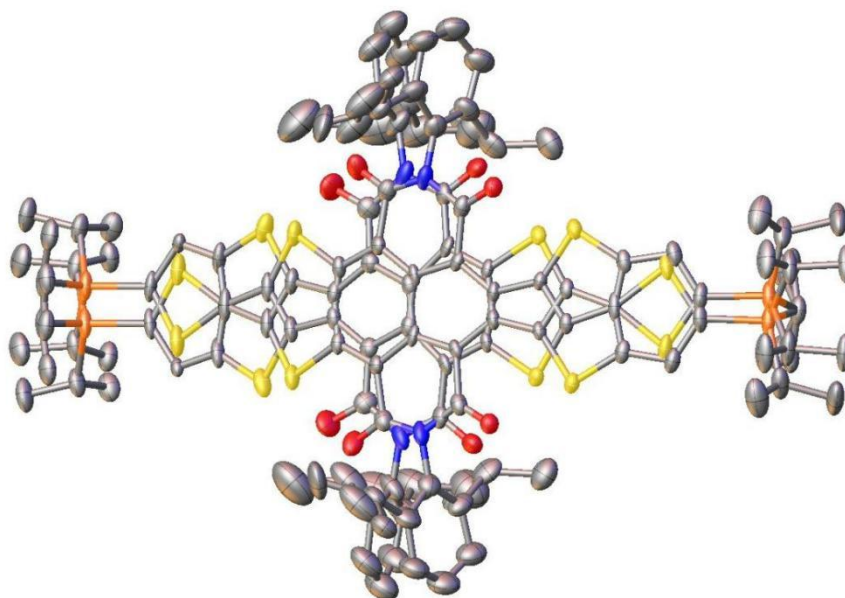
● 图 4、结构解析精修初期全分子无序的结构图。

通常在这种情况下，结构精修不能按照常规的半个分子来精修，而是需要从图 4 这些杂乱的、彼此部分叠加的原子中找出两个关于镜面对称、且构型基本合理的全分子（每个分子占据 50%），任取其中一个分子，设为 PART-1，再将该

分子所有原子的占有率定为 50%，然后再进行精修。开始精修时原子可能找不全，甚至有些原子的位置不合理，精修过程需要增加 Q 峰的个数，多次尝试，逐步把所有原子找全；另外精修时要加一些温度因子和键长键角的限制使结构更加合理。



●图 5、全分子无序处理后的独立分子（占据数 50%）结构图。



●图 6、全分子无序处理后的全分子结构图。

图 5 是做全分子无序处理后精修好的独立分子（占据数 50%）结构图，图 6 是通过镜面对称操作长出了另一个分子（占据数 50%）的结构图，可以看出，从

整体上看这两个分子（每个分子占据 50%）是关于镜面对称的。当然，在真实晶体中同一个位置不可能同时存在两个分子，因此每个分子在此位置只有 50% 的占据数。从整颗单晶的角度看，可以认为在构成单晶体的每个晶胞的镜面处，存在两种取向的分子，这两种取向关于镜面对称，每种取向的概率为 50%，当把晶体中所有晶胞平均为一个晶胞后，就出现图 6 的情况。

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！

一种扫描电镜用密封转移样品台

► 李肇华 岳纪玲 袁震 关波

（分析测试中心电镜组 Tel: 010-62557012 Email: lizhaohua92@iccas.ac.cn）

扫描电子显微镜（Scanning Electron Microscope, SEM）是一种样品表面微观形貌分析的常用仪器，广泛用于化学、材料、半导体、地质、生物等领域。通常，扫描电镜需要在高真空环境工作，所以需要将样品从空气中传输到样品室，对于常规样品不会改变其形貌及结构。然而，有些对空气或水敏感样品，如金属锂等，在使用常规方法转移至 SEM 样品交换仓的过程中，不可避免地会与空气环境接触，导致样品受到不同程度的破坏，致使无法得到其真实的形貌、结构及成分。于是，科学家们发展出在转移样品过程中保护样品的方法，例如 Zhang 等人^[1]在转移石墨基锂负极材料时，使用氩气进行保护；Guo 等人^[2]使用一种真空转移装置保护含锂材料，完成了样品从制备地点到 SEM 样品室的转移。目前，市售密封转移装置售价很高，通用型不强，大部分只能在特定品牌/型号的扫描电镜上使用。

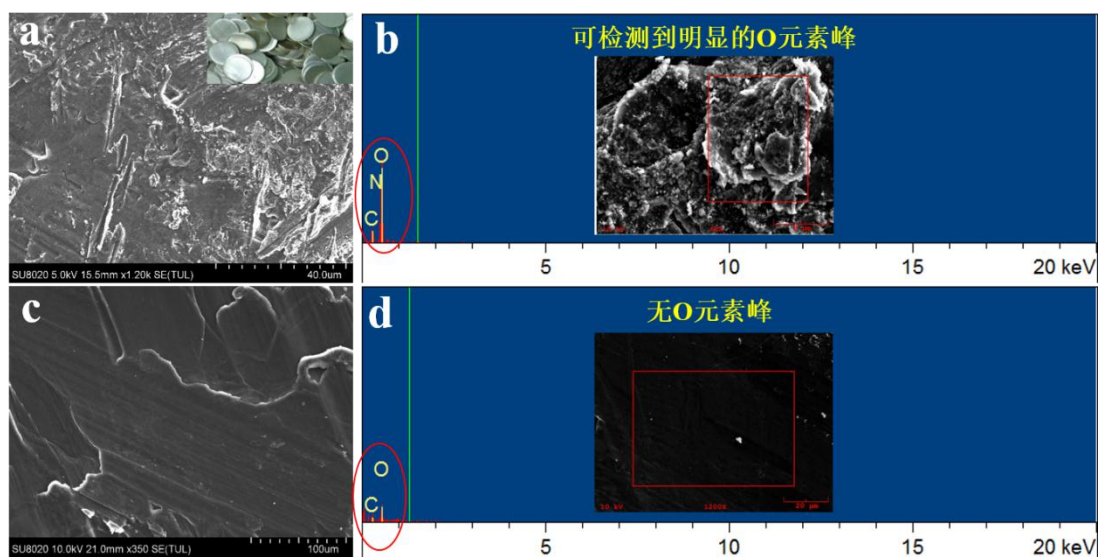
分析测试中心电镜组设计开发了一种新型的扫描电镜密封转移样品台，如图 1 所示。使用时，将样品台放入样品所在惰性气氛（如手套箱）中，首先按遥控器上的“开”按键，马达启动，带动样品仓盖打开，将样品固定后，按遥控器上的“关”按键，马达带动样品仓盖关闭。此时，样品仓处于密封状态，仓内为惰

性气氛，可有效保护样品转移过程中不受外界氧气、水等的影响。将该样品台固定于底座后，即可置于 SEM 样品交换仓，开始抽真空操作。当真空度达到要求，按遥控器上的“开”按钮，打开样品仓，样品暴露于 SEM 真空中，随后可按照常规方法进行测试。当测试完成，若有回收需求，可在样品交换仓中关闭样品台样品仓，此时样品仓处于密封状态，仓内为真空，可转移至惰性气氛或真空气氛中保存样品。



● 图 1、密封转移样品台实物图。a：关闭状态；b：打开状态。①—样品仓；②—样品；③—遥控器接收器；④—遥控器

使用该装置对金属锂片进行测试，与不使用该样品台的数据作对比，结果如图 2 所示。未使用密封转移样品台时，锂片表面粗糙，能谱显示明显的 O 元素峰，说明锂片被氧化。使用密封转移样品台，锂片表面较为光滑，EDS 能谱中无 O 元素峰，表明在样品转移过程中，成功地实现了密封保护，最大可能地保持了材料原本的形貌。



● 图 2、金属锂片 SEM 图像及 EDS 能谱图。a、b：未使用密封转移样品台（右上角插入图片为金属锂片实物图）；c、d：使用密封转移样品台。

值得注意的是，在使用密封转移样品台后，仍可观察到锂片表面存在局部粗糙的被氧化区域，这说明样品台的密封性有待提高，同时，此装置所用电源的利用率不高。针对这些问题，目前正在进行第二代密封转移样品台的开发，以进一步提高装置的密封性，并采用更加耐用的电源系统。

参考文献：

- 1、R. Zhang, X. B. Cheng, C. Z. Zhao, H. J. Peng, J. L. Shi, J. Q. Huang, J. F. Wang, F. Wei, Q. Zhang, Conductive Nanostructured Scaffolds Render Low Local Current Density to Inhibit Lithium Dendrite Growth, *Adv. Mater.* **2016**, 28, 2155.
- 2、N. Wu, Y. R. Shi, S. Y. Lang, J. M. Zhou, J. Y. Liang, W. Wang, S. J. Tan, Y. X. Yin, R. Wen, Y. G. Guo, Self-Healable Solid Polymeric Electrolytes for Stable and Flexible Lithium Metal Batteries, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 18146.

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

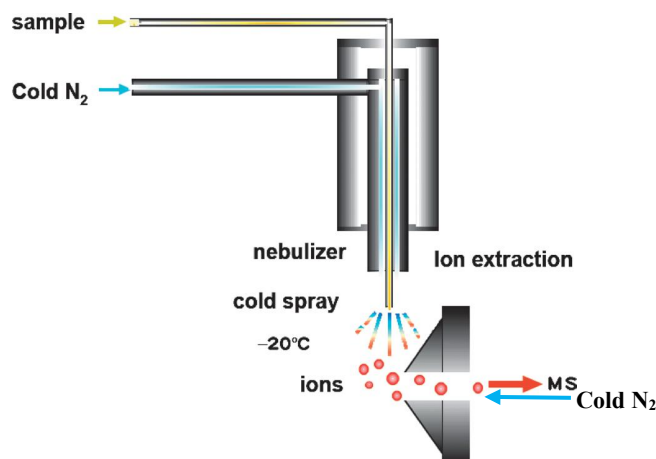
冷喷雾质谱的原理及应用

► 魏金超 杨劲祺 李书沐 辛斌 赵镇文

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

一、冷喷雾质谱原理

冷喷雾质谱 (cold-spray ionization mass spectrometry, CSI-MS) 是基于电喷雾质谱开发的一种新型质谱技术, 主要通过对液体喷雾以及脱溶剂过程冷却来增加分子的极化率, 通过溶剂化作用促进分子的离子化, 喷雾示意图见图 1。分子的极化率(P), 与真空介电常数(ϵ_0)、相对介电常数(ϵ_p)以及电场强度(E)存在关系: $P = \epsilon_0(\epsilon_p - 1)E$, $\epsilon_p = \epsilon_0^{-T/\theta}$ 。其中, T =绝对温度, θ =常数, 即 ϵ_p 与温度成反比关系。温度越低, ϵ_p 越大, 分子极化率也越大, 有可能降低温度使热不稳定分子通过溶剂化作用而离子化, 冷却也有利于目标分子的聚集。因此, CSI-MS 可以较好地保持溶液中非共价复合物的复合状态, 给出最接近溶液状态的结构信息。冷喷雾质谱现已应用于研究不稳定的有机化合物(不稳定的有机试剂、不稳定的金属有机复合物等等)、超分子体系、生物大分子的分析。



● 图 1、冷喷雾示意图

二、冷喷雾质谱的应用

2.1 对不稳定的有机试剂的结构研究

以格式试剂为例, 格式试剂在合成化学中有着重要应用, 一般由卤代烷与金属镁制备, 溶剂是无水乙醚或四氢呋喃, 在封闭状态下格式试剂溶液较稳定, 但其反应性却极为活泼, 因此正常条件获得其结构信息较为困难。Sakamoto (2003)

通过 X 射线晶体学与 CSI-MS 方法, 准确研究了格式试剂 RMgCl (THF 溶剂)^[1]。首先从 X 射线分析结果中得出了三种格式试剂的晶体结构, 见图 2, 但是得到的这些晶体结构并不能真正反映出它们在溶液中的真实状态, 因为在获得单晶时需要向溶液中添加己烷。这些单晶的结构中都含有相同的阳离子 $[\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_n]^+$, 因此推测其为 RMgCl-THF 体系中的主要组分, 通过 CSI-MS 验证。

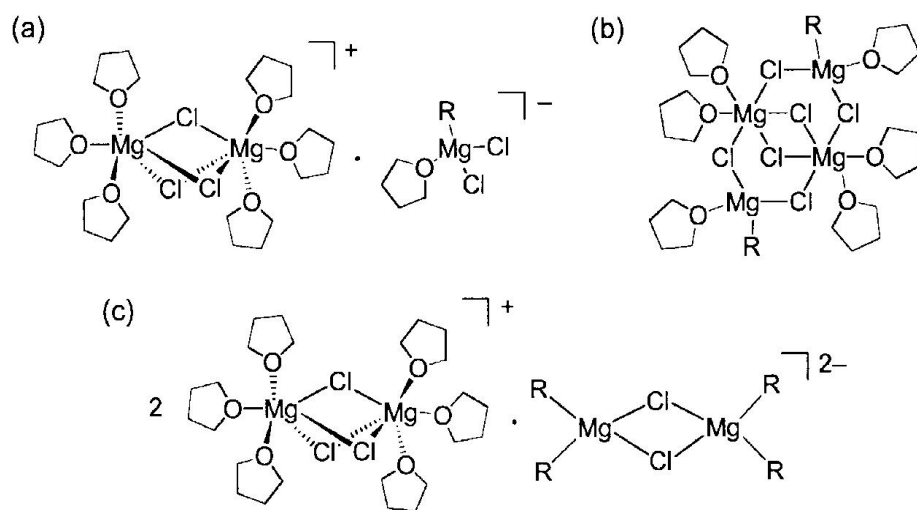


图 2、格式试剂结构

(a) $[\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_6]^+ \cdot [\text{RMgCl}_2(\text{THF})]^-$ ($\text{R}=\text{tBu}/\text{Ph}$), (b) $\text{R}_2\text{Mg}_4\text{Cl}_6(\text{THF})_6$ ($\text{R}=\text{Me}$, tBu and benzyl), (c) $[2\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_6]^+ \cdot [\text{R}_4\text{Mg}_2\text{Cl}_2]^{2-}$ ($\text{R}=\text{Ph}$)^[1]

从 CSI-MS 的结果中得到了三组峰, 见图 3, 对应的质荷比分别是 457、529 和 601, 使用串联质谱测定了这些离子所对应的组成, 见图 4, 其组成中包含多个溶剂分子和 Mg_2Cl_3 组分, 得到这三组峰对应的离子分别是 $[\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_4]^+$, $[\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_5]^+$ 和 $[\text{Mg}_2(\mu\text{-Cl}_3)(\text{THF})_6]^+$, 这说明 $\text{RMg}_2(\mu\text{-Cl}_3)$ 是 RMgCl-THF 体系中的主要物种。

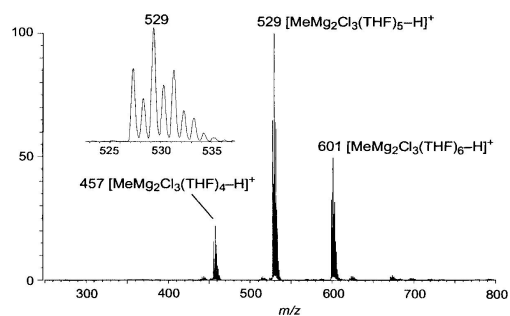


图 3、MeMgCl-THF 体系 CSI-MS 谱图^[1]

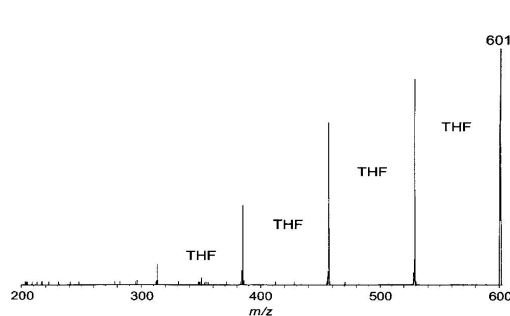


图 4、质荷比 601 对应离子谱图^[1]

2.2 对不稳定金属有机复合物的结构分析

Shigeru Sakamoto 等人 (2000) 得到了由六个 Pt (II) (en)和四个刚性多齿配体形成的自组装纳米级笼形络合物的质谱图^[2], 见图 5, 图中包含了在 0.1 mmol·L⁻¹ 的乙腈溶液中该络合物的 CSI 和 ESI 质谱图。比较质谱图可以发现, ESI 质谱图中主要检测到的碎片离子和弱的分子离子, 原因是在较高的脱溶剂温度 (200℃) 下, 络合物分解, 而在 CSI 的谱图中更多观测到多电荷分子离子 [M-(PF₆)_n+(CH₃CN)_m]ⁿ⁺ (n=3-10, m=0-21)。随着正电荷数目增加, 附于分子离子上的乙腈分子数也变多, 说明乙腈分子使 Pt²⁺溶剂化 (见图 6)。

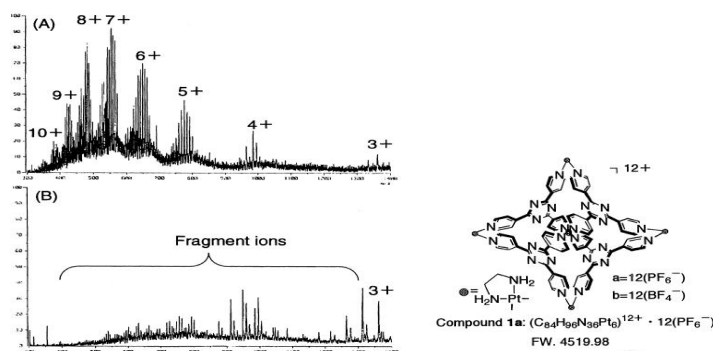


图 5、Pt 络合物结构与其质谱图(A 为 CSI-MS, B 为 ESI-MS)^[2]

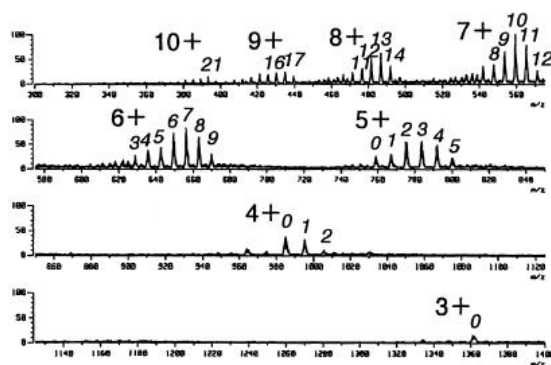


图 6、Pt 络合物的 CSI-MS 表明乙腈分子增多^[2]

2.3 对超分子体系的研究

Kadzuya Hirata (2009) 报道了使用冷喷雾质谱研究化合物 D_3 -对称性的三螺硼酸环烃 (图 7 中化合物 1) 与 $[\text{Ir}(\text{tpy})_2](\text{PF}_6)_3$ (tpy: 2,2':6',2''-terpyridine) (图 7 中化合物 3) 形成的超分子复合物体系^[3], 证实了其中超分子链的形成过程: 以化合物 **1b** 和 $3 \cdot (\text{PF}_6)_3$ 于 DMF/丙酮中以 1:1 混合后, 在正离子模式下 25°C 喷射, 观察到了不同质量的低聚物结构所对应的离子峰, 见图 7。

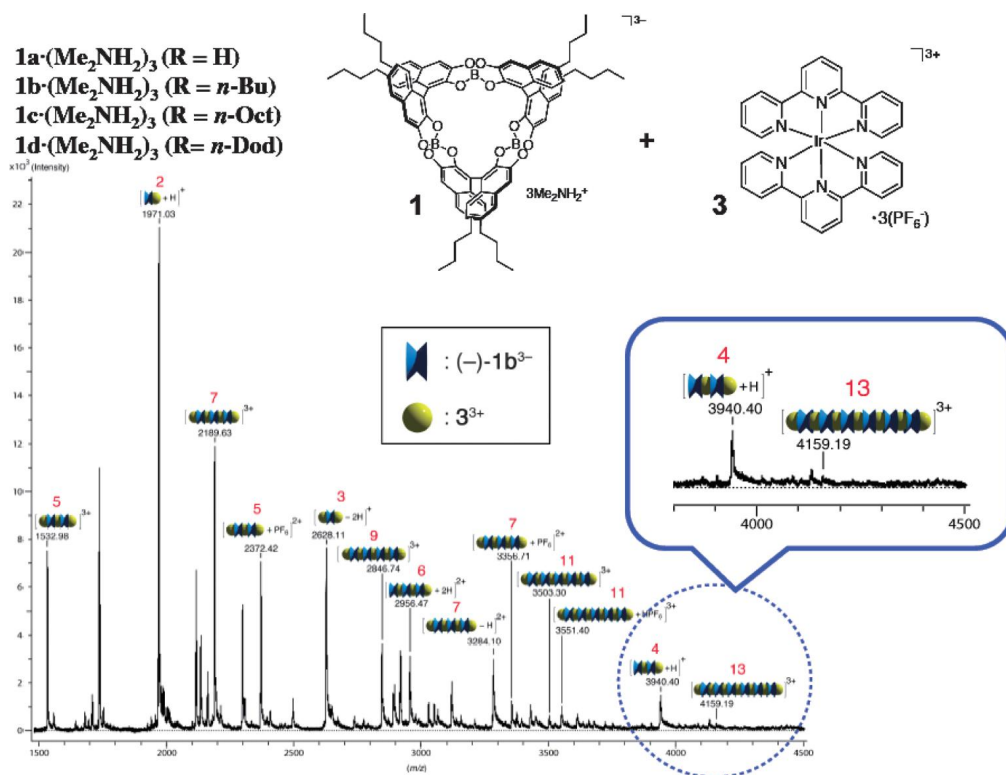


图 7、超分子链的 CSI-MS 谱图^[3]

2.4 对生物大分子的分析

2.4.1 蛋白质构象的转变

郭娜（2008）研究了不同喷雾下酸诱导细胞色素 *c* 构象转变的 CSI-MS^[4]，见图 8，观察到中性和偏碱性的条件下，在偏碱性（pH=8.2）的条件下，CSI-MS 谱表征细胞色素 *c* 在溶液中是处于折叠状态的，质谱电荷价态分布呈现出窄的分布而且+8 价为最强峰，但是在温度升高的后，细胞色素 *c* 的电荷价态分布变得较宽，但是最强峰均是低的电荷价态+8 价，表征其处于部分的去折叠状态，造成这一电荷分布的主要原因是 ESI 离子源的高温热诱导使得蛋白质去折叠，但 CSI-MS 的低温可以更好地保持蛋白质的折叠构象。

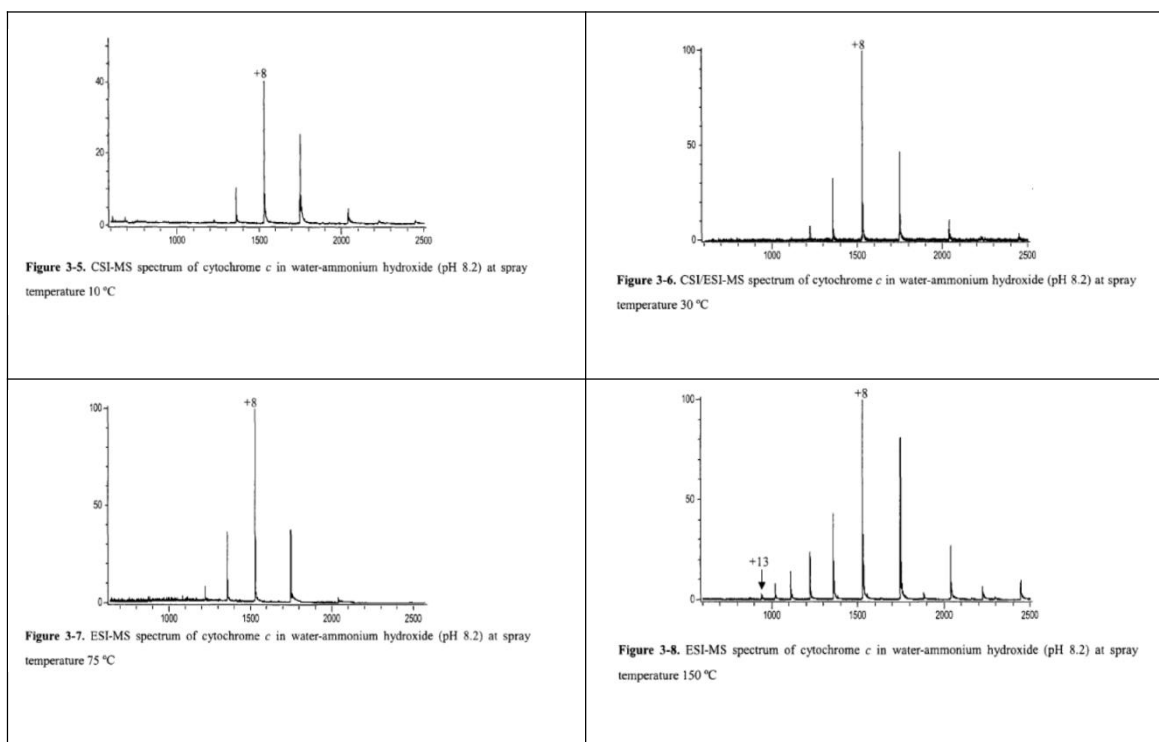
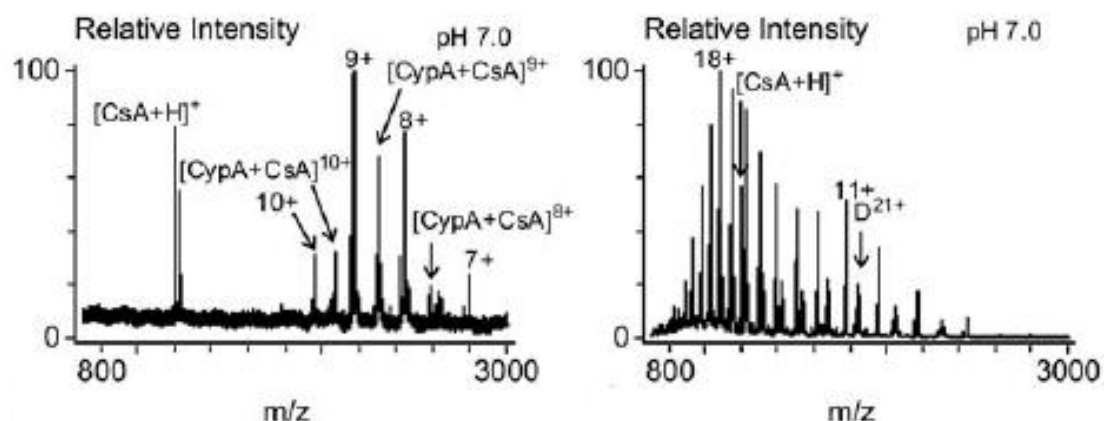


图 8、不同温度下细胞色素 *c* 的 CSI/ESI-MS (pH=8.2) ^[4]

2.4.2 蛋白质形成的非共价复合物

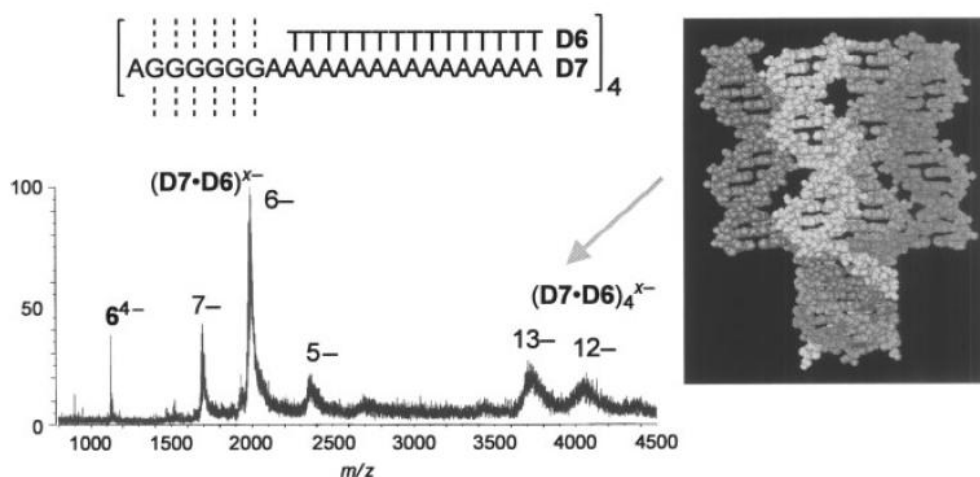
研究报道了使用冷喷雾质谱在模拟生理 (pH=7.0) 条件下观察亲环蛋白 A (CypA) 与环孢素 (CsA) 所形成的非共价化合物^[4]，见图 9，左图的 CSI-MS 谱显示正电的 CypA 在+8, +9 和+10 价态下与 CsA 的结合，但在右图的 ESI-MS 谱中却并未观察到非共价复合物的形成。这也说明 CSI-MS 在研究高温不稳定物种时比 ESI-MS 更具优势。



●图 9、CypA 和 CsA 形成非共价复合物的 CSI-MS (左) 和 ESI-MS (右)^[4]

2.4.3 超链 DNA

DNA 的结构如双链、三链以及四链 DNA 等结构已被探明，但这些多链 DNA 所形成的非共价复合物因其熔点较低却难以被传统方法所观察到，通过 CSI-MS 却可以对寡聚脱氧核苷酸复合物进行表征，5'-d(TTTTTTTTTTTTTTTTTT)-3' (D6) 和 5'-d(AGGGGGGAAAAAAAAAAAAAAAA)-3' (D7) 在 1:1 混合后，通过负电荷 CSI-MS 观察到了复合物 D7+D6 与 D7₄+D6₄，被指出是双链与四链寡聚脱氧核苷酸所形成的 DNA 杂交链结构^[5]，见图 10。



●图 10、D7 与 D6 形成复合物的 CSI-MS^[5]

三、总结

冷喷雾质谱 (CSI-MS) 作为一种电离条件温和、检测过程可维持低温的质谱方法, 可应用于药物功能有机小分子及蛋白组学研究、复杂体系有机小分子化合物及金属有机配合物的精确质量测定和分子式确定, 并有望开展催化反应体系活性中间体的检测。

参考文献:

- 1、 Sakamoto S, Imamoto T, Yamaguchi K. Constitution of Grignard Reagent RMgCl in Tetrahydropuran. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1793.
- 2、 Sakamoto S, Fujita M, Kim K, Yamaguchi K. Characterization of self-assembling nano-sized structures by means of coldspray ionization mass spectrometry. *Tetrahedron.* **2000**, *56*, 955.
- 3、 Danjo, H., Hirata, K., Yoshigai, S., Azumaya, I., & Yamaguchi, K. . Back to back twin bowls of D₃-symmetric tris (spiroborate) s for supramolecular chain structures. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1638.
- 4、 Guo, N., Zhang, R., Song, F., He, J., Xia, B., & Abliz, Z. Characterization of acid-induced protein conformational changes and noncovalent complexes in solution by using coldspray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **2009**, *20(5)*, 845.
- 5、 Sakamoto, S., & Yamaguchi, K. Hyperstranded DNA architectures observed by cold - spray ionization mass spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42(8)*, 905.

致谢:

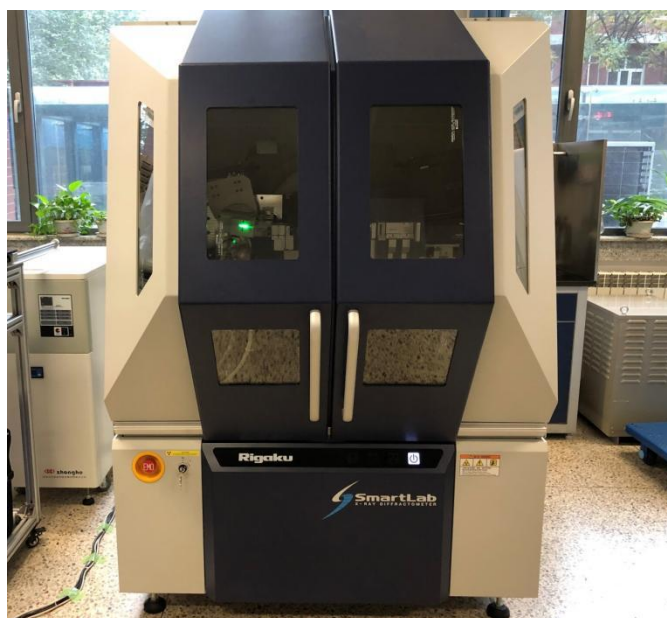
感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!

新购多晶 X 射线衍射仪 Rigaku SmartLab 9kW 功能介绍

► 孙杨

(分析测试中心 电话: 010-62658187 Email: sy0471103@iccas.ac.cn)

2021 年化学所分析测试中心 X 射线衍射组购置了理学 (Rigaku) 公司的 SmartLab 9kW 多晶 X 射线衍射仪 (见图 1), 该仪器光源为铜转靶类型, 检测器为 HyPix-3000, 可同时兼顾 0D、1D 和 2D 扫描。一次可以测试一个样品, 除常规测试外, 还可以进行毛细管旋转透射样品测试、 $K\alpha 1$ 测试、in-plane、平行光/掠角入射、2D 反射以及 2D 透射测试。



● 图 1、 Rigaku SmartLab 9kW 多晶 X 射线衍射仪

目前, 该仪器已经投入测试使用, 放置在 5 号楼 0125 实验室。下面, 以测试图谱为例介绍一下该仪器的具体测试功能 (见图 2 至图 6)。

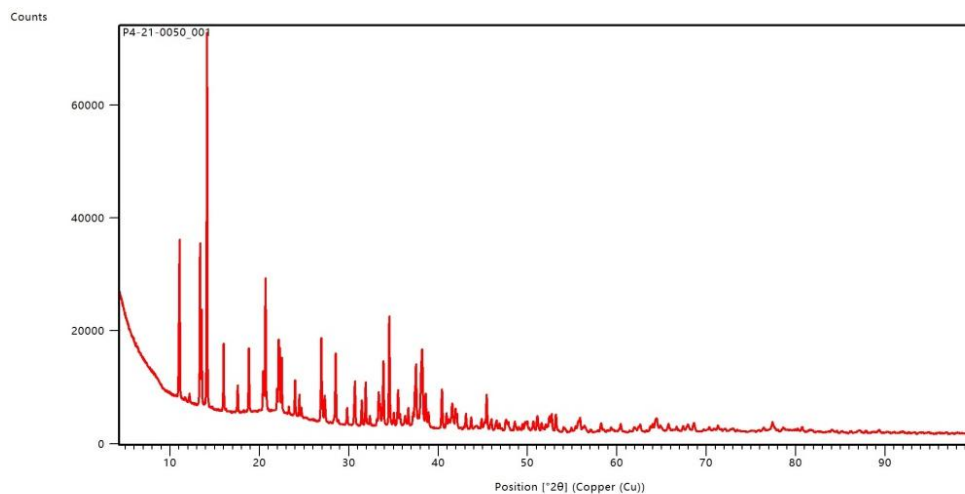


图 2、毛细管旋转透射+ $K\alpha_1$ 测试 (叶春辉/朱道本研究员课题组)

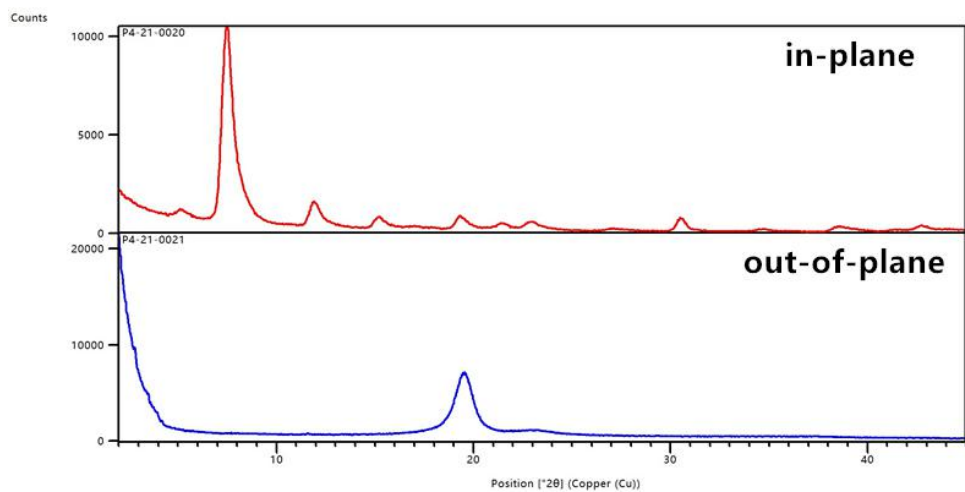


图 3、同一样品的 in-plane 与 out-of-plane 对比测试 (路家豪/于萍研究员课题组)

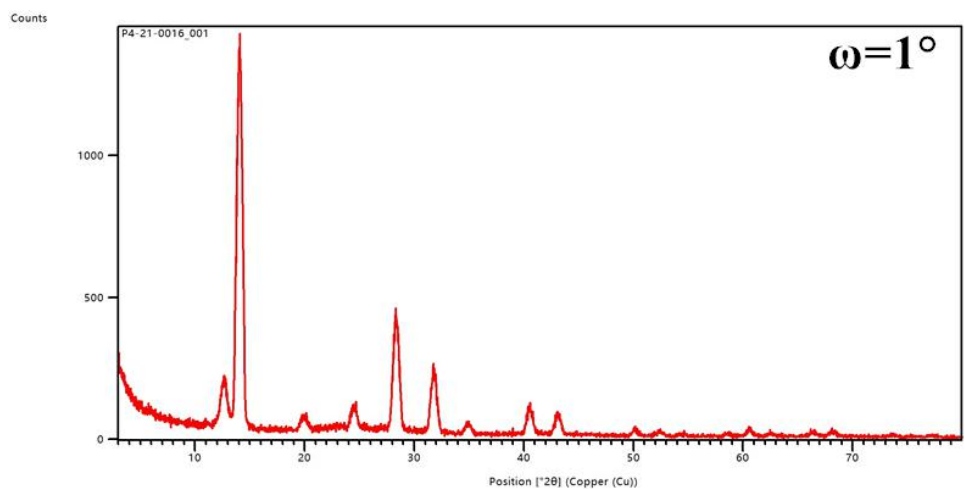


图 4、GI-XRD 测试 (王亚东/王吉政研究员课题组)

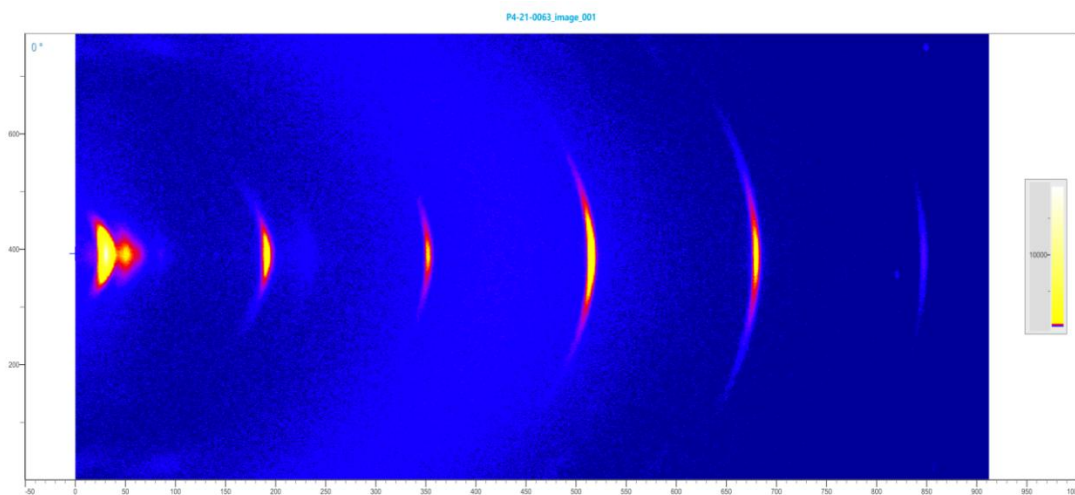


图 5、2D 反射 XRD 测试（闫星辰/赵永生研究员课题组）

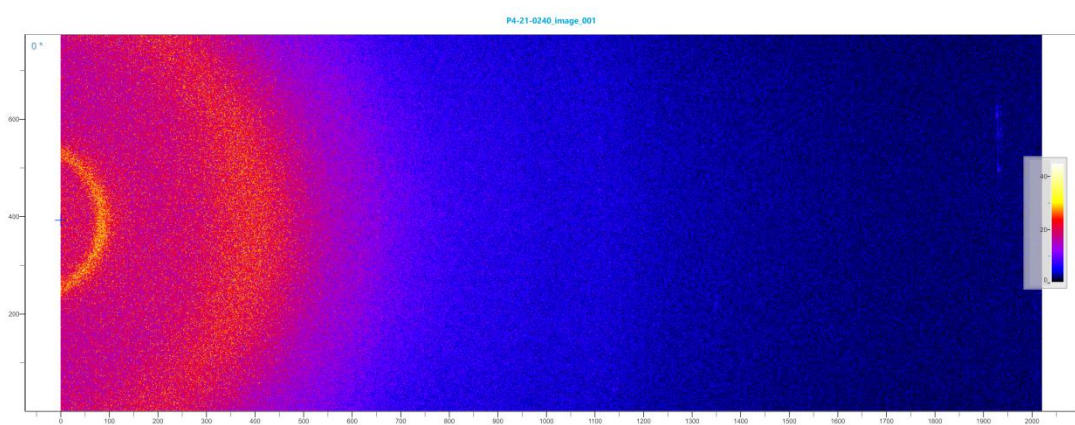


图 6、2D 透射 XRD 测试（王畅鸥/范琳研究员课题组）

综上所述，上述测试功能，毛细管旋转透射样品测试、 $K\alpha_1$ 测试、in-plane、平行光/掠角入射、2D 反射以及 2D 透射测试，均为现有老仪器无法测试或测试不理想的功能，这些新增功能可以从更精细和更多维度上探测样品的微观结构信息，使得多晶 XRD 测试更有力地支撑科研。

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！

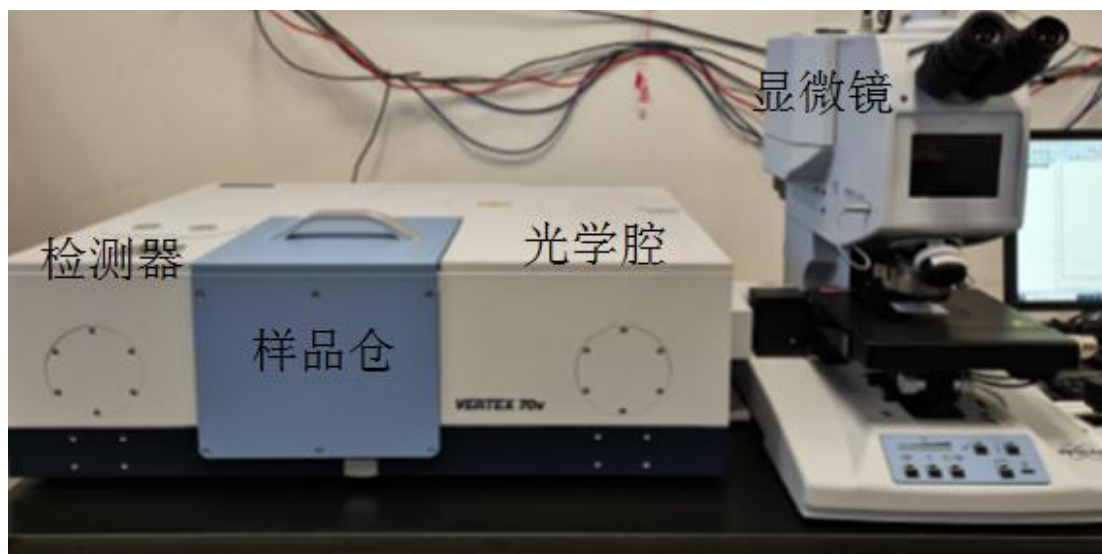
真空显微傅里叶红外光谱仪和紫外可见近红外分光光度计功能介绍

► 丰荣娟 刘美蓉

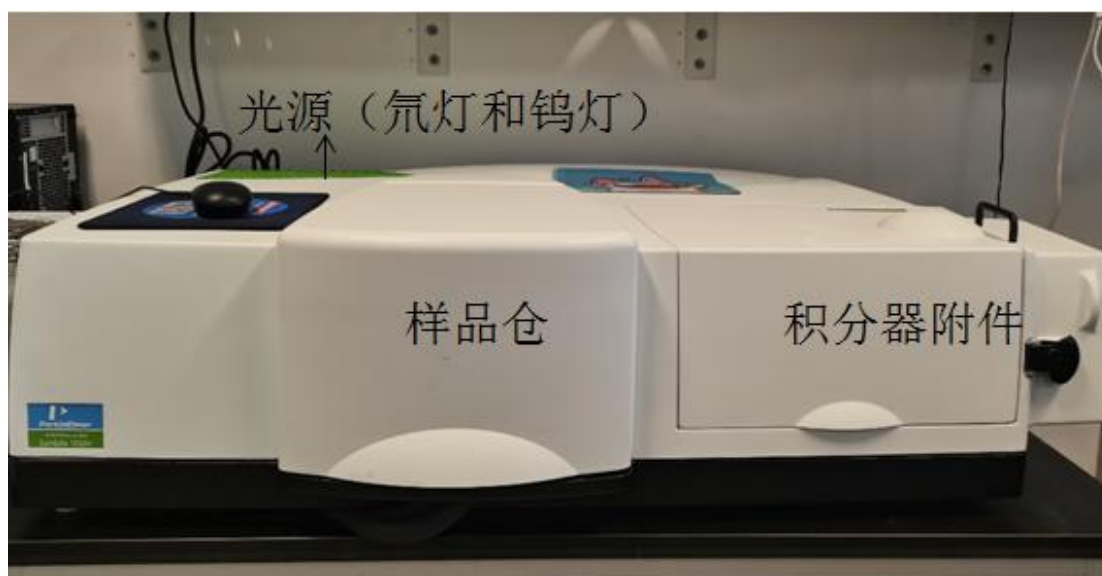
(分析测试中心光谱组 Tel: 010-62566250 Email: fengrj@iccas.ac.cn)

~~~~~

2021 年化学所分析测试中心光谱组新购 Bruker Vertex 70v 真空显微傅里叶红外光谱仪(图 1)和 PerkinElmer Lambda 1050+ 紫外/可见/近红外分光光度计(图 2)，下面就这两台仪器做一下介绍。



● 图 1、 Vertex 70v 真空显微傅里叶红外光谱仪



● 图 2、 Lambda 1050+ 紫外/可见/近红外分光光度计

## 一、Vertex 70v 真空显微傅里叶红外光谱仪

真空显微傅里叶红外光谱仪的样品腔和光学腔都可以抽真空，真空度可达 20 Pa，常规测试范围 8,000-350  $\text{cm}^{-1}$ ，分辨率：优于 0.4  $\text{cm}^{-1}$ ，配备 DTGS 检测器和 MCT 检测器，可进行透射、衰减全反射（ATR）测试，还可以进行原位液体红外测试。联用红外 HYPERION 显微镜，配备了 MCT 检测器，测试范围 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ ，可进行透射、反射和 ATR 测试。其中透射和反射模式的空间分辨率为 10  $\mu\text{m}$ ，ATR 晶体为高折射率的 Ge，空间分辨率可提高 4 倍，达到 2.5  $\mu\text{m}$ 。

相比于原有的 Tensor 27 傅里叶红外光谱仪，Vertex 70v 真空显微傅里叶红外光谱仪有两个显著的优势：第一是主机增加了抽真空的功能，第二是联用了 HYPERION 显微镜。首先介绍第一个特色—主机抽真空。常规透射光谱法测得的红外光谱一般在 3400  $\text{cm}^{-1}$  和 1640  $\text{cm}^{-1}$  会出现水的吸收峰。这是由于溴化钾粉末在研磨或压片时吸附空气中的水蒸汽造成的。当空气的湿度较大时，空气中水汽峰容易与样品分子中的结晶水、羟基或者氨基重叠在一起，很难判断样品中是否含有此类基团，干扰谱图分析。在透射法进行红外光谱测试时，一般采用空光路或者溴化钾锭片采集背景单光束光谱，扣除的背景单光束光谱主要是扣除光路中的二氧化碳（2349 $\text{cm}^{-1}$  左右）和水汽（3400 $\text{cm}^{-1}$  和 1640 $\text{cm}^{-1}$  左右）的吸收，同时也扣除了仪器各种因素的影响。空气中水汽和二氧化碳浓度随时发生变化，当样品信号较弱时，空气中水汽和二氧化碳的影响非常明显，很难通过扣背景的方式扣除。而主机样品腔抽真空可以除去空气中水汽和二氧化碳的影响，弱的特征峰不会被水汽和二氧化碳的吸收所掩盖。通过图 3(a)，我们发现当分析对象本身浓度很低时，水汽和二氧化碳对样品的分析带来极大的干扰，而抽真空条件下测得的光谱质量就很好；而当分析对象本身浓度较高时（图 3(b)），抽真空与否区别不是很大，但还是抽真空得到的谱图信噪比更佳。



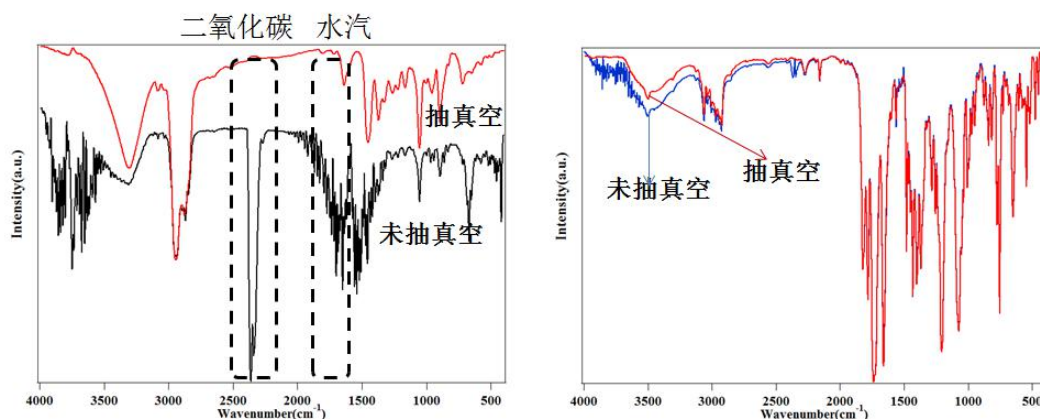
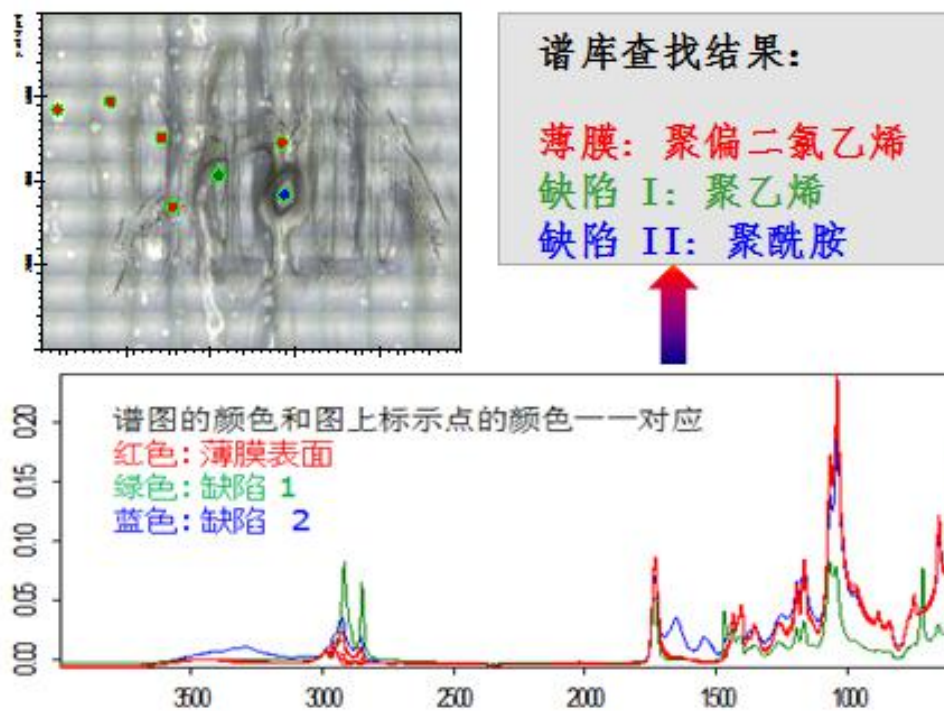
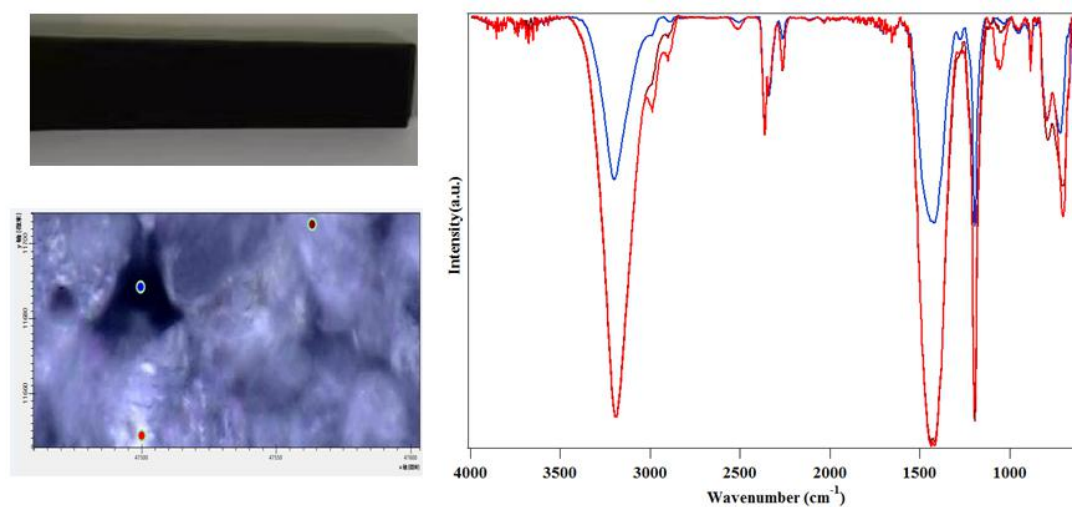


图 3、(a)分析对象浓度较低时，抽真空和未抽真空的区别，(b)分析对象浓度很高时，抽真空和未抽真空的区别。

接下来介绍第二个特色—HYPERION 显微镜。HYPERION 显微镜用于分析微小样品或者非均相样品上的微区成分，可分析纳克级别或者是小于 200 微米的微小固体样品。分析方式多样，分为透射、反射及 ATR 模式。对于显微镜的透射分析实验，样品需要被切割成 5-15 微米厚的薄片。如果样品沉积在高反射率的基底上，可以采用反射模式测量。但是，有很多样品既不透明，反射率又不高，这些样品需要采用 ATR 模式测量。其中，使用最广泛的为 ATR 测量模式。HYPERION 显微镜上专用的 ATR 镜头（20×）既保证了清晰的可见观察，又保证了红外测量的光通量。当样品在可见光下被定位后，ATR 晶体可以通过高精度的机械杆移至样品上进行红外测量。内置压力传感器可以高重复性地确保在数据采集过程中样品和晶体的最佳接触。为满足各种不同硬度样品的测量，ATR 镜头可以选择设置不同的压力。使用  $z$  轴驱动和自动  $xy$  样品台，保证样品可以通过 ATR 点扫描或面扫描模式来进行高空间分辨率的分析（图 4）。ATR 晶体是由高折射率的 Ge 晶体制成，可以用于研究颜色较深的材料（图 5），弥补了 ATR 金刚石晶体不能测黑色样品信号的缺失。



● 图 4、薄膜上缺陷的 ATR 显微扫描



● 图 5、黑色样品的 ATR 显微扫描

## 二、Lambda 1050+ 紫外/可见/近红外分光光度计

Lambda 1050+ 紫外/可见/近红外分光光度计由五个部分组成：光源（氙灯和钨灯）、单色器、样品仓、检测器和数据系统。Lambda 1050+ 紫外/可见/近红外分光光度计配备两套检测模块—标准检测模块和积分球检测模块。标准检测模块包含 PMT 检测器和 PbS 检测器，PMT 检测器用于紫外和可见光区域（175-861 nm），PbS 检测器用于近红外区域（862-3300 nm）。标准检测模块的

最大扫描范围：175-3300 nm，波长精度达到 0.08 nm，可进行紫外光谱、动力学、波长定量扫描和变温紫外光谱（0-100°C）测试（图 6），一般用于测试清澈透明的液体样品或透光的薄膜样品。积分球检测模块(图 7)的涂层材料是 spectralon，spectralon 反射率高于 MgO 和 BaSO<sub>4</sub>，反射光谱平坦，非常有利于测量，且 spectralon 化学稳定性好，不怕酸、碱、盐，不怕潮湿，长期不老化。积分球的大小为 150 mm，开孔率为 2%左右，具有高测量精度。积分球检测模块也包含 PMT 检测器和 PbS 检测器，最大扫描范围：200-2500 nm，可进行常规紫外光谱测试、雾度测试和固体积分球漫反射测试（图 8）等，一般用于测试浑浊不透明的液体、薄膜及固体粉末样品。

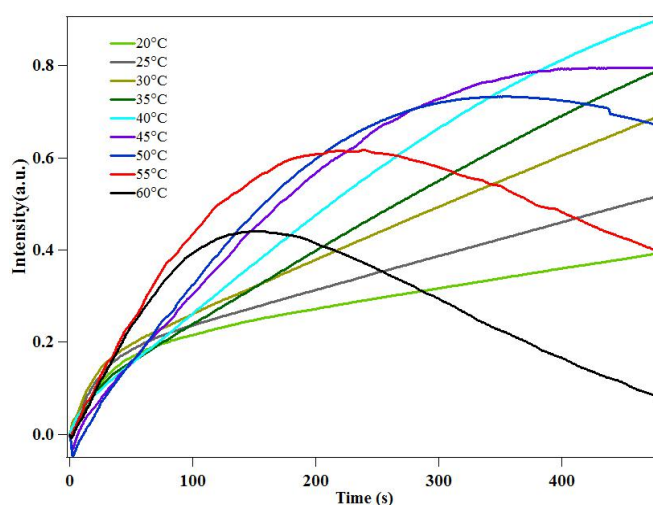


图 6、不同温度下的紫外吸收光谱

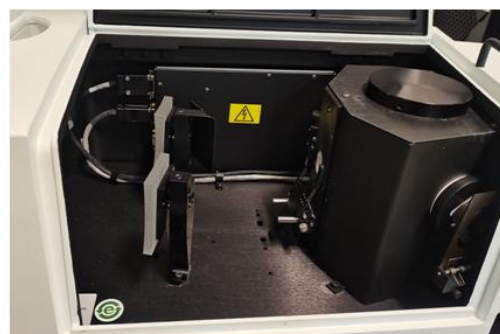
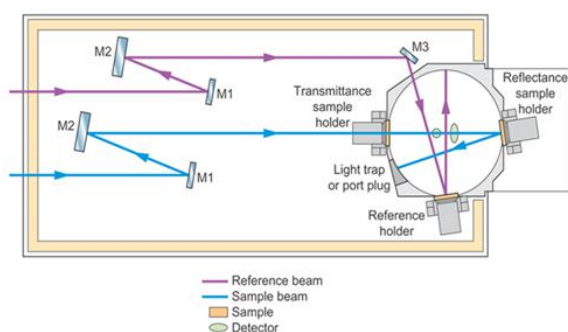


图 7、积分球检测模块

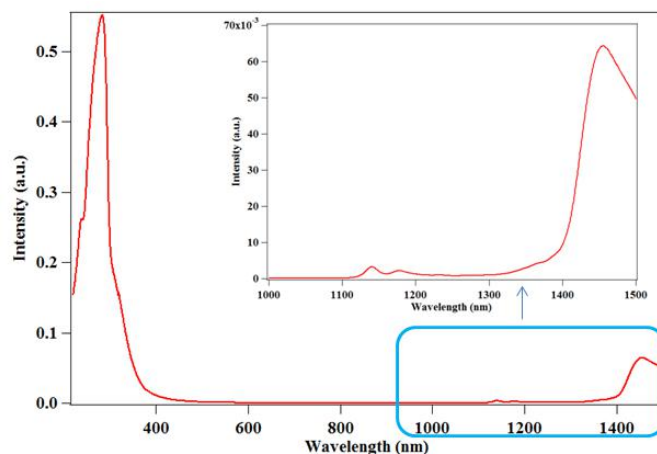


图 8、固体粉末的紫外吸收光谱

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!

## X 射线光电子能谱 ( XPS ) 与拉曼光谱联用技术介绍

► 章小余 赵志娟

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

XPS 作为一种高效的表面分析手段，其在材料科学、化学化工、半导体器件、能源电池、微电子、信息产业、环境等高新技术领域的应用越来越广泛。随着商业化 XPS 设备的普及和应用，科研人员使用设备的需求更趋于多元化。在要求仪器设备具有更高性能的同时，科研人员越来越关注同一设备能否提供更多的拓展功能，如原位多技术联用，从而实现对材料多维度的原位表征分析。化学所分析测试中心购置的 Nexsa 多技术集成型光电子能谱仪是一款高效、自动化、高性能的 X 射线光电子能谱仪，配备多种功能附件，可实现同一位点多技术联合原位表征，包括紫外光电子能谱 (UPS) (可进行半导体材料价带结构和逸出功的研究)、Ar 气体团簇复合离子源 (MAGCIS) (可以开展有机无机材料表面深度剖析的研究) 和原位真空拉曼光谱 (Raman) (可以从分子层面了解材

料的结构信息和分子相互作用信息)等。本文中我们将介绍空气敏感的硫化物固体电解质材料使用 Nexsa 真空转移模块传递样品,并在完成 XPS 测试的同时实现原位真空拉曼光谱测试。

## 一、实验部分

硫化物固体电解质材料预先在手套箱中制备完成,随后将样品粘贴至 Nexsa 真空转移模块的样品台上,待模块在手套箱过渡舱中抽至负压密封,将转移模块整体从手套箱中取出,如图 1 所示,随后送入多技术集成型光电子能谱仪 Nexsa 的进样室;预抽腔室内真空至  $1 \times 10^{-7}$  mbar 后送入分析室进行 XPS 测试。整个制样和转移过程样品一直处于手套箱内惰性气氛和负压密封状态,未接触大气环境因此可保证样品不被氧化。借助仪器的光学视图,快速聚焦到样品指定位置进行 XPS 测试。待 XPS 测试完成后,在同一个位置进行原位拉曼光谱测试。



图 1、Nexsa 真空转移模块粘贴样品图

## 二、结果分析

首先,结合样品可能存在的化学组成,我们对测试所得各元素的 XPS 谱图进行化学态分析,XPS 高分辨谱如图 2 所示。XPS 谱图中结合能位于 55.4 eV 的 Li1s 光电子峰归属为  $\text{Li}^+$ ;结合能位于 131.7 eV 的 P2p3 光电子峰和 161.3 eV 的 S2p3 光电子峰分别归属为  $\text{PS}_4^{3-}$  中的  $\text{P}^{5+}$  和  $\text{S}^{2-}$ ,即测试的硫化物固体电解质材料组成为  $\text{Li}_3\text{PS}_4$ 。

为了验证 XPS 的测试结果,我们用能谱仪器配置的拉曼光谱仪对同一位置进行原位真空拉曼测试,测试光谱结果如图 3 所示。从拉曼测试结果分析,在波数大约为  $420 \text{ cm}^{-1}$  位置我们可以观察到  $\text{PS}_4^{3-}$  振动峰,该测试与用户在实验室使



用原位显微拉曼光谱仪（型号为 SpectraProSP2300）结果一致。

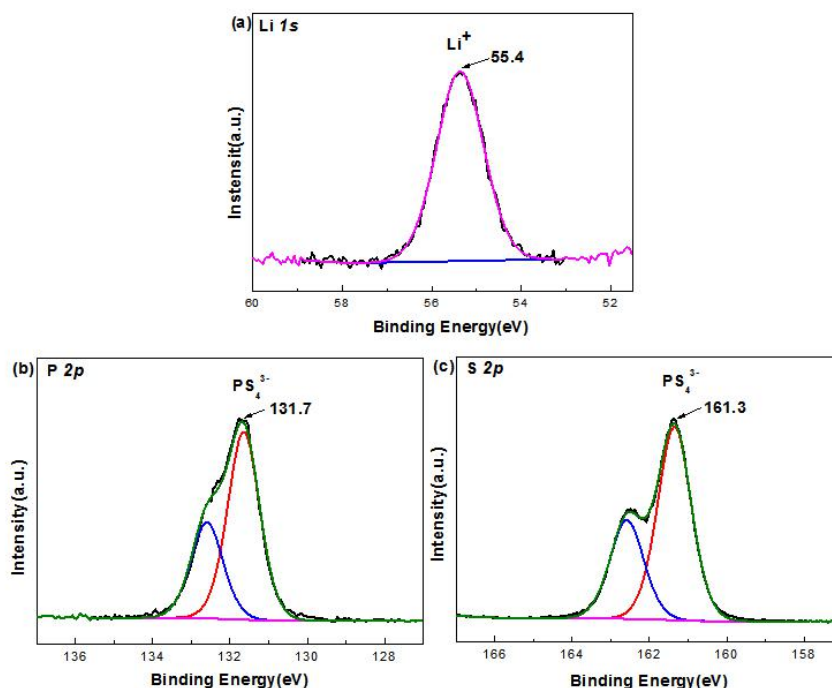


图 2、硫化物固体电解质材料的 XPS 测试谱图，(a) Li 1s 的高分辨谱图；(b) P 2p 的高分辨谱图；(c) S 2p 的高分辨谱图（样品来自郭玉国研究员课题组）。

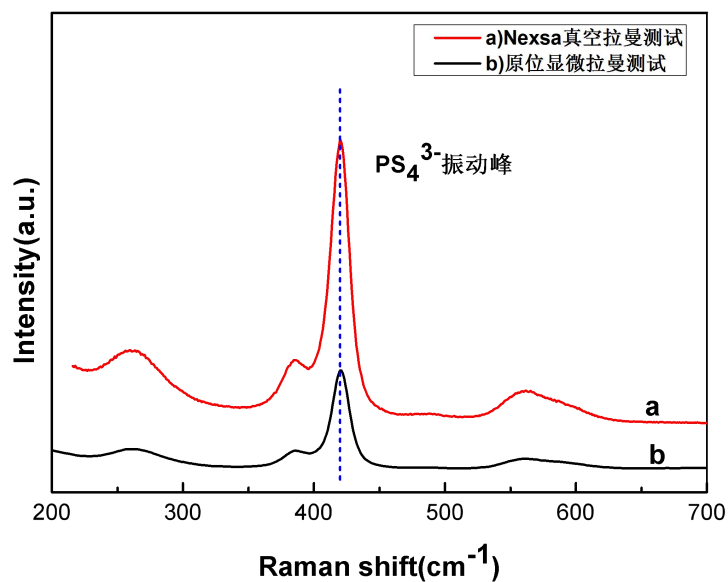


图 3、硫化物固体电解质材料的拉曼光谱图，a) 在 Nexsa 上测试的真空拉曼光谱图；b) 原位显微拉曼光谱图。

### 三、结论

利用 Nexsa 多技术集成型光电子能谱仪的 XPS-Raman 联用表征技术，无需移动或转移样品，可以实现待测样品同一位点的 XPS 测试和原位真空 Raman 测

试,尤其对于本文提到的锂离子电池类的空气敏感样品,结合真空样品转移模块,只需一次制备装样转移即可在能谱仪中完成 XPS-Raman 测试,测试结果准确可靠,有效提高了测试效率,满足了科研人员多元化的测试需求。Nexsa 配备的真空转移模块小巧灵活,可对接手套箱传递样品,相比原位显微拉曼测试过程,Nexsa 设备的拉曼操作过程更加简易便捷。将探测分子结构信息原位真空拉曼与 XPS 技术联用,是对 XPS 表面分析方法的一个很好的补充。

### 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!

## 场发射透射电镜 JEM-F200 功能及应用案例

► 泰靖 关波

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

场发射透射电子显微镜 JEM-F200 于 2021 年 3 月完成安装调试、开放培训及测试。JEM-F200 是一台新型的场发射透射电镜,它整合了近年来的新技术、新功能,STEM 成像能力、EDS 能谱、操作的自动化和简单化比前一代的场发射电镜 JEM-2100F 有了较大的提升,本文主要介绍 JEM-F200 的功能及典型的应用案例。

### 一、JEM-F200 的主要特点

JEM-F200 采用与球差校正透射电镜 JEM-ARM 200F 同样的整体设计,机械稳定性、电气稳定性、高压稳定性和光路稳定性较好。尤其是采用自动进出样品杆系统,此设计避免了人工进样导致测角台损坏的问题,大大降低了对于进样人员的要求,可实现全天 24 小时开放,有效提高使用效率。此台 JEM-F200 配置的是冷场发射电子枪,比热场发射电子枪亮度高一个数量级,能量发射度小一半,相干性好,高低压下均容易汇聚成高亮度的小束斑,因此 STEM 成像质量高。此外,与 JEM-2100F 相比,JEM-F200 采用了四级聚光镜,能够实现束斑尺寸和

汇聚角的单独控制，小束斑的电流也从 1 nm 下 2 nA 提高到 2.5 nA。同时，JEM-F200 配置了背散射和二次电子探头，可以获得微区的表面信息，可同时获得透射图像和扫描图像。而且，JEM-F200 配置了两个无窗能谱探头，有效提高了信号收集率，可对小至 1 nm 的颗粒进行成分的面分布分析。

## 二、JEM-F200 的测试案例

### 2.1 HR-TEM 高分辨结构表征

JEM-F200 的极靴为间距宽的高分辨物镜极靴，TEM 晶格分辨率为 0.1 nm，此外，F200 还配置了 Oneview 相机，采集速度快，可在 4K×4K 的全幅分辨率下以 25 fps 的速率进行成像，同时配置实时漂移矫正功能，能够显著提升高分辨图像的质量。图 1 所示为羟基氧化铝的纳米胶束的高分辨图像。此外，JEM-F200 的宽极靴设计有利于进行原位实验，Oneview 相机具有原位功能，能够实时记录全画幅 4K×4K@25 fps 的原始数据，配置原位样品杆可实现原位测试。

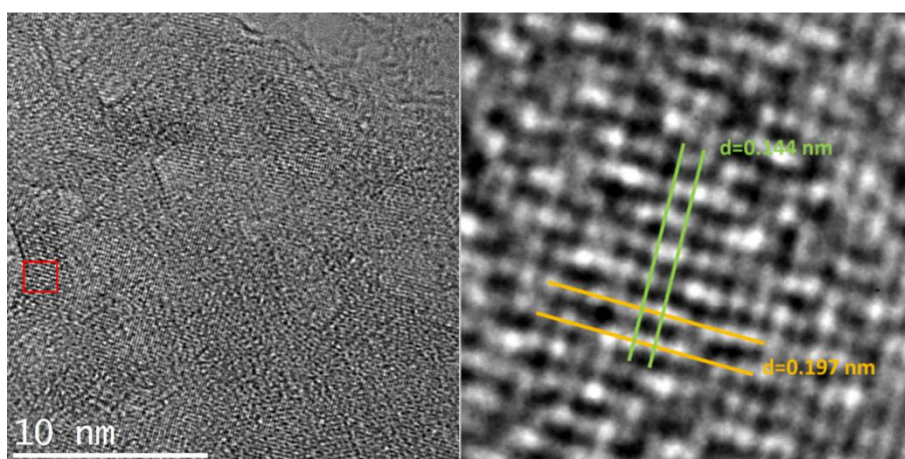


图 1、JEM-F200 得到的羟基氧化铝的高分辨图像<sup>[1]</sup>

### 2.2 STEM 成像与 EDS 分析

JEM-F200 配置冷场枪和四级聚光镜，STEM 分辨率可以达到 0.16 nm，同时配置了两个 100 mm<sup>2</sup> 无窗电制冷能谱探测器，固体角为 1.7 srad，能量分辨率小于 133 eV。因此，应用 JEM-F200 可以实现纳米尺度下的 STEM 成像和 EDS 成分分析。图 2 所示为多层膜结构的固态电解质，每层的厚度约为 10 nm，应用 JEM-F200 的能谱分析可清晰地表征出每一层的元素分布情况。

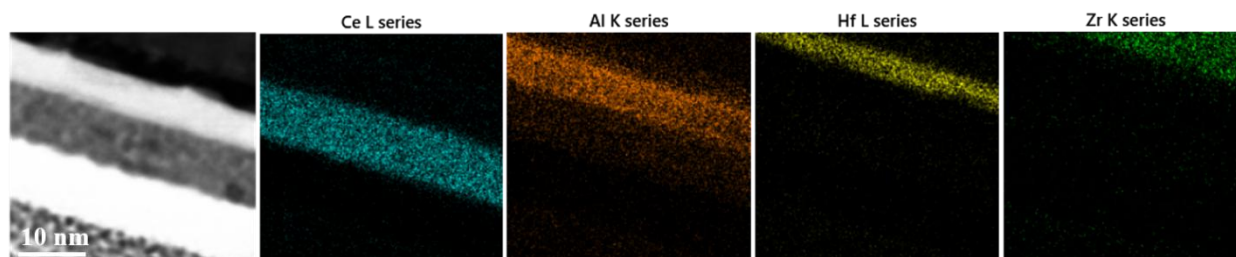


图 2、JEM-F200 获取的固态电解质的 STEM 图像和 EDS 分布信息<sup>[2]</sup>

### 2.3 背散射或二次电子成像

JEM-F200 配置了高稳定性的多功能 STEM 扫描系统，不仅可以同时获得明场、暗场像，同时还配备了背散射和二次电子探头，目前市场上的场发射透射电镜只有 JEM-F200 配置了背散射和二次电子探头，可以在获取透射像的同时获取 BEI 或者 SEI 图像，分辨率可以达到 1 nm，即可以同时得到样品同一微区的透射信息和表面信息，提供更丰富的数据支撑。如图 3 所示，研究人员在介孔硅球上负载了贵金属催化剂，然后在表面包裹了一层碳材料，应用 STEM-DF 图像能够观察到介孔硅球上负载的金属催化剂，但是无法获取样品孔道的表面信息，通过二次电子图像不仅可以清楚地观察到同一区域介孔的孔道结构，而且能够观察到表面上包裹的碳颗粒，对于研究其结构与催化性能的关系提供了有力的数据支撑。

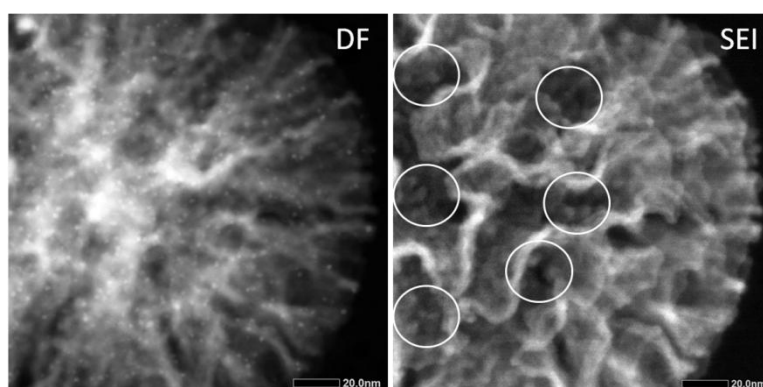


图 3 、JEM-F200 获取的 DF 和 SEI 图像

## 三、总结

总之，场发射透射电镜 JEM-F200 相比于 JEM-2100F，硬件系统稳定，操作

简单化，尤其是 STEM 成像质量及 EDS 能谱性能显著提升，可广泛用于无机、有机、生物等样品的纳米尺度分析，可以实现材料的微观结构、成分及形貌分析，包括高分辨、STEM-BF/DF、选区电子衍射、背散射/二次电子像及成分的定性和半定量分析，元素的点、线和面分析等。同时，易扩展原位功能，根据需求，可申请购置相应的原位样品杆，实现在透射电镜下原位地对样品的微观结构、成分进行表征。

### 致谢：

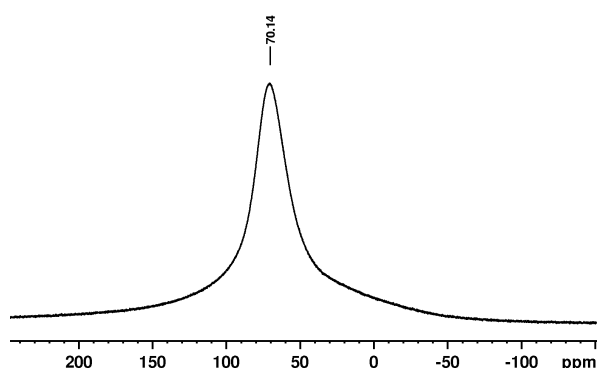
感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工！

## 低 $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$ 和 $^{29}\text{Si}$ 核磁背景探头介绍

► 张阳阳 向俊锋

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

含硼、铝和硅的化合物由于具有优越及特殊的物理和化学性质被广泛应用到工业、医药和农药等多个领域，化学所内已经有多个课题组从事相关的研究。但是实际  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  核磁测试中有些同学误把很强的背景信号峰当作样品的信号峰，从而影响科研人员的判断。例如图 1 样品的  $^{27}\text{Al}$  核磁谱图，实际上采到的信号是来自探头背景。



●图 1、孙文华组样品  $^{27}\text{Al}$  NMR 谱图 (500 MHz)。

分析原因一方面是布鲁克商用探头 (图 2) 所用材质含有  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$



这几种原子核，其中  $^{11}\text{B}$  和  $^{29}\text{Si}$  原子核的核磁信号主要来源于核磁管、梯度线圈（陶瓷部件）和石英套管（石英玻璃管）， $^{27}\text{Al}$  原子核的核磁信号主要来自梯度线圈、电容器和铝金属。当只对探头进行采样时，从图 3 看出直接采集到的谱图出现很强背景信号的干扰峰，就会严重干扰了材料的结构分析。

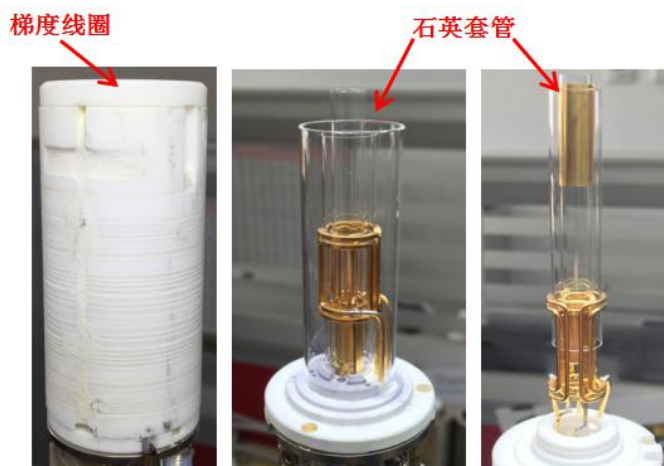


图 2、布鲁克探头内部结构图。

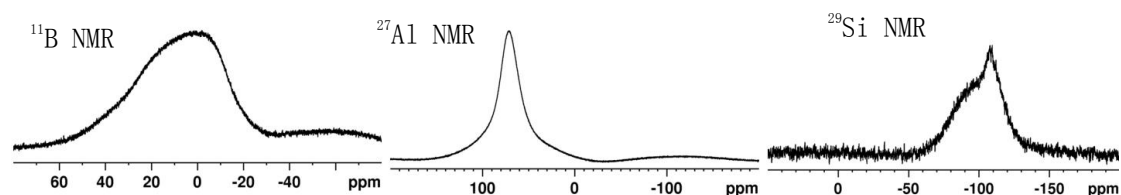


图 3、直接检测布鲁克探头的  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  NMR 谱图。

根据化学所的科研需求，核磁组从 Q-One Tec（瑞士）定制 500 MHz 低  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  背景探头（Q-One Tec 500 X/H, F 05 nBG WB），匹配 Bruker 谱仪。这个探头相比布鲁克探头具有的明显优势是改进了探头的构建材料，采集到的谱图则无  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  三种原子核的核磁信号（图 4）。

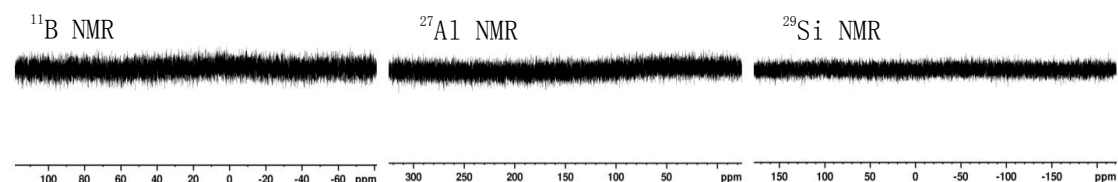
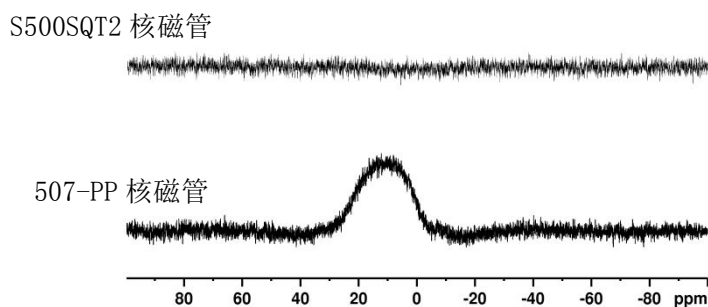


图 4、直接检测 Q-one Tec 低背景探头的  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  NMR 谱图，扫描 1024 次。

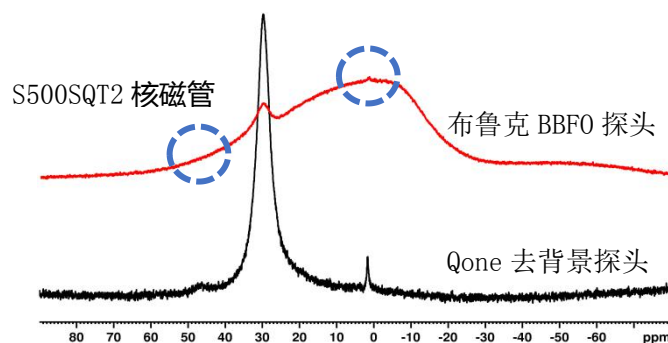
$^{11}\text{B}$  和  $^{29}\text{Si}$  的强核磁背景信号也来自于核磁管。首先排除探头背景信号峰的

干扰，我们在 Q-One Tec 去背景探头下比较了 507-PP 核磁管（硼硅酸盐材质玻璃制造）和 S500SQT2 核磁管（熔融人工石英制造，硼含量 $\leq 0.01$  ppm）的  $^{11}\text{B}$  NMR 信号，从图 5 看出 507-PP 核磁管有很强的  $^{11}\text{B}$  NMR 信号，S500SQT2 核磁管则没有  $^{11}\text{B}$  NMR 信号。因此在做这类核磁测试时要优先选择熔融石英材质的核磁管。



●图 5、Q-One Tec 低背景探头分别检测 507-PP 玻璃核磁管和 S500SQT2 熔融石英核磁管的  $^{11}\text{B}$  NMR 谱图。

使用 S500SQT2 核磁管，用 Q-One Tec 低背景探头检测  $^{11}\text{B}$  核磁信号。从图 6 可以看出，相对于布鲁克常规探头，低背景探头可以检测到之前难以看清的  $^{11}\text{B}$  核磁信号（蓝色圆圈圈出的位置），为科研人员的结构解析带来更多信息。



●图 6、刘鸣华研究员课题组样品  $^{11}\text{B}$  NMR 谱图。

（布鲁克 BBFO 探头得到的谱图（上）和 Q-One 低背景探头得到的谱图（下））。

综上，布鲁克常规探头的梯度线圈、石英玻璃套管和电容器的材质中含有  $^{11}\text{B}$ 、 $^{27}\text{Al}$  和  $^{29}\text{Si}$  这几种元素，在核磁测试时有很强的背景信号。新购置的 Q-One 低背景探头可以解决上述问题，将为化学所开展基于这类核磁表征提供很好的支持。

**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: 010-82613026      邮箱: npns@iccas.ac.cn



顾问： 唐亚林 何圣贵

主编： 关 波 刘美蓉 李巧连 向俊锋 何万中

郝 项 赵镇文 赵志娟

编辑： 丁丽萍