

DOI: 10.19650/j.cnki.cjsi.J2006807

## 等温滴定量热仪的校准方法与程序实现\*

葛秀杰<sup>1,2,3,4</sup>, 高雅<sup>1,2,3,4</sup>, 李德兴<sup>1,2,3</sup>, 葛广路<sup>1,2,3</sup>

(1. 中国科学院纳米标准与检测重点实验室 北京 100190; 2. 中国科学院纳米科学卓越创新中心 北京 100190;  
3. 国家纳米科学中心 北京 100190; 4. 中国科学院大学 北京 100049)

**摘要:**等温滴定量热法(ITC)是一种原位表征溶液反应热力学参数的重要方法。根据 ITC 滴定过程的不同热效应以及主要误差来源建立了完整的 ITC 测量模型。以 NanoITC(SV)型等温滴定量热仪为例,基于该测量模型分别采用 BaCl<sub>2</sub>/18-crown-6、CaCl<sub>2</sub>/EDTA、正丙醇稀释 3 组滴定实验对量热仪的量热因子( $f$ )与反应池有效体积( $V_{cell}$ )进行校准,综合考虑了滴定溶液浓度不确定度、量热仪热信号的随机误差项以及反应参数理论值的不确定度等不确定度分量,基于蒙特卡洛法可靠地计算了校准值的不确定度。3 组不同的校准实验互相验证,其结果显示,被校准等温滴定量热仪的量热因子存在 8.1% 的偏差,反应池有效体积存在 3.4% 的偏差。支持材料提供了完整的实验数据以及 Python 程序源代码。

**关键词:**等温滴定量热法;仪器校准;测量模型;蒙特卡洛法;Python 程序

**中图分类号:** TH89 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 460.40

## A calibration method and algorithm implementation for isothermal titration calorimeter

Ge Xiujie<sup>1,2,3,4</sup>, Gao Ya<sup>1,2,3,4</sup>, Li Dexing<sup>1,2,3</sup>, Ge Guanglu<sup>1,2,3</sup>

(1. CAS Key Laboratory of Standardization and Measurement for Nanotechnology, Beijing 100190, China;  
2. CAS Center for Excellence in Nanoscience, Beijing 100190, China; 3. National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Isothermal titration calorimetry (ITC) is an important method for the thermodynamic measurement of solution reaction. Based on the quantitative evaluation of ITC basic error sources, an explicit ITC measurement model is formulated, which consists of both different thermal effects and main error components. By utilizing this ITC measurement model, BaCl<sub>2</sub>/18-crown-6, CaCl<sub>2</sub>/EDTA and 1-Propanol dilution are used to calibrate the calorimetric factor ( $f$ ) and the effective volume of the reaction cell ( $V_{cell}$ ) of the NanoITC (SV) calorimeter. Based on the concentration uncertainty of the titration solution, the basic error terms of the calorimeter and the uncertainty of the theoretical values of the reaction system, the calibration uncertainties can be calculated by the Monte Carlo method. Three groups of different calibration experiments are compared with each other. The results show that an 8.1% deviation in the calorimetric factor and a 3.4% deviation in the effective volume of the reaction cell. Supplementary materials are provided in terms of experimental data and Python source code.

**Keywords:** isothermal titration calorimetry; instrument calibration; measurement model; Monte Carlo method; Python program

## 0 引言

等温滴定量热法(isothermal titration calorimetry, ITC)是溶液热力学测量的重要方法,其可以直接原位地

测量溶液反应的特征热力学参数( $K_a$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta S$ ,  $n$ ,  $\Delta C_p$ ),能够深入研究溶液中不同类型的非共价相互作用和焓熵补偿的分子机制,从分子水平揭示反应机理与反应途径<sup>[1-3]</sup>。现代等温滴定量热仪最早搭建于 20 世纪 60 年代中后期,最初主要用于研究化学反应,随着电子

收稿日期:2020-08-23 Received Date: 2020-08-23

\* 基金项目:国家重点研发计划(2016YFA0200904)项目资助

技术的发展,基于功率补偿原理设计的等温滴定量热仪,检测限已达到纳瓦量级<sup>[2-3]</sup>。由于生物体内化学反应的热效应一般较小,而且多数是在等温状态下进行,ITC 逐渐应用于生物化学与物理化学等领域的研究,目前已在材料科学(纳米材料学、超分子化学)、生命科学(生物学、医学和生物化学)、制药和食品科学等许多领域得到广泛应用<sup>[4-8]</sup>。

应用领域的发展对等温滴定量热仪的测量准确度提出了越来越高的要求,然而 ITC 测量结果容易受到一致性问题的困扰。由国际组织生物分子资源设施协会开展的 ABRF-MIRG'02 研究计划曾联合 14 家生物分子表征实验室基于碳酸酐酶(CAII)与抑制剂(4-CBS)反应体系进行 ITC 测量结果的比对工作,结果显示不同实验室之间测得的平衡常数( $K_a$ )、摩尔反应焓( $\Delta H$ )的相对误差高达 20% 以上<sup>[9]</sup>。一方面滴定溶液制备过程引入的浓度相对偏差可能高达 10%,成为限制 ITC 实验准确度的重要原因<sup>[9]</sup>;另一方面,等温滴定量热仪出厂时并未经过严格的校准,其核心参数(进样体积、量热因子、反应池有效体积)存在的系统误差是导致不同实验室间测量结果差异的重要原因<sup>[10]</sup>。Baranauskienė 等<sup>[11]</sup>的研究显示,仅使用电标定未经过严格化学校准的不同厂商的等温滴定量热仪,其反应焓的测量值存在高达 10% 的相对偏差。然而,目前主流的等温滴定量热仪厂商都未提供准确可靠的化学检定流程和数据处理程序对仪器的关键物理参数进行校准。Demarse 等<sup>[10]</sup>提出了多种反应体系用于等温滴定量热仪的关键参数校准,但是其采用的测量模型过于简单,而且未考虑滴定溶液浓度不确定度对校准结果的影响,导致了潜在的校准偏差。例如:对于反应池有效体积的校准,其测量模型未充分考虑溢出效应对滴定溶液浓度的影响,存在 20% 以上的校准偏差。本文在课题组前期 ITC 随机误差定量评定的研究工作基础上<sup>[12]</sup>,综合考虑滴定实验的不同热效应以及主要误差来源建立了完整的 ITC 测量模型。采用  $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-}6$ 、 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ 、正丙醇稀释 3 种不同类型的反应体系进行滴定实验,以 NanoITC(SV)型等温滴定量热仪为例,对其量热因子( $f$ )与反应池有效体积( $V_{cell}$ )进行校准以及相互验证。在实验数据分析过程中,使用非线性最小二乘拟合算法计算  $f$ 、 $V_{cell}$  的最佳校准值,使用蒙特卡洛法计算校准值的不确定度。同时,为了促进该方法的应用,支持材料中提供了上述数据处理方法的 Python 程序源代码。

## 1 测量模型与校准方法

### 1.1 仪器结构与测量原理

典型的等温滴定量热仪主要由控温测量单元和进样系统组成,其中控温测量单元包括两个固定的反应容器

(样品池与参比池)和量热控温模块。如图 1 所示,溢出式反应池连接着溢流管,使用过量的被滴物溶液填充反应池,每次注入滴定剂溶液都会将一部分反应池中的溶液挤出至溢流管中,量热仪只检测反应池内溶液反应产生的热量信号<sup>[8,10]</sup>。然而,反应池中溶液和溢流管中排出溶液之间的界限不明确,反应池的  $V_{cell}$  与制造商提供的反应池物理容积往往不一致,需要进行可靠的校准以保证仪器的测量准确度。此外,现代等温滴定量热仪基于功率补偿原理进行设计,整个控温测量装置与环境进行着实时的能量交换,将待测系统通过功率补偿的方法维持在恒定温度,以检测补偿功率信号的方式测量实验的热效应,其具有高灵敏度、高响应的特点<sup>[3,10]</sup>。图 1 中半导体热电装置(thermoelectric devices, TED)用于控制温度和检测样品池与参比池之间的温差,控制电路控制样品池周围的加热器以保持样品池和参比池之间的温差几乎为零,通过测量补偿功率的变化准确地测量样品池中溶液反应产生的热量。量热仪显示的检测信号是补偿功率,需要一个乘数因子将积分后的补偿功率转换成等效的反应热量,即  $f$ <sup>[10]</sup>,定义为理论反应热量与量热仪测得补偿热量的比值。

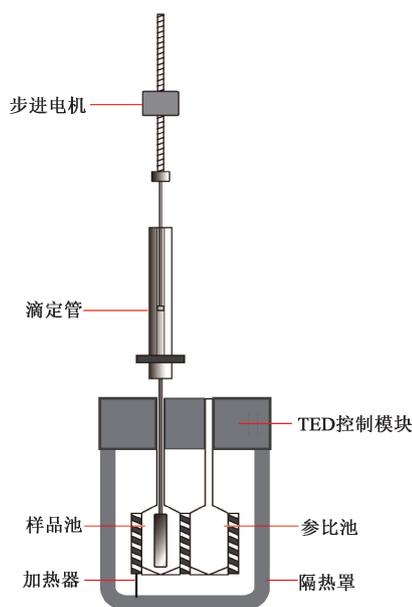


图 1 典型等温滴定量热仪的结构

Fig. 1 Structure of the typical isothermal titration calorimeter

进样系统由滴定管和驱动手柄组成,其中滴定管的顶端有一个扭曲的叶片用来搅拌反应池内的溶液以提高反应效率。在滴定实验中,两种反应物的溶液分别装填于反应池与滴定管中,步进电机控制滴定管以预设的进样体积( $V_{inj}$ )与时间间隔将滴定剂溶液注入到反应池以启动反应,与此同时,测量单元实时地检测补偿功率信号。例如,当样品池中发生放热反应时,维持零温度差所

需的补偿功率因为反应热量的增加而减少,在功率-时间谱图中出现放热峰。每次注入滴定溶液引发反应都会产生一个与时间相关的热脉冲信号,即量热仪采集的原始数据是热功率形式( $dQ/dt$ )。将热功率曲线对时间积分形成每一次滴定的积分热量数据( $Q$ ),根据溢出效应模型计算每一次滴定后反应池内的溶液组成(滴定剂与被滴物的摩尔比)得到积分热量散点图( $dQ/dn$ )。然后,根据反应体系选择合适的反应模型作为拟合的目标函数,采用非线性最小二乘拟合算法对上述积分热量数据进行拟合获得滴定实验的S型拟合曲线以及该反应的热力学参数: $\Delta H$ 、结合常数( $K_a$ )、结合位点数( $n$ )<sup>[3]</sup>。综上所述,ITC的测量过程涉及 $f$ 、 $V_{cell}$ 、 $V_{inj}$  3个核心参数,需要对其进行严格的校准以确保 ITC 测量的准确度。

## 1.2 ITC 测量模型

在 ITC 实验中与滴定过程相关的热效应可分为 3 个部分:反应热,稀释热和摩擦热<sup>[8]</sup>。本文建立的滴定实验产生热量的测量模型为<sup>[13]</sup>:

$$Q = R(V_{inj}; C_{syr}, C_{cell}, V_{cell}) + D(V_{inj}; C_{syr}, C_{cell}, V_{cell}) + F(V_{inj}; R_{inj}, T) + Q_p + Q_b \quad (1)$$

其中,  $V_{inj}$  是自变量,总热量( $Q$ )是因变量。 $V_{inj}$  由两部分构成,即  $V_{inj} = V_0 + \varepsilon_v$ ,其中  $V_0$  表示预设的进样体积,  $\varepsilon_v$  表示源自进样系统的体积随机误差。本文前期的研究工作表明  $\varepsilon_v$  与  $V_0$  不相关,并且呈正态分布,即  $\varepsilon_v \sim N(0, \sigma_v^2)$ <sup>[12]</sup>。 $R(V_{inj}; C_{syr}, C_{cell}, V_{cell})$  和  $D(V_{inj}; C_{syr}, C_{cell}, V_{cell})$  分别代表反应热和稀释热,其中  $C_{syr}$  和  $C_{cell}$  分别表示滴定管和反应池中的反应物浓度,  $V_{cell}$  表示反应池有效体积。本文选取了具有代表性的相同独立位点模型计算反应热  $R(V_{inj}; C_{syr}, C_{cell}, V_{cell})$ ,采用瞬时注入模型计算每次滴定后反应物的浓度<sup>[14-15]</sup>,其具体的函数形式与推导过程详见支持材料。 $F(V_{inj}; R_{inj}, T)$  代表摩擦热,是  $V_{inj}$  的单调递增函数,此外,摩擦热的大小还取决于其他的实验参数,例如:进样速率( $R_{inj}$ ),系统温度( $T$ )和溶液的流体性质等。摩擦热项具有未知的复杂表达式,难以对其中每一个分量的贡献进行准确评估,通常的处理方法是通过空白滴定实验将稀释热和摩擦热作为背景热一起扣除。 $Q_p$  表示除前 3 项之外的其他比例噪声的随机变量,  $Q_p$  可以表示为  $(R(V_{inj}) + D(V_{inj}) + F(V_{inj})) \times P$ ,其中比例系数  $P$  是一个独立于  $V_0$  的随机变量,其服从正态分布,即  $P \sim N(0, \sigma_p^2)$ <sup>[12]</sup>。 $Q_b$  表示仪器的背景噪声,水测定水的空白滴定实验结果显示  $Q_b$  与  $V_0$  正相关,  $Q_b$  服从正态分布,即  $Q_b \sim N(0, V_0 \sigma_b^2)$ <sup>[12]</sup>。

## 1.3 仪器校准参数不确定度的计算方法

ITC 测量模型复杂且非线性,涉及化学反应模型、溢出效应模型,而且本文采用非线性最小二乘拟合算法获取仪器校准参数的最佳估值,多种不确定度来源通过复

杂的数据处理算法进行传播,给校准结果的理论不确定度评定带来困难。蒙特卡洛法是实现概率分布传播的一种数值方法,其通过对输入量的概率密度函数进行离散抽样,然后代入测量模型计算获得输出量的离散值,实现输入量分布的传播。对输出量的离散值进行统计分析可以获得输出量的最佳估计值、标准不确定度以及给定包含概率的包含区间<sup>[16-18]</sup>。本文基于 ITC 测量模型,采用蒙特卡洛法进行误差传递,获得模拟的积分热量数据集。然后,对积分热量数据集进行非线性最小二乘拟合得到拟合结果数据集<sup>[19]</sup>,对该数据集进行统计分析得到拟合量的标准不确定度,实现校准参数不确定度的计算。蒙特卡洛法的实施步骤如下<sup>[16]</sup>:

1) 根据测量模型确定蒙特卡洛模拟的输入量与输出量。其中输入量:溶液浓度误差( $C$ )、背景噪声( $Q_b$ )、比例误差系数( $P$ )、进样体积误差( $\varepsilon_v$ );输出量:校准参数的模拟值( $f, V_{cell}$ )。

2) 建立测量模型,包括:溢出效应模型、反应模型,得出滴定实验产生热量( $Q$ )的具体表达式如式(1)所示,给出模型参量:校准参数的最佳拟合值。

3) 基于相应的概率密度函数对输入量进行抽样,本文输入量的概率密度函数均假设为正态分布,给出抽样参数:均值与标准偏差。

4) 使用步骤 2) 中的表达式和参数以及步骤 3) 中生成的输入量计算滴定实验产生的热量  $Q$ 。

5) 使用非线性最小二乘拟合算法从模拟的一组热量数据  $Q$  中提取出目标参量,即校准参数( $f, V_{cell}$ )。

6) 多次重复步骤 3)~5),推荐采用自适应蒙特卡洛方法(一般抽样次数  $\geq 1 \times 10^5$  次)。然后,对获得的拟合参量数据集进行统计分析,得到输出量的最佳估计值、标准不确定度以及指定包含概率的包含区间等。

本文基于 Python 编程语言以及 numpy、scipy、matplotlib 数据分析与可视化模块对上述过程进行建模实现并提供了源代码与实例,详见支持材料。

## 2 实 验

### 2.1 仪器与试剂

本文以广泛使用的 TA 仪器公司 NanoITC Standard Volume 型等温微量热仪为例进行校准工作,采用仪器配套的除气站附件进行溶液前处理。去离子水通过 Millipore 公司的 Direct-Q 5UV 型净水系统进行净化,确保电阻值高于 18.0 M $\Omega$ 。溶液配制中的称量操作使用 Sartorius 公司的 Quintix125D-1CN 型半微量天平,溶液密度测量使用奥地利安东帕公司的 DMA 5 000 M 型密度计。氯化钡溶液标准物质( $BaCl_2$ , 0.100 4 mol/L)与乙二胺四乙酸二钠溶液标准物质(EDTA, 0.101 8 mol/L)

购于国防科技工业应用化学一级计量站。18-冠醚-6(18-crown-6,  $\geq 99\%$ , 264.32 g/mol)、二水氯化钙( $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\geq 99\%$ , 147.01 g/mol)与正丙醇(1-Propanol,  $\geq 99.9\%$ , 60.10 g/mol)均购于Sigma-Aldrich公司。Tris-HCl缓冲液(0.4 mol/L, pH 9.0)购于北京雷根生物技术有限公司。

## 2.2 步骤与方法

$f$ 、 $V_{\text{cell}}$ 、 $V_{\text{inj}}$  3参数之间相互关联,需要按照先后顺序进行校准。首先通过天平称量排出液体质量的方式对滴定管总容积进行校准。由于单次进样体积较小,采用天平称重法直接测量的误差较大,需要通过化学反应来校准单次进样体积( $V_{\text{inj}}$ )的均一性。本文前期的研究已经准确的评定了 $V_{\text{inj}}$ 的不确定度,在此基础上,本文通过已知精确热力学参数的标准化学反应对 $f$ 、 $V_{\text{cell}}$ 进行校准。从标准反应的滴定终点可以准确地计算 $V_{\text{cell}}$ ,根据每次滴定的理论热量与量热仪实测热量可以对 $f$ 进行校准,即 $f = Q_{\text{theory}}/Q_{\text{measure}}$  [10]。

选取校准实验体系要求反应物纯度高且安全稳定,最好是方便称量操作的固体粉末状样品,配制溶液可长期保存利于实验室间的实验比对。此外,选择的校准样品以及实验方法要与实际滴定实验尽量接近。本文选取了3种代表性的滴定实验体系对等温滴定量热仪的核心参数( $f$ 、 $V_{\text{cell}}$ )进行校准,同时3组实验之间可以实现交叉验证。 $\text{BaCl}_2$ 滴定18-crown-6实验可以同时拟合得到 $f$ 、 $V_{\text{cell}}$ 的准确值;根据 $\text{CaCl}_2$ 滴定EDTA的滴定终点可以准确计算 $V_{\text{cell}}$ ;通过正丙醇稀溶液(质量分数2%)的稀释热可以准确计算 $f$ 。上述每组实验都至少重复3次,滴定实验温度设置为25℃,环境温度恒定在 $25 \pm 0.1$ ℃,采用250  $\mu\text{L}$ 滴定管,默认注入速率为3.57  $\mu\text{L/s}$ ,搅拌速度设定为350 r/min,滴定开始前确保基线斜率 $< 0.1 \mu\text{W/h}$ ,峰间标准偏差 $< 10 \text{ nW}$ 。滴定实验单次进样体积为6  $\mu\text{L}$ 或4  $\mu\text{L}$ ,由于滴定管尖端溶液的扩散损耗,数据分析过程均排除第一次滴定的无效热量数据。此外,需要 $\text{BaCl}_2$ 溶液滴定水的空白滴定实验以确保稀释热与摩擦热被合理地扣除。

## 3 结果与讨论

### 3.1 滴定溶液浓度不确定度计算

等温滴定量热仪通过滴定管注射滴定溶液至反应池中启动反应,通过进样体积与溶液的体积摩尔浓度计算每次滴定消耗的反应物的量。然而,同一溶液的体积摩尔浓度在不同温度下会发生变化,体积不确定性是导致溶液浓度误差的重要原因。使用分析天平称量溶质样品质量与溶液总质量,使用高精度密度计测量配制的溶液

在实验温度下的密度,可以确保滴定溶液浓度的精确度与可靠性。配制溶液的体积摩尔浓度计算公式如下:

$$c = \frac{m_1 \rho}{M m_2} w \quad (2)$$

式中: $c$ 表示溶液的体积摩尔浓度; $m_1$ 为溶质质量; $M$ 为溶质相对原子质量; $w$ 为溶质纯度; $m_2$ 为溶液总质量; $\rho$ 为滴定实验温度下的溶液密度。其中 $m_1$ 、 $m_2$ 通过天平称量获取, $\rho$ 通过密度计测量得到。此外,溶液稀释过程的体积摩尔浓度计算公式:

$$c_2 = \frac{m_1 \rho_2}{m_2 \rho_1} c_1 \quad (3)$$

式中: $c_1$ 、 $m_1$ 、 $\rho_1$ 分别表示稀释前浓溶液的体积摩尔浓度、溶液质量以及溶液密度; $c_2$ 、 $m_2$ 、 $\rho_2$ 分别表示稀释后稀溶液的体积摩尔浓度、溶液质量以及溶液密度。滴定溶液配制与稀释过程的浓度不确定度的计算参考“JJF 1059.1-2012 测量不确定度评定与表示”计量技术规范[20]。以10 mmol/L的 $\text{BaCl}_2$ 滴定溶液的配制过程为例,介绍溶液浓度不确定度评定方法。由式(3)可得稀释溶液的浓度不确定度为:

$$\left(\frac{u_c(c_2)}{c_2}\right)^2 = \left(\frac{u_c(m_1)}{m_1}\right)^2 + \left(\frac{u_c(m_2)}{m_2}\right)^2 + \left(\frac{u_c(\rho_1)}{\rho_1}\right)^2 + \left(\frac{u_c(\rho_2)}{\rho_2}\right)^2 + \left(\frac{u_c(c_1)}{c_1}\right)^2 \quad (4)$$

根据式(3),使用天平称量 $\text{BaCl}_2$ 溶液标准物质,采用去离子水稀释得到目标浓度的 $\text{BaCl}_2$ 稀溶液,使用密度计分别测量稀释前后溶液的密度,溶液配制过程中各分量的数值及其合成标准不确定度(包含A类和B类不确定度)如表1所示,分别代入式(3)与(4)计算得 $\text{BaCl}_2$ 溶液浓度 $C_{\text{Ba}} = 10.277 \text{ mmol/L}$ ,浓度的合成标准不确定度 $u_c(C_{\text{Ba}}) = 0.059 \text{ mmol/L}$ ,浓度的相对合成标准不确定度为0.6%。采用相似的溶液配制及不确定度评定方法,配制EDTA溶液浓度 $C_{\text{EDTA}} = 6.035 \text{ mmol/L}$ ,浓度的合成标准不确定度 $u_c(C_{\text{EDTA}}) = 0.035 \text{ mmol/L}$ 。根据式(2)分

表1  $\text{BaCl}_2$ 溶液浓度不确定度评定的相关量值

Table 1 The relative quantity for uncertainty evaluation of the concentration of  $\text{BaCl}_2$  solution

量( $X$ )	量值( $X_i$ )	合成标准不确定度( $u_c(X_i)$ )	相对合成标准不确定度( $u_c(X_i)/X_i$ )
$m_1$	1.791 41 g	0.000 104 g	$5.8 \times 10^{-5}$
$m_2$	17.201 30 g	0.000 104 g	$6.0 \times 10^{-6}$
$\rho_1$	1.016 354 g/cm <sup>3</sup>	0.000 011 g/cm <sup>3</sup>	$1.1 \times 10^{-5}$
$\rho_2$	0.998 907 g/cm <sup>3</sup>	0.000 011 g/cm <sup>3</sup>	$1.1 \times 10^{-5}$
$c_1$	100.4 mmol/L	0.58 mmol/L	$5.8 \times 10^{-3}$

别称量  $\text{CaCl}_2$  与 18-crown-6 固体粉末溶解在 Tris-HCl 缓冲液与去离子水中, 得到  $\text{CaCl}_2$  与 18-crown-6 溶液的浓度分别为  $C_{\text{Ca}} = 24.38 \pm 0.15 \text{ mmol/L}$ ,  $C_{18\text{c6}} = 0.986 \pm 0.006 \text{ mmol/L}$ 。

### 3.2 $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-6}$ 滴定校准 $f$ 与反应池 $V_{\text{cell}}$

现代等温微量热仪普遍在反应池外侧安装了电加热器, 其可以提供准确控制的热脉冲用于量热因子的校准。电脉冲校准方法简单方便, 但是, 电加热与溶液反应的热量分布不同, 其存在不可避免的系统偏差。使用已知精确热力学参数的标准化学反应对量热仪核心参数进行校准是目前排除仪器系统误差的有效方法。酸碱中和反应广泛应用于大型量热仪的校准, 但是高精度等温微量热仪的量程较小 ( $<10 \text{ mJ}$ ), 要求滴定的酸碱溶液浓度较低 (约  $1 \text{ mmol/L}$ )。低浓度的酸碱溶液易受空气中  $\text{CO}_2$  的干扰而存在副反应, 与实验室空气中  $\text{CO}_2$  浓度达到平衡的溶液中  $\text{CO}_2$  溶解量约为  $1 \text{ mmol/L}$ , 无论是煮沸还是真空除气, 都难以将溶液中  $\text{CO}_2$  浓度降低至  $0.01 \text{ mmol/L}$  以下<sup>[10]</sup>。如果  $\text{CO}_2$  溶解于酸性滴定溶液, 当发生滴定反应时, 溶解的  $\text{CO}_2$  将与碱性滴定液发生副反应导致反应的放热量偏低<sup>[10]</sup>。一些文献以及仪器手册通常建议使用 HCl/Tris 反应体系校准等温微量热仪的量热因子<sup>[10]</sup>。但是, HCl 具有腐蚀性且易挥发, 其水溶液不仅无法进行真空除气, 而且可能对量热仪内部不锈钢构件造成损伤。此外, HCl 溶液中溶解的  $\text{CO}_2$  可能产生副反应, 对反应热量造成潜在的影响。

量热因子定义为理论热量与量热仪实测热量的比值 ( $f = Q_{\text{theory}}/Q_{\text{measure}}$ ), 可以通过每次滴定产生的理论反应热量进行计算得出。准确计算热量 ( $Q$ ) 至少需要已知  $V_{\text{inj}}$  的准确值, 我们前期的研究工作显示, 标称  $250 \mu\text{L}$  的滴定管总容积的最佳估计值为  $250.07 \pm 0.20 \mu\text{L}$ , 单次进样体的合成标准不确定度为  $0.021 \pm 0.004 \mu\text{L}$ <sup>[12]</sup>。此外, 现代等温微量热仪采用溢式反应池的设计, 溢出效应导致反应池内溶液与溢流管内排出溶液之间的界限不明确, 而且滴定管搅拌桨排出的溶液体积也不确定如图 1 所示。这些因素都导致了溢式反应池的实际有效体积与制造商提供的反应池物理容积不一致, 需要通过已知化学计量比的滴定反应进行校准以确保仪器的测量准确度。 $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-6}$  的配体结合反应作为滴定量热法中的标准测试反应得到广泛的研究, 同时也是 IUPAC 的推荐反应体系, 其具有准确的反应焓与化学计量比<sup>[21-22]</sup>。本文采用  $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-6}$  反应体系, 通过单次滴定实验同时对  $f$  与  $V_{\text{cell}}$  进行校准。采用非线性最小二乘拟合算法进行数据处理, 其中  $f$  与  $V_{\text{cell}}$  作为拟合目标,  $\Delta H$  ( $-31.42 \text{ kJ/mol}$ )、 $K_a$  ( $5.9 \times 10^3 \text{ L/mol}$ )、 $n(1)$ <sup>[21]</sup> 作为参量代入拟合的目标函数。

扣除  $\text{BaCl}_2$  溶液滴定水的背景热量, 得到  $\text{BaCl}_2$  滴定

18-crown-6 的反应热量如图 2 所示。使用权重最小二乘算法对反应热进行拟合, 其中每个反应热数据点的拟合权重等于其方差的倒数<sup>[22]</sup>, 得到典型的 S 型拟合曲线如图 2 所示, 拟合结果为:  $f = 1.081$ ,  $V_{\text{cell}} = 975 \mu\text{L}$ 。由于最小二乘拟合算法的计算过程复杂且非线性, 本文采用蒙特卡洛法计算  $f$ 、 $V_{\text{cell}}$  校准值的不确定度, 校准实验与数据处理过程的主要不确定度来源分别为:  $\text{BaCl}_2$  与 18-crown-6 溶液浓度的不确定度、热力学参数理论值 ( $\Delta H$ ,  $K_a$ ) 的不确定度、等温微量热仪的随机误差项 ( $Q_e$ ,  $Q_p$ ,  $\varepsilon_v$ ), 其不确定度参数与分布特征如表 2 所示。将上述不确定度分量作为蒙特卡洛法的输入量,  $f$ 、 $V_{\text{cell}}$  作为输出量, 反应的化学计量比 ( $n = 1$ ) 以及  $f$ 、 $V_{\text{cell}}$  的最佳拟合值作为参数代入测量模型, 具体的程序实现方法详见支持材料。经过  $10^5$  次的抽样计算, 得到校准值的合成标准不确定度分别为  $u(f) = 0.010$ ,  $u_c(V_{\text{cell}}) = 7 \mu\text{L}$ 。量热仪校准结果为  $f = 1.081 \pm 0.020$ ,  $V_{\text{cell}} = 975 \pm 14 \mu\text{L}$ , 且 3 次重复实验获得了不确定度范围内一致的结果。量热仪默认反应容器容积为  $943 \mu\text{L}$ , 存在 3.4% 的偏差; 量热因子默认值  $f = 1$ , 存在 8.1% 的偏差。文献报道的同型号量热仪摩尔反应焓测量值的相对误差为 6.7%, 反应池有效体积相对偏差 1.3%<sup>[10]</sup>。为了分析热量测量模型的输入量对校准量的方差的贡献, 本文采用线性回归模型进行分析, 结果如表 2 所示。对于  $f$  其主要影响因素依次是  $K_a$ ,  $C_{\text{sy}}, \Delta H$ , 对于  $V_{\text{cell}}$  其主要影响因素依次是  $C_{\text{sy}}, K_a, C_{\text{cell}}$ 。可见反应体系的反应参数和溶液浓度是此校准方法的关键因素。

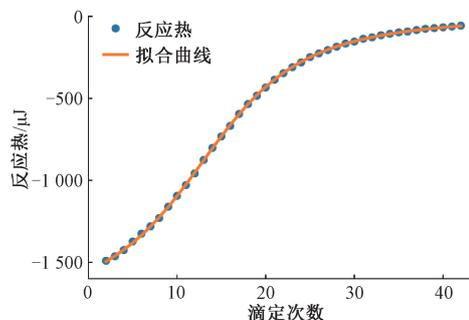


图 2  $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-6}$  滴定实验的反应热量及其拟合曲线

Fig. 2 The reaction heat and fitting curve of  $\text{BaCl}_2$  into 18-crown-6 titration

### 3.3 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ 滴定校准反应池 $V_{\text{cell}}$

等温微量热仪的反应池有效体积可以采用化学计量比准确的反应体系进行校准, 通过滴定实验的终点 (S 型滴定曲线的拐点) 判断反应池中实际消耗的反应物, 最终确定  $V_{\text{cell}}$  的准确值。 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$  螯合反应是分析化学领域的经典滴定体系, 其化学计量比准确 ( $n = 1$ ) 但是反应焓对离子强度与 pH 非常敏感, 反应热的

表2 计算 $f$ ,  $V_{cell}$  校准值不确定度的热量测量模型输入量( $X_i$ )及其概率密度函数的参数

Table 2 Input quantities ( $X_i$ ) of the heat measurement model and their parameters of probability density function for the uncertainty estimation of  $f$ ,  $V_{cell}$  calibration values

输入量( $X_i$ )	期望( $\mu$ )	标准偏差( $\sigma$ )	对校准量方差的贡献/%	
			$f$	$V_{cell}$
$C_{syr}$	10.277 mmol/L	0.059 mmol/L	38	49
$C_{cell}$	0.986 mmol/L	0.003 mmol/L	1.6	6
$\Delta H$	-31.42 kJ/mol	0.10 kJ/mol	12	0
$K_a$	$5.90 \times 10^3$ L/mol	100 L/mol	47	42
$Q_b$	0 $\mu$ J	$0.1771 \times \sqrt{6}$ $\mu$ J	0.07	0.16
$P$	0	0.003 09	1.2	0.4
$V_{inj}$	6 $\mu$ L	0.021 4 $\mu$ L	0.9	1.5

可靠性较低<sup>[23-25]</sup>。在不考虑反应热量的准确值的前提下,校准 $V_{cell}$ 仅需要已知 $V_{inj}$ ,可以通过 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ 滴定曲线的拐点对 $V_{cell}$ 进行单独校准。为了准确的判断滴定反应的终点,需要S型滴定曲线的过渡区尽可能狭窄,即滴定曲线更陡峭甚至演变为阶跃函数。 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ 螯合反应的结合常数( $K_a$ )随缓冲液的pH变化,可以通过调节溶液pH提高滴定反应的结合常数,缩小S型滴定曲线的过渡区以实现“台阶”状滴定曲线。由于直接判断滴定终点存在较大的误差,本文采用最小二乘拟合的方式计算 $V_{cell}$ 的校准值, $V_{cell}$ 与 $\Delta H$ 作为拟合目标, $K_a$ ( $1 \times 10^9$  L/mol)、 $n(1)$ 作为参量代入拟合目标函数。

图3为 $\text{CaCl}_2$ 滴定EDTA的反应热量以及拟合曲线,反应池有效体积的最佳拟合值为 $V_{cell} = 974 \mu\text{L}$ 。在Tris-HCl缓冲液pH=9.0环境下,该反应的结合常数 $K_a > 1 \times 10^9$ ,过渡区被压缩至仅有一个有效数据,滴定曲线变得极其陡峭,演变为“台阶”型。 $V_{cell}$ 的拟合过程中主要的不确定度来源分别为 $\text{CaCl}_2$ 与EDTA溶液浓度的不确定度以及量热仪的随机误差项( $Q_b$ ,  $Q_p$ ,  $\varepsilon_v$ ),其不确定度参数与分布特征如表3所示。将上述不确定度分量作为蒙特卡洛法的输入量, $V_{cell}$ 、 $\Delta H$ 作为输出量,反应的化学计量比( $n=1$ )以及 $V_{cell}$ 、 $\Delta H$ 的最佳拟合值作为参数代入测量模型。经过 $10^5$ 次的抽样计算,得到 $V_{cell}$ 校准值的合成标准不确定度为 $u_c(V_{cell}) = 5 \mu\text{L}$ ,反应池有效体积的校准结果为 $V_{cell} = 974 \pm 10 \mu\text{L}$ ,与上述基于 $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-6}$ 反应体系的 $V_{cell}$ 校准值在不确定度范围内保持一致,接近文献报道的同型号量热仪的反应池体积偏差<sup>[10]</sup>。热量测量模型的输入量对校准量的方差的贡献如表3所示。对于 $V_{cell}$ 其主要影响因素依次是 $C_{cell}$ 和 $C_{syr}$ 。可见反应体系的溶液浓度是此校准方法的关键因素。

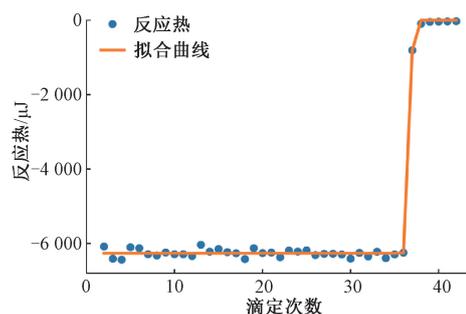


图3  $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$  滴定实验的反应热量及其拟合曲线

Fig. 3 The reaction heat and fitting curve of  $\text{CaCl}_2$  into EDTA titration

表3 计算 $V_{cell}$  校准值不确定度的热量测量模型输入量( $X_i$ )及其概率密度函数的参数

Table 3 Input quantities ( $X_i$ ) of the heat measurement model and their parameters of probability density function for the uncertainty estimation of  $V_{cell}$  calibration value

输入量( $X_i$ )	期望( $\mu$ )	标准偏差( $\sigma$ )	对 $V_{cell}$ 方差的贡献/%
$C_{syr}$	24.380 mmol/L	0.073 mmol/L	21
$C_{cell}$	6.035 mmol/L	0.035 mmol/L	78
$Q_b$	0 $\mu$ J	$0.1771 \times \sqrt{6}$ $\mu$ J	0
$P$	0	0.003 09	0
$V_{inj}$	6 $\mu$ L	0.0214 $\mu$ L	1.0

### 3.4 正丙醇稀释滴定校准量热因子( $f$ )

ITC广泛应用于对溶解与稀释过程的热量测量。正丙醇是一种纯度高、稳定、无腐蚀性的化合物,而且已知283 ~ 348 K温度范围内,其在水中溶解焓的准确值<sup>[20]</sup>。质量分数2%的正丙醇水溶液稀释滴定是校准等温滴定量热仪的一种有效方法,其稀释过程简单且无副反应,放热量接近于实际生物反应体系,适合于现代高精度微量热仪<sup>[10, 21, 26]</sup>。稀释焓的计算方法如下:

$$\Delta H_{dil}(m_i \rightarrow m_f) = h_{XX}(m_f - m_i) + h_{XXX}(m_f^2 - m_i^2) \quad (5)$$

其中, $m_i$ 与 $m_f$ 分别表示稀释前与稀释后的正丙醇溶液的质量摩尔浓度; $h_{XX}$ 与 $h_{XXX}$ 分别表示293.15 K温度下的焓相互作用系数 $h_{XX} = (558 \pm 9) \text{ J} \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2}$ ;  $h_{XXX} = (158 \pm 8) \text{ J} \cdot \text{kg}^2 \cdot \text{mol}^{-3}$ <sup>[21, 26]</sup>。在已知 $V_{inj}$ 与 $V_{cell}$ 的前提下,本文通过正丙醇水溶液的稀释滴定校准量热因子。基于测量模型,采用最小二乘拟合的方法计算 $f$ 的校准值。

其中, $f$ 作为拟合目标, $h_{XX} = 558 \text{ J} \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2}$ 、 $h_{XXX} = 158 \text{ J} \cdot \text{kg}^2 \cdot \text{mol}^{-3}$ 、 $V_{cell} = 975 \mu\text{L}$ 作为参量代入反应

模型。

图 4 为正丙醇滴定水的稀释热量与拟合曲线,量热因子的最佳拟合值为  $f=1.088 \mu\text{L}$ 。拟合过程中主要不确定度来源分别为:正丙醇样品与 2% 正丙醇溶液的称量质量不确定度,稀释前后溶液密度的不确定度,稀释焓参数 ( $h_{XX}, h_{XXX}$ ) 的不确定度以及量热仪的随机误差项 ( $Q_b, Q_p, \varepsilon_V$ ),其不确定度参数与分布特征如表 4 所示。将上述不确定度分量作为蒙特卡洛法的输入量,  $f$  作为输出量,  $f$  的最佳拟合值作为参数代入测量模型。经过  $10^5$  次的抽样计算,得到  $f$  校准值的合成标准不确定度为  $u_c(f)=0.008$ ,量热因子的校准结果为  $f=1.088\pm 0.016$ ,与上述基于  $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-}6$  反应体系的  $f$  校准结果在不确定度范围内保持一致。热量测量模型的输入量对校准量的方差的贡献如表 4 所示。对于  $f$  其主要影响因素依次是  $h_{XX}, h_{XXX}$  和  $m_{pro}$ 。可见正丙醇稀释焓的相互作用参数和正丙醇的称取质量是此校准方法的关键因素。

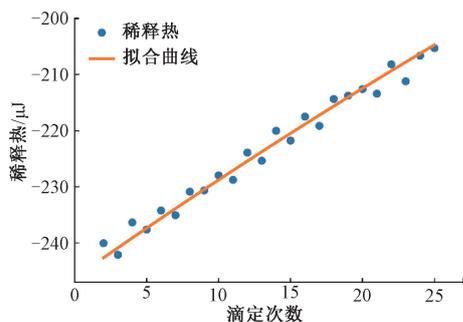


图 4 正丙醇稀释滴定的稀释热量及其拟合曲线

Fig. 4 The dilution heat and fitting curve of 1-Propanol into  $\text{H}_2\text{O}$  titration

表 4 计算  $f$  校准值不确定度的热量测量模型输入量 ( $X_i$ ) 及其概率密度函数的参数

Table 4 Input quantities ( $X_i$ ) of the heat measurement model and their parameters of probability density function for the uncertainty estimation of  $f$  calibration value

输入量 ( $X_i$ )	期望 ( $\mu$ )	标准偏差 ( $\sigma$ )	对 $f$ 方差的贡献/%
$m_{pro}$	0.098 43 g	0.000 10 g	7
$m_{sol}$	4.981 21 g	0.000 10 g	0
$\rho_{pro}$	0.993 6 g/cm <sup>3</sup>	0.000 05 g/cm <sup>3</sup>	0
$\rho_{sol}$	0.997 0 g/cm <sup>3</sup>	0.000 05 g/cm <sup>3</sup>	0
$h_{XX}$	558 J·kg·mol <sup>-2</sup>	4.5 J·kg·mol <sup>-2</sup>	82
$h_{XXX}$	158 J·kg <sup>2</sup> ·mol <sup>-3</sup>	4 J·kg <sup>2</sup> ·mol <sup>-3</sup>	9
$Q_b$	0 μJ	0.177 1×√6 μJ	0.16
$P$	0	0.003 09	0.6
$V_{inj}$	6 μL	0.021 4 μL	1.6

## 4 结 论

针对 ITC 测量一致性问题以及等温滴定量热仪校准方法的不足,本文建立了完善的 ITC 测量模型以及基于蒙特卡洛法的校准值不确定度计算方法。通过天平与密度计的滴定溶液制备以及浓度不确定度计算方法,对于简单离子类溶液,其浓度的相对合成标准不确定度可以降低至 1% 以下。 $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-}6$ 、 $\text{CaCl}_2/\text{EDTA}$ 、正丙醇稀释 3 组校准实验获得了不确定度范围内一致的校准结果。被校准的 NanoITC (SV) 型等温滴定量热仪的量热因子与反应池有效体积的校准值分别为  $f=1.081\pm 0.020$ ,  $V_{cell}=975\pm 14 \mu\text{L}$ ,该校准结果对于其他型号的等温滴定量热仪也具有参考意义。推荐使用  $\text{BaCl}_2/18\text{-crown-}6$  反应体系对等温滴定量热仪进行校准,单次滴定实验即可对  $f, V_{cell}$  进行准确的校准。ITC 广泛应用于药物研发和计算化学的模型开发,期望本文的研究工作能继续推动这些研究领域的准确测量研究。

## 参考文献

- [1] KRAINER G, BROECKER J, VARGAS C, et al. Quantifying high-affinity binding of hydrophobic ligands by isothermal titration calorimetry [J]. Anal Chem, 2012, 84: 10715-10722.
  - [2] HANSEN L D. Future projections from some past developments in calorimetric instruments and techniques at Brigham Young University, 1960- 2000 [J]. Thermochim Acta, 2000, 355: 89-94.
  - [3] HANSEN L D, TRANSTRUM M K, QUINN C F. Titration calorimetry [M]. Springer, 2018: 1-7.
  - [4] RENAUD J P, CHUNG C W, DANIELSON U H, et al. Biophysics in drug discovery: Impact, challenges and opportunities [J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15: 679-698.
  - [5] FALCONER R J. Applications of isothermal titration calorimetry-the research and technical developments from 2011 to 2015 [J]. Journal of Molecular Recognition Jmr, 2016, 29: 504-515.
  - [6] 娄朋晓,王玉洁,白光月,等. 表面活性剂分子间弱相互作用的直接能量表征——高灵敏等温滴定量热法 [J]. 物理化学学报, 2013, 29: 1401-1407.
- LOU P X, WANG Y J, BAI G Y, et al. Direct evidence for the energy of weak interactions between surfactant molecules using high sensitivity isothermal titration calorimetry [J]. Acta Phys-Chim Sin, 2013, 29 (7): 1401-1407.

- [ 7 ] FREIRE E. Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class [ J ]. *Drug Discovery Today*, 2008, 13: 869-874.
- [ 8 ] LI D, CHEN L, WANG R, et al. Synergetic determination of thermodynamic and kinetic signatures using isothermal titration calorimetry: A full-curve-fitting approach [ J ]. *Anal Chem*, 2017, 89: 7130-7138.
- [ 9 ] MYSZKA D G, ABDICHE Y, ARISAKA F, et al. The ABRF-MIRG'02 study: Assembly state, thermodynamic, and kinetic analysis of an enzyme/inhibitor interaction [ J ]. *Journal of Biomolecular Techniques: JBT*, 2003, 14: 247.
- [ 10 ] DEMARSE N A, QUINN C F, EGGETT D L, et al. Calibration of nanowatt isothermal titration calorimeters with overflow reaction vessels [ J ]. *Anal Biochem*, 2011, 417: 247-255.
- [ 11 ] BARANAUSKIENE L, PETRIKAITE V, MATULIENE J, et al. Titration calorimetry standards and the precision of isothermal titration calorimetry data [ J ]. *Int J Mol Sci*, 2009, 10: 2752-2762.
- [ 12 ] GE X J, LI D X, CHEN L, et al. A practical method to evaluate major statistical errors in isothermal titration calorimetry [ J ]. *Thermochim Acta*, 2020, 689: 178626.
- [ 13 ] GE X, CHEN L, LI D, et al. Estimation of non-constant variance in isothermal titration calorimetry using an ITC measurement model [ J ]. *PLoS One*, 2020, 15 ( 12 ), e0244739.
- [ 14 ] Instituto Oswaldo Cruz. ITC Data Analysis in Origin Tutorial Guide Version 7.0 [ M ]. Northampton: MicroCal, LLC, 2004.
- [ 15 ] WISEMAN T, WILLISTON S, BRANDTS J F, et al. Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter [ J ]. *Anal Biochem*, 1989, 179: 131-137.
- [ 16 ] 中华人民共和国国家质量检验检疫总局, 中国国家标准管理委员会, JJF1059.2-2012. 用蒙特卡洛法评定测量不确定度 [ M ]. 北京: 中国计量出版社, 2012. General Administration of Quality Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, National Standards Administration of China, JJF1059.2-2012. Measurement uncertainty assessment by monte carlo method [ M ]. Beijing: China Metrology Press, 2012.
- [ 17 ] 赵宇, 陈松涛, 钱键. Monte-Carlo 法在测量不确定度评定中的应用 [ J ]. *仪器仪表学报*, 2004, 25(4): 501-504.
- ZHAO Y, CHEN S T, QIAN J. Application of monte-Carlo method for evaluating uncertainty of measurement results [ J ]. *Chinese Journal of Scientific Instrument*, 2004, 25(4): 501-504.
- [ 18 ] 凌明祥, 李会敏, 黎启胜, 等. 含相关性的测量不确定度拟蒙特卡罗评定方法 [ J ]. *仪器仪表学报*, 2014, 35(6): 1385-1393.
- LING M X, LI H M, LI Q SH, et al. Quasi Monte Carlo method for the measurement uncertainty evaluation considering correlation [ J ]. *Chinese Journal of Scientific Instrument*, 2014, 35(6): 1385-1393.
- [ 19 ] 许禄, 邵学广. 化学计量学方法 (第二版) [ M ]. 北京: 科学出版社, 2004: 163-175.
- XU L, SHAO X G. *Methods of Chemometrics (second edition)* [ M ]. Beijing: Science Press, 2004: 163-175.
- [ 20 ] 中华人民共和国国家质量检验检疫总局, 中国国家标准管理委员会, JJF 1059.1-2012. 测量不确定度评定与表示 [ M ]. 北京: 中国计量出版社, 2012. General Administration of Quality Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, China National Standards Administration, JJF 1059.1-2012. Evaluation and Representation of Measurement Uncertainty [ M ]. Beijing: China Metrology Press, 2012.
- [ 21 ] WADSO I, GOLDBERG R N. Standards in isothermal microcalorimetry (IUPAC technical report) [ J ]. *Pure and Applied Chemistry*, 2001, 73: 1625-1639.
- [ 22 ] BRIGGNER L E, WADSO I. Test and calibration processes for microcalorimeters, with special reference to heat conduction instruments used with aqueous systems [ J ]. *Biochem Biophys Methods*, 1991, 22: 101-118.
- [ 23 ] RAFOLS C, BOSCH E, BARBAS R, et al. The Ca<sup>2+</sup>-EDTA chelation as standard reaction to validate Isothermal Titration Calorimeter measurements (ITC) [ J ]. *Talanta*, 2016, 154: 354-359.
- [ 24 ] CHRISTENSEN T, GOODEN D M, KUNG J E, et al. Additivity and the physical basis of multivalency effects: A thermodynamic investigation of the calcium EDTA interaction [ J ]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 7357-7366.
- [ 25 ] GRIKO Y V. Energetics of Ca<sup>2+</sup>-EDTA interactions: Calorimetric study [ J ]. *Biophys Chem*, 1999, 79: 117-127.
- [ 26 ] ADÃO R, BAI G, LOH W, et al. Chemical calibration of isothermal titration calorimeters: An evaluation of the dilution of propan-1-ol into water as a test reaction using

different calorimeters, concentrations, and temperatures [J]. *J Chem Thermodyn*, 2012, 52: 57-63.

### 作者简介



**葛秀杰**, 2015 年于哈尔滨理工大学获得学士学位, 现为中国科学院大学博士研究生, 主要研究方向为数据分析建模与仪器精确测量。

E-mail: gexiujie19@163.com

**Ge Xiujie** received his B. Sc. degree from Harbin University of Science and Technology in 2015. He is currently a Ph. D. candidate at University of Chinese Academy of Sciences. His main research interests include data analysis modeling and instrument accurate measurement.



**高雅**, 2017 年于青岛科技大学获得学士学位, 现为中国科学院大学博士研究生, 主要研究方向为仪器分析。

E-mail: gaoy2018@nanoctr.cn

**Gao Ya** received her B. Sc. degree from Qingdao University of Science and Technology in 2017. She is currently a Ph. D. candidate at University of Chinese Academy of Sciences. Her main research interest is the instrumental analysis.



**葛广路**(通信作者), 1992 年和 1995 年于山东大学分获学士和硕士学位, 2001 年于美国哥伦比亚大学获博士学位, 现为国家纳米科学中心研究员。主要研究方向为纳米测量方法和纳米颗粒表面化学表征。

E-mail: gegl@nanoctr.cn

**Ge Guanglu** (Corresponding author) received his B. Sc. degree and M. Sc. degree both from Shandong University in 1992 and 1995, and received his Ph. D. degree from Columbia University in 2001. He is currently a professor at National Center for Nanoscience and Technology. His main research interests in nanoscale measurement methods and characterization of nanoparticle surface chemistry.