

拉曼光谱实验多层次教学设计与实践探索

吕昭月^{1,*}, 陈哲昊¹, 倪一¹, 罗锻斌¹, 洪显峰²

¹华东理工大学物理学院, 上海 200237

²安徽省科大奥锐科技有限公司, 合肥 230088

摘要: 对拉曼光谱实验的教学内容、要求及考核评价等几个方面进行改革, 探索多层次实验教学以期满足社会发展对应用型、创新型人才的要求。具体教学实践中把拉曼光谱实验分为基础实验教学和进阶项目化实验教学: 基础实验部分采用“线上虚拟、线下实验、光谱模拟计算”三段式教学, 构建虚实结合、实验和模拟计算协同的特色教学模式; 项目化探究实验则通过拉曼光谱技术深入解析物质结构, 形成“学以致用、用以致学”的深度学习模式。多层次教学改革了传统实验教学, 提升了教学效果, 丰富了课程的“高阶性、创新性和挑战度”。

关键词: 虚实结合; 实验-模拟协同; 项目式教学; 量子化学计算

中图分类号: G64; O6

Multi-Level Teaching Design and Practice Exploration of Raman Spectroscopy Experiment

Zhaoyue Lü^{1,*}, Zehao Chen¹, Yi Ni¹, Duanbin Luo¹, Xianfeng Hong²

¹ School of Physics, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China.

² Anhui Keda Aorui Technology Co., LTD., Hefei 230088, China.

Abstract: The teaching content, requirements and evaluation of Raman spectrum experiment are reformed, exploring multi-level teaching to meet the needs of social development for applied and innovative talents. Specifically, the teaching practice divides Raman spectroscopy experiment into basic experimental teaching and advanced project-based teaching. The basic experiments utilize a three-stage teaching approach—online virtual, offline laboratory, and spectral simulation calculation—creating a unique teaching mode that combines virtual and actual operation, and coordinates experimental and simulation calculations. The project-based exploratory experiments employ Raman spectroscopy to deeply analyze material structures, forming a deep learning mode of “applying what you learn and learning what you use”. The multi-level teaching mode revolutionizes traditional experimental teaching, significantly improves teaching effectiveness and enriches the course with “high-level, innovation and challenging” characteristics.

Key Words: Combination of virtual and actual experiments; Experiment-simulation collaboration; Project-based teaching; Quantum chemistry calculations

拉曼光谱来源于光与物质相互作用时的非弹性散射, 分析散射光谱中光子能量的变化、特征峰的线形、半峰宽和强度可以解析物质的结构和状态信息以及鉴定未知化学物。作为一种常用的光谱分析手段, 拉曼光谱技术具有易操作、高灵敏度、高重复性、快速高效等优点, 可以实现无损定性/定量分析^[1]。拉曼光谱实验具有较强的技术性和应用型, 且理论较抽象, 传统实验教学效果欠佳。

收稿: 2024-02-23; 录用: 2024-05-06; 网络发表: 2024-08-15

*通讯作者, Email: lvzhaoyue@ecust.edu.cn

基金资助: 华东理工大学重点课程《固体物理》(华东理工大学文件校教〔2022〕16号)

具体表现为：(1) 光栅光谱仪结构精密、光路调节精度要求高，使学生心生畏惧，不敢/不愿主动调节光路；(2) 分子振动知识抽象、不易理解，学生困惑多，光谱解析茫然无措。为解决上述困境，有教师设计自主搭建拉曼光谱仪^[2,3]、差热-拉曼联用系统^[4]，有效培养学生的动手能力和综合实践能力。本文则从“虚实结合”“实验-软件计算协同”“项目化探究实验”三个层面开展教学实践，高效培养学生综合实践能力和应用创新能力，有效突破上述教学难点，改善教学效果和提升课程的“高阶性、创新性和挑战度”。其中，“虚实结合”和“实验-软件计算协同”设置为基础实验，目的是让学生掌握拉曼光谱仪的检测原理和仪器结构，熟悉拉曼光谱仪的使用，培养学生基础实验操作技能，初步掌握Gaussian软件计算分子振动频率并解析光谱；而“项目化探究实验”要求利用拉曼光谱研究常用有机溶剂和水的二元溶液中团簇的形成及变化，进一步掌握拉曼光谱分析技术和研究手段，加深学生对拉曼光谱基本原理的理解，熟练应用拉曼光谱技术开展课题探究实验，提升学生综合实验技能和自主探究能力。

1 基础实验

拉曼光谱基本原理：当光入射到分子时，可能发生弹性散射和非弹性散射，弹性散射光子与分子之间没有能量交换，称为瑞利散射；光子与分子之间产生能量交换的散射则为非弹性散射，称为拉曼散射。非弹性散射中交换的能量大小为分子振动能量，若光子获得分子振动能量则光子频率增加，相应散射为反斯托克斯散射，反之，光子给予分子能量则光子频率减小，对应斯托克斯散射。入射光子与散射光子频率之差称为拉曼频移或拉曼位移。光子与分子的相互作用过程也可用量子能级解释：处于一系列振动能级($v = 0, 1, 2, \dots$)的基态分子，与入射光子作用后受激至虚能级激发态，由于激发态不稳定，分子将从虚能级激发态跃迁至基态并辐射光子。若分子跃迁回受激前的振动能级，发射光子能量等于入射光子能量，光子频率不变，对应瑞利散射；若分子跃迁至比受激前更高的振动能级上，则发射光子能量/频率小于入射光子能量/频率，对应斯托克斯散射；若分子跃迁至比受激前更低的振动能级上，则发射光子能量/频率大于入射光子能量/频率，对应反斯托克斯散射。

基础实验要求学生学习拉曼频移的产生原理，掌握拉曼光谱检测系统的仪器结构和使用方法，训练学生基本实验技能。这一阶段采用“虚拟实验、线下实验、光谱模拟计算”三段式教学，形成虚实结合、实验和软件计算协同的特色教学模式：(1) 通过虚拟仿真实验掌握仪器结构、光路调整技巧；(2) 线下实验加深对仪器结构的理解和光路调整实践能力；(3) 课后量子化学计算模拟拉曼光谱，直观感受分子振动与拉曼光谱的联系。

1.1 虚拟实验

拉曼光谱虚拟实验以实体实验为参照，深入解剖教学过程和教学思想，构建实验仪器、操作反馈、数据读取等整体实验环境，模拟真实实验过程，为师生提供灵活自由的教育教学环境。虚拟实验系统仪器外观、参数及配置的构建以LRS-II激光拉曼光谱仪实体仪器为原型，实验者通过人机交互界面进行可控部件的调节，实现实验过程的完全仿真，图1所示是拉曼光谱虚拟实验主场景。虚拟实验要求学生调节拉曼光谱仪外光路，测量四氯化碳(CCl_4)分子的振动拉曼光谱，精确标出各拉曼峰的位置，求出对应的拉曼频移。

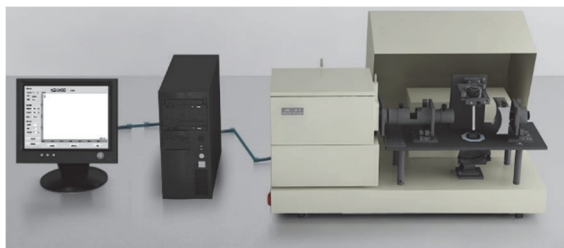


图1 拉曼光谱虚拟实验主场景

图2是样品管调节示意图，通过调节图中四个旋钮实现样品支架的四维调节，目标是使激光光束处于样品管中心，具体表现为：无论从样品管正面还是侧面观察，激光束均处于样品管中心。接着，认真调节凹面物镜与物镜筒旋钮，使凹面镜的反射光焦点与物镜筒的凸透镜焦点恰好重合，此时在单色仪入射狭缝位置上可以观察到清晰的绿色像，同时观察绿色像与狭缝中心的相对位置，选择合适的缝宽，使光线完全通过狭缝，如图3所示。

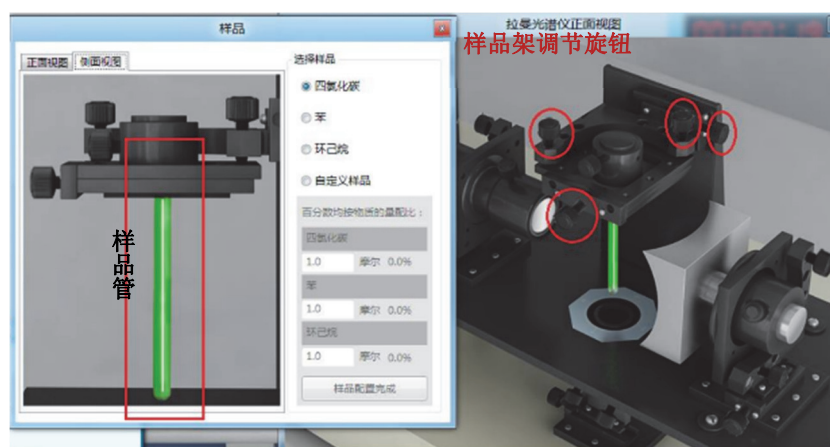


图2 虚拟实验样品管调节示意图

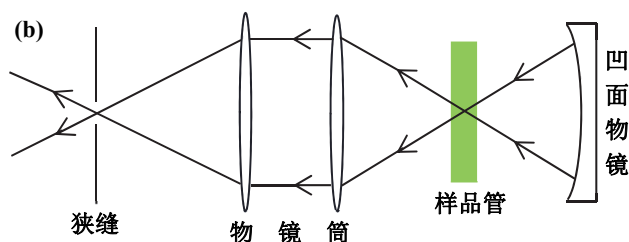
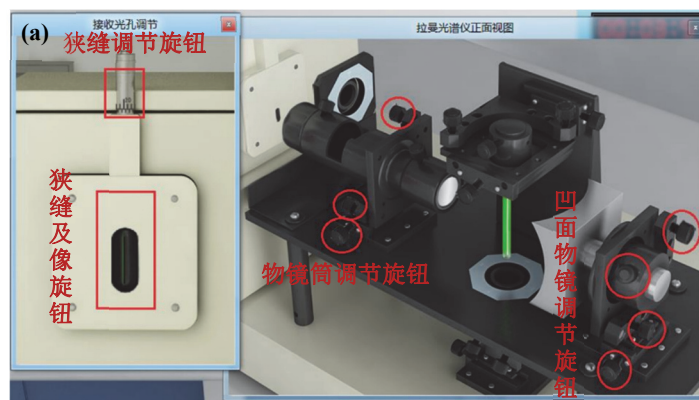


图3 虚拟实验外光路调节示意图(a)和等效光路(b)

光路调整完成后，选择适当的扫描参数和扫描范围，进行阈值分析，然后光谱扫描。光谱扫描时，可以探究狭缝宽度、扫描间隔、负高压、积分时间等对拉曼光谱的影响，优化实验条件。图4所示是实验条件优化后获得的 CCl_4 拉曼光谱，通过“寻峰/检峰”窗口可以获得 CCl_4 特征拉曼峰信息。也可以测量苯、环己烷的拉曼光谱，了解不同物质的拉曼光谱特征；或者测量 CCl_4 、苯、环己烷中二者或三者混合的拉曼光谱，讨论相关应用意义；还可研究分子拉曼光谱的退偏度，分析物质的对

称性等。虚拟仿真实验中仪器结构、部件清晰直观，易于理解，外光路部件调节自由度大，调整过程中可以实时观察相关指标随动作的变化，实验可以随时重新开始，学生光路调节能力得到训练和强化。

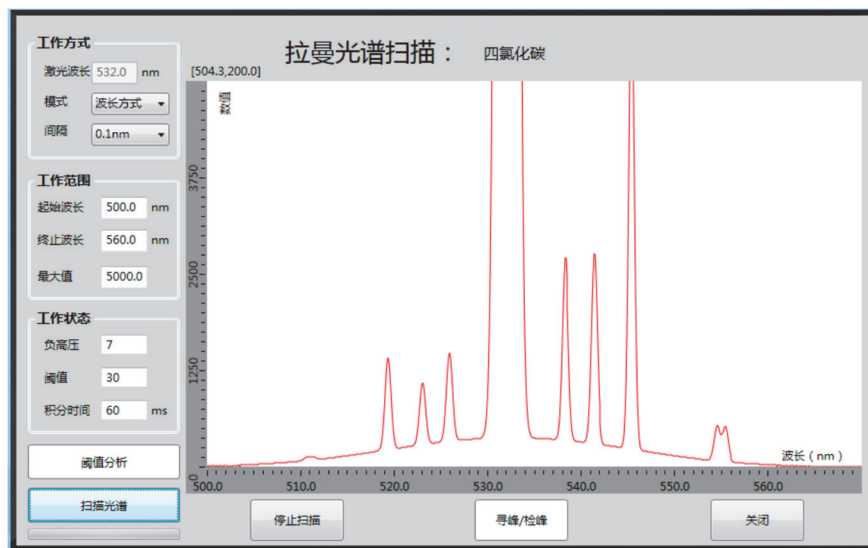


图4 虚拟实验获得的 CCl_4 拉曼光谱

1.2 线下实验

在虚拟实验基础上，开展线下实验操作，进一步加深学生对拉曼光谱原理和仪器结构的理解，并参考虚拟实验后台数据为学情依据，线下课堂中深入讨论学生易错知识内容和操作要点，加强学生动手能力同时提升教学效果。线下实验内容：使用LRS-II激光拉曼光谱仪，调整外光路，测量 CCl_4 和环己烷(C_6H_{12})的拉曼光谱，并分析分子振动特性。所测光谱如图5和图6所示，横轴表示拉曼频移，纵轴代表相对光强。图5中负波数为相对入射光频率增加的拉曼散射，即反斯托克斯线；而正波数为相对入射光频率减小的拉曼散射，即斯托克斯线。图6仅显示斯托克斯线。实验所测 CCl_4 和环己烷的拉曼光谱与文献一致^[5,6]， CCl_4 拉曼峰与分子振动模式的对应关系已有不少文献讨论，这里将结合后文的量子化学计算分析环己烷拉曼峰及振动归属情况。

1.3 环己烷分子拉曼光谱模拟计算

不同物质的振动光谱各不相同，解析光谱是拉曼光谱实验的另一重点和难点，但分子振动及其

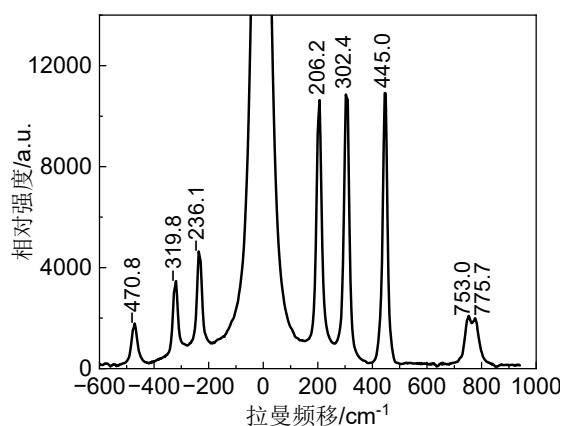


图5 LRS-II拉曼光谱仪所测 CCl_4 拉曼光谱

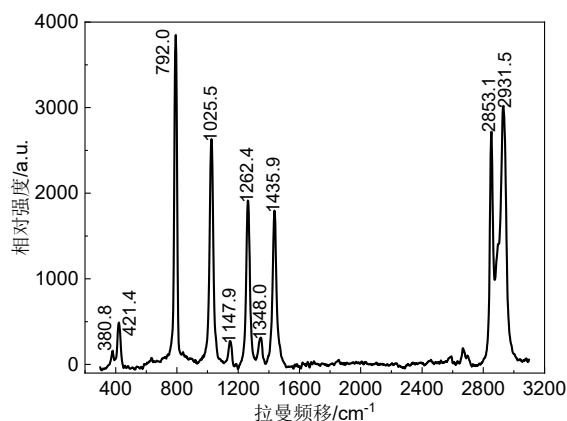


图6 LRS-II拉曼光谱仪所测环己烷拉曼光谱

拉曼频移较为抽象,传统教学方法很难讲授清楚,学生茫然。高斯软件(Gaussian和GaussView)在可视化分子结构、计算分子轨道、模拟光谱等方面具有强大的功能,将其应用于光谱实验教学对帮助学生解析光谱大有裨益^[7,8]。该部分实验要求:通过Gaussian 16软件采用某一泛函/基组计算CCl₄或甲苯或环己烷(三选一,与线下实验所测物质对应)的拉曼光谱,利用Multiwfn软件^[9]绘制拉曼光谱,指认各拉曼峰对应的分子振动模式,查阅文献资料对分子振动频率进行矫正,综合分析模拟计算结果和实验测定的拉曼峰。

这里,通过Gaussian 16软件采用不同泛函(TPSS、TPSSh、B3LYP、PBE0、M06-2X)在基组6-311++G**高精度水平下对环己烷进行结构优化,并搭配相应经验色散计算其基频拉曼光谱。表1所示是不同泛函计算所得环己烷分子具有拉曼活性的基频振动频率和振动归属指认,理论计算频率与实验测量值有一定偏差,主要是因为密度泛函理论中哈特里-福克(Hartree-Fock, HF)方法忽略电子相关效应,导致10%–12%的系统误差。对于上述泛函/基组,根据Kashinski D. O.等人^[10]的测试结果,将计算频率分别乘以矫正因子0.981、0.967、0.963、0.953、0.947,与实验值吻合得很好。矫正后,分析不同计算水平下分子振动频率与实验值的均方根误差(Root mean square deviation, RMSD),参见表1,结果表明B3LYP-D3(BJ)获得最小的RMSD,说明计算环己烷的最优泛函为B3LYP-D3(BJ)。计算的拉曼光谱通过Multiwfn软件^[9,11]绘制于图7中,谱线展宽时,半高全宽设置为20 cm⁻¹,入射光波长为532 nm,温度为298.15 K。

表1 不同泛函不同基组计算水平下的环己烷分子振动频率(单位: cm⁻¹)

实验值	TPSS-D3(BJ)	TPSSh	B3LYP-D3(BJ)	PBE0-D3(BJ)	M06-2X-D3	振动情况
380.80	354.78	352.12	366.79	362.79	369.46	CCC弯曲振动、HCCC扭转振动、CCCC扭转振动
421.40	406.80	405.47	417.47	409.47	405.47	CCC弯曲振动、HCCC扭转振动
792.00	777.59	776.26	773.59	784.26	776.26	CC伸缩振动、HCCC扭转振动、HCC弯曲振动
1025.50	1004.33	1000.33	1000.33	1005.67	996.33	CC伸缩振动、HCCC扭转振动
1147.90	1143.05	1139.05	1137.71	1124.37	1120.37	CCC弯曲振动、CCCC扭转振动
1262.40	1252.42	1249.75	1245.75	1237.75	1231.08	HCC弯曲振动
1348.00	1331.11	1329.78	1327.11	1317.77	1313.77	HCCC扭转振动
1435.90	1448.48	1440.48	1429.81	1404.47	1405.80	HCH弯曲振动
2853.10	2910.30	2896.97	2886.30	2879.63	2874.29	CH伸缩振动
2931.50	2960.99	2947.65	2935.65	2935.65	2931.64	CH伸缩振动
RMSD	25.01	21.76	17.77	21.69	23.97	N.A.

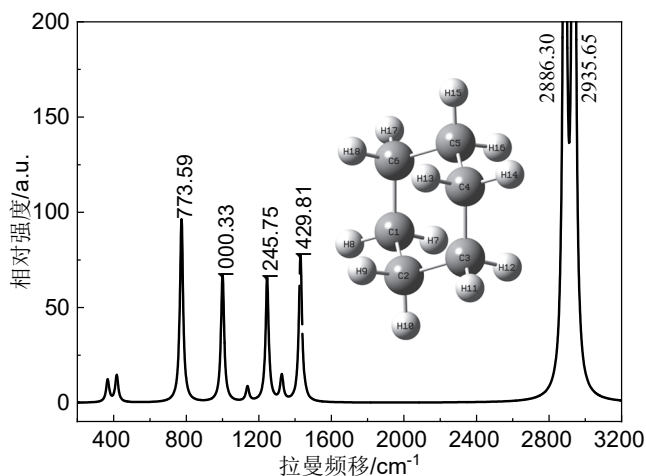


图7 环己烷在B3LYP-D3(BJ)/6-31++G**水平下的计算拉曼光谱
(插图是其几何结构)

2 进阶实验——项目化教学

鉴于拉曼光谱应用的广泛性，在学生掌握基本实验技能和计算方法的基础上，设计了研究型实验，针对醇类(如乙醇)、酮类(如丙酮)、羧酸类(如乙酸)等常用有机溶剂在水溶液中形成氢键和团簇结构设计教学内容，进一步指导学生进行光谱检测、实验数据分析和处理、理论计算验证、报告撰写等，提升学生综合实验能力、自主探究和创新能力。实验要求：选择一类常用有机溶剂，与水混合配制二元溶液并检测其拉曼光谱，结合量子化学计算探究二元溶液中氢键变化及其对团簇结构和空间构型情况。

这里研究乙酸-水二元溶液中的氢键和团簇形成情况。乙酸(CH_3COOH)分子中亲水基($-\text{COOH}$)和疏水基($-\text{CH}_3$)同时存在，既能溶解极性化合物也能溶解非极性化合物，能与许多极性(如水)或非极性(如环己烷)溶剂混合，广泛应用于食品工业。作为重要的工业溶剂和有机化工原料，阐明其与水的二元溶液中氢键形成以及相关二聚体结构的变化具有重要意义。

实验配制不同乙酸体积分数(volume fraction, V)的乙酸-水二元溶液样品($V=10\%–100\%$, 浓度间隔10%)，取样于石英样品管中进行拉曼光谱测量。实验所测不同浓度乙酸-水二元溶液的拉曼散射光谱如图8所示：3200–3600 cm^{-1} 的拉曼峰随乙酸浓度增加，强度逐渐减小，该峰归属为水中 $-\text{OH}$ 和游离 OH 的伸缩振动^[12]；频率低于3000 cm^{-1} 的拉曼峰均随乙酸浓度的增加而增强，归属为乙酸分子的振动。2800–3000 cm^{-1} 为 $-\text{CH}_3$ 伸缩振动；1600–1800 cm^{-1} 为 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动；1300–1500 cm^{-1} 为 $-\text{CH}$ 弯曲/变形振动；~1010 cm^{-1} 为 CO 伸缩振动；~890 cm^{-1} 为 CCO 骨架伸缩振动^[12]。对光谱进行局部放大发现， $-\text{CH}$ 弯曲振动和 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动随乙酸浓度升高有不同程度的红移(图8插图所示)，说明乙酸-水形成团簇结构的氢键可能发生了变化。

为了更清楚地分析乙酸-水团簇结构随二者比例的变化，将 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动和 $-\text{CH}$ 弯曲振动的拉曼频移与乙酸浓度关系绘制于图9中。图示表明： $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动频率随浓度增加逐渐降低， $V < 0.8$ 时， $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动频率随乙酸浓度增加缓慢降低， $V > 0.8$ 时则急剧降低； $-\text{CH}$ 弯曲振动频率在 $V < 0.5$ 时随乙酸浓度增加急剧降低，在 $0.5 < V < 0.9$ 区间基本保持稳定， $V > 0.9$ 则略微升高。根据文献报道^[13]，乙酸-水二元溶液中至少存在以下三种团簇结构：1个乙酸分子和2个水分子形成的水合单体结构；2个乙酸分子和2个水分子形成的线性二聚体团簇结构；2个乙酸分子和2个水分子形成水分离环状二聚体。乙酸浓度较低时，乙酸-水溶液中的主要团簇结构是水合单体结构； $V=0.5$ 时，线性二聚体结构开始形成；当 $V > 0.8$ 时，线性二聚体结构逐渐转变为水分离环状二聚体结构^[14]。团簇结构变化导致 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动和 $-\text{CH}$ 弯曲振动的拉曼频移随之变化，实验所测与文献结果基本一致。

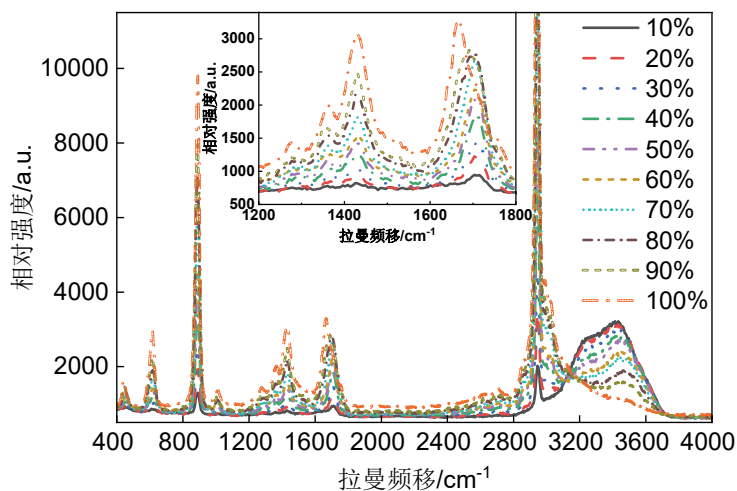


图8 不同体积分数乙酸-水二元溶液的拉曼散射光谱
(插图为1200–1800 cm^{-1} 的放大图)

电子版为彩图，下同

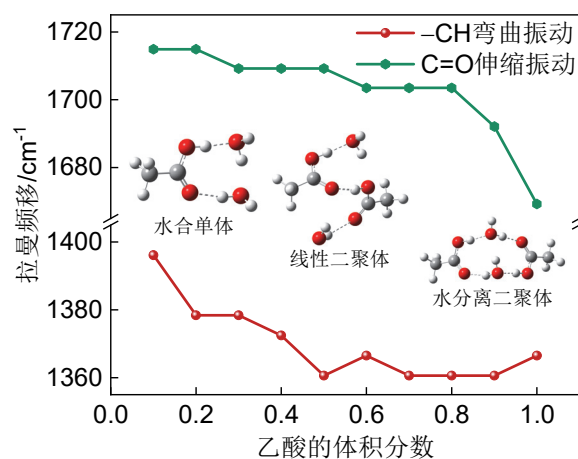


图9 不同体积分数乙酸-水二元溶液中—CH和C=O振动的拉曼频移

接着，基于量子化学软件计算乙酸-水不同团簇结构的拉曼频移：首先用GaussView搭建相应的乙酸-水团簇结构，再利用Gaussian 16在最优化泛函和基组B3LYP-D3(BJ)/6-311++G**水平下计算其拉曼频率，并进行频率因子矫正。这里重点考察C=O伸缩振动和—CH弯曲振动，C=O伸缩振动在水合单体、线性二聚体和水分离环状二聚体结构中的频率分别为1702、1674、1661 cm^{-1} ，—CH弯曲振动相应的频率为1398、1380和1392 cm^{-1} ，如图10所示。线性二聚体中C=O伸缩振动和—CH弯曲振动的拉曼频移相较于水合单体均发生红移，水分离环状二聚体的C=O伸缩振动较线性二聚体进一步红移，而—CH弯曲振动则较线性二聚体蓝移^[14]。这与实验中观察到的C=O伸缩振动、—CH弯曲振动的拉曼频移随乙酸体积分数的变化规律一致，模拟计算与实验结果吻合得很好。即：随着乙酸体积分数的增加，乙酸-水二元溶液中的团簇结构从水合单体结构转变为线性二聚体，乙酸占比进一步增加，线性二聚体逐渐转变为水分离二聚体，团簇结构的这种变化导致C=O伸缩振动的拉曼频移随乙酸浓度的增加逐渐红移，而—CH弯曲振动的拉曼频移则先红移后蓝移。

另外，我们也将Gaussian和Multiwfn软件引入到红外光谱实验教学中^[15]，取得不错的教学效果。总的来说，项目化实验强调学习过程、突出知识的应用和创新，让学生“学以致用、用以致学”，

是一种深度学习, 解决学生被动接受、机械学习等浅层学习的弊端, 培养学生良好的科学实验素养和科技创新意识。

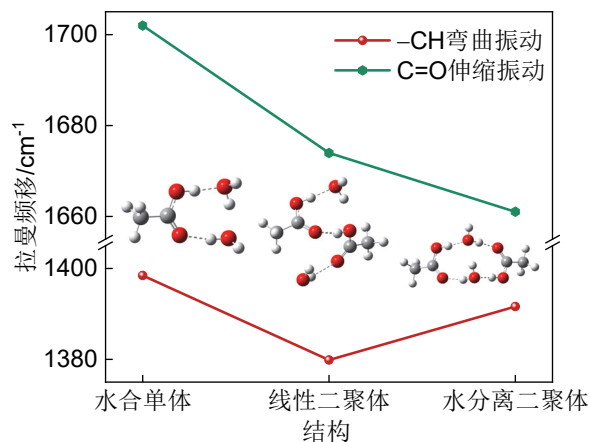


图10 乙酸-水不同团簇结构下-CH和C=O振动的计算拉曼频移

3 考核评价

针对不同层次的教学内容采用不同的考核形式。基础实验为必做内容, 以小组为单位, 每组1-2名学生, 虚拟实验4学时, 线下实操实验4学时, 光谱模拟计算课后完成, 计算结果写入实验报告中, 不计学时, 合计8学时, 采取传统实验评分方式, 涵盖预习、虚拟操作、线下操作和书面传统实验报告, 重点考察学生对拉曼光谱的认知程度、对实验操作过程的熟悉程度以及对拉曼谱图中物理含义的理解程度。进阶实验, 则结合学生兴趣在专业实验课程中安排, 学生根据实验要求查阅文献, 了解拉曼光谱科研前沿及检测应用, 小组成员团结协作、合理设计实验方案, 完成项目实验的研究和探索, 分5次课完成, 共20学时, 提交学术论文格式的项目报告, 并以小组为单位做PPT交流汇报。进阶实验采用更加多元的评价考核体系, 包括文献查阅、方案设计、实验操作、学术论文式的书面报告以及口头汇报和交流, 重点考察学生文献调研能力、对实验操作的掌握程度、实验数据处理和分析能力、团队协作能力、口头和书面语言表达能力。

4 结语

仪器结构、谱图解析是拉曼光谱实验的重点和难点, 教学实践中可以借助虚实结合和量子化学计算软件有效解决, 虚实结合助力学生掌握仪器结构、训练学生基本实验技能, Gaussian和Multiwfn软件把抽象知识具象化、直观化, 帮助学生解析光谱, 强化学生对拉曼光谱形成机制的理解, 高质量完成课程目标。进阶项目型实验设计创新性内容, 使学生“学以致用、用以致学”, 强化拉曼光谱分析技术的应用, 提升学生综合实验技能和自主探究能力。教学实施三年来, 有效培养了学生的综合实践能力、深度分析能力和创新能力, 学生感言“拓宽了眼界、体会了研究的乐趣、提升了独立思考能力”。实验教学很好地与毕业论文衔接, 每年有1-2名学生基于拉曼光谱开展毕业论文课题, 已有1名学生获校优秀毕业论文。后续将引入更多前沿性科学问题, 持续更新项目化实验教学内容, 更有效地培养学生综合创新能力。同时, 本实验涵盖多学科知识, 可作为交叉复合型人才培养的教学内容之一, 助力交叉学科人才培养。

参 考 文 献

[1] 刘春梅, 朱艳艳, 张斌. 大学化学, 2022, 37 (2), 2109103.

- [2] 赵浩, 郭鑫, 吴忠云, 徐金荣, 杨玲, 郑俊荣. 实验技术与管理, **2023**, 40 (3), 201.
- [3] 赵浩, 郭鑫, 吴忠云, 徐金荣, 杨玲, 郑俊荣. 实验室研究与探索, **2023**, 42 (5), 251.
- [4] 肖寒霜, 吴梅芬, 刘亚菲, 许新华. 大学化学, **2023**, 38 (9), 188.
- [5] Matsuda, A.; Nakamura, K. G.; Kondo, K. I. *Phys. Rev. B* **2002**, 65 (17), 174116.
- [6] 张萍, 曲艳玲, 刘佳宏. 实验室研究与探索, **2010**, 29 (10), 134.
- [7] 李飞玲, 贺艳斌, 杨金香, 李俊波, 王涛, 白慧云. 实验技术与管理, **2016**, 33 (8), 133.
- [8] 林斌, 孙世涛, 郝金乐. 化学教育, **2022**, 42 (22), 107.
- [9] Lu, T.; Chen, F. *J. Comput. Chem.* **2012**, 33 (5), 580.
- [10] Kashinski, D. O.; Chase, G. M.; Nelson, R. G.; Di Nallo, O. E.; Scales, A. N.; VanderLey, D. L.; Byrd, E. F. C. *J. Phys. Chem. A* **2017**, 121 (11), 2265.
- [11] Liu, Z.; Lu, T.; Chen, Q. *Chem. Asian J.* **2021**, 16 (1), 56.
- [12] Li, F.; Men, Z.; Li, S.; Wang, S.; Li, Z.; Sun, C. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, 189, 621.
- [13] Han, C.; Liu, Y.; Yang, Y.; Ni, X.; Lu, J.; Luo, X. *Chin. Opt. Lett.* **2009**, 7 (4), 357.
- [14] Yang, B.; Li, Y.; Gong, N.; Cao, X.; Wang, S.; Sun, C. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2019**, 213, 463.
- [15] 练何华, 吕昭月, 邹若雨, 尹煜, 王潇. 原子与分子物理学报, **2024**, 41 (6), 27.