

核磁共振波谱仪在本科基础实验教学中的应用和探索

晋海洋, 惠永海, 张永飞*, 高利军, 王赞

岭南师范学院化学化工学院, 广东 湛江 524048

摘要: 将仪器分析实验中的核磁共振波谱实验与有机化学实验课程进行整体设计, 提高课程建设规划性和系统性。将核磁共振波谱仪应用于本科生基础实验教学, 学生参与整个实验过程, 使学生能够更深刻地理解核磁测试和谱图解析相关原理及基本操作方法, 充分体现了“以学生为中心”的教学思想, 培养了学生的基本科研能力。

关键词: 核磁共振波谱仪; 仪器分析实验; 有机化学实验

中图分类号: G64; O6

Application and Exploration of Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer in Undergraduate Basic Laboratory Teaching

Haiyang Jin, Yonghai Hui, Yongfei Zhang*, Lijun Gao, Yun Wang

School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, Guangdong Province, China.

Abstract: The integration of nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy experiments from the Experiments in Instrumental Analysis with the Experiments in Organic Chemistry enhances the planning and systematic nature of curriculum development. By applying the NMR spectrometer in undergraduate foundational laboratory teaching and involving students in the entire experimental process, students gain a deeper understanding of NMR testing principles, spectrum interpretation, and basic operational techniques. This approach fully embodies the "student-centered" teaching philosophy and cultivates students' fundamental research abilities.

Key Words: Nuclear magnetic resonance spectrometer; Instrumental analysis laboratory; Organic chemistry laboratory

核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)波谱主要用于有机化合物的定性和定量分析, 已成为化学、生物学、药学、食品学、材料学等领域鉴别化合物结构最常用、最直接的手段之一, 是化学相关专业学生必须掌握的重要内容之一^[1-4]。核磁共振波谱仪属于贵重的大型仪器设备, 主要服务于教师和研究生的科研工作, 而在本科教学方面的应用稍显不足^[5-7]。《教育部等部门关于进一步加强高校实践育人工作的若干意见》(教思政〔2012〕1号)明确提出要强化实践教学环节, 深化实践教学方法改革, 把加强实践教学方法改革作为专业建设的重要内容。化学是一门以实验为基础的学科, 应用核磁共振波谱仪这种大型仪器开展本科基础实验教学对培养创新型人才、提高教育教学水平具有重要意义^[8-10]。

收稿: 2024-06-11; 录用: 2024-09-11; 网络发表: 2024-10-30

*通讯作者, E-mail: yongfei_lnnu@163.com

基金资助: 岭南师范学院 2023 年度教学质量与教学改革工程项目(岭师教务[2023] 102 号)

1 存在问题

核磁共振波谱仪是仪器分析课程中的重要组成部分，重点讲授核磁共振现象的产生、核磁共振谱线的特性、核磁共振波谱仪的结构和测试原理。在实验教学方面，由于仪器昂贵，一般只有一台仪器用于本科基础实验教学，仪器分析实验课程多为演示实验或观摩实验，这种教学模式无法体现“以学生为中心”教学思想，难以达到预期的教学效果。同时，核磁共振波谱是有机化学课程中有机化合物的波谱解析章节的重要内容，重点讲授核磁氢谱和碳谱中的化学位移、耦合作用和图谱解析。部分高校开展的波谱解析选修课也会涉及核磁共振波谱的解析。但是核磁共振波谱解析停留在理论教学阶段，有机化学实验并没有关于核磁测试和核磁谱图解析的相关教学内容，使得学生纸上得来终觉浅，很难建立理论与实际应用的关联。即使学生初步掌握了核磁谱图解析相关理论知识，但是在具体实践中仍不知道如何解析核磁谱图，更不会应用MestReNova软件处理谱图。

2 教学内容和方法改革

《教育部关于深化本科教育教学改革全面提高人才培养质量的意见》教高〔2019〕6号指出，要全面提高课程建设质量：加强课程体系整体设计，提高课程建设规划性、系统性，避免随意化、碎片化。鉴于仪器分析和有机化学均涉及核磁共振波谱教学内容，我校尝试将仪器分析实验中的核磁共振波谱仪与有机化学实验相融合，在仪器分析实验中增加有机化合物测试内容，同时在有机化学实验中增加核磁波谱鉴定目标化合物结构的内容。具体实施措施为：有机合成实验制备的有机化合物用于仪器分析实验的核磁波谱测试，然后学生利用MestReNova软件处理谱图并进一步解析谱图，鉴定所合成的化合物是否为目标产物。这种教学模式能够加深学生对理论知识的理解，强化应用理论知识解决实际问题，能够充分发挥核磁共振波谱仪在服务教学和人才培养中的重要作用。

2.1 有机合成实验

有机合成实验是有机化学实验的重要组成部分，大多数高校开设的有机合成实验包括1-溴丁烷的制备、正丁醚的制备、环己酮的制备、乙酰水杨酸的制备、呋喃甲醇和呋喃甲酸的制备、肉桂酸的制备、乙酸乙酯的制备、乙酰乙酸乙酯的制备、甲基橙的制备、2-甲基-2-丁醇的制备、乙酰苯胺的制备和安息香的辅酶合成等实验^[11,12]。学生做完有机合成实验后，将自己制备的产物带去核磁室，准备核磁共振波谱测试。

2.2 核磁波谱测试

核磁共振波谱实验属于仪器分析实验的实验内容之一，为了实现核磁共振波谱实验与有机化学实验相融合，核磁共振波谱实验不再进行一次性授课，而是跟随有机化学实验拆分为多次实验，即在有机化学实验结束后，根据核磁仪器实际情况进行安排。目前，大部分本科教学中核磁共振教学学时一般为4-8学时。考虑到学生和教师的接受程度以及学时限制(4学时)，并未将所有有机实验产物进行核磁测试，而是选取其中4个实验的产物进行核磁测试，如乙酰苯胺、环己酮、肉桂酸和2-甲基-2-丁醇。初步将核磁共振实验教学安排如下表1所示，其中核磁共振理论教学、样品准备及上机测试教学和MestReNova软件教学共计2学时，在第一次核磁共振实验时进行。随着学生和教师接受程度的增加，实验学时有可能进一步调整。

2.2.1 核磁理论教学

核磁共振波谱测试是仪器分析实验的重要内容，首次测试前，需要现场结合核磁共振波谱仪和核磁室张贴的测试原理配图，详细地讲解仪器的组成和基本原理，这样就使得核磁共振基本原理、化学位移、自旋耦合等抽象的理论知识具象化，便于学生理解和记忆。

2.2.2 样品准备

首次制样，需要讲解氘代试剂的选取原则、合适的样品浓度、装样体积和核磁管定深等影响谱图质量的重要因素。根据学生数量，按照3-6人为一组将学生进行分组。以“乙酰苯胺的制备”实验为例，称取3-5 mg和10-15 mg制备的乙酰苯胺，分别溶于0.6 mL氘代二甲基亚砜中，将溶液用移液

枪转移至5 mm标准核磁管内, 用于一维氢谱以及碳谱和Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT)谱的测定。测试前, 核磁管用定深量筒进行定深处理。

表1 核磁共振波谱实验安排

教学内容	学时
核磁共振理论教学	1学时
样品准备及上机测试教学	0.5学时
样品配置	1学时(4次测试共计1学时)
上机测试	1学时(电脑端输入命令以及样品放入自动进样器中, 4次测试共计1学时)
核磁仪器测试时长	0学时, 仪器测试时间不计学时
MestReNova软件教学	0.5学时
谱图解析	0学时, 课后完成

2.2.3 上机测试

在仪器操作方面, 介绍每个参数的意义和设置方法以及每个步骤的目的和操作方法, 要求学会一维氢谱、碳谱和DEPT谱的测试流程和操作注意事项。

首先将样品放入自动进样器的样品盘中, 然后在操作工作站的样品采集软件(IconNMR)中选择存储路径, 输入样品名称, 选择锁场溶剂以及实验项目(一维氢谱、碳谱和DEPT谱)。样品信息设置完成后登录样品, 第一步进行仪器调谐, 调谐的目的是为了获得相应发射频率的最大灵敏度, 通过调整探头电路中的可调电容来实现, 包含两方面的内容, 一是使接收线圈的频率和发射中心的频率重合, 二是使探头和电缆的阻抗与机柜的阻抗相匹配, 从而实现射频能量在探头的最大接收, 否则机柜发出的射频能量就会从探头反射回机柜, 损伤硬件。第二步氘代试剂进行锁场, 其目的是保证在较长的核磁实验中, 不会因为磁场的漂移而影响谱图的质量, 第三步进行匀场, 目的是为了得到高分辨率的核磁谱图, 核磁实验对磁场均匀性要求非常高, 通过在不同室温匀场线圈施加不同的电流使得生成的磁场组合和原有磁场不均匀性相抵消, 最后得到一个校正后的均匀磁场。第四步为样品采集, 不同的实验项目选择不同的扫描次数、谱宽、中心频率等参数, 采集完成后得到一张完整的核磁谱图。

2.2.4 谱图解析

仪器分析和有机化学课堂中看到的核磁谱图都是处理好的谱图, 是不讲授MestReNova软件处理核磁谱图的。利用MestReNova软件处理核磁谱图是核磁共振波谱实验的重要内容, 通过教学, 让学生掌握MestReNova软件的使用方法。然后, 根据化学位移、峰裂分情况和积分面积分析谱图, 判断是否合成了目标化合物。

MestReNova软件使用方法简介: (1) 应用Preference按钮确定参考谱峰, 按照IUPAC的建议将TMS的 δ 值定为零; (2) 应用Peak Picking按钮标注各个谱峰的化学位移; (3) 应用Integration按钮标注谱峰积分面积。

一维氢谱解析方法: (1) 根据吸收峰化学位移和裂分情况判断氢原子化学环境; (2) 根据积分面积确定氢原子个数; (3) 综合吸收峰化学位移、裂分情况和氢原子个数初步推测化合物结构。

一维碳谱和DEPT谱解析方法: (1) 根据碳谱谱线化学位移确定碳原子的化学环境或所属基团; (2) 结合DEPT谱线区分伯、仲、叔和季碳的类型, 其中季碳不出峰; (3) 结合氢谱、碳谱和DEPT确定化合物结构, 判断是否与目标化合物结构一致。

乙酰苯胺的一维氢谱、碳谱和DEPT-135谱图如图1、2和3所示。从一维氢谱中可以看出, 谱图中共有8组峰, 其中化学位移(δ)为0的峰为标准物质四甲基硅烷(TMS)的化学位移; δ 2.50为未完全氘

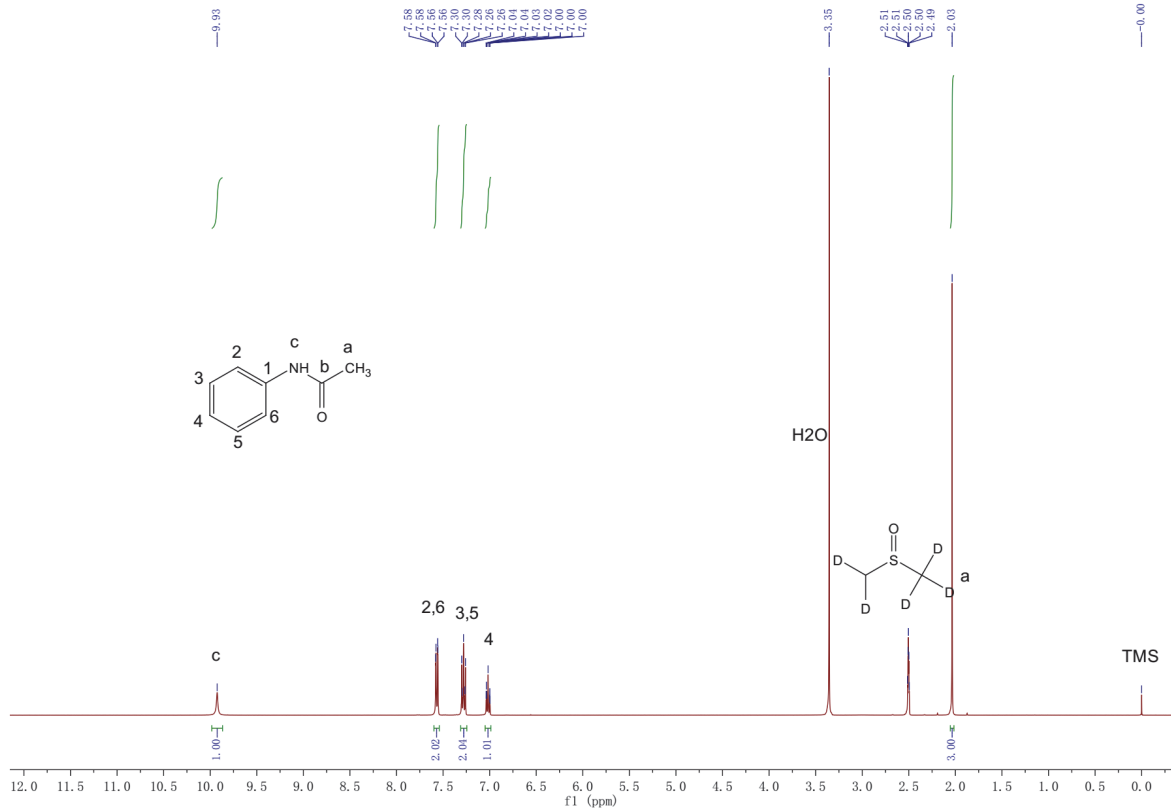


图1 乙酰苯胺的一维核磁氢谱

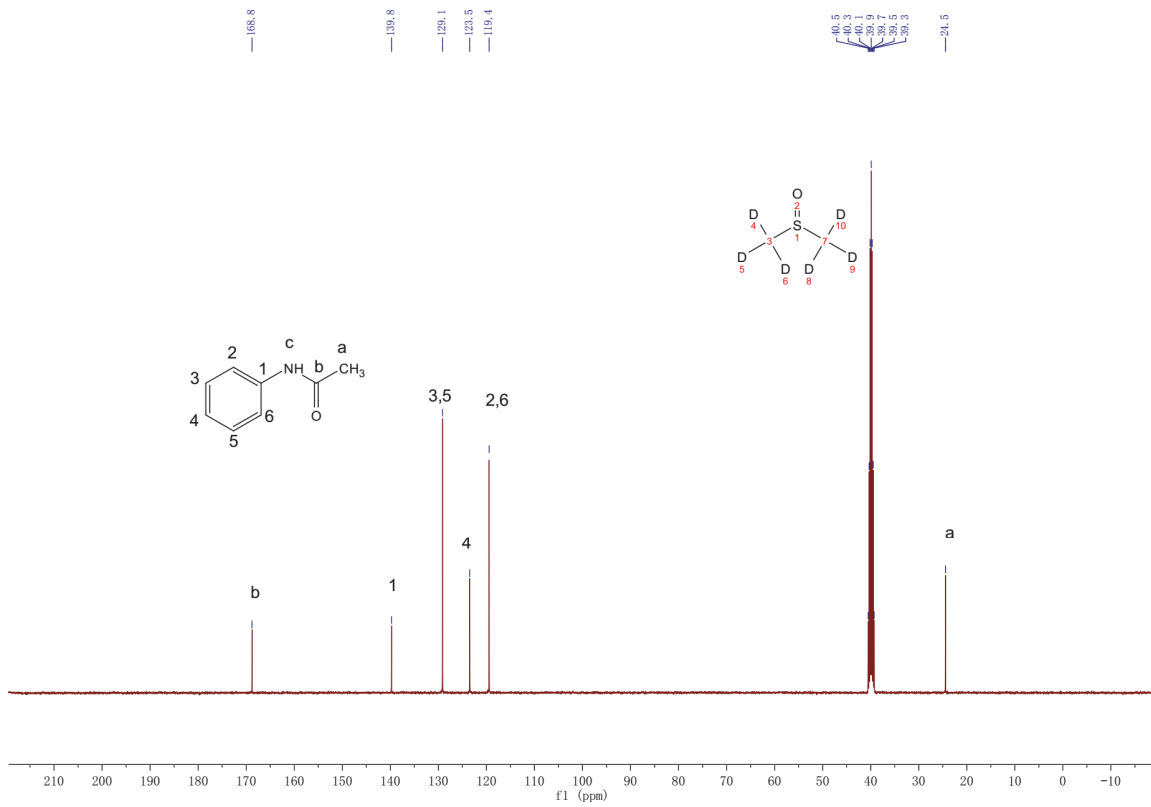


图2 乙酰苯胺的核磁碳谱

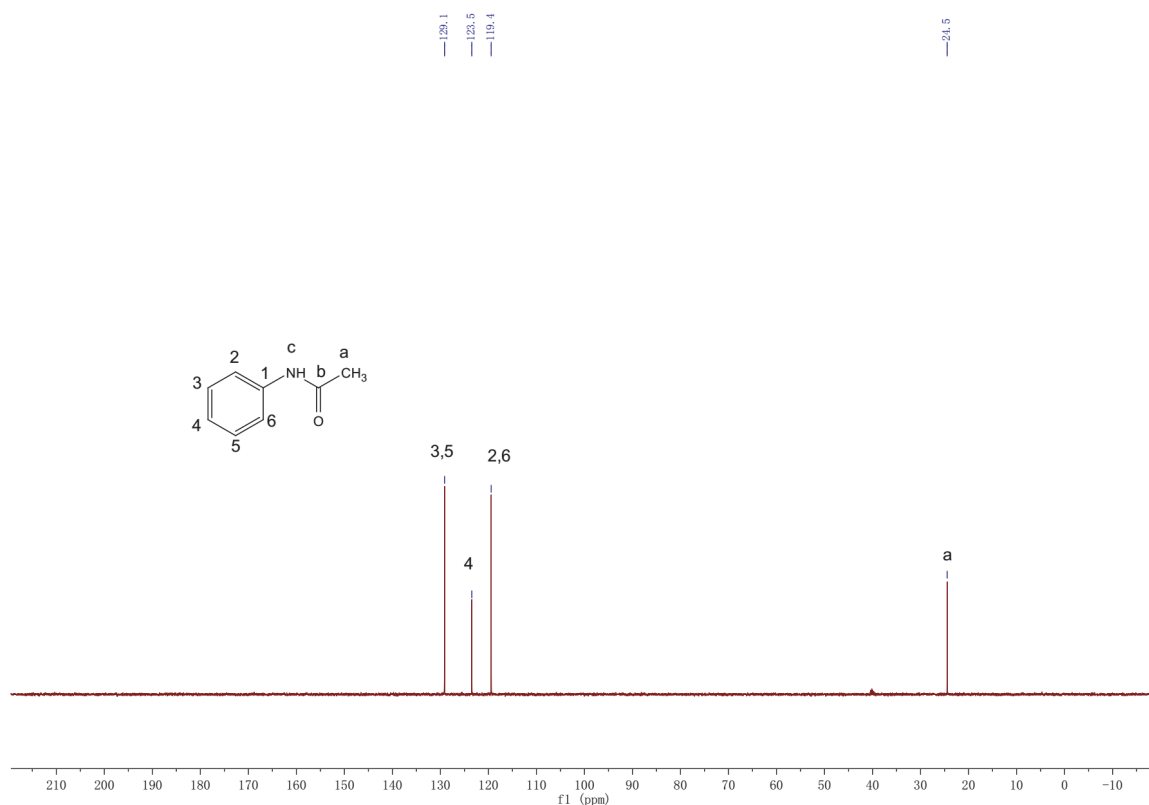


图3 乙酰苯胺的DEPT-135谱图

代的 $\text{CD}_2\text{H}(\text{SO})\text{CD}_3$ 的吸收峰，H的裂分符合 $2nI+1$ 规则，其中， n 为产生耦合作用的相邻磁等价的核数， I 为自旋量子数，这里 $n=2$ ， $I=1$ ，因此，H被裂分为五重峰； $\delta 3.35$ 为体系中水的吸收峰。剩余的五组峰为乙酰苯胺的吸收峰，其中， $\delta 9.93$ 为N-H的吸收峰(1H)；由于N的电负性比较大，苯环上5个氢的谱峰均移向低场，邻位氢向低场移动的幅度最大，间位氢次之，对位氢移动幅度最小，因此， $\delta 7.58\text{--}7.56$ 为苯环2号和6号碳位置氢(邻位氢)的吸收峰(2H)， $\delta 7.30\text{--}7.26$ 为苯环3号和5号碳位置氢(间位氢)的吸收峰(2H)， $\delta 7.04\text{--}7.00$ 为苯环4号碳位置氢(对位氢)的吸收峰(1H)； $\delta 2.03$ 为甲基氢的吸收峰(3H)，相应的谱峰积分面积与对应氢的个数一致，说明学生合成了乙酰苯胺目标化合物。值得注意的是，苯环2号和6号碳位置氢分别只有一侧有未取代氢，根据 $2nI+1$ 规则(此处 $n=1$ ， $I=1/2$)，应该形成两重峰，然而实际裂分形成了4个谱峰，分别为 $\delta 7.579$ 、 7.576 、 7.558 、 7.555 。这种情况超出了有机化学中关于核磁共振波谱的教学范围，需要学生查阅相关文献。文献报道^[13]，酰胺结构中C=O和N三原子间存在 $p\text{-}\pi$ 共轭，C-N键具有一定的双键性质，导致C-N键不能自由旋转，使得O=C-N形成近似平面的结构，乙酰苯胺存在顺式和反式异构体，而且苯环平面有可能与酰胺的O=C-N键不共面。这可能导致乙酰苯胺中苯环2号和6号碳上氢的化学环境并不完全相同，导致2号和6号碳上氢的化学位移也不相同。受此影响，苯环间位氢和对位氢也不是完美的三重峰。通过查阅文献解决核磁谱图分析实际问题，既锻炼了学生查阅文献的能力，又培养了学生分析问题和解决问题的能力。

从碳谱可以看出，谱图中共有七组谱峰，其中 $\delta 39.9$ 是DMSO- d_6 的谱峰，根据 $2nI+1$ 规则，受C-D耦合影响，DMSO- d_6 的谱峰裂分为七重峰(此处 $n=3$ ， $I=1$)。剩余的六条谱线为乙酰苯胺的吸收峰，其中 $\delta 168.8$ 为羰基碳(C=O)的吸收峰，该碳原子与电负性强的O和N相连，谱峰出现在最低场，由于该碳原子为季碳，所以在DEPT谱中没有该碳原子的吸收峰； $\delta 139.8$ 为苯环1号位碳的吸收峰，1号碳与电负性强的N相连，而且乙酰氨基取代基体积庞大，这两方面因素均导致1号位碳向低场移

动, 由于该碳原子为季碳, 所以在DEPT谱中没有该碳原子的吸收峰; δ 129.1、123.5、119.4分别为苯环3号和5号位碳、苯环4号碳以及苯环2号和6号碳的吸收峰, 这是因为取代基是饱和杂原子N, 使得苯环邻、间、对位碳原子的峰向高场位移, 其中, 对邻位碳影响最大, 对位碳次之, 间位碳影响最小; δ 24.5为甲基碳的吸收峰。综合氢谱、碳谱和DEPT谱测试结果, 证明合成了目标化合物乙酰苯胺。

3 改革效果

从化合物合成、核磁样品准备到核磁测试以及谱图解析, 学生亲力亲为, 充分体现了“以学生为中心”的教学思想。通过一学期的实验锻炼, 学生理解了核磁共振波谱仪的结构和测试原理, 学会了核磁共振波谱仪测试一维氢谱、碳谱和DEPT谱的操作技术, 掌握了MestReNova软件处理核磁谱图的方法, 对核磁谱图的解析更加得心应手。核磁共振波谱实验培养了学生的动手能力、分析问题和解决问题的能力, 能够激发和培养学生的学习兴趣, 提升科研素养, 符合“价值塑造、知识传递和能力培养”三位一体的培养模式, 为将来从事科学研究和分析工作奠定了实验基础。

4 结语

本文对课程体系进行了整体设计, 提高课程的系统性。核磁共振波谱实验将仪器分析课程中仪器组成和测试原理与有机化学课程中的波谱解析以及仪器分析实验和有机化学实验进行了集成整合, 能够显著激发学生的自主学习能动性, 提高综合科研素养。同时, 核磁共振波谱仪不仅是重要的科研利器, 更是优质的办学资源, 目前核磁共振波谱仪的实验对象主要为化学化工学院的学生, 我们计划进一步提升核磁共振波谱仪的利用率, 将实验对象扩展至食品科学与工程学院和生命科学与技术学院, 增加该大型仪器的受益面。

参 考 文 献

- [1] 冯柳宾, 欧阳捷, 安冬丽, 叶剑良. 大学化学, 2023, 38 (11), 216.
- [2] 张中玲, 吴洪海, 陈忠奎, 翁勤洁. 药物分析杂志, 2024, 44 (3), 373.
- [3] 李峰, 杨雪, 金俊, 金青哲, 韦伟, 王兴国. 中国油脂, 2024, 49 (5), 126.
- [4] 王志战. 科学技术与工程, 2024, 24 (6), 2323.
- [5] 尹田鹏, 周皓, 蔡乐. 化学教育(中英文), 2024, 45 (4), 105.
- [6] 王晓燕, 张春春. 实验科学与技术, 2021, 19 (5), 86.
- [7] 刘正宇, 王倩, 赵红昆, 刘忠义, 杨恩翠. 广东化工, 2023, 50 (21), 154.
- [8] 艾惠, 高培峰, 李晓芳. 实验室研究与探索, 2022, 41 (9), 186.
- [9] 丁飞, 张翠, 邱晓航. 大学化学, 2021, 36 (7), 2012050.
- [10] 吕玉光, 宋笛, 于莉莉, 王伟娥, 王朝兴, 杜梦圆, 杜浩然, 高燕冰, 石春卉. 分析仪器, 2016, No. 2, 58.
- [11] 周新, 周佳, 吴文海, 吴承明, 孙勇, 龙德清. 汉江师范学院学报, 2023, 43 (3), 93.
- [12] 惠永海, 王赟, 韩冰, 李建鹏, 张永飞. 创新教育研究, 2020, 8 (6), 988.
- [13] 吴昊, 刘珍, 白大昌. 大学化学, 2024, 39 (3), 231.