

综合运用分析仪器解析“盲盒”样品 ——未知物的剖析

邱祖凤, 欧阳捷, 王翊如*, 杨亨婷, 廖芯, 张驰, 江萱瑶, 邓顺柳, 林志为*
厦门大学化学化工学院, 化学国家级实验教学示范中心(厦门大学), 福建 厦门 361005

摘要: 本文设计了一个综合多个分析仪器的提高实验, 用来剖析未知白色粉末的结构特征。文中以简单易得的20种氨基酸为例, 阐述实验的可行性和可操作性。该实验方案在学生掌握基础分析实验课程后作为提高实验或者是考核的手段, 进一步促进学生对仪器分析化学实验的兴趣, 培养其运用所学知识解决问题的能力, 提高科学素养。

关键词: 综合实验; 仪器分析; 未知物剖析; 本科教学
中图分类号: G64; O6

Comprehensive Instrument Analysis of “Blind Box” Samples: Analysis of Unknown Substances

Zufeng Qiu, Jie Ouyang, Yiru Wang*, Hengting Yang, Xin Liao, Chi Zhang, Xuanyao Jiang,
Shunliu Deng, Zhiwei Lin*

National Demonstration Center for Experimental Chemistry Education (Xiamen University), College of Chemistry and
Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China.

Abstract: This study presents an advanced experimental module integrating multiple analytical instruments to characterize the structural features of unknown white powders. To clearly elucidate the feasibility and practicality of the experiment, 20 commonly available amino acids were selected as examples. Designed as an advanced experimental course or assessment tool following basic analytical experiment courses, this experiment aims to deepen students' interest in instrumental analysis, enhance their problem-solving skills, and strengthen their scientific literacy.

Key Words: Comprehensive experiment; Instrumental analysis; Analysis of unknown substances;
Undergraduate teaching

1 引言

目前, 仪器分析实验课程中各类仪器分析方法, 包括光谱分析法、电化学分析法、色谱分析法、热分析法、质谱法及其联用技术等, 都会分别设计独立的实验项目。例如, 光谱分析法的实验项目就包括了原子发射光谱法、原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、紫外-可见光谱法、分子荧光光谱法、红外光谱法、拉曼散射光谱法等多种分析方法。虽然在一个完整的学期里, 学生做完一系列实验项目后对各类仪器分析方法都会有一定程度的了解, 但由于教学时间较长, 各个实验项目之间又相对独立, 导致学生学完所有课程后仍难以将所学知识学以致用^[1]。

收稿: 2024-05-27; 录用: 2024-09-02; 网络发表: 2025-03-27

*通讯作者, Emails: zwlin123@xmu.edu.cn (林志为); yrwang@xmu.edu.cn (王翊如)

基金资助: 2022年度基础学科拔尖学生培养计划2.0 (20222111); 福建省本科高校教育教学研究项目(重大项目) (FBJY20230270)

在现行《高等学校化学类专业指导性专业规范》《化学类专业教学质量国家标准》和《化学类专业化学理论教学建议内容》的基础上^[2-4]，《高等学校化学类专业分析化学相关教学内容与教学要求建议》不仅对各个实验教学中所涉及的知识、能力和素质培养提出明确要求，还表明应着重培养学生能够选择合适的分析方法进行物质的组成、状态和结构分析的能力^[5]。因此，亟需设计一个具有高阶性、创新性、挑战性的综合实验，帮助学生构筑知识体系，灵活应用各类仪器分析方法。

仪器分析实验的核心教学内容主要围绕确定物质的化学组成(定性)、测量各组成的含量(定量)、表征物质的化学结构/形态/能态等进行。未知实验对象的选择加强了实验的趣味性，有助于提高学生的学习兴趣^[6]。以确定物质的化学组成即定性分析为例，设计“盲盒”样品，让学生依据未知物分析思路，自主设计实验，选择多种不同的分析仪器组合对未知白色粉末进行检测，并通过分析实验数据判定未知物的准确结构。

2 实验部分

2.1 实验原理

仪器分析实验教学的实验目的主要是帮助学生理解仪器分析方法的工作原理、仪器结构和功能以及分析仪器的实际应用，同时也要求所设计的实验项目应当具有安全、绿色、环保、经济等特性。因此，“盲盒”样品的选择十分重要。

早在1900年左右，科学家已将含有碱性氨基和酸性羧基的有机化合物定义为氨基酸，化学式为 $RCH(NH_2)COOH$ ^[7]。1940年，人们发现自然界存在20余种氨基酸，常温下为无色晶体结构，化学性质稳定，不易升华，绿色无毒，原料便宜，容易在基础实验中得到应用^[8]，是一种较好的目标分析对象。各种氨基酸的侧链基团各自不同，如图1所示，可以利用其不同的理化性质将其区分。例如，根据不

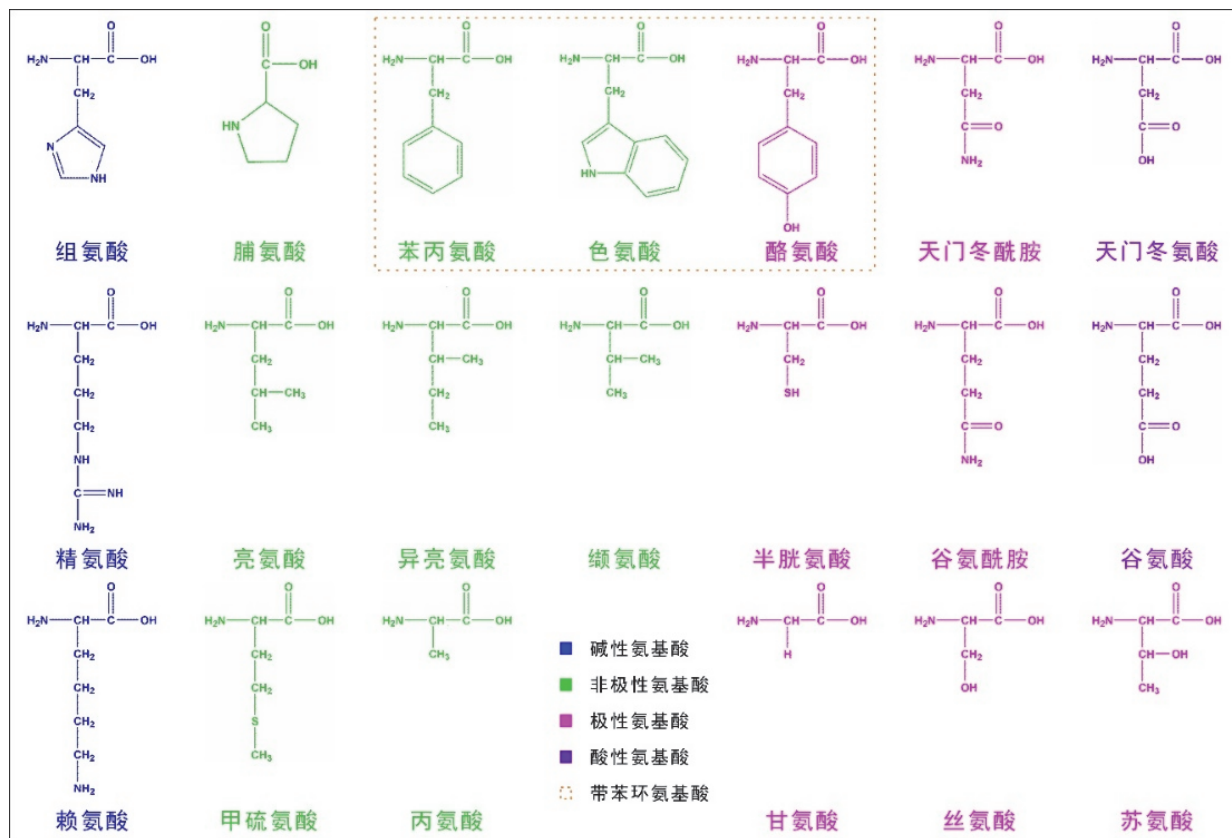


图1 二十种氨基酸结构示意图

同氨基酸酸碱性不同, 可以用pH试纸或酸碱指示剂进行检测; 根据带有的不同基团, 可以用红外光谱仪进行检测; 对于不同相对分子质量的样品, 可以用质谱检测其质荷比; 不同的结构, 可用核磁共振来鉴定其结构; 具有苯环结构的, 在近紫外区具有光吸收, 则可用紫外可见吸收光谱进行鉴定等。当抽到一个氨基酸“盲盒”后, 学生可以运用包括但不限于以上仪器设计对未知物进行检测的实验方案, 通过综合分析实验结果, 确定未知物的化学组成并得到化合物的准确结构。多种仪器的分析结果互相佐证, 层层递进保证了实验的准确性和可靠性。

2.2 实验设计

将20种氨基酸随机标记1–20序列号, 分别取100 mg分装到2 mL离心管中(如图2所示), 学生事先不知道序号对应的氨基酸。实验前, 让学生以“抽盲盒”的方式随机抽取一个样品, 再自主设计实验, 可以选择通过红外光谱法、紫外-可见分光光度法、核磁共振氢谱法、质谱法等分析手段来确定抽取的样品的结构。



图2 氨基酸盲盒样品

2.3 实验试剂

所有的试剂均为分析纯。超纯水通过Milli-Q纯水仪(Millipore, Milford, MA)制备, 无水乙醇购自中国国药集团上海化学试剂公司。重水和氨基酸购自美国西格玛奥德里奇公司。商业纳米材料TiO₂ (P25)购自上海海逸科贸有限公司。

2.4 实验仪器和表征方法

以学生A抽到的8号样品为例阐述分析过程(虽然有些方法已经能确定氨基酸的种类, 但为了展示多种分析仪器在盲盒样品中的应用, 我们仍选择多种仪器方法进行分析, 验证我们的实验结果)。

2.4.1 紫外-可见光谱(UV-Vis)测试

将氨基酸溶于超纯水中配制成1 mg·mL⁻¹溶液, 利用UV-2550紫外-可见光谱仪(SHIMADZU)在波长为200–800 nm进行3次扫描测定液体样品的紫外-可见光吸收光谱。光度范围: 0–4 Abs; 谱带宽度: 2 nm; 分辨率: 0.1 nm。

2.4.2 红外光谱(IR)测试

利用Nicolet iS50傅里叶红外光谱仪(Thermo Fisher), 样品采用KBr压片法制备, 通过有机基团的红外特征吸收谱图, 鉴定未知有机化合物结构。光谱范围: 7800–350 cm⁻¹。

2.4.3 X射线衍射(XRD)测试

利用Ultima IV理学X射线衍射仪对晶体结构进行定性分析。激发光源为Cu靶, 工作电压40 kV, 工作电流40 mA, 扫描衍射角范围为5°–90°, 扫描速度10 (°)·min⁻¹。

2.4.4 核磁共振氢谱(¹H NMR)测试

将氨基酸溶于重水中, 利用Bruker Avance III 500 MHz超导核磁共振波谱仪(德国布鲁克公司, 基本频率 $\nu_0 = 500.17$ MHz), 测试样品的核磁共振氢谱, 分析样品的特征氢信息, 确定氨基酸的种类。实验参数为标准脉冲程序zg 30, 谱宽 $\delta 20$, 中心位置 $\delta 6$, 扫描次数32次, 实验温度298 K。

2.4.5 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)测试

将氨基酸溶于超纯水中, P25作为基质, 利用Autoflex maX MALDI-TOF MS (德国布鲁克公司)对氨基酸的质荷比进行分析。激光源: Nd:YAG激光(波长355 nm)及Smartbeam II系统, 反射正离子模式。

3 实验结果

3.1 UV-Vis光谱分析

苯环的特征吸收带为184 nm、204 nm、254 nm, 当苯环上有取代基时, 会对峰位置产生影响, 从而发生一定的偏移。当氨基酸结构中含有苯环时, 会在范围内出现三组吸收峰。但对8号样品的紫外-可见吸收光谱测试结果表明, 该未知氨基酸在200–800 nm无明显的吸收峰, 可以初步确定该氨基酸无苯环结构, 因此排除苯丙氨酸、络氨酸、色氨酸。至于是另外17种不带苯环的氨基酸的哪一种, 则需其他分析方法进一步确认。

3.2 IR光谱分析

取少量氨基酸样品作溴化钾压片并进行红外光谱测试, 测得红外光谱图如图3所示。初步分析, 样品在3400–2500 cm^{-1} 处具有较强的羧基的—OH伸缩振动峰, 结合1740–1650 cm^{-1} 的强C=O伸缩振动峰, 判断该物质具有羧基基团, 同时也满足3500–3300 cm^{-1} 的N—H键伸缩振动峰, 判断该物质具有氨基。将8号样品红外光谱与20种氨基酸标准红外光谱图进行比较, 发现与精氨酸标准红外光谱图相似度最高。因此, 初步判定8号样品为精氨酸。由于红外光谱只能反映部分特征基团的信号, 若要确定8号样品是精氨酸还需进一步分析。

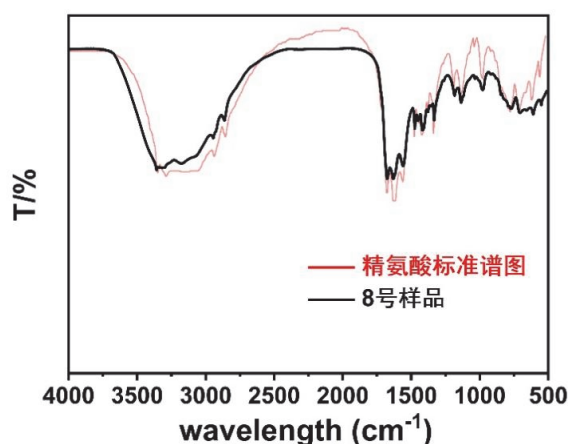


图3 8号样品的红外测试谱图及其标准谱图对照

3.3 XRD谱图分析

8号样品粉末的XRD谱图如图4所示。我们将所得到的XRD谱图导入Jade软件中, 即可进行自动匹配, 得到匹配的目标卡片。根据标准谱图和测试谱图的匹配程度, 则可推论该样品的种类。从图4中可以看出, 我们测试的样品与标准卡片PDF#30-1528几个最强峰以及多数的峰都匹配, 因此我们推断该物质即为该卡片所显示的L-精氨酸。不过, 由于XRD测试大多应用于无机物的检测, 对有机物的测试较少, 且对于无定形结构样品并不能得到相应的衍射峰, 因此可能出现无法匹配到完美标准卡片的情况, 需借助其他分析手段进行进一步的分析。

3.4 ^1H NMR谱图分析

为了确定8号氨基酸是否为精氨酸, 通过核磁共振氢谱进一步验证。氢谱(图5)结果显示: 除了活泼氢外(溶剂重水溶解样品, 活泼氢被重水氘代不产生氢信号), 8号氨基酸还有7个氢, 信号集中分布

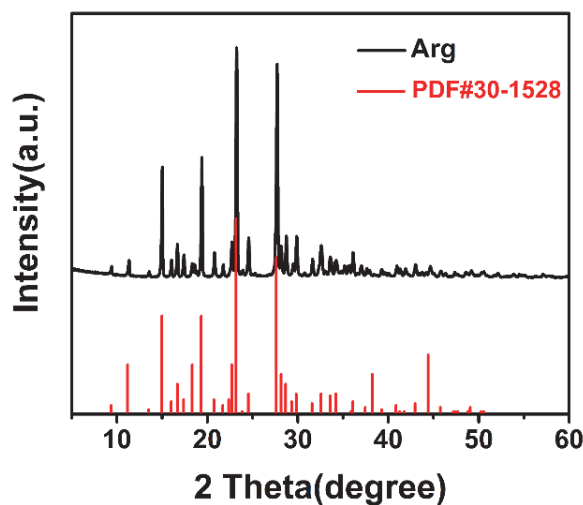


图4 8号样品XRD测试谱图

在 δ_{H} 0–4区域，没有芳香氢。在常见的20种氨基酸中寻找不含芳香基团且只有7个烷基氢的氨基酸，发现只有精氨酸符合。结合精氨酸的结构进行对比，2号次甲基—CH—和5号亚甲基—CH₂—的化学环境相似，其邻位都被氨基取代(特征信号区 δ_{H} 3–4)，而另一侧邻位是亚甲基取代($N+1$ 规则，为三重峰)；这与氢谱的两组谱峰 δ_{H} 3.18 (t , 5.8 Hz, 1H)、 δ_{H} 3.11 (t , 6.5 Hz, 2H)表现出来的特征信息相符。3、4号位置的亚甲基—CH₂—，所受诱导效应类似，故化学位移基本一致，两亚甲基邻位都有多个不等价氢基团存在，应呈现多重峰；因此谱峰 δ_{H} 1.54 (m , 4H)应为3、4号亚甲基氢的特征信号。基于以上指认，可推测8号氨基酸就是精氨酸。

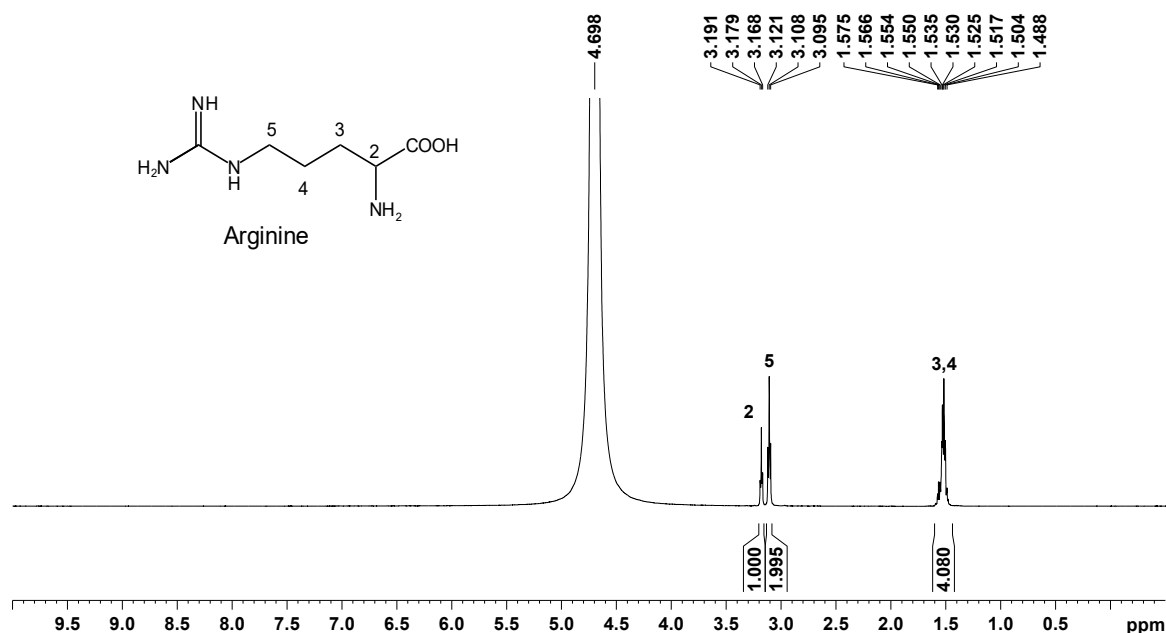


图5 8号样品的核磁共振氢谱

3.5 MALDI-TOF MS谱图分析

MALDI-TOF MS在基质的作用下具有软电离的优点，不会产生大量的碎片离子峰，因此能对有机分子的质量简单快速地确定。由于氨基酸为小分子，传统的有机基质在小分子区域具有较强的干

扰峰，因此我们参考文献选取了P25作为基质进行检测^[9]。8号样品的MALDI-TOF MS谱图如图6所示。大多数有机物在质谱测试中与质子的结合能力都很强，因此可能会出现加氢、加钠和加钾等质子峰。对图6分析，我们可以看到该谱图在质荷比为175.09和197.07处出现了两个很强的目标峰，而其间距为加钠和加氢离子峰的质荷比差22，因此我们判断该目标分别为该氨基酸的加氢和加钠峰。由此，初步认为该氨基酸的质量数为174。对比20种氨基酸的质量数，结合红外光谱、紫外光谱、核磁共振数据，我们确认8号氨基酸为精氨酸。

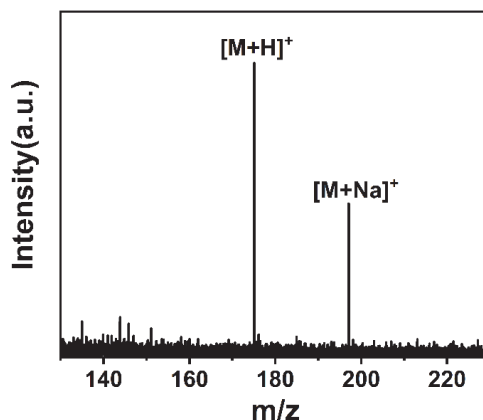


图6 8号样品的基质辅助激光解析飞行时间质谱图

在学时允许的情况下，还可以加上圆二色光谱仪(CD)鉴定，进行是否手性物质的判断。当然，在实际生产中，未知物鉴定还会涉及到样品前处理如分离、纯化、浓缩等，也可能是混合物。在对物质完全无信息的情况下，还可以先用扫描电镜的能谱分析，快速筛查是否含有金属元素。总而言之，对于未知物的鉴定，需要具体问题具体分析，但是具备一定的鉴别能力，十分有必要。

4 教学安排

一般高校的大型仪器主要服务于科研工作，仪器机时比较饱满，为了切实发挥本实验在本科教学中的作用，高效地完成教学任务，可以采用以下几个步骤：

(1) 开课前，统一对学生进行安全培训，内容包括实验室进出登记，实验所用仪器和实验日志的记录、实验室的卫生，所用仪器的操作规范、实验药剂安全使用及记录、实验所产生的废液如何处理等，经安全培训考试合格后，方可进入实验室开展实验。

(2) 由任课教师或实验教师制作实验教学的视频课程，在视频课程中详细讲解相关仪器实验原理，实验操作步骤，注意事项，特别强调以往学生在实验中常犯的错误。在开展实验前，学生通过课程网站的视频资料提前预习。课堂上以学生为主体，老师讲解实验时间尽量缩短，重点讲述仪器构造、操作要点和注意事项，留出时间给学生自由讨论，了解仪器构造、掌握仪器操作。

(3) 实行网上预约制度。建立实验室预约系统，学生可以在系统中查询到本学院乃至本学校有开放教学时段的实验仪器的使用状况，保证学生的实验自主性。没有网上预约系统的单位，可以先预留某一个时段。实验指导教师可事先安排实验批次及时间。

(4) 仪器管理员协助测试。多数大型仪器为国外进口，操作复杂，结构精密，需要专职工作人员进行专业的学习和管理，对本科教学的应用是一种制约，学生自学能力可能有差异。因此，上机操作应分为三类，学生独立测试、仪器管理人员协助测试、仪器管理人员测试并让学生观摩。

(5) 利用网络教学平台，为学生课外自学提供资源与系统指导，促进学生自主学习，为师生提供一个互动交流、智能化的网络教学环境，对学生提出的问题进行及时答疑，一对一辅导。学生在撰

写综合分析的报告时, 通过平台及时寻求帮助, 从而营造个体良好的自主学习氛围, 强化师生之间的紧密关系, 增加师生间的沟通与交流^[10-13]。

5 结语

通过内容革新, 使学生对仪器分析理论的学习尤其是仪器构造及原理部分变得更有感性认识, 从而有效提高学生科研思维的敏感性, 激发创造力。过程中学生可以随时提问, 老师及时解答。把使学生从“要我做”变为“我要做”, 消除学生依赖和被动学习的心理, 充分发挥学生的主观能动性, 培养学生创新思维能力。

因此, 该实验设计可包含在仪器分析课程中, 放在最后作为综合提高实验或课程结束前的考核方式。实验开展前可以先让学生初步确定想要运用的测试手段都有哪些, 并让其完成初步的实验计划, 包括所选仪器的原理、选择的原因以及基本操作等, 既可让其复习所学知识, 又方便后续实验安排和提高工作效率。之后可将实验集中在一天内完成, 先根据初步实验计划将学生分组安排对应的实验, 提高实验效率, 再留存一部分时间让学生根据初步的实验结果选择是否需要增加1-2个额外的测试。最后, 学生根据所得实验结果撰写实验报告, 分析未知物的组成和结构, 并对整个实验思路进行整理和反思。根据学生实验报告中的设计思路和结果分析, 可对学生进行一次综合评分。评分可大概遵循一个准则, 即设计方案是否合理占20%, 仪器操作步骤是否准确占20%, 实验结果分析是否正确占30%, 论文撰写是否逻辑清晰和结构严谨等占30%。不论是作为一个综合提高实验还是考核手段, 都可一定程度上反映学生的综合素质, 又不至于让学生忽视平时的基础实验。总之, “盲盒”的综合分析实验, 既可调动学生的学习兴趣, 培养其在实验中选择分析手段的能力, 提高综合素质; 又可作为一个很好地考核手段, 准确掌握每个学生的学习水平和教学成果, 具有很好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 冷雪, 王莹, 曹媛, 杜莹, 贾连群. 中国中医药现代远程教育, **2019**, *17* (20), 139.
- [2] 教育部高等学校化学化工教学指导委员会化学类专业教学指导分委员会. 高等学校化学类专业指导性专业规范. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [3] 教育部高等学校化学类专业教学指导委员会. 中国大学教学, **2015**, No. 2, 31.
- [4] 教育部高等学校化学类专业教学指导委员会. 大学化学, **2016**, *31* (11), 11.
- [5] 王玉枝, 杨屹, 魏琴, 李攻科, 张文清, 曹秋娥, 郑成斌, 薛冰纯, 羊小海, 吴朝阳, 等. 大学化学, **2023**, *38* (1), 8.
- [6] 邵江娟, 李璇, 翁婧丹, 陈晓蕾, 徐飞, 马瑜璐, 李念光, 郑仕中. 大学化学, **2024**, *39* (10), 137.
- [7] Sparkman, O. D.; Penton, Z.; Kitson, F. G. *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*, 2nd ed.; 北京: 科学出版社, 2013.
- [8] Kidd, M. T.; Kerr, B. J. *J. Appl. Poult. Res.* **1996**, *5*, 358.
- [9] Gao, C. H.; Wang, Y. B.; Zhang, H.; Hang, W. *Anal. Chem.* **2023**, *95* (2), 650.
- [10] 胡振华, 王颖, 王崇革. 实验室科学, **2020**, *23* (3), 113.
- [11] 刘振亚, 张王斌. 产业与科技论坛, **2021**, *20* (19), 186.
- [12] 张继军. 陕西教育(高教), **2020**, No. 6, 36.
- [13] 张永花, 刘献明. 广州化工, **2018**, *46* (5), 154.