

激光显微拉曼光谱仪在本科实验教学中的应用

刘春梅, 朱艳艳, 张斌*

郑州大学化学学院, 郑州 450000

摘要: 拉曼光谱作为一种无损检测的指纹光谱是科研中的主要表征手段。激光显微拉曼光谱实验教学通过测试科研中的样品让学生了解拉曼测试的重要性以及科研的分析方法, 构建科学研究和实验教学的桥梁。本实验课程同时安排创新探索实验, 培养学生的自主学习兴趣和科研创新能力。通过本实验的学习, 让学生们了解目前先进的分析手段和先进的大型仪器, 有利于学生综合实验素质及科研能力的培养, 为以后从事科学研究及相关工作所需综合能力的培养打下坚实的基础。

关键词: 拉曼光谱; 本科实验; 科学研究; 综合能力

中图分类号: G64; O6

Application of Laser Microscopic Raman Spectrometer in Undergraduate Laboratory Course

Chunmei Liu, Yanyan Zhu, Bin Zhang *

College of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China.

Abstract: Raman Spectroscopy is an important characterization technique due to its ability to provide fingerprint information about materials. The experiment starts with instructive measurements on sample from scientific research. Undergraduate students can not only obtain a deep understanding of the principles of Raman spectroscopy but also gain a sense of discovery characteristic of real research experiences. The striking results could successfully pique the students' interests, which motivate students to investigate more detailed explorations in this area. The students were provided opportunity to "discover" the phenomena by a careful analysis of sample based on their interests, which allows the students to become familiar with operation and data analysis process. Therefore, the experiment could effectively improve students' learning initiative and research skills, which have excellent pedagogical value.

Key Words: Raman spectroscopy; Undergraduate laboratory; Scientific research; Comprehensive ability

全面提高大学生综合素质是高等教育改革的一个重要目标。实验过程是学生理解理论知识的重要巩固与升华, 更是培养学生科研动手能力和创新意识的重要环节。拉曼光谱是一种指纹光谱, 可以提供样品化学结构、相和形态、结晶度以及分子相互作用的详细信息, 可对物质进行定性和定量分析。作为一种无损分析技术, 拉曼光谱是化学、材料、生命、环境、食品、医学等学科的重要研究方法, 近些年来已广泛应用到科学研究、工业、农业和生物医学等领域^[1-5]。将激光拉曼光谱仪用于教学, 有助于培养学生动手、思维和创新能力, 激发学生对科学研究的兴趣^[6,7]。因此, 我院化学实验教学中心将科研仪器设备与本科实验教学相结合, 为本科生开设了激光显微拉曼光谱实验课。

收稿: 2021-09-28; 录用: 2021-10-13; 网络发表: 2021-11-24

*通讯作者, Email: bz@zzu.edu.cn

基金资助: 河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(202102210058); 国家留学基金委资助项目(202007045014)

本实验包括原理介绍、仪器构造讲解、样品测试、数据分析等知识学习，目的是理论与实践相结合，加强学生对拉曼光谱基础知识及其应用的了解，并掌握拉曼光谱仪的功能以及操作方法，了解拉曼光谱仪日常维护的常识和注意事项。在实验中加强学生讨论和参与实践的互动式教学，让学生结合实际情况自行设计实验，既培养了学生的实验兴趣，又提高了学生对实验的参与度和动手能力；并结合科研样品的拉曼光谱解析让学生了解科研中的分析方法以及拉曼测试的重要性，构建科学研究和实验教学的桥梁。

1 实验教学的设计

实验目的是理论与实践相结合，实验促进对基本原理的理解和掌握，学以致用。本实验包括拉曼光谱的理论知识、仪器原理的讲解和仪器操作部分。实验采取3人一小组轮流上课，让每一名学生都成为准备者、参与者和思考者，并通过小组讨论分析完成实验报告。

1) 原理讲解：结合测试示例，对基本原理、仪器构造、应用领域等相关知识进行讲解，提高学生的学习兴趣。在实际的实验教学中采用多媒体演示和对实体仪器的面对面接触对仪器原理及结构进行实地讲解，让学生能够多角度形象的对仪器原理和结构进行可视化解。

2) 创新探索：结合前沿科研中的样品进行实验教学，培养学生的科研与创新思维，帮助学生理论知识学习的升华，真正做研究型教学。提前让学生预习实验和文献调研，选择小组感兴趣的测试样品，设计实验方案，加深对仪器测试原理及应用的理解，提升科研素养。

2 实验教学内容

本实验用到的仪器是法国Horiba公司的一款高分辨激光显微共焦拉曼光谱仪，型号是LabRAM HR Evolution。实验操作开始阶段，以标准样品单晶硅片进行仪器校准，并用实验室自制标准石墨烯以及典型科研样品作为示例样品进行示范，接下来再由学生进行实践操作，熟悉仪器检测及数据分析方法，最后小组提交实验报告。

仪器校准好之后，首先给学生演示的是典型石墨烯材料的拉曼光谱检测。拉曼光谱是表征石墨烯层数以及无序性的理想分析工具，通过其拉曼光谱的分析可以判断石墨烯的层数、堆垛方式、缺陷多少、张力以及掺杂状态等结构和性质特征。石墨烯的拉曼光谱主要有D峰(1340 cm^{-1})和G峰(1580 cm^{-1})。G峰是石墨烯的主要特征峰，由 sp^2 碳原子的面内振动引起，能有效反映石墨烯的层数。D峰被认为是石墨烯的无序振动峰，用来表征石墨烯样品中的结构缺陷或边缘。在实际测试石墨烯材料的时候，会随着激光功率的不适当改变造成样品的损坏以及D、G峰的移动，因此在实际测试中需控制好激光功率大小。此外为了更好地定量分析石墨烯材料的拉曼光谱，利用LabSpec 6软件对石墨烯的拉曼峰进行分峰分析，比如对于石墨烯材料的D峰和G峰可以细分为 D_1 (1338 cm^{-1})， D_2 (1600 cm^{-1})， D_3 (1500 cm^{-1})， D_4 (1200 cm^{-1})和G峰(1578 cm^{-1})^[8]，如图1所示。

2.1 示例教学

教学与科研是密不可分、融为一体的。与相关科研课题组沟通后，本实验利用实验样品用来进行实验教学，科研样品的测试有助于学生了解科研方法；同时，一些比较前沿的科研成果有助于提高学生的学习兴趣和创意思维，在这个过程中可以更好地发挥学生的创造性和积极性。

1) 我国是四大文明古国之一，宝贵的文物是中华民族的瑰宝，具有极其重要的文明传承作用，对这些不同时期和不同地方出土文物的颜料、结构以及釉质等进行分析，能为文物鉴定、辨伪、产地以及价值进行评估，对文物保护提供相应的科学依据，并对其修复提供主要建议。无损检测对文物的分析具有重要的意义，在分析过程中能充分调动学生的兴趣和主观能动性，因此我们首先选用了历史学院老师送来检测的文物。

图2a是出土的文物进行拉曼光谱采集过程，其中以红色颜料为例，拉曼光谱峰位集中在252, 282和 341 cm^{-1} 处(图2b)，这三个峰主要是Hg-S键的伸缩振动，因此可以推测红色部分主要成分为硫化

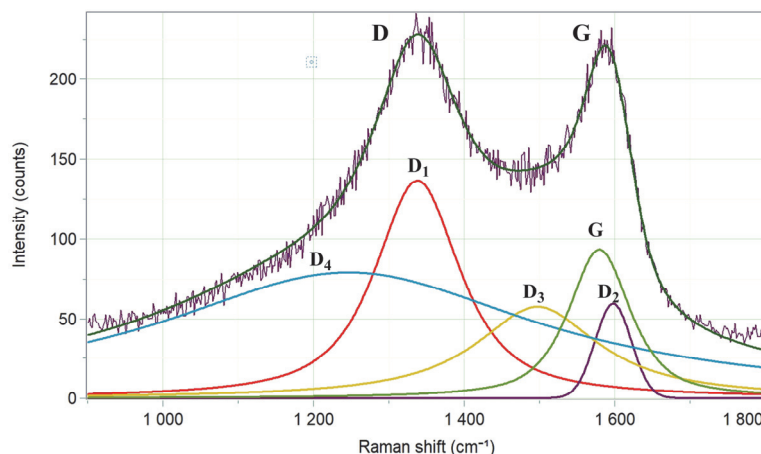
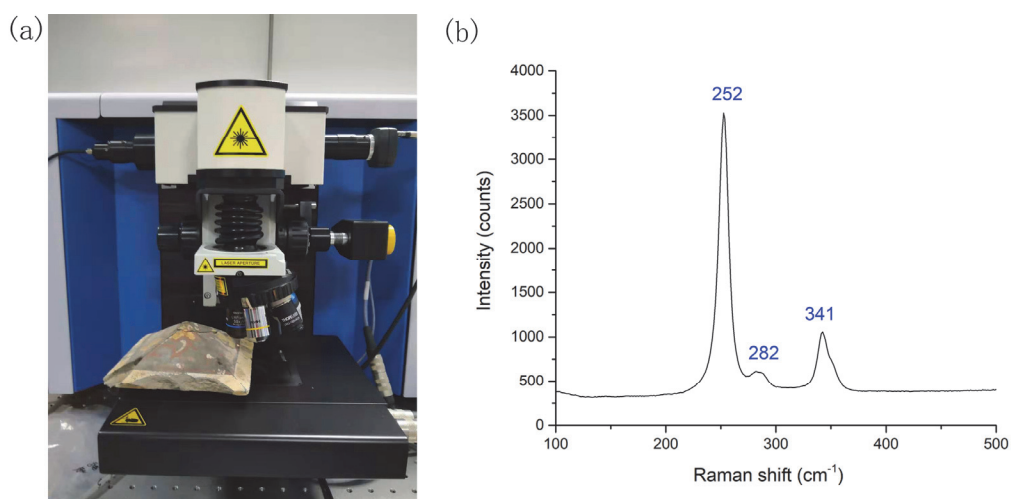
图1 石墨烯材料的拉曼光谱以及分峰D₁, D₂, D₃, D₄和G峰

图2 出土的文物在激光显微拉曼光谱测试中(a)以及上面红色颜料区采集的拉曼光谱(b)

汞^[9]。考虑到绘画艺术品的珍贵,在实际检测过程中要确保是无损的,测试中选择激光功率要尽量小,避免因激光照射造成文物的破坏、分解或者结构改变。结合样品测试的实际问题为学生讲解出现这种情况的原因,从而为以后养成实事求是的科学态度和严谨的工作作风打下良好的基础。

2) 利用化学学院课题组的碳材料作为测试样品。为了提高难度,加强数据分析方法的教学,往其中加入阿司匹林,略加混合,并借此向学生介绍拉曼成像^[10]。拉曼成像可以对样品的不同位置逐点扫描并获取拉曼光谱,然后把这些光谱集成在一起,基于所有光谱生成伪彩图像,从而显示出材料的结构信息和分布。拉曼成像能够显示出普通光学显微镜下观察不到的化学成分分布,提供更多有价值的信息,是表征化学成分的有力手段。

为了更形象地展示拉曼成像分析不同样品成分,成像区域选在不同颜色范围内,如图3a所示,蓝色方框内是成像实验选取的范围。对于选取区域的拉曼峰主要有两种峰形,如图3c和3d所示:分别对应于碳材料和阿司匹林的典型拉曼峰。对于区域内测的所有拉曼光谱,用夹峰法分析结果如图3b所示,其中蓝色代表所测区域内碳成分,红色、绿色和黄色部分代表阿司匹林成分。这样从图3b颜色分布上就可以看出不同组分的分布情况。在实际的科研过程中,实验上得到的产物(尤其对于实验产物不是纯净物的情况下)借助拉曼成像手段进行检测具有明显的优势。实验课堂上,同样借此介绍了阿司匹林的拉曼峰的归属问题:在 1753 cm^{-1} 处对应羧酸中 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰,还有 1629 和 1604 cm^{-1} 处

对应芳环骨架振动的特征峰, 拉曼光谱在 $1220\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ 范围内存在数量较多的谱峰, 其中有 1295 cm^{-1} 处苯环C—H弯曲振动峰, 1257 cm^{-1} 处苯环C=C伸缩振动峰^[11]。

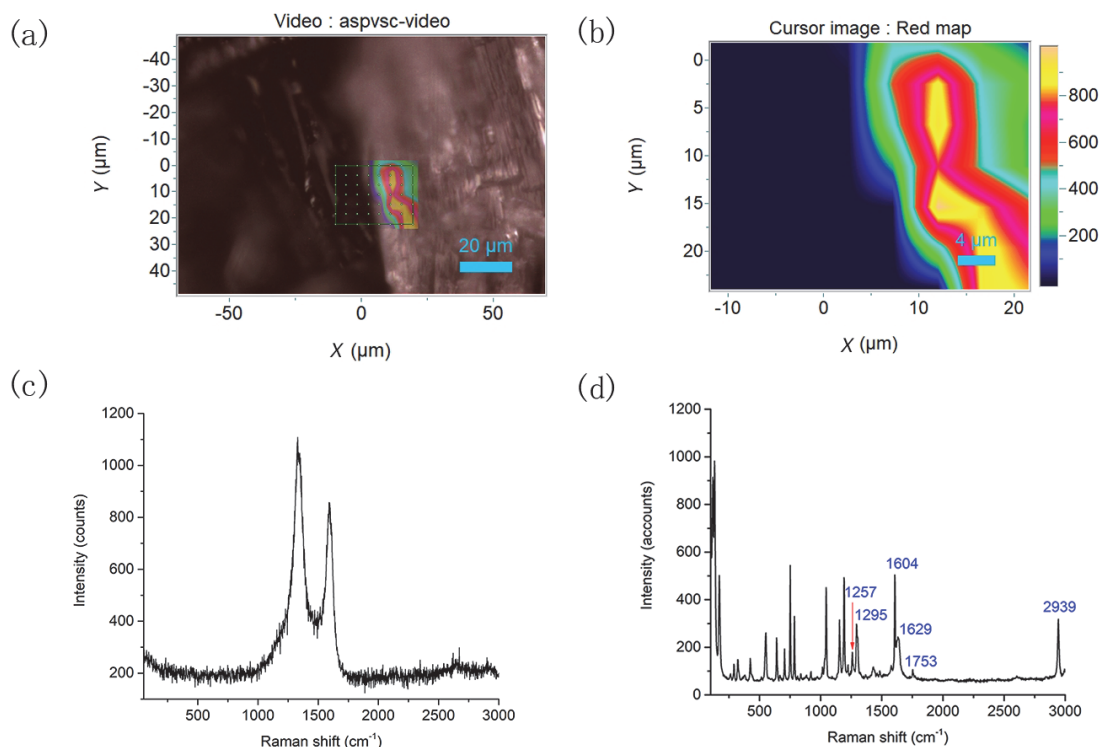


图3 拉曼成像实验中成像实验选取的成像范围(蓝色框)(a); 用夹峰法分析得到代表不同物质分布的彩图(b) (其中深蓝色代表石墨烯材料, 红色和绿色以及黄色部分代表阿司匹林成分); 碳材料的拉曼峰(c); 阿司匹林的拉曼峰(d)

电子版为彩图

2.2 创新探索

在预习实验环节, 让每组学生根据自己的兴趣来选择不同的样品, 比如可以是平时吃的维生素片/止疼片、自封袋以及塑料制品等生活中容易接触到的东西。通过查阅资料, 找出相应样品测试的前处理方法, 核实无误后进行实验检测。同时, 鼓励学生对科学前沿中相关文献的检索, 进行小组讨论。在小组讨论中教师要调动所有学生的积极性, 鼓励和督促所有学生参与讨论, 避免有的学生只关注自己查阅的文献而较少关注其他同学的预习汇报。实验中让学生尝试不同的实验条件, 测试不同的样品, 观察拉曼峰的情况, 并和学生讨论出现这种情况的原因, 充分发挥学生的能动性、积极性和创造性。面对先进的仪器设备和自己精心设计的实验内容, 学生在实验过程中表现都很积极并期待实验结果。图4列举的学生在本实验中测试的几个典型样品的拉曼光谱。

塑料制品与人们的日常生活息息相关, 本次探索实验学生首先选取的是塑料自封袋的拉曼光谱检测, 其主要成分是高密度聚乙烯(HDPE), 拉曼光谱主要集中在 1059 、 1125 、 1290 和 1435 cm^{-1} 几个位置(如图4a)。其中 1059 和 1125 cm^{-1} 处振动峰由碳原子间非对称、对称伸缩振动引起, 1290 cm^{-1} 处振动峰是由碳与氢原子间摇摆振动引起的, 1435 cm^{-1} 处振动峰由碳与氢原子间非对称弯曲振动引起^[12]。在测试塑料制品的时候, 尝试用不同波长的激发光源, 发现所测拉曼峰形一致, 但是拉曼峰的干扰情况是不一样的。因此, 后期的数据处理和分析也是整个实验过程中必不可少的部分, 针对用 532 nm 波长激光测的聚乙烯薄膜的拉曼峰有干扰的情况, 给学生详细讲解了借助仪器自带软件

LabSpec 6如何消除干扰,为以后学生处理数据提供了方便。图4b是学生检测的塑料笔帽的拉曼光谱,其主要成分是聚丙烯(PP)材料,测的拉曼峰主要集中在 $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ 的 —CH_3 和 $\text{—CH}_2\text{—}$ 中C—H键的伸缩振动峰; $800\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ 的谱峰指C—C键的伸缩振动峰和C—H键的弯曲振动峰;位于 $200\text{--}550\text{ cm}^{-1}$ 的谱带来自PP碳链骨架的摇摆振动。图4c是常见止痛药布洛芬的拉曼光谱,其中 3052 cm^{-1} 为羧酸—OH伸缩振动, 2950 cm^{-1} 为 —CH_3 不对称伸缩振动, 2870 cm^{-1} 为 —CH_3 对称伸缩振动, 1609 cm^{-1} 为苯环C=C伸缩振动, 1339 cm^{-1} 为异丙基—CH变形振动, 745 cm^{-1} 为亚甲基面内摇摆振动^[13]。通过这样自行设计实验以及对拉曼峰的数据处理和归属问题解析,学生对所测物质的拉曼光谱有了感性的认识。实验报告也不同于以往的抄抄实验原理、写写实验现象等千篇一律的简单模式,而是每个学生都根据自行设计的实验和实验现象以及改变实验条件对实验结果的影响等一系列因素进行了讨论。

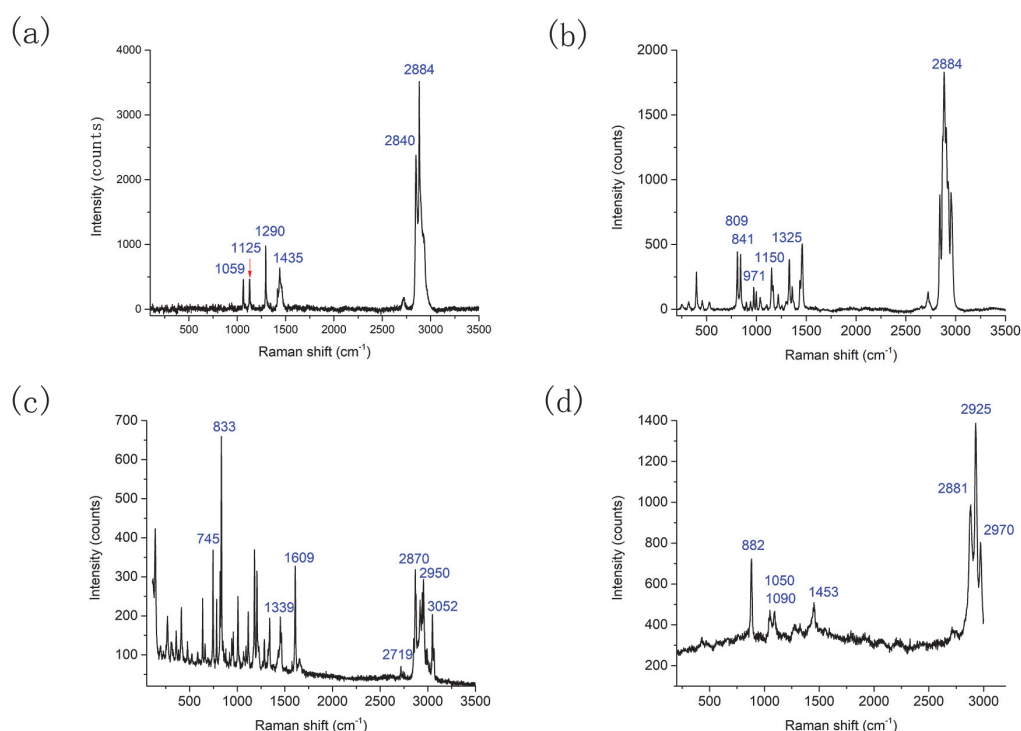


图4 塑料自封袋(a); 塑料笔帽(b); 布洛芬药品(c)和无水乙醇(d)的拉曼光谱

自行设计实验结束后,本实验课程允许一定自由实验,培养学生自主学习兴趣和科研创新能力。其中有学生对本实验特别感兴趣,做完规定样品测试之后,还尝试其他现有样品的测试,有同学对透明液体的测试比较感兴趣,随手检测了一下无水乙醇的拉曼峰(如图4d),发现透明液体的聚焦情况和固体样品有很大差别,对于液体样品可以选择用激光光斑聚焦,聚焦好再进行拉曼光谱的采集;还有学生测试自己佩戴的项链,发现所测小钻石的拉曼峰大约在 1332 cm^{-1} ,钻石由三维 sp^3 杂化的碳原子堆积成八面体晶体结构,这种独特的原子排列使得其在 1332 cm^{-1} 处有明显的拉曼特征^[14]。通过这些自由探讨实验,学生表现出极高的实验兴趣,教师在此过程中和学生讨论实验中存在的问题以及本节实验课的主要收获。通过以上的实验课程设计,使学生达到对理论知识、仪器使用、实验操作以及结果分析等的全面掌握,进一步加强对其实动手能力的培养,达到整个实验内容的层层深入。

3 实验教学效果

本次实验考核从预习、实验操作规范、实验结果以及实验报告等各个方面综合考虑,侧重实验

操作和问题的分析、解决能力。实验报告的写作过程也是对学生写作能力的锻炼,为以后撰写毕业论文以及科研文章打下基础。根据教学调查问卷结果,本实验的小组教学取得良好的效果:(1) 帮助学生加强对于基础知识的掌握,使他们了解相关领域的最新进展,开阔视野,提高对科学研究的兴趣,能够顺利对所选择的样品进行测试;(2) 学生能够对测试的样品数据进行分析,通过小组讨论加深了对实验内容的理解,开阔了视野,初步建立了化学科研思维。例如对于乙醇的拉曼特征峰,2800–3050 cm^{-1} 处的谱带由 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_3$ 基团的对称、不对称伸缩振动引起;1453 cm^{-1} 处的峰由于 $-\text{CH}_3$ 不对称变形产生(图4d);(3) 学生普遍反映拉曼光谱是重要的表征技术,很多保送本校的研究生在做科研过程中,自觉主动地利用拉曼作为重要的分析测试方法,并取得较好的科研成果^[15,16]。

4 结语

本实验采用互动式教学,利用不同科研样品的测试让学生对拉曼光谱在科研中的用途和重要性有所了解,并且对仪器的操作和测试原理有了深入的理解;探索性实验自选样品的测试有效激发了学生的自主学习兴趣和科研创新热情,培养了学生分析问题和解决问题的能力。通过本实验的学习,学生们能够掌握拉曼光谱仪的工作原理和操作方法,并进行数据处理和图谱解析,为以后从事相关工作和科学研究打下良好的基础,实现了颇佳的教学效果。实验的开展达到了新时代学生培养质量提升之目标。

参 考 文 献

- [1] 贾潇潇, 李晶, 秦天, 邓爱华, 刘文军. 生物工程学报, **2015**, 31 (5), 611.
- [2] 丛培盛, 孙玉萍, 王晓岗, 章启元, 朱仲良. 实验技术与管理, **2012**, 29 (8), 137.
- [3] 王晓晶, 张辉, 李连友, 府伟灵, 张阳. 中华全科医学, **2021**, 19 (9), 1549.
- [4] 李睿, 周金池, 卢存福. 生物技术通报, **2009**, No. 12, 62.
- [5] 张巍巍, 牛巍. 化学工程师, **2016**, 30 (2), 56.
- [6] 刘伟, 陈志红, 王东, 朱凤云. 河南中医学院学报, **2006**, 21 (3), 68.
- [7] 刘志鹏, 吴宜锴, 林小英. 科教文汇, **2019**, No. 8, 68.
- [8] Han, G. S.; Wang, A.; Han, L.; Cui, X. G.; Wu, X. L.; Wang, X. Y.; Liu, Y. Y. *Sustain. Energ. Fuels* **2019**, 3, 3172.
- [9] 闫海涛, 孙凯, 唐静, 陈家昌. 华夏考古, **2019**, No. 2, 39.
- [10] Lee, D.; Ahn, G.; Ryu, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 6634.
- [11] 王利军, 塔立, 单寄琼, 周向仁, 张中明. 云南大学学报(自然科学版), **2009**, 31, 417.
- [12] 董鸥, 饶之帆, 杨晓云, 林劲畅, 张鹏翔. 塑料工业, **2011**, 39 (6), 67.
- [13] 朱自莹, 顾仁敖, 陆天虹. 拉曼光谱在化学中的应用. 沈阳: 东北大学出版社, 1998.
- [14] Nagashima, K.; Nara, M.; Matsuda, J. *Meteorit. Planet. Sci.* **2012**, 47, 1728.
- [15] Sang, P. F.; Si, Y. B.; Fu, Y. Z. *Chem. Commun.* **2019**, 55, 4857.
- [16] Sang, P. F.; Song, J. H.; Guo, W.; Fu, Y. Z. *Chem. Eng. J.* **2021**, 415, 129043.