



核磁共振

picoSpin 80 教学计划实例

269-307000 版本 A 2014 年 4 月

Thermo
SCIENTIFIC

©2014 Thermo Fisher Scientific Inc. 版权所有。

如需 picoSpin 核磁共振波谱：教学计划实例（picoSpin NMR Spectroscopy : Example Lesson Plans）中的任何一份纸质版教学计划，请参阅该教学计划的“订购信息”部分。

获得美国技术支持，请联系：

Unity Lab Services

Part of Thermo Fisher Scientific

5225 Verona Road

Madison WI 53711-4495 U.S.A.

电话：1 800 532 4752

E-mail:us.techsupport.analyze@thermofisher.com

获得国际支持，请联系：

Thermo Fisher Scientific

电话：+1 608 273 5017

E-mail:support.madison@thermofisher.com

获得中国技术支持，请联系：

热线电话：800 810 5118 400 650 5118

sales.china@thermofisher.com

Mnova 是 Mestrelab Research, Inc. 的一个商标，也是其一个附属公司。所有其它商标都是 Thermo Fisher Scientific Inc. 的财产和附属公司。

Thermo Fisher Scientific Inc. 为购买其产品的客户提供本文件，以便客户操作产品时使用。

本文件的内容如有更改恕不另行通知。本文所有技术信息仅供参考之用。本文中的系统配置和参数指标将取代曾提供给购买者的所有旧版信息。

Thermo Fisher Scientific Inc. 不就本文件内容的完整性、准确性或无误性作任何声明，也不为使用本文所导致的任何错误、疏忽、损坏或损失负责，即使正确执行本文所提供的信息时也是如此。

本文件不属于 Thermo Fisher Scientific Inc. 与其产品购买者之间的任何销售合同中的任何部分。本文件不能支配或修改任何销售条款和条件，如有矛盾之处，以销售条款和条件为准。

仅供研究使用，不能用于诊断过程。

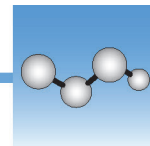


警告：避免发生爆炸或火灾。本仪器及其附件不能用于爆炸性环境中。

目录

第一章 简介	5
安全防范措施	5
第二章 量子力学与核磁共振谱图中谱峰裂分简介	6
简介	6
目的	6
安全防范措施	7
脉冲序列	8
过程和分析	8
实验步骤	8
核磁共振波谱仪器测试过程	8
处理	9
结果	9
自我观察结果	10
订购信息	10
第三章 picoSpin 80: 二茂铁和乙酰基二茂铁混合物的微量快速柱色谱分析	11
简介	11
目的	11
文献	11
脉冲序列	11
过程和分析	12
安全防范措施	12
实验步骤	13
分析	14
核磁共振波谱仪测试过程	14
处理	16
结果	16
评论	18
自我观察结果	18
订购信息	18
第四章 picoSpin 80: 乙酸酐在重水 (D₂O) 中的水解	19
简介	19
目的	19
文献	19
脉冲序列	20
过程和分析	21
核磁共振波谱仪测试过程	21
处理	22
结果	23
评论	25
自我观察结果	26
订购信息	26
第五章 picoSpin 80: 丁醇异构体	27
简介	27
目的	28
文献	28

脉冲序列	28
过程和分析	28
安全防范措施	29
实验步骤	29
核磁共振波谱仪测试过程	30
处理	30
结果	31
评论	34
自我观察结果	34
订购信息	34
第六章 picoSpin 80：二茂铁微量傳 - 克酰基化反应：乙酰基二茂铁	35
简介	35
目的	35
文献	35
脉冲序列	35
过程和分析	36
实验步骤	37
核磁共振仪波谱测试过程	37
处理	40
结果	41
评论	42
自我观察结果	42
订购信息	42
第七章 picoSpin™ 45/80：甲苯 - 环己烷混合物的简单蒸馏.....	43
简介	43
目的	43
文献	43
脉冲序列	43
过程和分析	44
实验步骤	45
核磁共振波谱仪测试过程	46
处理	47
结果	48
评论	50
自我观察结果	50
订购信息	50



简介

为化学教学实验室购买、安装一台新的核磁共振波谱仪常常是一件艰巨的任务，特别是当您是同事中唯一一位具有核磁共振背景的人时更是如此。您需要在新学期开始前的短暂时间内调试好新仪器，以便学生能够利用其学习新知识。在针对一台核磁共振谱仪制定教学用的实验流程时可能会出现很多不确定的问题，例如“快速获得一张较好的核磁共振谱图需要的样品量是多少？”或者“对于本科生教学来说，既易于操作又便于理解核磁共振技术的最适合的实验是什么？”

这套教学计划即是针对以上所有问题而编写的，不仅如此，本教学计划还旨在简化过程，使学生能够亲自操作 Thermo Scientific™ picoSpin™ 80 核磁共振波谱仪，从而获得有价值的核磁共振实践经验。本手册提供了很多不同的教学计划实例，以供您能直接应用到实验室教学中。这些教学计划实例都是为本科实验教学特别编写的，其中部分实验已经在本科教学计划中比较常见。

每一个实验室计划或教学计划都包括以下内容：实验方面的完整说明，包括所需化学品和仪器在内的详细列表；核磁共振数据采样、处理和分析的详细信息；对最终实验结果的充分解释，以加深学生对科学知识的理解。实验适用于 80MHz 仪器，部分实验还有额外说明以帮助更好地完成实验。

如果您愿意为本教学计划指南未来的新版本贡献力量，或者您对如何改进本手册有所反馈，欢迎联系 Dean Antic 或 Xiaojing Zhang:

E-mail: dean.antic@thermofisher.com

E-mail: xiaojing.zhang@thermofisher.com

安全防范措施



注意：避免人身伤害

- 使用液体化学品时，务必始终佩戴护目镜。
- 勿吸入有毒蒸汽。
- 避免与有毒液体和蒸汽有皮肤接触。
- 减少引火源，避免积累大量垃圾

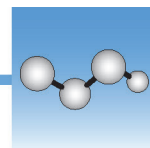


警告：避免人身伤害。必要时请使用通风橱，穿好适当的防护装置。排除注射器中的气泡时可能排出少量有毒液体。



警告：避免人身伤害。

- 针头与注射器不论是否被使用过都应认真管理处理。
- 废物处理时请遵守您所适用的 EHS 条例
- 请勿将以上物品弃置于生活垃圾箱内。



量子力学与核磁共振谱图中谱峰裂分简介

简介

量子力学在化学领域中是一种十分重要的理论，其能有效地描述分子、原子和亚原子粒子的行为规律。然而描述量子力学所用的数学知识十分晦涩难懂，而其所描述的粒子又十分抽象，因此量子力学通常被认为是一门难以有效交流的学科。

核磁共振（NMR）波谱学是有机化学中最重要的分析技术之一，将其教授给学生也有一定的难度。核磁共振中抽象的概念，复杂的数学知识，令人迷惑的旋转规律，即使是对一些教师来说也是难以理解的。由于以上原因，许多学生在本科化学教育阶段从来没有接触过量子力学和核磁共振这两方面的知识。

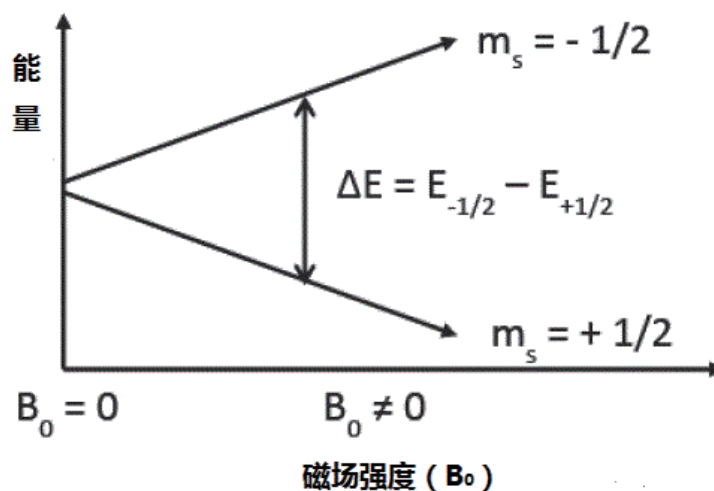
目的

本教学实验演示简化了内容的解释，将量子力学和核磁共振波谱学结合起来，使得抽象的概念变得具体化。尽管可以采集多种不同核的核磁共振谱图，但本文集中讨论 ^1H 谱，也即氢谱。

在量子力学被发现之前，科学家发现如果电子是绕着其自身的轴旋转，则可以解释塞曼效应（Zeeman Effect）及其它精细的结构谱线。绕自身轴旋转这种性质被称为自旋角动量，不仅电子，质子也同样具备这一性质。对自旋的原因和数学解释不再本文讨论的范围内，简单地讲目前对自旋的研究已经十分充分，用第四个量子数 m_s 来描述（前三个量子数分别为主量子数、角量子数和磁量子数）。

由于质子和电子都带电荷，其固有的自旋就会使这些粒子具有磁性，成为一个个“小磁体”（对该现象完整的解释和对产生磁场的详细说明不在本文的讨论范围内，对这些概念的详细描述请参阅相关物理学文献）。大多数情况下，这些“小磁体”的排列取向是任意的，但在强磁场中其仅有两种可能的排列取向，粒子自身的磁场 B_p 与主磁场 B_0 同轴，两者方向相同或相反。当两者方向相同时被称为“自旋向上（spin up）”，方向相反时为“自旋向下（spin down）”，两种状态具有的能量不同，如图 1 所示。粒子倾向于稳定的低能态排列，因此处于能量较低的自旋向上态（粒子磁场方向与主磁场方向相同）的粒子数多于能量较高的自旋向下态。核磁共振信号正是依靠这些过剩的低能态粒子产生的，与其它一些光谱（UV-Vis、红外光谱等）的产生相似。

图 1 外磁场 B_0 对核自旋取向的作用。两个能级上的核数按照波尔兹曼定律来分布。



化学不等价的氢核（对 ^1H NMR 来说）处在略有不同的磁场环境中，因此这些氢核所处的能级也略有不同。正是氢核之间的这种微小的能级差别使得核磁共振信号能成为一张有用的核磁谱图（当仪器分辨率足够高的时候），化学环境不同的氢核对应着不同的谱峰。

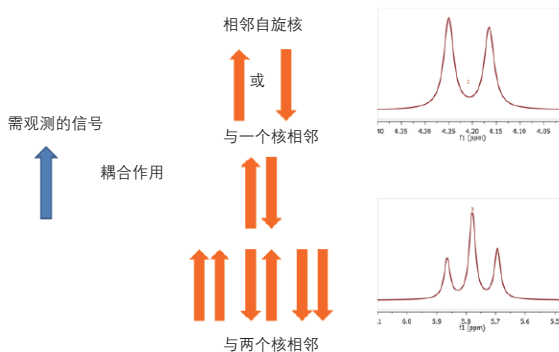
核磁谱图中谱峰沿着 x 轴方向的位移即是化学位移。氢核的化学位移能提供何种官能团与该核相邻等信息。除此之外，可以对核磁共振谱图进行定量分析，通过谱峰的相对积分值确定谱峰所对应的氢核的相对个数，而且可以进而确定样品混合物的相对浓度。

核磁共振谱图能提供的另外一种信息是谱峰的裂分信息，这是本文的讨论重点。多重峰即是指该峰所对应的氢核受邻近的氢核（相互作用的氢核之间一般相隔三键）作用而裂分成的几个相互靠近的小峰，裂分峰的个数与邻近氢核的数目有关。

重新思考一下做自旋的核，自旋产生的磁场使核化学键上的电子分布产生了微小的变化，这进而影响了邻近核化学键的电子分布，从而影响了邻近的核。这一过程被称为自旋 - 自旋耦合，通常观察到的是三键自旋 - 自旋耦合。核磁谱图中也可以观察到更远的耦合作用，但是不在本文所考虑的范围。由于氢核既可能是自旋向上（ $\uparrow$ ）的也可能是自旋向下（ $\downarrow$ ）的，其对电子云有影响，进而氢核之间相互有影响，这种影响与所有可能的自旋 - 自旋耦合情况的排列组合有关。在最简单的情况下，即只有两个相互作用的质子时，存在四种组合情况（ $\uparrow\text{-}\uparrow$ ， $\uparrow\text{-}\downarrow$ ， $\downarrow\text{-}\uparrow$ ， $\downarrow\text{-}\downarrow$ ），但仅有两种组合的能量状态不同（同向状态 $\uparrow\text{-}\uparrow$ 和 $\downarrow\text{-}\downarrow$ 的能量状态相同，反向状态 $\uparrow\text{-}\downarrow$ 和 $\downarrow\text{-}\uparrow$ 的能量状态相同）。这将原来的核磁共振信号裂分为两个峰，被称作“两重峰”。与两个氢核相邻的核有四种不同的组合情况，但是仅有三种不同的能量状态组合，即 $\uparrow\text{-}\uparrow\text{-}\uparrow$ ， $\uparrow\text{-}\uparrow\text{-}\downarrow$ （ $\uparrow\text{-}\downarrow\text{-}\uparrow$ 是一个不同的组合，但是其能量状态与 $\uparrow\text{-}\uparrow\text{-}\downarrow$ 相同），以及 $\downarrow\text{-}\downarrow\text{-}\downarrow$ 。由于能级状态为 $\uparrow\text{-}\uparrow\text{-}\downarrow$ 这种情况对应两种组合，其对应的峰高度约为另外两种能级所对应峰高的两倍，如图 2 所示。

图 2

自旋 - 自旋耦合形成多重峰。峰所对应的核（蓝色）与一个相邻核（可以是自旋向上也可以是自旋向下）有两种不同的耦合组合，使峰成为一个两重峰。峰所对应的核与两个相邻核有四种不同的耦合组合时，形成一个三重峰，尽管此时有四种不同的组合情况，但是其中两种组合的能级状态相同，使得最终谱峰仅裂分为三重峰。



正如上文所述，核磁谱图上沿着 x 轴的信号分布与仪器的磁场强度有关，但是同一个多重峰上各小峰之间的差值却与场强无关。多重峰是核受周围电子云的影响导致自旋取向不同而产生的，这种作用与磁场强度无关。

通过测量多重峰上各小峰之间的差值，可以直接观测到量子化的核自旋态（自旋向上或自旋向下）对其周围环境的影响。

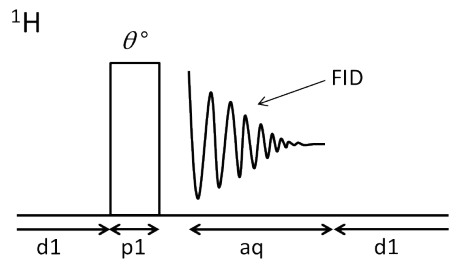
安全防范措施



注意：请确保所有的操作人员事先已经阅读过现场安全手册

脉冲序列

本实验采用标准 90° 单脉冲序列。在 FID 信号累加前调整循环弛豫延时 (d1)，使一次采样的 FID 信号强度增至最大。



序列: d1-[θ°-aq-d1]_{ns}
θ°: 脉冲旋转角度 (翻转角)
FID: 自由感应衰减
d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时 (μs)
p1: 射频脉冲宽度 (μs)
aq: 采样时间 (ms)
ns: 采样累加次数

过程和分析

设备 / 材料

- picoSpin™ 80
- 1 mL 聚丙烯注射器
- 22 号平头针头
- 注射器接头和 picoSpin 排液管组件
- 0.5 mL 乙酸乙酯

实验步骤

- 1、选择一个既安全又方便演示的位置安装核磁共振谱仪。
- 2、预热机器，用水来进行匀场。
详见随机附带的 picoSpin “安装和设置” 说明书。
- 3、连接谱仪的排液管组件。
- 4、使用注射器吸入乙酸乙酯并注入核磁共振谱仪中。
注意不要注入气泡。

核磁共振仪器测试过程

利用 picoSpin 核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示：



- 1、打开谱仪的界面：运行 (Run) > 单脉冲序列 (onePulse script)

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率 (tx)	质子拉莫频率 (MHz)
累加次数 (ns)	16
脉冲宽度 (p1)	仪器特定的 90° 脉冲宽度
采样时间 (aq)	750 ms
T1 循环延时 (d1)	10 s
谱宽 (bw)	4 kHz
过滤后衰减 (pfa)	10 (11) ^a
相位校正 (ph)	0 度 (或任意值)
指数过滤器 (LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-200 Hz
最大绘图频率	+1000 Hz
充零点数 (zf)	8192
校准平均数据	√
实时图	√
JCAMP 平均值	√
JCAMP 指标	未经核对

^a: 选择仪器的默认 pfa 值

2、采集一个累加次数为 16 次的核磁共振谱图

实验时间约为一分钟 45 秒，这段时间正适合用来向学生说明后文中的引导探究问题。

处理

下载实验 JCAMP 图谱文件，导入 Mnova 中打开，自由感应衰减(FID)将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。

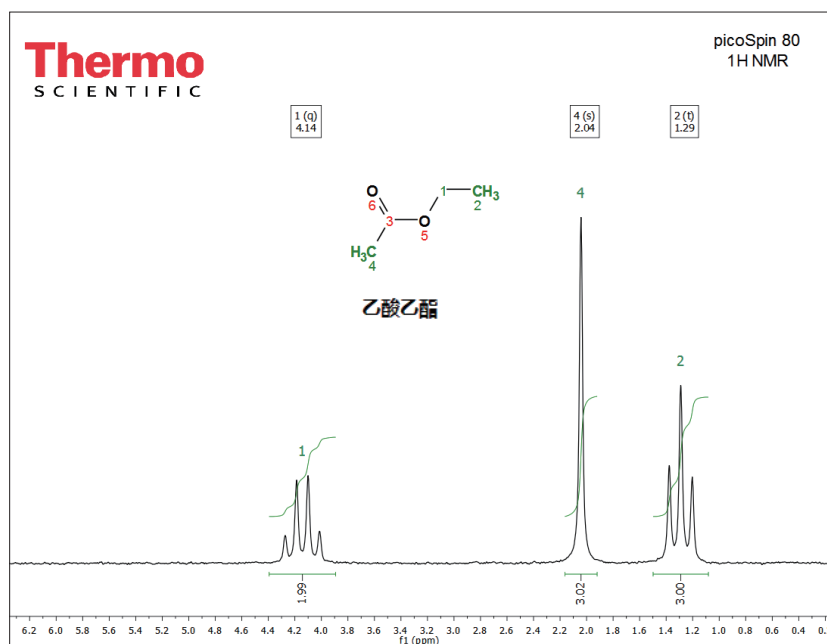
对于每个谱图，利用给出的设置执行以下处理步骤：

函数	数值
充零 (zf) 和线性预测 (LP)	16 k
向前预测 (FP)	aq → 16 k
向后预测 (BP)	-2 → 0
相位校正 (PH)	PH0: 手动调整 PH1: 0
窗函数处理	
指数函数 (LB)	0.6 Hz
第一点	0.5
化学位移定标 (CS)	手动定标
谱峰标定 (pp)	手动选择谱峰
积分 (I)	自动选择
多重峰分析 (J)	-

- 1、将各数据文件导入 Mnova 中的相同处理界面。
- 2、手动校正各谱图的 Ph0 相位。
- 3、利用 Mnova 的 TMS 工具手动校准各谱图的化学位移。
- 4、以出现的 TMS 信号 (0 ppm) 或 CHCl_3 信号 (7.24 ppm) 作为定标参考。
- 5、识别并指定图谱中的每个信号。
- 6、保存 Mnova 文件，打印谱图，粘贴到您的实验室笔记本上。

结果

- 1、测量三重峰的各小峰之间的差值。
- 2、利用公式 $\Delta E = h\nu$ 来计算处在自旋向上和自旋向下两种状态的氢核的能量差。公式中 ΔE 为观测到的能量差， h 为普朗克常数， ν 为谱峰差值（单位为 Hz）。
- 3、重复前面两步，计算四重峰的能量差。



引导探究预习问题

- 同一个多重峰内每个小峰之间的差值是否都相同？为什么？
- 你认为三重峰的 ΔE 与四重峰的 ΔE 是否相同？为什么？

引导探究课后问题

- 归属好核磁谱图中的每个峰，在实验笔记中做好记录。
- 同一个多重峰内每个小峰之间的差值是否都相同？为什么？
- 你计算出的 $\Delta E_{\text{triplet}}$ 和 $\Delta E_{\text{triplet}}$ 值是多少？
- $\Delta E_{\text{triplet}}$ 与 $\Delta E_{\text{triplet}}$ 是否相同？请解释。

自我观察结果

This image shows a full page of blank graph paper. The grid consists of small, uniform squares formed by thin, light blue lines. There are no margins, text, or other markings on the page.

订购信息

如需再次订购 picoSpin 核磁共振波谱：教学计划实例（picoSpin NMR Spectroscopy: Example Lesson Plans）中的本教学计划，请查阅文件号：LP52588_E 05/14M-picoSpin Lesson Plan #1-Quantum Mechanics and Multiplet Splitting in NMR。

获得美国技术支持，请联系：

Unity Lab Services

Part of Thermo Fisher Scientific

5225 Verona Road

Madison WI 53711-4495 U.S.A.

电话: 1 800 532 4752

E-mail: us.techsupport.analyze@thermofisher.com

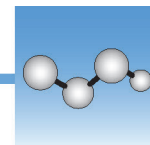
获得国际支持，请联系：

Thermo Fisher Scientific

电话: +1 608 273 5017

E-mail: support.madison@thermofisher.com

注意：联系我们时请提供您一起的系列号。



picoSpin™ 80: 二茂铁和乙酰基二茂铁混合物的微量快速柱色谱分析

简介

柱色谱法是有机化学课上讲授的基本实验方法之一。柱色谱法能够从混合物中高效分离和纯化各种组分，因此被广泛应用于有机合成实验室中。这种方法可适用于液态和固态样品，以及多组分混合物。当样品量较少时柱色谱法是一种快速且价格经济的方法，尤其适用于分离含反应物、产物和副产品的反应混合物。

色谱法利用了混合物中不同组分的极性不同以及与柱吸附剂的结合强度不同实现分离。吸附剂是高比表面的固定相材料，可以吸附溶质分子。流动相溶剂（或称洗脱液）将被吸附的溶质分子洗脱，并将其沿柱运送至接收瓶中。随着溶剂极性增加，与柱吸附更紧的极性分子开始溶解，并随流动相沿色谱柱向下流动。溶质分子在固定相中的吸附与在流动相中的溶解达到平衡。随着溶剂极性增加，被吸附剂吸附紧密的极性分子，与洗脱液建立平衡，并沿色谱柱流出。该过程与薄层色谱法(TLC)、气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)类似。

目的

本实验的目的在于利用柱色谱法分离混合物的各种成分。样品为二茂铁和乙酰基二茂铁50:50的混合物。混合物通过柱色谱分离实验可以收集到两种组分。首先用己烷洗脱出二茂铁（组分1），此化合物在色谱柱上以一条黄色色带呈现。然后用己烷和乙醚50:50的混合液洗脱出乙酰基二茂铁（组分2）。

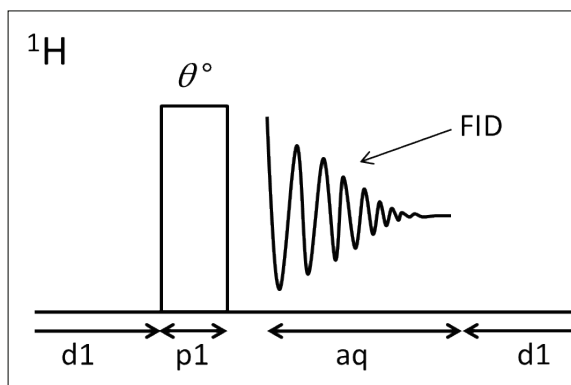
制备纯二茂铁溶液、纯乙酰基二茂铁溶液、初始的两者50:50的混合溶液、经柱色谱分离后收集的组分1和组分2的溶液，利用Thermo Scientific™ picoSpin™ 80核磁共振波谱仪对以上溶液进行分析。

文献

改编自Williamson, K. L.; Minard, R.; Masters, K. M. *Macroscale and Microscale Organic Experiments*, 5th ed., Houghton Mifflin Co., 2007。

脉冲序列

本次实验采用标准90°单脉冲序列。在FID信号累加前调整循环弛豫延时(d1)，使一次采样的FID信号强度增至最大。



序列: $d1-[\theta^{\circ}-aq-d1]_{ns}$

θ° : 脉冲旋转角度（翻转角）

FID: 自由感应衰减

d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时(μs)

p1: 射频脉冲宽度(μs)

aq: 采样时间(ms)

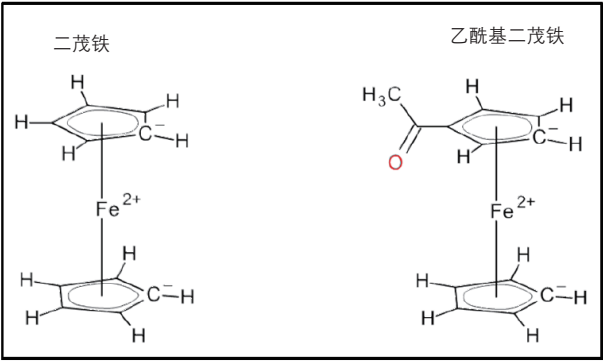
ns: 采样累加次数

步骤与分析

时间要求：2小时
难度：中等
样品：二茂铁、乙酰基二茂铁、二茂铁和乙酰基二茂铁50:50混合物
设备/材料：

- Thermo Scientific™ picoSpin™ 80
 - 二茂铁(C₁₀H₁₀Fe)
 - 乙酰基二茂铁(C₁₂H₁₂Fe)
 - 二茂铁/乙酰基二茂铁（50:50混合物）
 - 己烷
 - 乙醚
 - 二氯甲烷
 - NMR溶剂：CDCl₃，加入1%TMS
 - NMR溶剂：丙酮-d₆，加入1%TMS
 - 硅胶（230-425目）或氧化铝
 - 锥形氯丁橡胶过滤器接头
 - 若干7 mL样品瓶，带PTFE瓶盖垫
 - 1 mL聚丙烯注射器
 - 22号平头针头
 - 巴氏吸管
- 移液管吸球
 - 聚丙烯漏斗
 - 称量纸/称量皿
 - 棉签/棉球
 - 赫氏漏斗
 - 滤纸
 - pH试纸或石蕊试纸
 - 环架、环形夹子、铁圈
 - 25mL真空烧瓶
 - 若干10、25和50 mL烧杯
 - Mnova NMR处理软件
 - picoSpin配件包：
 - 塞子
 - 注射器接头
 - 样品出口管路

分子结构：



物理参数：

物质	分子量(g/mol)	数量	熔点(°C)	沸点(°C)	密度(g/mL)
二茂铁	186.04	50 mg	172.5	-	1.107
乙酰基二茂铁	228.07	50 mg	81-83	-	-
二茂铁/乙酰基二茂铁		150 mg			
己烷	86.18	10-15 mL	-95	68-69	0.655
乙醚	74.12	10-15 mL	-116.3	34.6	0.7134
二氯甲烷	84.93	2 mL	-96.7	41	1.33
氯仿-d(CDCl ₃)，加入1% TMS	120.384	1 mL	-64	61	1.50
氯仿*	119.38	1 mL	-82.3	61.2	1.48
丙酮*	58.08	1 mL	-95	56	0.791
丙酮-d ₆ (Ac-d ₆)，加入1% TMS*	64.12	1 mL	-94	56	0.872

*可选的NMR溶剂

实验步骤

装柱前在若干7 mL样品瓶和2-25 mL烧杯上贴上标签并称重，用于接收洗脱的组分。

制备样品

需要配制若干样品用于分析，样品可以在氯仿(CHCl_3)、氘代氯仿(CDCl_3)或氘代丙酮(Ac-d_6)中配制。如果使用 CHCl_3 ，其位于7.24 ppm处的溶剂质子NMR信号可用于图谱的定标，如果使用 CDCl_3 或 Ac-d_6 ，则可利用TMS信号(0 ppm)定标。以下样品制备指南，谱图使用的是 CDCl_3 溶液。

- 在烧瓶中按50:50的比例制备10 mL己烷和乙醚混合物。用塞子塞住瓶口，防止乙醚挥发。
- 用称过皮重、贴标签的样品瓶制备约150 mg的二茂铁和乙酰基二茂铁50:50的混合物。记录每种组分的重量。
- 样品1：用称过皮重、贴标签的样品瓶称量取约30 mg二茂铁，溶解于200 μL CDCl_3 中。记录样品重量。盖上盖子，以备NMR分析测试。
- 样品2：用称过皮重、贴标签的样品瓶称量取约30 mg乙酰基二茂铁（注意：有毒），溶解于200 μL CDCl_3 中。记录样品重量。盖上盖子，以备NMR分析测试。
- 样品3：用称过皮重、贴标签的样品瓶称量取约30 mg的二茂铁和乙酰基二茂铁50:50的混合物，溶解于200 μL CDCl_3 中。记录样品重量。盖上盖子，以备NMR分析测试。
- 色谱样品4：用称过皮重、贴标签的样品瓶称量取约120 mg的二茂铁和乙酰基二茂铁50:50的混合物。记录样品重量。放入刚好能溶解上述混合物的二氯甲烷中。溶解后，加入300 mg硅胶（预先称重），并与溶液混合均匀。在热水浴中将溶剂蒸发掉，注意切勿引起暴沸。（提示：二氯甲烷的沸点为41°C）。使用该样品进行色谱分离。

柱色谱分离组分

样品制备前必须蒸发掉洗脱溶剂。在真空下溶剂能够快速蒸发。将过滤瓶连接到旋塞式抽气装置上，并安装锥形氯丁橡胶塞（或单孔橡胶塞），如图1所示。用大拇指控制真空压力。在压力下降的情况下，洗脱溶剂的沸点降低，直到手的温度足够使溶剂沸腾。如果没有25 mL的真空瓶，可以用标准烧瓶（或样品瓶）、单孔橡胶塞和三通接头制作类似的装置。

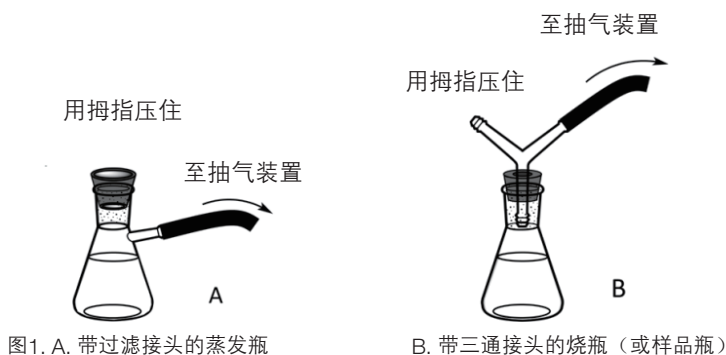


图1. A. 带过滤接头的蒸发瓶

B. 带三通接头的烧瓶（或样品瓶）

- 组分1：将组分1收集在称过皮重、贴标签的25 mL真空瓶、25 mL烧瓶或7 mL样品瓶中。干燥、称重并记录回收样品的重量。加入200 μL CDCl_3 。盖上盖子，以备NMR分析测试。
- 组分2：将组分2收集在称过皮重、贴标签的25 mL真空瓶、25 mL烧瓶或7 mL样品瓶中。干燥、称重并记录样品重量。加入200 μL CDCl_3 。盖上盖子，以备NMR分析测试。

装柱

无论是微量分离还是大量分离，柱色谱法成功的关键在于均匀装柱，确保无气泡和断层。有两种装柱方法：干法装柱和湿法装柱。如采用干法装柱，直接将吸附剂——硅胶或氧化铝加入柱内，轻轻敲打色谱柱以确保无缝隙、断层和气泡，然后加入第一种洗脱溶剂，湿润色谱柱。如采用湿法装柱，制备吸附剂和第一种洗脱溶剂的混合匀浆，倒入色谱柱。最好采用湿法装柱，因为该方法不易产生断层和气泡，但应注意在向色谱柱转移的过程中吸附剂必须保持悬浮状态，因而该法难度也较大。

干法装柱

对于使用巴氏吸管的微量柱，最好采用干法装柱。

- 取下棉签的棉球或使用同等大小的棉球，塞入巴氏吸管中。用木棍或搅拌棒将棉球塞入一定位置。切勿过度挤压棉球。
- 用10 mL烧杯量取约5 mL吸附剂。添加干吸附剂至5-6 cm高。顶部留出大约3 cm的预吸附空间。（将吸附剂转移到色谱柱时，可以使用折叠的称量纸）。
- 用搅拌棒或小铲轮流轻拍色谱柱侧面，并在工作台上将填料捣实，从而完成装柱操作。必要时，装入更多填料。
- 制备好色谱样品4后，用己烷（第一种洗脱液）对色谱柱进行预洗脱。切勿让色谱柱变干；保持填料上方始终有少量洗脱液。
- 用一次性注射器或移液管填装更多溶剂。

湿法装柱

用湿法填装巴氏吸管柱很困难，因为吸管口非常小，而匀浆必须快速装入色谱柱。湿法装柱更适合大色谱柱的制备，如使用滴定管。

- 在25 mL烧杯中加入约5 mL吸附剂。加入己烷，先使吸附剂变湿润，然后边振荡边加入己烷形成匀浆。（注：对于较大的色谱柱，相应地增加吸附剂和溶剂的量。使用滴定管作为色谱柱时关闭活塞，加入溶剂，直到达到色谱柱的三分之一处。）
- 完成后，振荡混合物，形成悬浮液，同时去除气泡，然后快速将匀浆倒入色谱柱中。
- 填装高度约为5-6 cm。在顶部预留大约3 cm的预吸附空间。
- 轻敲色谱柱，使吸附剂下沉。
- 切勿让色谱柱变干；保持填料上方始终有少量洗脱液。
- 用一次性注射器或移液管填装更多溶剂。

加样

- 在色谱柱顶部，加入全部的色谱样品4，轻敲色谱柱，使干燥粉末沉降。

二茂铁和乙酰基二茂铁混合物的色谱分离**色谱柱洗脱**

共采集两种组分。组分1用己烷洗脱。组分2用己烷和二乙醚50:50的混合液洗脱。

为实现快速柱色谱分析，必须：

- 用移液管添加洗脱溶剂，填满色谱柱剩余的空间。
- 用移液管吸球将溶剂“推进”色谱柱。仅靠重力作用让溶剂浸透整个色谱柱的速度非常慢。该快速技巧可以加快这一过程。
- 注意不要将溶剂和填料吸入移液管吸球。推挤时轻微密封，并在释放吸球压力前打开密封。
- 即使在推挤溶剂时，也要保持填料上方始终有少量溶剂。必要时加入更多溶剂。
- 随着溶剂浸透整个色谱柱，将从色谱柱流出的溶剂收集到一只小的废液烧杯里，直到黄色色带接近棉塞的顶部。
- 首先，用己烷洗脱二茂铁（组分1），可以看到黄色色带。
- 将组分1收集到称过皮重、贴标签的样品瓶中。盖上瓶盖，放到一边。
- 更换色谱柱下的废液烧杯。换用下一种洗脱溶剂。
- 接下来，用己烷和乙醚50:50的混合液洗脱乙酰基二茂铁（组分2），可以看到橙色色带。
- 保持填料上方始终有少量溶剂。
- 继续将溶剂收集到废液烧杯中，直到橙色带接近棉塞的顶部，然后更换烧杯，将组分2收集到称过皮重的样品瓶中，并在标签上注明组分2。
- 盖上盖子，放到一边。
- 蒸发两只样品瓶（或烧瓶）中的溶剂，测定粗产物的重量。
- 选做：将上步得到的粗产物溶解在最少量的热己烷中，进行重结晶。
- 选做：分离并干燥结晶体。测定其重量和熔点。
- 根据每种组分在最初50:50混合物中的重量，计算粗产物和重结晶产物的回收率。

核磁共振仪器测试过程

利用picoSpin核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示：

**匀场**

- 确保核磁共振波谱仪已进行匀场，可以接受样品进行测试。

准备

- 用空气排除picoSpin毛细管样品进样系统中用于匀场的溶液。
- 用0.1 mL氯仿冲洗样品进样系统，然后推进空气，排出溶剂。因有CHCl₃残留，样品的核磁共振谱7.24 ppm处会出现微弱信号，此谱峰可用作图谱的化学位移定标。
- 按照脉冲设置表中的参数，设置单脉冲序列中的参数。

进样

- 用装有1.5英寸长，22号平头针头的1 mL一次性聚丙烯注射器，抽取0.2mL样品。
- 注射约一半样品。检查仪器的排液管出口，确保气泡已完全排出样品进样系统。
- 用PEEK塞子塞住仪器的样品溶液进、出口。

采样

- 按照参数表中的数值执行单脉冲序列。
- 执行完单脉冲序列后，按照以下顺序排出毛细管样品进样系统中的样品：空气、溶剂、空气，以备其他用户使用。

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率(tx)	质子拉莫频率(MHz)
累加次数(ns)	16
脉冲宽度(p1)	仪器特定的90°脉冲宽度
采样时间(aq)	750 ms
接收恢复延时(r1)	500 μs
T1循环延时(d1)	6 s
谱宽(bw)	4 kHz
过滤后衰减(pfa)	10(11) ^a
相位校正(ph)	0度（或任意值）
指数过滤器(LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-200 Hz
最大绘图频率	+1000 Hz
充零点数(zf)	8192
校准平均数据	√
实时图	√
JCAMP平均值	√
JCAMP指标	未经核对

^a: 选择仪器的默认pfa值

处理

下载实验JCAMP谱图文件，导入Mnova软件中打开，自由感应衰减(FID)将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。

对于每个谱图，利用给出的设置执行以下处理步骤：

函数	数值
充零(zf)和线性预测(LP)	16 k
向前预测(FP)	aq→16 k
向后预测(BP)	-2→0
相位校正(PH)	PH0：手动调整 PH1：0
窗函数处理	
指数函数(LB)	0.6 Hz
第一点	0.5
化学位移定标(CS)	手动定标
谱峰标定(pp)	手动选择谱峰
积分(I)	自动选择
多重峰分析(J)	-

- 将各数据文件导入Mnova中的相同处理界面。手动校正各谱图的Ph0相位。
- 利用Mnova软件的TMS工具手动校准各谱图的化学位移。以出现的TMS信号(0 ppm)或CHCl₃信号(7.24 ppm)作为定标参考。
- 识别并指定图谱中的每个信号。
- 保存Mnova文件，打印谱图，粘贴到您的实验室笔记本上。

结果

在CDCl₃中配制的0.5 M二茂铁溶液的¹H核磁共振谱如图2所示。谱中最显著的信号是集中在4.14 ppm处的信号，即二茂铁的信号。因为金属茂络合物高度对称，两个芳香环戊二烯基上的十个质子既为化学等价也为磁等价，谱图中对应一个单峰。

在CDCl₃中配制的0.5 M乙酰基二茂铁溶液的¹H核磁共振谱如图3所示。其中一个芳香环戊二烯基的乙酰化打破了二茂铁的对称性，产生三个环戊二烯基质子信号和一个乙酰基质子信号。出现在2.38 ppm处的单峰（标为“c”）是由3个乙酰基的甲基(-CH₃)质子产生的。出现在4.19 ppm处的单峰（标为“b”）是由未被取代的环戊二烯基的5个质子产生的。出现在4.48和4.76 ppm处的两个多重峰（标为“a”）是由被取代的环戊二烯基的4个质子产生的。被取代环上距离乙酰基最近的2个质子受到较强的去屏蔽作用，向低场移动至4.76 ppm处，而另外两个质子受到较弱的去屏蔽作用，出现在4.48 ppm处。多重峰结构来自于被取代环上相邻质子间的高次J耦合。

图4显示的是在CDCl₃中配制的摩尔数大致相等的二茂铁和乙酰基二茂铁混合溶液的¹H核磁共振谱。在该谱图中，可以很明显看到被取代的乙酰基二茂铁环特有的乙酰基单峰和双多重峰结构。未被取代环上的质子信号对应二茂铁信号（4.14 ppm）低场一侧，即4.19 ppm处的肩峰。图中两个多重峰结构及乙酰基质子，有助于区分混合溶液NMR谱图中的乙酰基二茂铁和二茂铁。

从色谱柱中洗脱的粗产物（组分1和组分2）的核磁共振谱如图5所示。上图显示二茂铁的典型单峰，下图显示乙酰基二茂铁典型的两个多重峰结构和2.38 ppm处的乙酰基单峰。

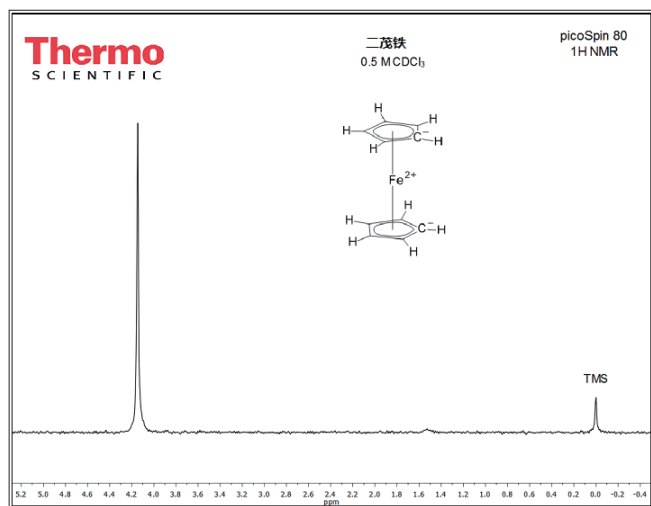
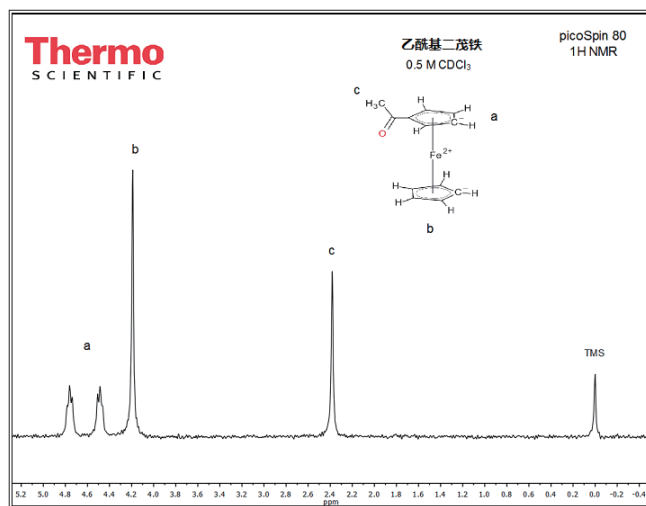
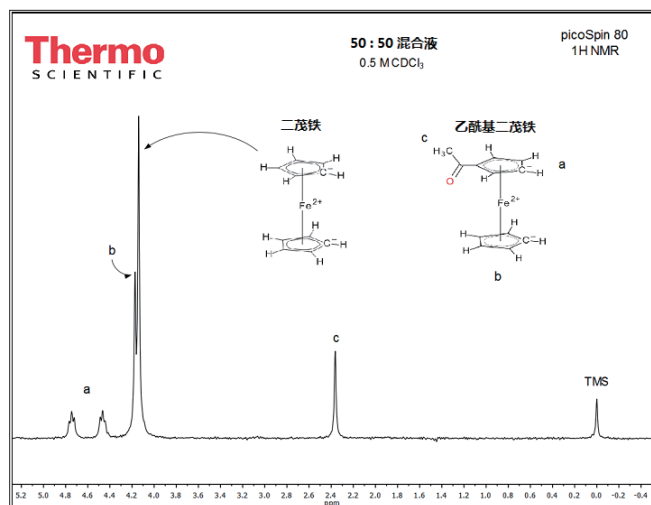
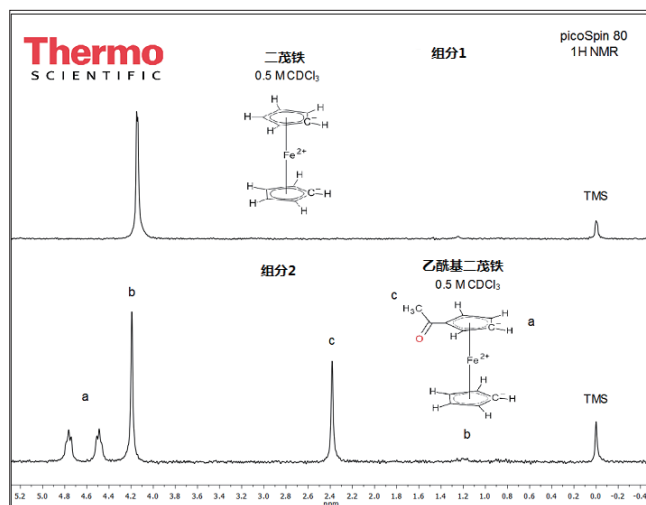
图2：在CDCl₃中的0.5 M二茂铁溶液的¹H NMR(82 MHz)全谱图3：在CDCl₃中配制的0.5 M乙酰基二茂铁溶液的¹H NMR(82 MHz)全谱图4：在CDCl₃中配制的0.5 M二茂铁和乙酰基二茂铁50:50的混合液的¹H NMR(82 MHz)全谱图5：柱色谱分离后的组分1(上，二茂铁)和组分2(下，乙酰基二茂铁)的¹H NMR(82 MHz)全谱

表1.1H核磁共振谱数据

图号	化合物	信号群	化学位移(ppm)	原子核数	重数
2-5	TMS	Si(CH ₃) ₄	0	12 H	单峰
2、4、5	二茂铁	Fe(C ₅ H ₅) ₂	4.14	10 H	单峰
3-5	乙酰基二茂铁	Fe(C ₅ H ₅)C ₉ H ₄ C(O)CH ₃	2.38	3 H	单峰
		Fe(C ₅ H ₅)C ₉ H ₄ C(O)CH ₃	4.19	5 H	单峰
		Fe(C ₅ H ₅)C ₉ H ₄ C(O)CH ₃	4.48	2 H	三重峰
		Fe(C ₅ H ₅)C ₉ H ₄ C(O)CH ₃	4.76	2 H	三重峰
	水	HOD	4.65	1 H	单峰
	氯仿	CHCl ₃	7.24	1 H	单峰
	丙酮	O=C(CH ₃) ₂	2.05	6 H	单峰

评论

本实验面临多个方面的挑战，最应注意微量柱的制备和使用。

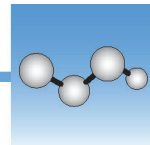
- 1.在巴氏吸管中制备微量柱-最好采用干法装柱。
- 2.用移液管吸球施加压力时，保持填料上方始终有足够的溶剂。
- 3.装入预先吸附的氧化铝混合物和溶剂后，在填料上方预留少量顶部空间。
- 4.蒸发掉大量洗脱溶剂

自我观察结果

This image shows a full page of blank graph paper. The grid consists of small, uniform squares formed by thin, light blue lines. There are no margins, text, or other markings on the page.

©2014赛默飞世尔科技。版权所有。所有商标属于赛默飞世尔科技及其子公司。规格、条款和定价或按情况改变。不是所有的国家都能购买到所有的产品。欲知详情，请咨询您当地的销售代表。

赛默飞世尔科技
热线电话:
 8008105118
 4006505118
 sales.china@thermofisher.com
 www.thermofisher.cn



picoSpin™ 80: 乙酸酐在重水 (D₂O) 中的水解

简介

水解反应中，分子加水使化学键断裂。水解反应通常在弱酸盐或弱碱盐存在的条件下发生。水分子自动解离为羟基离子 (OH⁻) 和水合离子 (H₃O⁺)，可作为亲核试剂，也是酸性催化剂，由于其酸性较弱，因此没有加强酸时水中发生的大部分水解反应都比较慢。但是水中酸酐水解却比较容易，仅需适当加热反应混合物即可。

乙酸酐 (Ac₂O) 水解为乙酸 (AcOH) 是典型的酸酐水解反应。在有水、醇或者酸性催化剂条件下，乙酸酐能够快速水解，本实验中使用的是水。我们可以抽取反应混合液样品注入至核磁共振探头的射频线圈内，使用核磁共振技术来原位监控反应进程。利用核磁共振进行原位反应监控时应注意：1) 整个反应过程中的反应物和产物都应该是可溶的；2) 要观测的信号变化必须是能够清楚辨认的；3) 反应速率应该小于核磁共振实验的时间尺度(NMR timescale)。

除了能够确定“静态”分子结构外，许多核磁共振实验还可以用来监控动态变化中共振信号的演变。化学反应是一个随时间变化过程的例子。在一个反应过程中，共振信号的化学位移会发生变化，不同信号峰会合并，信号强度会增强或减弱。通过核磁共振来追踪及获取有关的化学信息就要求动态过程的时间尺度一定要比所谓的核磁共振时间尺度慢。核磁共振时间尺度源自于不确定原理(the uncertainty principle)，在已知的频率下，共振信号的宽度Δu是可可通过以下的公式测得。即若某一态的“寿命”τ较长，其对应较窄的线宽。

$$\Delta\nu = h/(2\pi\tau)$$

随着共振信号的“寿命”变短，信号会展宽。这被称为“寿命”谱线展宽 (lifetime broadening)。例如醇类中羟基质子，其活泼质子在快交换状态下共振信号会变宽，这就是明显的“寿命”谱线展宽的现象。要将两个靠近的共振信号分开所需的最小时间是两峰频率差的倒数，否则两个信号会开始合并。

目的

本实验中，我们观测一个简单反应 - 乙酸酐在重水中水解反应的变化，采用的方法是改进过的原位反应监控技术。我们利用同位素取代来压制反应物及溶剂H₂O在核磁共振谱图中的强质子信号。同位素取代不会改变反应路径的势能面，但是会改变活化焓从而会影响反应速率。

在水中发生的水解反应使乙酸酐转变为一种羧酸 - 乙酸。乙酸是一种弱酸，能够解离出水合氢离子和酸根离子。利用核磁共振技术，我们可以检测随着反应物乙酸酐被消耗，其乙酰基信号的相对强度会降低，同时可以观察到产物乙酸中的乙酰基信号的增长，以此来监控反应进程。反应物和产物中的乙酰基化学位移相近，分别为2.26 ppm和2.10 ppm，而Thermo Scientific™ picoSpin™ 80 核磁共振波谱仪可以很好地将两者分开。本实验中，我们将学习到监控核磁共振仪射频线圈内的化学反应过程的基本技巧。这种原位技术可以用于其它液相反应的监控。

文献

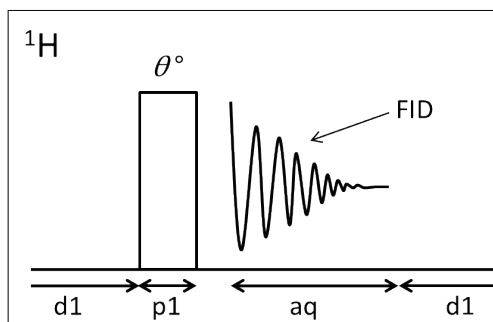
- a. Binder, D. A.; Ellason, R.; Axtell, D. D., Kinetic hydrogen isotope effect, J. Chem. Educ., 1986, 63, 536.
- b. Gold, V. The Hydrolysis of Acetic Anhydride, Trans. Faraday Soc., 1948, 44, 506-518.

c. Seoud, O.A., Bazito, R. C. and Sumodjo, P. T., Kinetic Solvent Isotope Effect: A Simple, Multi-purpose Physical Chemistry Experiment, J. Chem. Educ., 1997, 74, 562

d. Lowry, T.H.; Richardson, K.S. Mechanism and Theory in Organic Chemistry, 3rd Ed., Harper and Row, 1987 pp 232 - 244. Carey, F.A.; Sundberg, R.J. Advanced Organic Chemistry Part A, 2nd Ed., Plenum Press, pp 190-194.

脉冲序列

本次实验采用标准90°单脉冲序列。在FID信号累加前调整循环弛豫延时 (d1)，使一次采样的FID信号强度增至最大。



序列: d1-[θ° -aq-d1]_{ns}

θ° : 脉冲旋转角度 (翻转角)

FID: 自由感应衰减

d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时(μ s)

p1: 射频脉冲宽度(μ s)

aq: 采样时间(ms)

ns: 采样累加次数

步骤与分析

时间要求: 45分钟

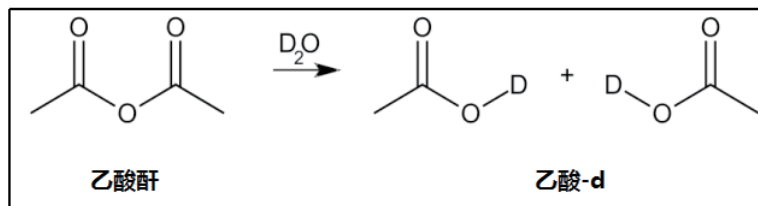
样品: 重水 (D₂O) 中溶解的2% (v/v) 乙酸酐

难度: 容易

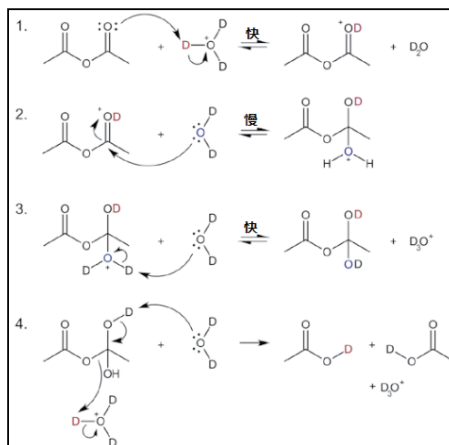
设备/材料:

- Thermo Scientific™ picoSpin™ 80
- 乙酸酐(C₄H₆O₃)
- 重水 (D₂O)
- 1 mL样品瓶, 带PTFE瓶盖垫
- 1 mL聚丙烯注射器
- 22号平头针头
- Mnova NMR处理软件
- picoSpin配件包:
- 排液管组件
- 注射器接头
- 塞子

反应:



机理:



物理参数:

物质	分子量(g/mol)	数量	熔点(°C)	沸点(°C)	密度(g/mL)
乙酸酐	102.09	10 µL	-73.1	139.8	1.08
重水 (D ₂ O)	130.19	490 µL	3.8	101	1.11
乙酸-d	61.06	产物	16	118	1.05

实验步骤:

利用picoSpin核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示:

**匀场**

- 确保核磁共振波谱仪已进行匀场，可以接受样品测试。

准备

- 用空气排除picoSpin毛细管样品进样系统中用于匀场的溶液。
- 用0.1 mL氘代氯仿或氘代丙酮冲洗样品进样系统，然后推进空气，排出溶剂。
- 按照脉冲设置表中的参数，设置单脉冲序列中的参数。

反应准备

- 向一个2 mL样品瓶中加入0.5 mL重水，再加入0.01 mL乙酸酐。
- 盖好瓶盖，摇晃几秒钟样品瓶（或者使用混合振荡器）。
- 反应物混合后反应即开始，因此应准备好混合后即注入样品。

进样

- 用装有1.5英寸长，22号平头针头的1 mL一次性聚丙烯注射器，抽取0.2 mL样品。
- 注射约一半样品。检查仪器的排液管出口，确保气泡已完全排出样品进样系统。
- 用PEEK塞子塞住仪器的样品溶液进、出口。

采样

- 按照给出的参数表中的数值执行单脉冲序列。
- 执行完单脉冲序列后，按照以下顺序排出毛细管样品进样系统中的样品：空气、溶剂、空气，以备其他用户使用。

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率 (tx)	质子拉莫频率 (MHz)
自动发射	√
自动发射偏置 (o1)	0 Hz
累加次数 (ns)	16
脉冲宽度 (p1)	仪器设定的 90° 脉冲宽度
采样时间 (aq)	750 ms
接收恢复延时 (r1)	500 µs
T1循环延时 (d1)	60 s
谱宽 (bw)	4 kHz
过滤后衰减 (pfa)	10 (11) ^a
相位校正 (ph)	0度 (或任意值)
指数过滤器 (LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-400 Hz
最大绘图频率	+800 Hz
充零点数 (zf)	8192
校准平均数据	√
实时图	√
JCAMP 平均值	√
JCAMP 指标	未经核对

^a: 选择仪器的默认 pfa 值

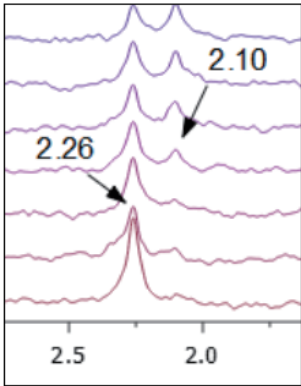
处理

采样结束后对谱图进行处理。下载实验JCAMP谱图文件，导入Mnova软件中打开， 自由感应衰减 (FID) 将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。

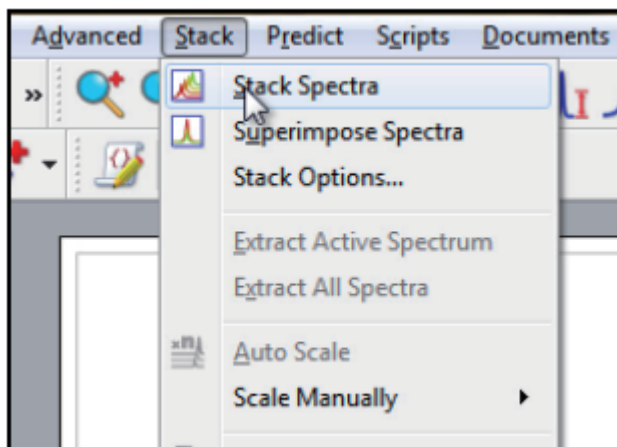
对于每个谱图，利用给出的设置进行以下处理步骤：

函数	数值
充零 (zf) 和线性预测 (LP)	16 k
向前预测 (FP)	aq → 16 k
向后预测 (BP)	-2 → 0
相位校正 (PH)	PH0: 手动调整 PH1: 0
窗函数处理	
指数函数 (LB)	0.6 Hz
第一点	0.5
化学位移定标(CS)	手动定标
谱峰标定 (pp)	手动选择谱峰
积分 (I)	自动选择
多重峰分析 (J)	-

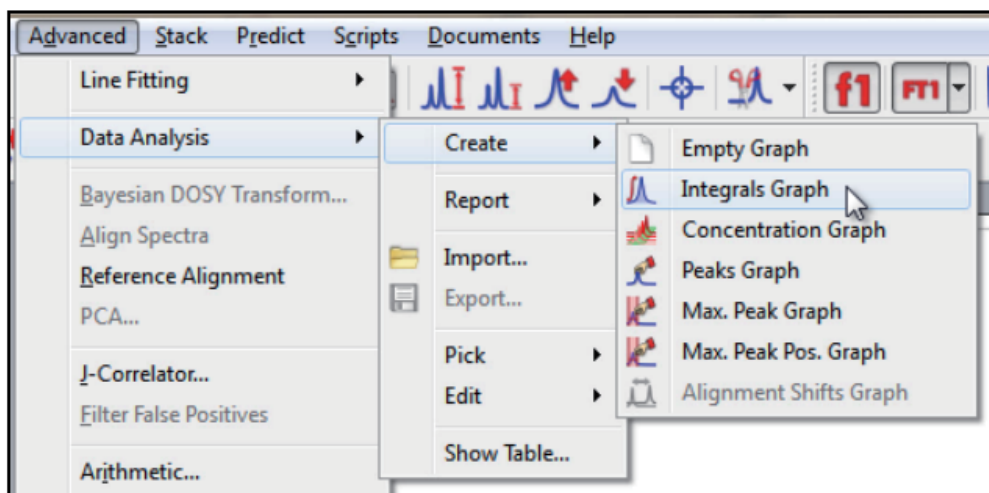
- 将各数据文件导入Mnova软件中的相同处理界面。30张核磁谱图将显示于Mnova软件的“页面”下。
- 选中所有谱图同时处理，包括零级相位校正。
- 利用Mnova软件中的TMS工具手动校准各谱图的化学位移。将最右边的信号定为2.10 ppm，或者将该峰左边第一个峰定为2.26 ppm。将谱图正确定标非常重要。



- 选中所有谱图后，打开“/叠加/叠加谱图” (Stack/Stack Spectra)（或者点击叠加NMR工具栏的“叠加谱图” (stack spectra)按钮）。出现一个新的叠加谱图页。



- 放大叠加谱图，显示化学位移范围为-0.5 ppm至6.0 ppm。
- 选择“/高级/数据处理/创建/积分图” (/Advanced/Data Analysis/Create/Integrals Graph)。出现一个“积分” (integration)按钮。



- 选中2.26 ppm处的信号，出现一个积分峰面积对数据采集时间的相关图。
- 选择包含Ac₂O信号的区域积分，叠加谱图上方会出现一个小的数据图。
- 在数据分析窗口的排列数据栏上点击X(I)“模式”，将X(I)函数改为“I-1”，选择单位“min”，点击“OK”。
- 重新校正谱图相位，对第二个2.10 ppm处的峰进行以上相同的数据处理。
- 选中2.10 ppm处的信号，出现一个积分峰面积对数据采集时间的相关图。
- 在数据分析窗口左上角选择“创建积分”选项，创建第二张积分图。选择包含AcOD信号的区域积分，叠加谱图上方会出现一个小的数据图。
- 在数据分析窗口的排列数据栏上点击X(I)“模式”，将X(I)函数改为“I-1”，选择单位“min”，点击“OK”。
- 可以重新调整谱图位置，避免谱图重叠。双击数据谱图可以出现格式选项。

结果

图1是等摩尔量的反应物乙酸酐 (Ac₂O) 和产物乙酸-d (AcOD) 的预测氢谱。谱图包含两个信号，分别是反应物和产物上的乙酰基质子峰 (-C(=O)CH₃)。从乙酸酐变为乙酸，乙酰基信号略微向高场移动，因此两个信号可以分开。

乙酸酐是一种酸酐。纯乙酸酐氢谱上的特征峰是高场（低频）2.26 ppm处的乙酰基单峰，由于其有两个-CH₃，因此积分值为6。由于没有相邻质子与其耦合，因此该峰在氢谱上为单峰。

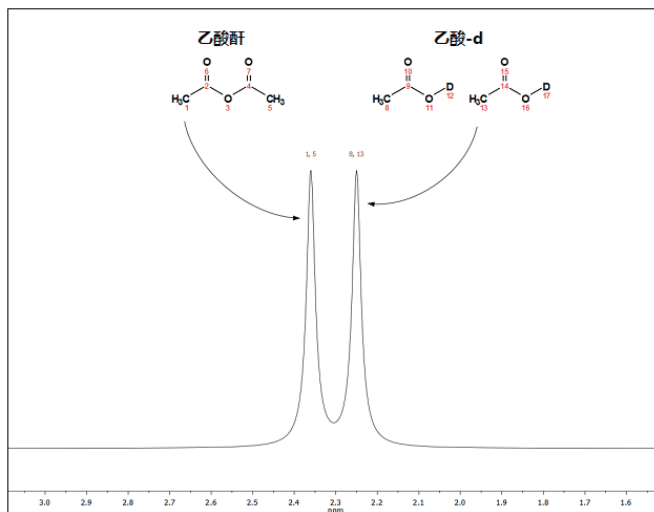


图1. 乙酸酐和乙酸-d的预测氢谱（82 MHz）

乙酸上有一个羧基。纯羧酸氢谱上的特征峰是羧酸质子在低场（高频）区的峰。羧酸质子的酸性使其受到很强的去屏蔽作用，信号一般出现在11-12 ppm。酸性质子也会形成分子内氢键，处在快交换中，因此出现的信号峰较窄。向样品中加入一滴 D₂O（重水），会使谱峰消失，这证明存在羧酸。但醇、胺、硫醇、酚和烯醇的活泼质子也会存在这种交换。与此类似，羧酸质子与其它化合物（如：水）的活泼质子会发生分子间交换，导致信号变宽，向高场（低频）移动，靠近活泼质子的化学位移。

在该反应中Ac₂O在重水中水解，产物AcOD的氢谱上只存在一个信号，即乙酰基质子信号。AcOD信号出现在Ac₂D信号（2.10 ppm）高场一侧，由于1摩尔的Ac₂O可以得到2摩尔的AcOD，因此AcOD峰的积分为6。

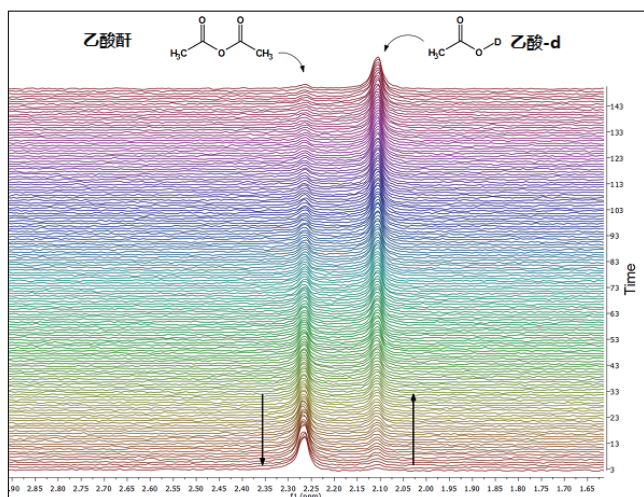


图2. 每15秒采集反应混合物氢谱（82 MHz）的叠加谱图

反应开始时, 即 $t=0$ min时, 反应混合物核磁共振谱图 (图2) 上只有一个信号, 即反应物 Ac_2O 在2.26 ppm处的峰 (注意, 假如低场4.6 ppm处出现第二个峰, 其为残留水峰, 即HOD信号)。随着反应进行, Ac_2O 信号逐渐消失, 同时2.10 ppm处出现第二种峰。新出现的峰是产物 AcOD 的信号。当 $t\approx 7$ min时, 两种乙酰基的信号强度基本相同, 随着混合物继续反应, 反应物 Ac_2O 的信号继续减弱, 而产物信号继续增强。当 $t\approx 30$ min时, 反应基本完成, 核磁谱图上基本只有产物信号。

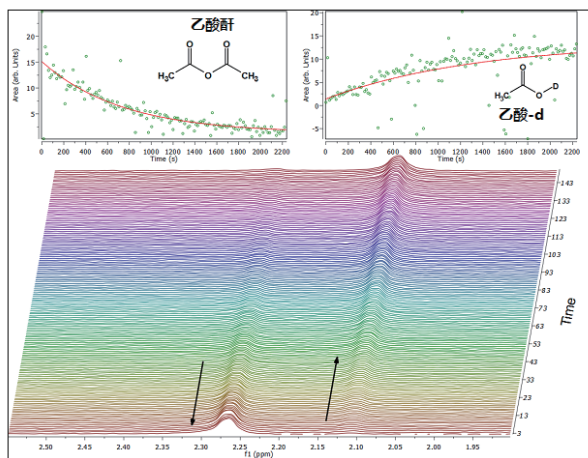


图3. 每15秒采集反应混合物氢谱 (82 MHz) 的叠加谱图。2.26 ppm及2.10 ppm两个信号的峰面积与反应时间关系图见插图

从图3可以看出, 反应物谱峰的积分面积随时间变化曲线为伪一级速率曲线。在该图中, 将 Ac_2O 和 AcOH 信号的积分峰面积对时间作图。用Mnova软件创建该数据图的步骤见本文“处理”部分。由于在反应物混合后反应即开始, 因此从混合反应物开始, 至注入仪器内, 再到第一次采样之间的时间应该保持最短。从峰强度对时间相关图中, 可见 Ac_2O 信号的衰减速率与 AcOH 信号的增长速率基本一致。

评论

初始时乙酸酐不溶于水。强烈摇晃反应样品管使反应物溶解, 或者使用混合振荡器。乙酸酐在水中的溶解度仅为约2.6%, 因此乙酸酐的量不要过多。

表1. ¹H核磁共振谱数据

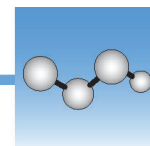
图号	化合物	信号群	化学位移(ppm)	原子核数	重数
1-3	乙酸-d	DO-C(=O)CH_3	2.10	3 H	单峰
1-3	乙酸酐	$\text{CO}_2(\text{CH}_3)_2$	2.26	6 H	单峰
2,3	残余水	HOD	4.65	1 H	单峰

自我观察结果

[illegible]

©2014赛默飞世尔科技。版权所有。所有商标属于赛默飞世尔科技及其子公司。规格、条款和定价或按情况改变。不是所有的国家都能购买到所有的产品。欲知详情，请咨询您当地的销售代表。

赛默飞世尔科技
 热线电话：
 8008105118
 4006505118
sales.china@thermofisher.com
www.thermofisher.cn

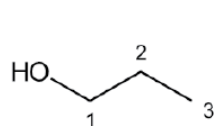


picoSpin™ 80: 丁醇异构体

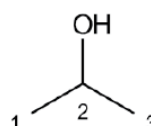
简介

同分异构体指的是具有相同分子式，但分子中原子的连接方式不同的化合物。同分异构体有不同类型：构造异构、位置异构、构象异构、构型异构（空间异构和旋光异构）及功能团异构。本实验中的异构体是位置异构和构造异构，前者具有相同分子式但是官能团的取代位置不同，后者分子式相同但碳链连接方式不同。

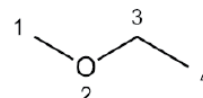
以分子式为 C_3H_8O 为例说明异构体现象。该分子式对应三种可能的稳定异构体，分别是两种醇和一种醚。羟基取代在丙烷（ C_3H_8 ）链端，即1号位上，得到的是正丙醇（1-丙醇）。当羟基取代在丙烷碳链的2号位上时，得到的是2-丙醇，即异丙醇。分子式 C_3H_8O 还对应着一种甲基乙基醚，即甲乙醚。甲乙醚为一种构造异构，而丙醇异构体为位置异构。



1-丙醇

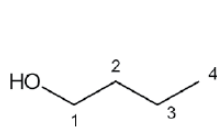


2-丙醇

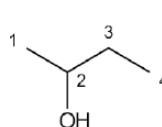


甲乙醚

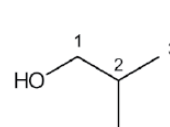
下面是 $C_4H_{10}O$ 的异构体情况。共有八种可能的异构体，五种属于丁醇异构体（ C_4H_9OH ，2-丁醇的 C_2 为手性中心，因此其有R-和S-两种立体异构体，这里将其作为一种异构体考虑），另外三种为醚类异构体（ $C_4H_{10}O$ ）。醚类异构体是乙醚（ $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ ），甲基丙基醚（ $CH_3CH_2CH_2OCH_3$ ）以及甲基异丙基醚（ $(CH_3)_2CH_2OCH_3$ ）。本实验中以丁醇异构体：1-丁醇，2-丁醇，异丁醇（2-甲基-1-丙醇）及叔丁醇（2-甲基-2-丙醇）为例。



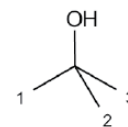
1-丁醇



2-丁醇



异丁醇



叔丁醇

其中1-丁醇和2-丁醇属于位置异构，而异丁醇和叔丁醇具有不同的碳链连接方式，属于构造异构。这些异构体的核磁共振谱图有明显的区别，这是由于其原子连接方式不同，从而影响了分子对称性，而且由于 1H - 1H 耦合数目不同导致谱图的裂分情况不同。 $-OH$ 在碳链上的取代位置不同，对其邻近质子的裂分和化学位移都有影响，通常会使谱图有明显的区别。利用核磁共振技术，从氢谱上可以轻松观察到分子结构上的改变。

目的

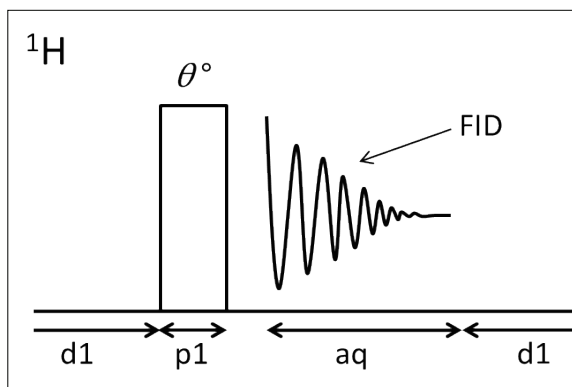
该实验的目的是通过对丁醇异构体 (C_4H_9OH) 谱图的归属, 理解核磁共振技术在结构表征中的应用。将丁醇异构体, 1-丁醇、2-丁醇、异丁醇及叔丁醇溶解在氯仿 ($CHCl_3$) 和丙酮中进行实验。使用 Thermo Scientific™ picoSpin™ 80 核磁共振波谱仪对溶液进行分析。

文献

Francis A. Carey *Organic Chemistry*, 7th ed., McGraw-Hill, 2007.

脉冲序列

本实验采用标准 90° 单脉冲序列。在 FID 信号累加前调整循环弛豫延时(d1), 使一次采样的 FID 信号强度增至最大。



序列: $d1-[\theta^\circ - aq - d1]_{ns}$

θ° : 脉冲旋转角度 (翻转角)

FID: 自由感应衰减

d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时(μs)

p1: 射频脉冲宽度(μs)

aq: 采样时间(ms)

ns: 采样累加次数

步骤与分析

时间要求: 1-1.5小时

难度: 容易

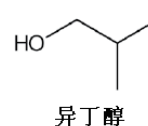
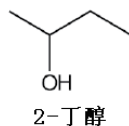
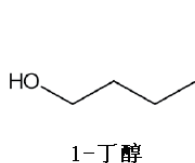
样品: 1-丁醇, 2-丁醇, 异丁醇, 叔丁醇, 氯仿, 丙酮

设备/材料:

- Thermo Scientific™ picoSpin™ 80
- 1-丁醇 (C_4H_9OH)
- 2-丁醇 (C_4H_9OH)
- 异丁醇 (C_4H_9OH)
- 叔丁醇 (C_4H_9OH)
- 氯仿 ($CHCl_3$)
- 丙酮
- NMR溶剂: $CDCl_3$, 加入1% TMS
- NMR溶剂: 丙酮- d_6 , 加入1% TMS

- 若干2 mL样品瓶, 带PTFE瓶盖垫
- 1 mL聚丙烯注射器
- 22号平头针头
- Mnova NMR处理软件
- picoSpin配件包
- 塞子
- 注射器接头
- 样品管组件

分子结构:



物理参数:

物质	分子量(g/mol)	数量	熔点(°C)	沸点(°C)	密度(g/mL)
1-丁醇	74.12	0.2 mL	-89.8	117.7	0.81
2-丁醇	74.12	0.2 mL	-115	98-100	0.808
异丁醇 (2-甲基-1-丙醇)	74.12	0.2 mL	-101.9	226.4	0.802
叔丁醇	74.12	0.2 mL	25	82	0.775
氯仿	119.38	0.2 mL	-82.3	61.2	1.48
丙酮	58.08	0.2 mL	-95	56	0.791
氘代氯仿(CDCl ₃), 加入1%TMS*	120.384		-64	61	1.50
氘代丙酮(Ac-d ₆), 加入1%TMS*	64.12		-94	56	0.872

*可选NMR溶剂

安全防范措施

注意: 使用仪器时, 务必始终佩戴护目镜。硫酸为强脱水剂; 倾倒浓硫酸时要带防护手套。乙酸会灼伤皮肤。倾倒乙酸要在通风柜中进行。避免接触皮肤和衣物。



注意: 避免电击危险。所有壁装电源插座必须有接地的三孔插座。地线必须为非载流线, 与主配电箱的接地相连。

实验**样品制备**

制备以下几种样品, 进行实验, 用于分析。样品溶解在氯仿 (CHCl₃) 或者丙酮中。如果溶解在CHCl₃中, 7.24 ppm处的氯仿质子的NMR信号可用于谱图的定标。如果溶解在丙酮中, 2.05 ppm处的丙酮质子的NMR信号可用于谱图的定标。注意在样品瓶上及核磁数据文件名中标注好所用试剂。

- 样品1: 向贴上标签的2 mL样品瓶中加入约0.2 mL的1-丁醇, 然后加入约0.2 mL的CHCl₃。盖上盖子, 振荡样品管使样品混合均匀, 以备NMR分析。
- 样品2: 向贴上标签的2 mL样品瓶中加入约0.2 mL的2-丁醇, 然后加入约0.2 mL的丙酮。盖上盖子, 振荡样品管使样品混合均匀, 以备NMR分析。
- 样品3: 向贴上标签的2 mL样品瓶中加入约0.2 mL的异丁醇, 然后加入约0.2 mL的丙酮。盖上盖子, 振荡样品管使样品混合均匀, 以备NMR分析。
- 样品4: 向贴上标签的2 mL样品瓶中加入约0.2 mL的热叔丁醇, 然后加入约0.2 mL的CHCl₃ (或丙酮)。盖上盖子, 振荡样品管使样品混合均匀, 以备NMR分析。

仪器测量步骤

利用picoSpin核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示:

**匀场**

- 确保核磁共振波谱仪已进行匀场, 可以接受样品进行测试。

准备

- 用空气排除picoSpin毛细管进样系统中用于匀场的溶液。
- 用0.1 mL氯仿冲洗毛细管进样系统, 然后推进空气, 排出溶剂。
- 按照脉冲设置表中的参数, 设置单脉冲序列中的参数。

注射

- 用装有1.5英寸长, 22号平头针头的1 mL一次性聚丙烯注射器, 抽取0.2 mL样品。

- 注射约一半样品。检查仪器的排液管出口，确保气泡已完全排出样品进样系统。
- 用PEEK塞子塞住仪器的样品溶液进、出口。

采样

- 按照参数表中的数值执行单脉冲序列。
- 执行完单脉冲序列后，按照以下顺序排出毛细管进样系统中的样品：空气、溶剂、空气，以备其他用户使用。

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率(tx)	质子拉莫频率(MHz)
累加次数(ns)	4或10
脉冲宽度(p1)	仪器特定的90°脉冲宽度
采样时间(aq)	1000 ms
接收恢复延时(r1)	500 μs
T1循环延时(d1)	8 s
谱宽(bw)	4 kHz
过滤后衰减(pfa)	10(11) ^a
相位校正(ph)	0度（或任意值）
指数过滤器(LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-200 Hz
最大绘图频率	+1000 Hz
充零点数(zf)	8192
校准平均数据	
实时图	
JCAMP平均值	
JCAMP指标	未经核对

^a：选择仪器的默认pfa值

处理

下载实验JCAMP谱图文件，导入Mnova中打开，自由感应衰减(FID)将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。对于每个谱图，利用以下设置进行处理：

函数	数值
充零(zf)和线性预测(LP)	16 k
向前预测(FP)	aq→16 k
向后预测(BP)	-2→0
相位校正(PH)	PH0：手动调整 PH1：0
窗函数处理	
指数函数(LB)	0.6 Hz
第一点	0.5
化学位移定标(CS)	手动定标
谱峰标定(pp)	手动选择谱峰
积分(I)	自动选择
多重峰分析(J)	-

- 将各数据文件导入Mnova软件中，用相同处理模板进行处理。手动校正各谱图的Ph0相位。
- 利用Mnova软件的TMS工具手动校准各谱图的化学位移。以出现的CHCl₃信号(7.24 ppm)或者丙酮信号(2.05 ppm)作为定标参考。
- 指认并归属谱图中的每个信号。
- 保存Mnova文件，打印谱图，粘贴到您的实验室笔记本上。

结果

图1是四种丁醇异构体的氢谱叠加图。从上至下分别为溶解在CHCl₃中的1-丁醇，丙酮中的2-丁醇，丙酮中的异丁醇和CHCl₃中的叔丁醇。样品被稀释至体积分数为50%，溶剂质子信号用于谱图化学位移定标。

异丁醇与叔丁醇是丁醇的构造异构体，具有相同的分子式，但是碳链的连接方式不同；1-丁醇与2-丁醇是丁醇的位置异构体，具有相同的碳链骨架结构，但是官能团的位置不同。由于碳链结构或者-OH位置不同，几种异构体上羟基(-OH)及与其相邻的亚甲基(CH₂)、次甲基(CH)的化学位移和谱峰裂分情况不同，这些在核磁谱图上都能够明显看出。观察羟基峰可见，1-丁醇上羟基峰为三重峰(t)，在2-丁醇上则变为两重峰(d)，在异丁醇上为三重峰(t)，在叔丁醇则是单峰(s)。羟基的位置不仅影响其相邻氢原子的耦合裂分，还影响了其化学位移。分子中有-OH这样的官能团时，与该官能团相连或相邻近的氢原子受到的屏蔽效应会改变，氧原子的吸电子效应使氢原子峰沿着化学位移轴分散展开。分子内有支链时，像异丁醇中的异丙基(-CH(CH₃)₂)，由于其具有对称性，也可以使氢谱变得简单。

信号重叠会使谱峰裂分的归属变得不明确。对丁醇异构体理论上的谱峰裂分进行推导，可以让我们预测、识别其氢谱的裂分情况。图2是丁醇各异构体氢原子理论上的谱峰裂分情况。信号沿x轴展开以便能更清楚地看清裂分情况。图中，我们可以很清楚地看出随着相邻氢原子数的改变，-OH信号的裂分也随之改变。同时，由于羟基取代位置不同（例如，1-丁醇和2-丁醇）及分子对称性不同（例如，异丁醇和叔丁醇），C₂上的氢原子的出峰情况也不相同。在谱图另一侧，端基甲基(CH₃)的信号同样也受到羟基取代位置和分子对称性的影响而变得更容易辨别。以异丁醇为例，图上可见典型的异丙基裂分：端基甲基由于受到相连次甲基上一个氢的耦合，裂分为不对称的两重峰；次甲基由于裂分为多重峰(m)信号变得很低。在实际实验中得到谱图也可以识别出这些谱峰裂分情况。注意在1-丁醇和2-丁醇中，C₃号位置上的多重峰十分相似，在两种分子中，该位置都有四个相邻的氢原子，但四个氢原子的分布情况不同。在1-丁醇中，C₃上的氢原子与两个不同但是对称的亚甲基(CH₂)耦合，这两个亚甲基对C₃的影响是对等的。在2-丁醇中，C₃上的氢原子与CH和CH₃耦合。根据n+1规则，当n=4且氢氢耦合的耦合常数相近时，一级耦合得到的是五重峰。2-丁醇分子轻度不对称且C₂位置存在-OH取代会使分子中的耦合常数略有不同，导致实验得到的谱图信号变宽。

图3是1-丁醇的预测氢谱和溶解在CHCl₃中实际测得的谱图。根据预测，1-丁醇会出现五组不同的质子信号。OH信号处在最低场，其对CH₂和CH₃质子化学位移的影响随着距离越远而越小。羟基中含有电负性的氧原子，对相连的质子产生去屏蔽作用，减小其电子云密度，使其移动至低场4.15 ppm处。羟基与邻近的C₂亚甲基上的两个质子耦合，根据n+1规则，羟基信号裂分为三重峰。邻近的C₂亚甲基质子峰出现在低场3.34 ppm处，证实了氧原子对其的吸电子效应。亚甲基既与OH耦合，也与相邻的C₃上的两个质子耦合，其峰为四重峰(q, n=3)。C₃上质子信号略微变宽表明HO-C₂的耦合常数与C₂-C₃的耦合常数不相同，这种现象如同前面说明过的一致。

氧原子的吸电子效应对C₃和C₄位置的亚甲基质子化学位移影响较小。这些位置的质子出峰位置大约在1.25 ppm处，且谱峰重叠，因此较难清楚地指认单个峰的裂分情况。理论上，C₃的质子与C₂和C₄的质子有耦合作用，如果这两种耦合常数比较相近，根据n+1规则，当n=4时，C₃

的峰为五重峰； C_4 的质子与 C_3 和 C_5 的质子有耦合作用， $n=5$ ，出现六重峰；端基甲基 C_5 只与 C_4 的两个质子有耦合作用， $n=2$ ，因此为三重峰，其化学位移为0.74 ppm，不受相隔五键的氧原子的影响。

图4是2-丁醇预测和实验测得的氢谱。2-丁醇是一种位置异构，其羟基基团在烷基链的 C_2 号位。羟基出峰位置为4.02 ppm，与相邻的 C_2 质子有耦合作用， $n=1$ ，裂分为两重峰。 C_2 的次甲基质子由于与电负性氧原子靠近，化学位移为3.58 ppm，并且由于与 C_1 、 C_3 及羟基质子有耦合作用，裂分为多重峰。羟基使 C_1 和 C_3 的化学位移略向低场移动。由于这种向低场移动及所连接的质子数目不同，使得1.05 ppm处的脂肪氢信号峰变得较好分辨。 C_1 是一个两重峰（ $n=1$ ）， C_4 是一个三重峰（ $n=2$ ），这两种峰能够较好地分辨出，因此更容易被识别、归属。 C_3 的多重峰信号较宽，与其它峰重叠，出现在 C_1 信号的低场侧。

异丙醇中的异丙基是对称的，因此使得其氢谱变得简单，见图5。0.83 ppm处的端基甲基 C_4 和 C_5 受相邻 C_3 的质子裂分（ $n=1$ ）呈两重峰。 C_3 与七个相邻质子（ $C_{4,5}$ 和 C_2 ； $n=7$ ）有耦合作用，在1.53 ppm处出现强度较低的多重峰。4.17 ppm的羟基与相邻 C_2 上的两个质子耦合， $n=2$ ，裂分为三重峰。

C_2 的质子化学位移在3.25 ppm处，也是一个三重峰，这是由于其与相邻两个质子有耦合作用（ $n=2$ ），这两个质子分别 C_3 质子和羟基质子。

叔丁醇氢谱上只有两个信号，因此归属最简单。3.11 ppm处的单峰是没有耦合作用的羟基峰，0.95 ppm处的是九个叔丁基质子，同样也没有耦合作用。由于没有邻近可以耦合的质子，因此图中每个基团都是单峰。氧原子对端基甲基的吸电子效应较小，仅使其略向低场移动。

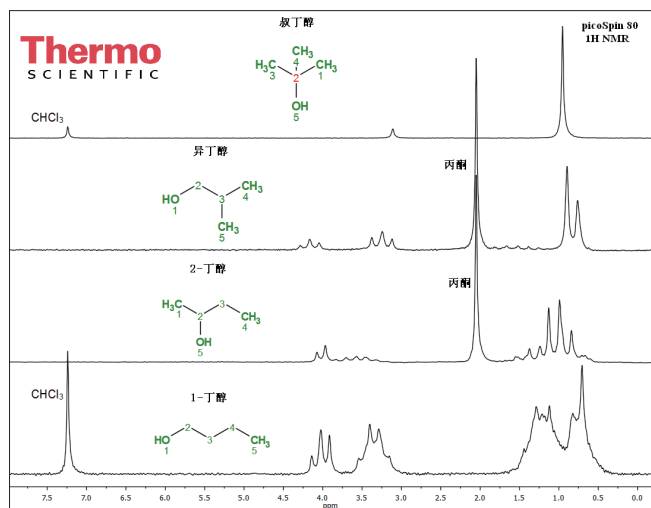


图1.自上而下分别是叔丁醇，异丁醇，2-丁醇和1-丁醇实验测得的氢谱全谱（82 MHz）。

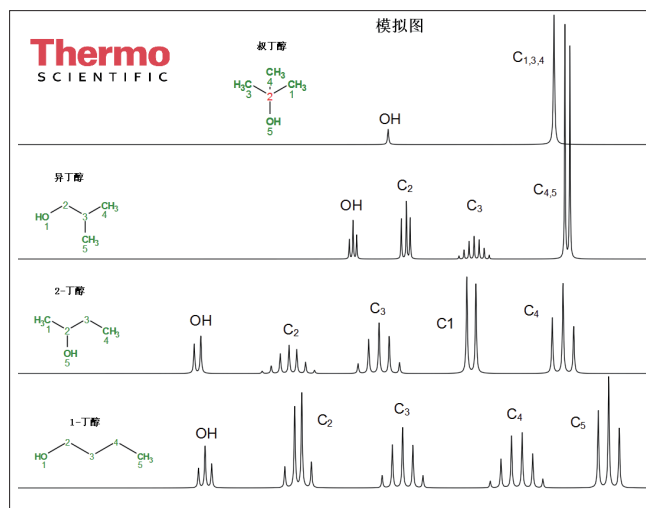


图2.自上而下分别是叔丁醇，异丁醇，2-丁醇和1-丁醇，丁醇异构体的裂分情况预测图。为了清楚起见，将信号沿x轴完全展开，但其相对化学位移数值保持不变。

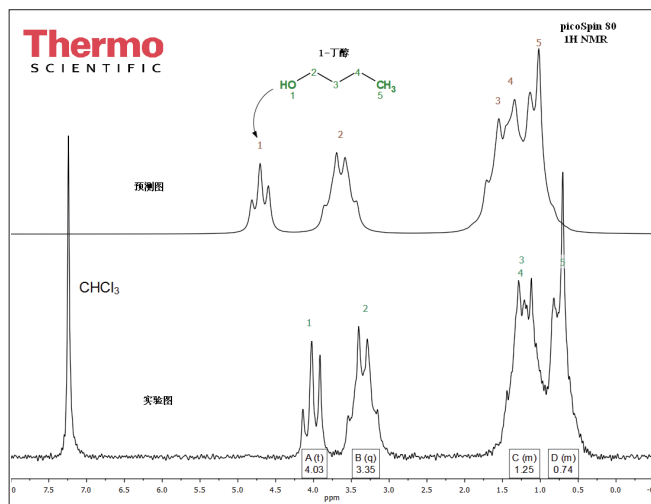


图3.1-丁醇 (CHCl_3 , 50:50 v/v) 82 MHz实验测得的氢谱 (下) 与预测氢谱 (上) 全谱

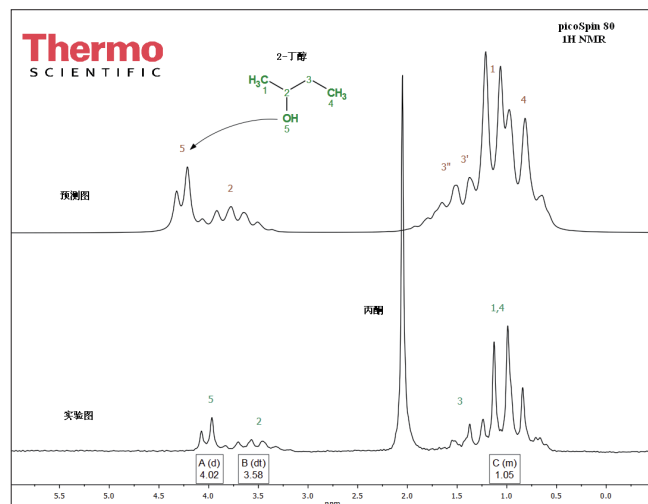


图4.2-丁醇 (丙酮, 50:50 v/v) 82 MHz上实验测得的氢谱 (下) 与预测氢谱 (上) 全谱

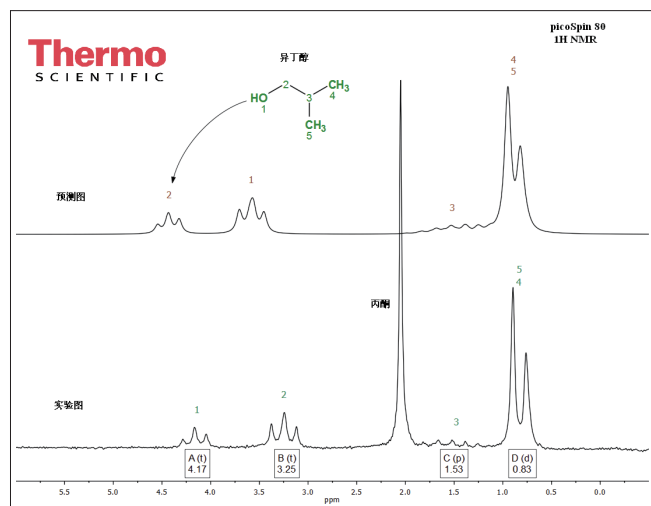


图5.异丁醇 (丙酮, 50:50 v/v) 82 MHz上实验测得的氢谱 (下) 与预测氢谱 (上) 全谱

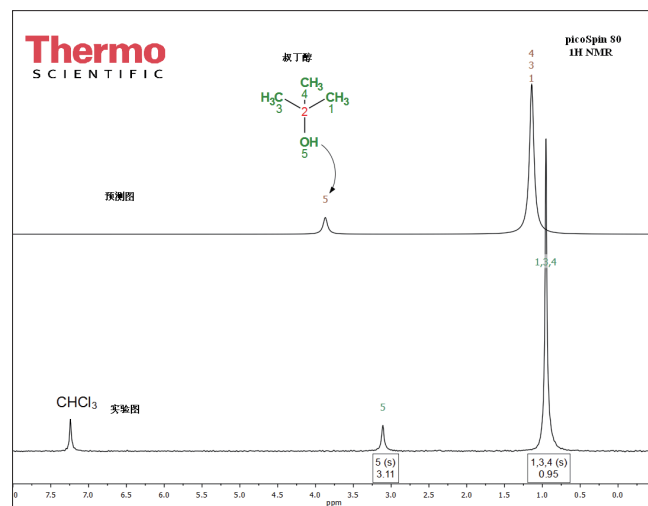


图6.叔丁醇 (CHCl_3 , 50:50 v/v) 82 MHz上实验测得的氢谱 (下) 与预测氢谱 (上) 全谱

表1.氢谱数据

图号	化合物	信号群	化学位移(ppm)	原子核数	重数
	TMS	Si(CH ₃) ₄	0	12 H	单峰
1,2	1-丁醇	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -OH	0.76	3 H	三重峰
		CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -OH	1.20	2 H	多重峰
		CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -OH	1.20	2 H	多重峰
		CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -OH	3.35	2 H	四重峰
		CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -OH	4.03	1 H	三重峰
1,4	2-丁醇	CH ₃ CH(OH)CH ₂ CH ₃	0.99	3 H	两重峰
		CH ₃ CH(OH)CH ₂ CH ₃	1.32	2 H	多重峰
		CH ₃ CH(OH)CH ₂ CH ₃	0.99	3 H	四重峰
		CH ₃ CH(OH)CH ₂ CH ₃	3.58	1 H	多重峰
		CH ₃ CH(OH)CH ₂ CH ₃	4.02	1 H	两重峰
1,5	异丁醇	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -OH	0.83	6 H	两重峰
		(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -OH	1.53	1 H	多重峰
		(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -OH	3.25	2 H	三重峰
		(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -OH	4.17	1 H	三重峰
1,6	叔丁醇	C ₄ H ₉ -OH	0.95	9 H	三重峰
		C ₄ H ₉ -OH	3.11	1 H	三重峰
1,3,6	氯仿	CHCl ₃	7.24	1 H	单峰
1,4,5	丙酮	O=C(CH ₃) ₂	2.05	6 H	单峰

评论

除了叔丁醇（室温下为固体，需要溶解在溶剂中）外，其余的丁醇异构体都是液体，不经稀释，即可直接注入picoSpin核磁共振波谱仪的毛细管进样系统内进行实验。但是这些液体都略粘稠，导致谱峰线宽变宽。将丁醇异构体加溶剂稀释至体积分数为50%，可以较好提高谱峰分辨率，同时溶剂的信号容易识别且不产生干扰，可以作为化学位移定标的参考。溶剂的选择考虑两方面的因素，一是提高谱图分辨率，二是要尽量避免溶剂峰与其它峰重叠。对于1-丁醇和叔丁醇来说，溶解在丙酮或者 CHCl_3 中得到的谱图结果相似。但是由于丙酮信号与叔丁基上 ^1H - ^{13}C 耦合产生的 ^{13}C 卫星峰信号重叠，因此对叔丁醇来说，选择氯仿作溶剂更合适。

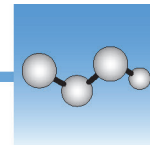
尽管异丁醇中异丙基 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) 上的次甲基产生的多重峰与丙酮信号部分重叠, 我们仍然选择丙酮作为异丁醇的溶剂。氯仿中, 羟基 (OH) 与次甲基的耦合 ($\text{HO}-\text{CH}_2$) 受到严重的影响, 使谱图中这些信号的分辨率降低; 而丙酮中则不会出现这种问题。同样地, 丙酮中2-丁醇上羟基的谱峰分辨率更好, 且 $\text{HO}-\text{CH}_2$ 耦合更加明显。

自我观察结果

[illegible]

©2014赛默飞世尔科技。版权所有。所有商标属于赛默飞世尔科技及其子公司。规格、条款和定价或按情况改变。不是所有的国家都能购买到所有的产品。欲知详情，请咨询您当地的销售代表。

赛默飞世尔科技
 热线电话：
 8008105118
 4006505118
 sales.china@thermofisher.com
 www.thermofisher.cn



picoSpin™ 80: 二茂铁微量傅-克酰基化反应: 乙酰基二茂铁

简介

傅-克反应是一类非常重要且应用广泛的亲电芳香取代反应。酰基化反应利用路易斯酸催化剂（如： BF_3 或 AlCl_3 ），生成酰基正离子，并将其引入至芳香环上。酰基化反应用到的重要试剂包括酰卤、羧酸、酐和烯酮。酰基化试剂的烷基R可以是芳基或烷基。傅-克烷基化反应的主要缺点是烷基链会发生重排，但酰基化反应则不会发生烷基重排而生成更稳定的碳正离子，这是因为酰基化反应是通过酰基阳离子（酰基正离子， $\text{RC}=\text{O}^+$ ）进行亲电进攻的。与酸酐反应时，无机酸磷酸(H_3PO_4)可用作路易斯酸催化剂，与腈类（RCN，赫氏反应）反应时，可利用HCl和 ZnCl_2 作为催化剂。

酰基化反应需要富电子芳香环体系，且环上无吸电子取代基。二茂铁（双环戊二烯合铁： $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{COCH}_3)_2$ ）是一种有机金属化合物，结构为一个铁(Fe)离子夹在两个平行的环戊二烯的环中间。根据休克尔规则，环戊二烯是共轭的平面芳香环，满足 $4n+2$ 规则。因其电子密度高，二茂铁的酰基化反应能在更温和的条件下完成，使用的催化剂为磷酸。二茂铁上一个芳香环引入一个酰基基团后，由于酰基(RCO)的钝化作用，反应即停止。因此，二茂铁与乙酸酐在路易斯酸催化剂-磷酸的催化作用下发生微量傅-克酰基化反应，主要产物为乙酰基二茂铁($[\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{COCH}_3)(\text{C}_5\text{H}_5)]$)，并生成少量二乙酰基二茂铁($\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{COCH}_3)_2$)。反应产物经微量快速柱色谱法分离并纯化。

柱色谱法是有机化学课上讲授的基本实验方法之一。柱色谱法能够从混合物中高效分离和纯化各种组分，因此被广泛应用于有机合成实验室中。这种方法可适用于液态和固态样品，以及多组分混合物。当样品量较少时柱色谱法是一种快速且价格经济的方法，尤其适用于分离含反应物、产物和副产品的反应混合物。

色谱法利用了混合物中不同组分的极性不同以及与柱吸附剂的结合强度不同实现分离。吸附剂是高比表面的固定相材料，可以吸附溶质分子。流动相溶剂（或称洗脱液）将被吸附的溶质分子洗脱，并将其沿柱运送至接收瓶中。随着溶剂极性增加，与柱吸附更紧的极性分子开始溶解，并随流动相沿色谱柱向下流动。溶质分子在固定相中的吸附与在流动相中的溶解达到平衡。随着溶剂极性增加，被吸附剂吸附紧密的极性分子，与洗脱液建立平衡，并沿色谱柱流出。该过程与薄层色谱法(TLC)、气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)类似。

目的

本实验的目的是利用二茂铁和乙酸酐在酸催化剂(85% H_3PO_4)的作用下发生傅-克反应，微量合成乙酰基二茂铁。粗产物经过过滤进行分离，并采用柱色谱法在硅胶柱中进行纯化。混合产物的柱色谱分离得到两种组分。反应中过量的二茂铁在色谱柱中为黄色色带，首先使用己烷将二茂铁（组分1）洗脱出来。然后用己烷和乙醚50:50的混合液将乙酰基二茂铁（组分2）洗脱出来。

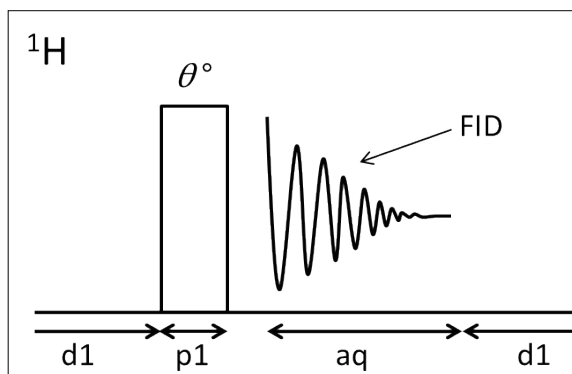
使用Thermo Scientific™ picoSpin™ 80核磁共振波谱仪对二茂铁溶液、乙酰基二茂铁溶液、分离的粗产物及经柱色谱纯化的反应产物进行分析。

文献

改编自Williamson, K. L.; Minard, R.; Masters, K. M. *Macroscale and Microscale Organic Experiments*, 5th ed., Houghton Mifflin Co., 2007。
Bozak, R. E. Acetylation of Ferrocene *J. Chem. Ed.* 1966, 43, 73.

脉冲序列

本次实验采用标准90°单脉冲序列。在FID信号累加前调整循环弛豫延时(d_1)，使一次采样的FID信号强度增至最大。

序列: $\text{d1}-[\theta^\circ-\text{aq}-\text{d1}]_{\text{ns}}$ θ° : 脉冲旋转角度(翻转角)

FID: 自由感应衰减

d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时(μs)p1: 射频脉冲宽度(μs)

aq: 采样时间(ms)

ns: 采样累加次数

步骤与分析

时间要求: 3-3.5小时

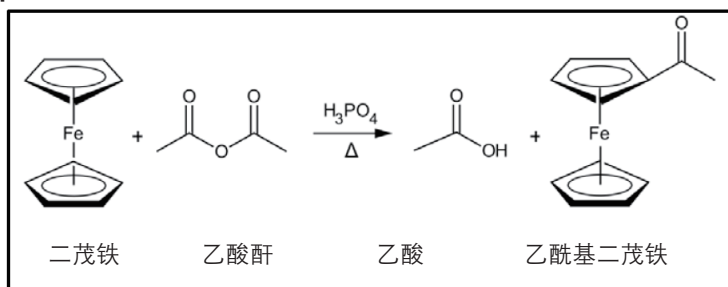
难度: 中等

样品: 二茂铁、乙酰基二茂铁

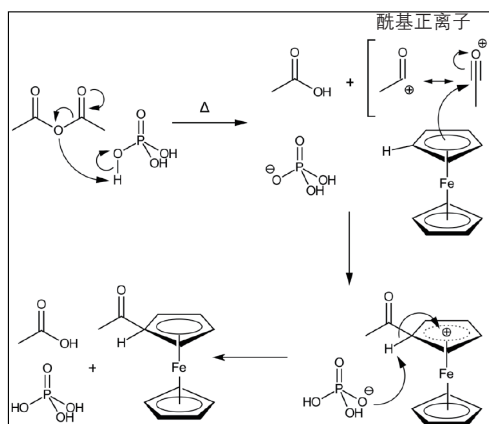
设备/材料:

- Thermo Scientific™ picoSpin™ 80
- 二茂铁 ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Fe}$)
- 乙酸酐($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$)
- 磷酸
- 己烷
- 乙醚
- 二氯甲烷
- NMR溶剂: CDCl_3 , 加入1% TMS
- NMR溶剂: 丙酮- d_6 , 加入1% TMS
- 试管(13x100 mm)
- 硅胶(230-425目)或氧化铝
- 锥形氯丁橡胶过滤器接头
- 若干7 mL样品瓶, 带PTFE瓶盖垫
- 1 mL聚丙烯注射器
- 22号平头针头
- 巴氏吸管
- 移液管吸球
- 聚丙烯漏斗
- 称量纸/称量皿
- 棉签/棉球
- 赫氏漏斗
- 滤纸
- pH试纸或石蕊试纸
- 环架、环形夹子、铁圈
- 25 mL真空烧瓶
- 橡胶隔片
- 若干10、25和50 mL烧杯
- Mnova NMR处理软件
- picoSpin配件包:
 - 塞子
 - 注射器接头
 - 样品出口管路

反应:



反应机理:



物理参数:

物质	分子量(g/mol)	数量	熔点(°C)	沸点(°C)	密度(g/mL)
二茂铁	186.04	180 mg	172.5	-	1.107
乙酸酐	102.09	0.7 mL	-73.1	139.8	1.08
磷酸(H ₃ PO ₄), 85%	98	0.2 mL	-	-	1.88
乙酰基二茂铁	228.07	-	81-83	-	-
己烷	86.18	10-15 mL	-95	68-69	0.655
乙醚	74.12	10-15 mL	-116.3	34.6	0.7134
二氯甲烷	84.93	2 mL	-96.7	41	1.33
氘代氯仿(CDCl ₃), 加入1% TMS	120.384	1 mL	-64	61	1.50
氯仿*	119.38	1 mL	-82.3	61.2	1.48
丙酮*	58.08	1 mL	-95	56	0.791
氘代丙酮(Ac-d ₆), 加入1% TMS*	64.12	1 mL	-94	56	0.872

*可选NMR溶剂

安全防范措施

注意: 使用仪器时, 务必始终佩戴护目镜。硫酸为强脱水剂; 倾倒浓硫酸时要带防护手套。乙酸会灼伤皮肤。倾倒乙酸要在通风柜中进行。避免接触皮肤和衣物。



注意: 避免电击危险。所有壁装电源插座必须有接地的三孔插座。地线必须为非载流线, 与主配电箱的接地相连。

实验**反应步骤**

- 向13x100 mm反应试管中加入184 mg二茂铁。
- 加入0.70 mL(0.76 mg)乙酸酐。
- 加入0.2 mL(340 mg)85%的磷酸。
- 用带注射器空针头的隔片盖上试管口。
- 在蒸汽浴或盛有热水的烧杯中加热反应试管。
- 振荡混合物, 使二茂铁溶解。
- 溶解后, 继续加热10分钟, 然后放在冰浴中彻底冷却。
- 小心地逐滴加入1 mL冰水并充分混合。
- 小心地逐滴加入3 M氢氧化钠溶液, 直到混合物呈中性(约3 mL)-用pH试纸测定; 防止碱过量。
- 用赫氏漏斗(或在重力作用下过滤)收集产物。
- 用水充分洗涤产物, 并用滤纸压干。
- 保存一部分样品, 用于熔点和薄层色谱分析。
- 采用柱色谱法纯化剩余的样品。

装柱前, 在若干7 mL样品瓶和2-25 mL烧杯上贴上标签并称重, 用于接收洗脱组分。

制备样品

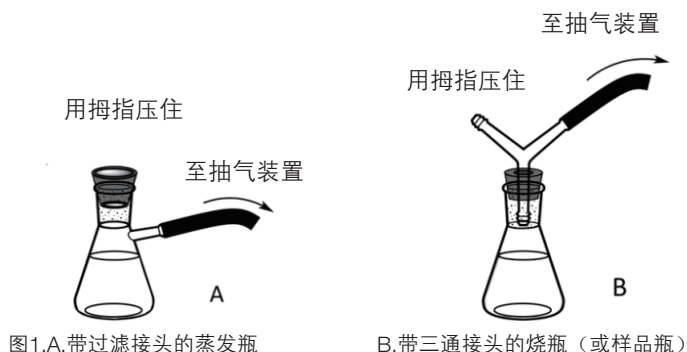
需要配制若干样品用于分析, 样品可以在氯仿(CHCl₃)、氘代氯仿(CDCl₃)或氘代丙酮(Ac-d₆)中配制。如果使用CHCl₃, 其位于7.24 ppm处的溶剂质子NMR信号可用于图谱的定标, 如果使用CDCl₃或Ac-d₆, 则可利用TMS信号(0 ppm)定标。以下样品制备指南及谱图使用的是CDCl₃溶液。

- 在烧瓶中按50:50的比例制备10 mL己烷和乙醚的混合溶液。用塞子塞住瓶口, 防止乙醚挥发。
- 样品1: 用称过皮重、贴上标签的样品瓶称取约30 mg二茂铁, 溶解于200 μL CDCl₃中。记录样品重量。盖上盖子, 以备NMR分析。
- 样品2: 用称过皮重、贴上标签的样品瓶称取约30 mg乙酰基二茂铁(注意: 有毒), 溶解于200 μL CDCl₃中。记录样品重量。盖上盖子, 以备NMR分析。
- 样品3: 用称过皮重、贴上标签的样品瓶称取约20-30 mg干燥的反应粗产物, 溶解于200 μL CDCl₃中。记录样品重量。盖上盖子, 以备NMR分析。

- 色谱样品4: 用称过皮重、贴上标签的样品瓶称量剩余的反应粗产物。记录样品重量。将粗产物溶解到最少量的二氯甲烷中。溶解后, 加入300 mg硅胶(预先称好), 充分混合。在热水浴中将溶剂蒸发掉, 注意切勿引起暴沸。(提示: 二氯甲烷的沸点为41°C)。该样品用于色谱柱分离。

色谱分离组分

样品制备前必须蒸发掉洗脱溶剂。在真空下溶剂能够快速蒸发。将过滤瓶连接到旋塞式抽气装置上, 并安装锥形氯丁橡胶塞(或单孔橡胶塞), 如图1所示。用大拇指控制真空压力。在压力下降的情况下, 洗脱溶剂的沸点降低, 直到手的温度足够使溶剂沸腾。如果没有25 mL的真空瓶, 可以用标准烧瓶(或样品瓶)、单孔橡胶塞和三通接头制作类似的装置。



- 组分1: 将组分1收集在称过皮重、贴上标签的25 mL真空瓶、25 mL烧瓶或7 mL样品瓶中。干燥、称重并记录回收样品的重量。加入200 μL CDCl_3 。盖上盖子, 以备NMR分析。(注: 应该会剩余极少量的二茂铁。如果可用产品小于15 mg, 则只制备组分2的溶液。)
- 组分2: 将组分2收集在称过皮重、贴上标签的25 mL真空瓶、25 mL烧瓶或7 mL样品瓶中。干燥、称重并记录回收样品的重量。加入200 μL CDCl_3 。盖上盖子, 以备NMR分析。

装柱

无论是微量分离还是大量分离, 柱色谱法成功的关键在于均匀装柱, 确保无气泡和断层。有两种装柱方法: 干法装柱和湿法装柱。如采用干法装柱, 直接将吸附剂——硅胶或氧化铝加入柱内, 轻轻敲打色谱柱以确保无缝隙、断层和气泡, 然后加入第一种洗脱溶剂, 湿润色谱柱。如采用湿法装柱, 制备吸附剂和第一种洗脱溶剂的混合匀浆, 倒入色谱柱。最好采用湿法装柱, 因为该方法不易产生断层和气泡, 但应注意在向色谱柱转移的过程中吸附剂必须保持悬浮状态, 因而该法难度也较大。

干法装柱

使用巴氏吸管的微量柱时, 最好采用干法装柱。

- 取下棉签的棉球或使用同等大小的棉球, 塞入巴氏吸管中。用木棍或搅拌棒将棉球塞入一定位置。切勿过度挤压棉球。
- 用10 mL烧杯量取约5 mL吸附剂。添加干吸附剂至5-6 cm高。顶部留出大约3 cm的预吸附空间。(将吸附剂转移到色谱柱时, 可以使用折叠的称量纸)。
- 用搅拌棒或小铲轮流轻拍色谱柱侧面, 并在工作台上将填料捣实, 从而完成装柱操作。必要时, 装入更多填料。
- 制备好色谱样品4后, 用己烷(第一种洗脱液)对色谱柱进行预洗脱。切勿让色谱柱变干; 保持填料上方始终有少量洗脱液。
- 用一次性注射器或移液管填装更多溶剂。

湿法装柱

用湿法填装巴氏吸管柱很困难, 因为吸管口较小而匀浆必须快速装入色谱柱。湿法装柱更适合较大的色谱柱的制备, 如使用滴定管的情况下。

- 在25 mL烧杯中加入约5 mL吸附剂。加入己烷, 先使吸附剂变湿润, 然后边振荡边加入己烷形成匀浆。(注: 对于较大的色谱柱, 相应地增加吸附剂和溶剂的量。使用滴定管作为色谱柱时关闭活塞, 加入溶剂, 直到达到色谱柱的三分之一处。)
- 完成后, 振荡混合物, 形成悬浮液, 同时去除气泡, 然后快速将匀浆倒入色谱柱中。
- 填装高度约为5-6 cm。在顶部预留大约3 cm的预吸附空间。

- 轻敲色谱柱，使吸附剂下沉。
- 切勿让色谱柱变干；保持填料上方始终有少量洗脱液。
- 用一次性注射器或移液管填装更多溶剂。

加样

- 从色谱柱顶部加入全部的色谱样品4，轻敲色谱柱，使干燥粉末下沉。

二茂铁和乙酰基二茂铁混合物的色谱分离

色谱柱洗脱

共采集两种组分。组分1用己烷洗脱。组分2用己烷和乙醚50:50的混合液洗脱。

为实现快速柱色谱分离，必须：

- 用移液管添加洗脱溶剂，填满色谱柱剩余的空间。
- 用移液管吸球将溶剂“推进”色谱柱。仅靠重力作用让溶剂浸透整个色谱柱的速度非常慢。该快速技巧可以加快这一过程。
- 注意不要将溶剂和填料吸入移液管吸球。推挤时轻微密封，并在释放吸球压力前打开密封。
- 即使在推挤溶剂时，也要保持填料上方始终有少量溶剂。必要时加入更多溶剂。
- 随着溶剂浸透整个色谱柱，将从色谱柱流出的溶剂收集到一只小的废液烧杯里，直到黄色色带接近棉塞的顶部。
- 首先，用己烷洗脱二茂铁（组分1），可以看到黄色色带。
- 将组分1收集到称过皮重、贴标签的样品瓶中。盖上瓶盖，放到一边。
- 更换色谱柱下的废液烧杯。换用下一种洗脱溶剂。
- 接下来，用己烷和乙醚50:50的混合液洗脱乙酰基二茂铁（组分2），可以看到橙色色带。
- 保持填料上方始终有少量溶剂。
- 继续将溶剂收集到废液烧杯中，直到橙色带接近棉塞的顶部，然后更换烧杯，将组分2收集到称过皮重的样品瓶中，并在标签上注明组分2。
- 盖上盖子，放至一边。
- 蒸发两只样品瓶（或烧瓶）中的溶剂，测定粗产物的重量。
- 选做：将上步得到的粗产物溶解在最少量的热己烷中，进行重结晶。
- 选做：分离并干燥结晶体。测定其重量和熔点。
- 计算粗产物和重结晶产物的回收率。

仪器测量步骤

利用picoSpin核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示：



匀场

- 确保核磁共振波谱仪已进行匀场，可以接受样品进行测试。

准备

- 用空气排除picoSpin毛细管样品进样系统中用于匀场的溶液。
- 用0.1 mL氯仿冲洗样品进样系统，然后推进空气，排出溶剂。因有CHCl₃残留，样品谱7.24 ppm处会出现微弱信号，可用作图谱的化学位移定标。
- 按照脉冲设置表中的参数，设置单脉冲序列中的参数。

进样

- 用装有1.5英寸长，22号平头针头的1 mL一次性聚丙烯注射器，抽取0.2 mL样品。
- 注射约一半样品。检查仪器的排液管出口，确保气泡已完全排出样品进样系统。
- 用PEEK塞子塞住仪器的样品溶液进、出口。

采样

- 按照参数表中的数值执行单脉冲序列。
- 执行完单脉冲序列后，按照以下顺序排出毛细管样品进样系统中的样品：空气、溶剂、空气，以备其他用户使用。

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率(tx)	质子拉莫频率(MHz)
累加次数(ns)	16
脉冲宽度(p1)	仪器特定的90°脉冲宽度
采样时间(aq)	750 ms
接收恢复延时(r1)	500 µs
T1循环延时(d1)	8 s
谱宽(bw)	4 kHz
过滤后衰减(pfa)	10(11) ^a
相位校正(ph)	0度（或任意值）
指数过滤器(LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-200 Hz
最大绘图频率	+1000 Hz
充零点数(zf)	8192
校准平均数据	√
实时图	√
JCAMP平均值	√
JCAMP指标	未经核对

^a: 选择仪器的默认pfa值

处理

下载实验JCAMP谱图文件，导入Mnova软件中打开，自由感应衰减(FID)将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。

对于每个谱图，利用给出的设置执行以下处理步骤：

函数	数值
充零(zf)和线性预测(LP)	16 k
向前预测(FP)	aq→16 k
向后预测(BP)	-2→0
相位校正(PH)	PH0：手动调整 PH1：0
窗函数处理	
指数函数(LB)	0.6 Hz
第一点	0.5
化学位移定标(CS)	手动定标
谱峰标定(pp)	手动选择谱峰
积分(I)	自动选择
多重峰分析(J)	-

- 将各数据文件导入Mnova中的相同处理界面。手动校正各谱图的Ph0相位。
- 利用Mnova的TMS工具手动校准各谱图的化学位移。以出现的TMS信号(0 ppm)或CHCl₃信号 (7.24 ppm)作为定标参考。
- 识别并指定图谱中的每个信号。
- 保存Mnova文件，打印谱图，粘贴到您的实验室笔记本上。

结果

在 CDCl_3 中配制的0.5 M二茂铁溶液的 ^1H 核磁共振谱如图2所示。谱中最显著的信号是集中在4.14 ppm处的信号，即二茂铁的信号。因为金属茂络合物高度对称，两个芳香环戊二烯基上的十个质子既为化学等价也为磁等价，谱图中对应一个单峰。

在 CDCl_3 中配制的0.5 M乙酰基二茂铁溶液的 ^1H 核磁共振谱如图3所示。其中一个芳香环戊二烯基的乙酰化打破了二茂铁的对称性，产生三个环戊二烯基质子信号和一个乙酰基质子信号。2.38 ppm处的单峰归属为“c”，即乙酰基上甲基($-\text{CH}_3$)的3个质子。4.19 ppm处的单峰归属为“b”，即未被取代的环戊二烯基上的5个质子。4.48 ppm和4.76 ppm处的两个多重峰归属为“a”，即被取代的环戊二烯基上的4个质子。被取代的环上最靠近乙酰基的2个质子受到较强的去屏蔽作用，向低场移动至4.76 ppm处，而另外两个质子受到的去屏蔽作用较弱，出现在4.48 ppm处。多重峰结构来自于被取代环上相邻质子间的高次J耦合。

图4是将分离出的反应粗产物-乙酰基二茂铁溶解在 CDCl_3 中的 ^1H 核磁共振谱。在图中，可以很明显看到乙酰基二茂铁特有的乙酰基单峰和两个多重峰。未被取代的环上的氢信号出现在4.19 ppm处。未反应的二茂铁的峰对应着乙酰基二茂铁4.14 ppm处峰右边的肩峰。图中的两个多重峰及乙酰基的单峰，可以用来将谱图中的乙酰基二茂铁和二茂铁区别开。二乙酰基二茂铁，即每个环戊二烯基环上均发生乙酰基取代得到的产物，仅有三个峰，即位于4.48 ppm和4.76 ppm处的两个多重峰和位于2.38 ppm处的乙酰基的单峰。由于二乙酰基二茂铁的谱图上没有未被取代的环戊二烯基环的信号，所以可以与乙酰基二茂铁区分。通过谱图积分可知样品中是否存在二乙酰基二茂铁。乙酰基二茂铁的谱峰积分比应为2:2:5:3，如有偏差，则表明存在二乙酰基二茂铁。

从色谱柱中洗脱分离的产物-组分2经过重结晶后的核磁共振谱如图5所示。与粗产物的谱图（图4）类似，该谱图上出现了乙酰基二茂铁特有的两个多重峰和2.38 ppm处的乙酰基单峰。粗产物经硅胶柱色谱分离纯化后，乙酰基二茂铁未被取代环上的单峰右侧的二茂铁肩峰信号消失。

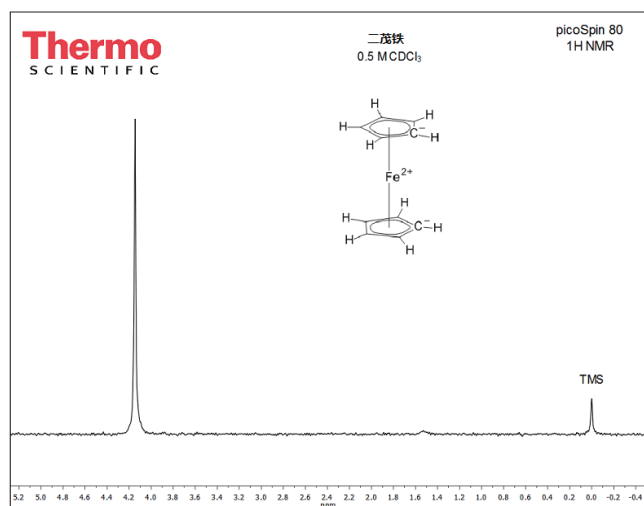


图2：在 CDCl_3 中的0.5 M二茂铁溶液的 ^1H NMR(82 MHz)全谱

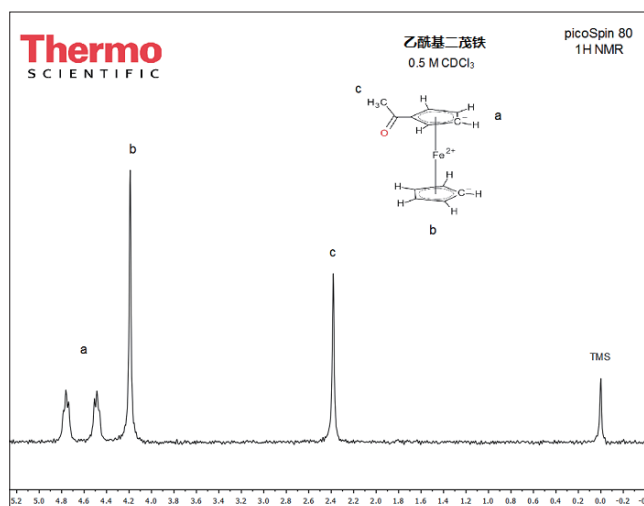


图3：在 CDCl_3 中配制的0.5 M乙酰基二茂铁溶液的 ^1H NMR(82 MHz)全谱

Thermo
SCIENTIFIC

重结晶产物组分2
0.5 MCDCl₃

picoSpin 80
1H NMR

乙酰基二茂铁

The figure displays a ¹H NMR spectrum of acetylferrocene (labeled as 重结晶产物组分2) in CDCl₃. The x-axis represents the chemical shift in ppm, ranging from 12 to -4. The spectrum shows several peaks: a multiplet around 4.7 ppm labeled 'a', a sharp singlet at 4.2 ppm labeled 'b', a sharp singlet at 2.4 ppm labeled 'c', and a reference peak at 0 ppm labeled 'TMS'. An inset shows the chemical structure of acetylferrocene, which consists of two cyclopentadienyl rings sandwiching an iron atom (Fe²⁺). One ring is substituted with an acetyl group (CH₃C=O). Protons are labeled 'a' through 'c' to correspond to the peaks in the spectrum: 'a' for the aromatic protons on the substituted ring, 'b' for the aromatic protons on the unsubstituted ring, and 'c' for the acetyl methyl protons.

图号	化合物	信号群	化学位移(ppm)	原子核数	重数
2-5	TMS	Si(CH ₃) ₄	0	12 H	单峰
2、4、5	二茂铁	Fe[C ₅ H ₅] ₂	4.14	10 H	单峰
3-5	乙酰基二茂铁	Fe[C ₅ H ₅] ₂ C(O)CH ₃	2.38	3 H	单峰
		Fe[C ₅ H ₅] ₂ C(O)CH ₃	4.19	5 H	单峰
		Fe[C ₅ H ₅] ₂ C(O)CH ₃	4.48	2 H	三重峰
		Fe[C ₅ H ₅] ₂ C(O)CH ₃	4.76	2 H	三重峰
	水	HOD	4.65	1 H	单峰
	氯仿	CHCl ₃	7.24	1 H	单峰
	丙酮	O=C(CH ₃) ₂	2.05	6 H	单峰

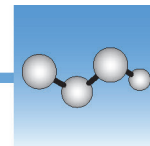
本实验面临多个方面的挑战，最应注意微量柱的制备和使用。

- 1.在巴氏吸管中制备微量柱——最好采用干法装柱。
- 2.用移液管吸球施加压力时，保持填料上方始终有足够的溶剂。
- 3.装入预先吸附的氧化铝混合物和溶剂后，在填料上方预留少量顶部空间。
- 4.蒸发掉大量洗脱溶剂。

向反应试管中加入冰水(1 mL)和氢氧化钠(约3 mL)后，总液体量接近试管顶部，很难均匀混合溶液。使用玻璃搅拌棒有助于溶液混合。

[illegible]

Thermo Scientific



picoSpin™ 45/80: 甲苯-环己烷混合物的简单蒸馏

简介

分离和纯化液体混合物组分的基本蒸馏方法共有四种：常压蒸馏、分馏、减压蒸馏和水蒸气蒸馏。蒸馏方法的选择和纯化程度取决于混合物的性质，特别是混合液各组分沸点的差异。蒸馏时，加热混合液，蒸出物质。在沸腾回流下，随着蒸汽继续冷凝，上升至蒸馏头，低沸点组分的汽相变浓，实现了混合物的纯化。

如果混合液各组分的沸点相差50°C以上，常压蒸馏是最有效的方法。第一种组分蒸馏时，温度计（温度计水银球与蒸馏头支管下沿平齐）测量蒸汽在水银球上的冷凝温度。若采用常压蒸馏法，温度变化速率会很慢，因为随着蒸馏进行，沸腾液体的成分会发生变化。因此，不同组分不能被彻底地分离完全。一种组分在蒸馏时，温度达到稳定，然后下降，随着下一种组分开始蒸馏，温度继而又上升。此时温度接近沸点次低的液体的沸点，达到稳定，开始蒸馏第二种组分。随后每种组分重复此过程，将沸点最高的液体留在蒸馏瓶内。小心控制蒸馏速率，可达到较好的分离效果。如果蒸馏速度过快，混合液各组分的分离效果不如慢速蒸馏的效果好。

目的

本实验的目的是利用传统的常压蒸馏法分离混合液的各种组分。将混合液放入装有蒸馏头、温度计和冷凝管的圆底烧瓶中加热。加热瓶的表面积较大，可以传递充足的热量，从而蒸馏混合液的各种组分。在典型沸腾条件下，随着溶液不断加热，汽相和液相达到平衡，在汽相中分离出低沸点组分。如果蒸馏速度过快，多余热量和过量蒸汽会打破平衡，导致最先蒸出的组分中有高沸点组分蒸出。随着蒸馏继续，蒸汽冷凝界线沿着冷的烧瓶壁上升，加热烧瓶壁，第一种组分沿壁流下。蒸汽到达温度计水银球处时，温度计测出其经冷凝管（用空气或水冷却）液化前的温度。经冷凝、纯化的液体流入收集瓶。

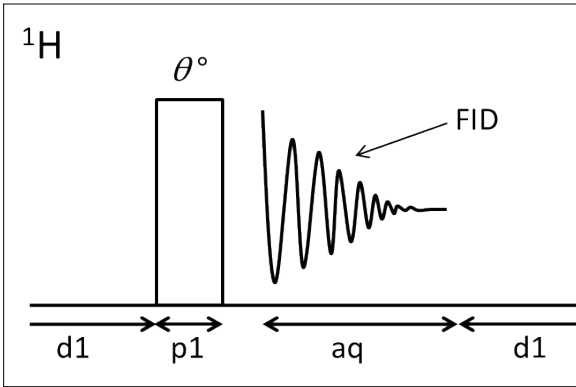
本实验中，将对环己烷和甲苯50:50的混合液进行蒸馏，分离出沸点较低的组分。利用Thermo Scientific™ picoSpin™80核磁共振波谱仪分别对初始混合液、馏出物和残留物进行分析。将对样品进行量化计算，通过对谱图中的核磁共振信号进行积分，测定初始混合液、馏出物和残留物的摩尔比，从而评估常压蒸馏的效率。

文献

改编自 Williamson, K. L.; Minard, R.; Masters, K. M. *Macroscale and Microscale Organic Experiments*, 5th ed., Houghton Mifflin Co., 2007。

脉冲序列

本次实验采用标准90°单脉冲序列。在FID信号累加前调整循环弛豫延迟时间(d1)，使一次采样的FID信号强度增至最大。



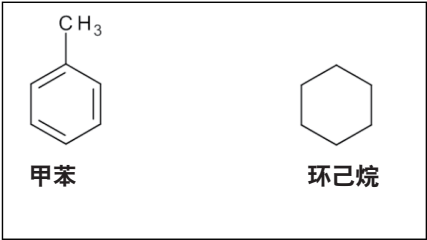
序列: $d1-[\theta^{\circ}-aq-d1]_{ns}$
 θ° : 脉冲旋转角度 (翻转角)
FID: 自由感应衰减
d1: 自旋晶格弛豫时间的循环延时 (μs)
p1: 射频脉冲宽度 (μs)
aq: 采样时间 (ms)
ns: 采样累加次数

步骤与分析

时间要求: 2小时
难度: 容易
样品: 环己烷、甲苯
设备/材料:

- Thermo Scientific™ picoSpin™ 80
 - 环己烷(C₆H₁₂)
 - 甲苯(C₆H₅CH₃)
 - 四甲基硅烷(TMS:(CH₃)₄Si)
 - 简易蒸馏装置
 - 100 mL圆底烧瓶
 - 25 mL锥形瓶
 - 冷凝管
 - 蒸馏头
 - 真空接头
 - 夹钳 (烧瓶或固定夹)
 - 环架、环形夹子、铁圈
- 温度计
 - 温度计接头
 - 沸石
 - Mnova NMR处理套件
 - picoSpin配件包:
 - 塞子
 - 注射器接头
 - 样品出口管路
 - 25 mL烧杯
 - 1 mL聚丙烯注射器
 - 1 mL聚丙烯注射器
 - 2 mL和7 mL样品瓶

分子结构:



物理参数:

物质	分子量 (g/mol)	数量	熔点 (°C)	沸点 (°C)	密度 (g/mL)
甲苯	92.14	10 mL	-95	111	0.8669
环己烷	84.16	10 mL	6.47	80.74	0.77979
四甲基硅烷(TMS)	88.22	3滴	-99	26-28	0.6666
氯仿-d(CDCl ₃), 加入1%TMS	120.384	1 mL	-64	61	1.50
丙酮-d ₆ (Ac-d ₆), 加入1%TMS*	64.12	1 mL	-94	56	0.872

*可选NMR溶剂

安全防范措施



注意：使用仪器时，务必始终佩戴护目镜。硫酸为强脱水剂；倾倒浓硫酸时要带防护手套。乙酸会灼伤皮肤。倾倒乙酸要在通风柜中进行。避免接触皮肤和衣物。



注意：避免电击危险。所有壁装电源插座必须有接地的三孔插座。地线必须为非载流线，与主配电箱的接地相连。

实验

反应步骤

- 搭建简易的蒸馏装置（图1）。

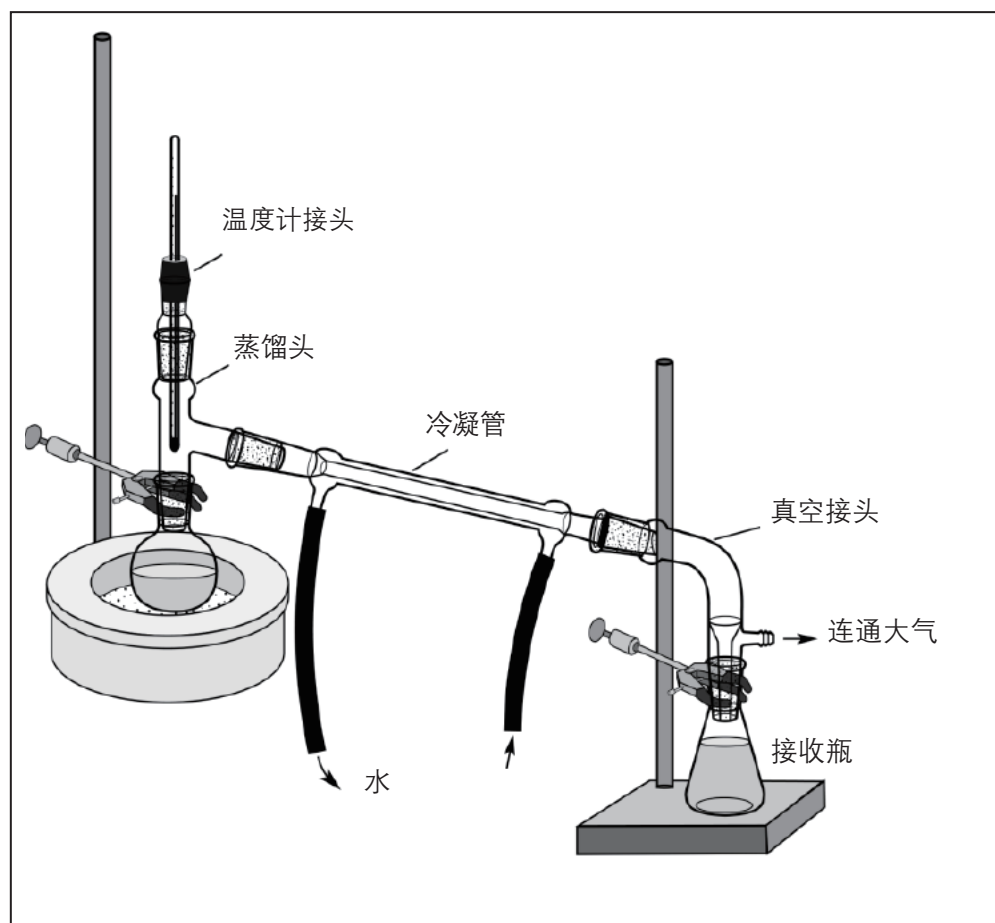


图1：简易蒸馏装置

- 利用砂浴作为热源。
- 向50 mL圆底烧瓶中加入约10 mL甲苯、10 mL环己烷和一块沸石。
- 振荡混合液，取出0.25 mL作为样品3，并将其转移至2 mL样品瓶中。
- 放置温度计时，使水银球与蒸馏头支管下沿平齐。
- 冷凝管中通水做冷凝。
- 在真空接头的出口处放置一只接收瓶。
- 将接收瓶放入装有冰块的25 mL烧杯中。
- 通过堆放热砂，控制圆底烧瓶的温度。
- 蒸馏开始后，蒸汽上升，遇冷玻璃凝结。
- 移除一些砂子，控制沸腾速度，保持接收瓶每分钟收集两滴蒸馏物的速度。
- 记录收集到第一滴蒸馏液时的温度。该温度为环己烷蒸馏物的沸点。

- 收集蒸馏物，直到环己烷蒸馏停止，温度下降（收集约7 mL）。
- 切勿蒸干。
- 关闭砂浴。
- 制备用于NMR分析的样品。

制备样品

制备若干样品，以便进行分析。可以使用无溶剂样品进行分析。因为甲苯和环己烷的¹H NMR化学位移是已知的，可以用其信号作为化学位移的内标。或者，可以向样品中加入几微滴TMS(0 ppm)。以下样品制备指南和图谱使用的是加入TMS的无溶剂样品。

- 样品1：用贴标签的样品瓶量取约0.20 mL甲苯，加入几微滴TMS。盖上盖子，以备NMR分析。
- 样品2：用贴标签的样品瓶量取约0.20 mL环己烷，加入几微滴TMS。盖上盖子，以备NMR分析。
- 样品3：用贴标签的样品瓶从圆底烧瓶中量取约0.20 mL甲苯和环己烷的初始混合液，加入几微滴TMS。盖上盖子，以备NMR分析。
- 样品4：用贴标签的样品瓶从接收瓶中量取约0.20 mL蒸馏物，加入几微滴TMS。盖上盖子，以备NMR分析。
- 样品5：用贴标签的样品瓶从圆底烧瓶中量取约0.20 mL蒸馏物，加入几微滴TMS。盖上盖子，以备NMR分析。

核磁共振仪测试过程

利用picoSpin核磁共振波谱仪进行样品分析的一般步骤如下所示：



匀场

- 确保核磁共振波谱仪已进行匀场，可以检测样品。

准备

- 用空气排除picoSpin毛细管进样系统中用于匀场的溶液。
- 用0.1 mL氯仿冲洗进样系统，然后推进空气，排出溶剂。因有CHCl₃残留，样品谱7.24 ppm处会出现微弱信号，可用作图谱的化学位移定标。
- 按照脉冲设置表中的参数，设置单脉冲序列中的参数。

进样

- 用装有1.5英寸长，22号平头针头的1 mL一次性聚丙烯注射器，抽取0.2 mL样品。
- 注射约一半样品。检查仪器的排液管出口，确保气泡已完全排出进样系统。
- 用PEEK塞子塞住仪器的样品溶液进、出口。

采样

- 按照参数表中的数值进行单脉冲序列。
- 单脉冲序列结束后，按照以下顺序排出毛细管进样系统中的样品：空气、溶剂、空气，以备其他用户使用。

脉冲序列：单脉冲

采样参数适用于picoSpin 45和picoSpin 80波谱仪。根据不同系统采用相应的发射频率(tx)和脉冲宽度(p1)。

脉冲序列：单脉冲

参数	数值
发射频率 (tx)	质子拉莫频率 (MHz)
累加次数 (ns)	4
脉冲宽度 (p1)	仪器特定的90°脉冲宽度
采样时间 (aq)	750 ms
接收恢复延时 (r1)	500 µs
T1循环延时 (d1)	6 s
谱宽 (bw)	4 kHz
过滤后衰减 (pfa)	10 (11) ^a
相位校正 (ph)	0度 (或任意值)
指数过滤器 (LB)	0 Hz
最多绘图点	400
最长绘图时间	250 ms
最小绘图频率	-200 Hz
最大绘图频率	+1000 Hz
充零点数 (zf)	8192
校准平均数据	√
实时图	√
JCAMP平均值	√
JCAMP指标	未经核对

^a: 选择仪器的默认pfa值

处理

下载实验JCAMP图谱文件，导入Mnova中打开，自由感应衰减(FID)将自动进行傅里叶变换，并显示谱图。对于每个谱图，利用给出的设置执行以下处理步骤：

函数	数值
充零 (zf) 和线性预测 (LP)	16 k
向前预测 (FP)	aq→16 k
向后预测 (BP)	-2→0
相位校正 (PH)	PH0: 手动调整 PH1: 0
窗函数处理	
指数函数 (LB)	0 Hz
第一点	0.5
化学位移定标 (CS)	手动定标
谱峰标定 (pp)	手动选择谱峰
积分 (I)	自动选择
多重峰分析 (J)	-

- 将各数据文件导入Mnova中的相同处理界面。手动校正各谱图的Ph0相位。
- 利用Mnova的TMS工具手动校准各谱图的化学位移。以TMS信号(0 ppm)、残留氯仿信号(7.24 ppm)、环己烷信号(1.38 ppm)或甲苯信号 (2.09或6.98 ppm) 作为定标参考。
- 识别并指定图谱中的每个信号。
- 对甲苯和环己烷的峰进行积分，测定初始混合物中每种组分、馏出物和残留物的相对摩尔浓度。
- 保存Mnova文件，打印每张谱图，粘贴到您的实验室笔记本上。

结果

甲苯（无溶剂）的45 MHz和82 MHz ^1H 核磁共振谱如图2所示。谱中有两个信号，低场7.00 ppm处的信号是芳香环(C_6H_5)上的五个质子产生的，高场2.09 ppm处的信号是苯环上甲基($-\text{CH}_3$)产生的。因为没有相邻的质子，甲基质子不发生耦合。在45 MHz图谱中，未观察到芳香环质子发生自旋-自旋耦合，但在82 MHz图谱（图2，下）中，可观察到邻位(7.04 ppm)、间位(7.08 ppm)和对位(7.01 ppm)质子的化学位移稍有不同。对这些信号求积分得出质子比为5:3，符合预期。

图3为无溶剂环己烷的45 MHz（上）和82 MHz图谱。谱中最显著的信号是1.44 ppm处的环己烷上的12个等价质子的单峰。对谱峰积分，积分面积标为12。

图4为甲苯和环己烷初始混合液的45 MHz（上）和82 MHz ^1H 核磁共振谱。谱中可以识别两种组分各自产生的信号。开始时分别量取大致等量的两种物质。在45 MHz谱中，对单个信号积分，将环己烷的积分面积标为12，对应其化学相等的12个质子，我们得出的积分比为5.78:3.76:12.00。如果两种成分的比例是精确的50:50，积分比应该为5:3:12。为估计两种物质的摩尔比，比较甲苯甲基的积分（2.24 ppm处为3.76）和环己烷信号的积分（1.44 ppm处为12），积分比为3.76:12。由于甲苯甲基含有3个质子，环己烷含有12个质子，这一积分比例可简化为1.25:1，即甲苯的摩尔比率为55%，环己烷为45%，非常接近预期的比率50:50。也可以根据同样的方法用芳香环信号来计算，但是应注意简化积分时应考虑到其信号含有5个质子。可以用相同的方法评估82 MHz谱图。

图5为馏出物的核磁共振谱。从图中很容易根据1.44 ppm处的最强峰识别环己烷。定性地说，图中甲苯信号与初始混合物中的甲苯信号相比要小很多。而定量测定能更好地估计蒸馏物中两种组分的摩尔比。采用相同的方法，我们对甲苯甲基质子信号和环己烷质子信号，得出的比例为1.46:12。根据质子数进行简化得到45 MHz谱图的比例为0.49:1，因而预计甲苯和环己烷的摩尔比率为33%:67%。从图中看，甲苯峰比例比计算出的33%要小很多。但环己烷中有12个质子，而甲基中只有3个质子，因此很难看出简化后的信号差异。

最后，我们分析留在蒸馏瓶中的成分；其谱图如图6所示。此谱图与图4、图5非常接近；甲苯信号(7.00 ppm和2.38 ppm)和环己烷信号(1.44 ppm)很容易识别出。令人惊讶的是，此图中信号强度与初始混合物谱（图4）相近。对于沸点相差约75°C的多组分化合物来说，简单蒸馏非常有效；而环己烷和甲苯的沸点分别为88°C和111°C。由于沸点较为接近，采用简单蒸馏法分离两种组分的效果不太好，甲苯也会在蒸汽中增浓，与环己烷一起冷凝。通过对残留物的45 MHz谱图进行定量分析，得出简化后的比例为1.65:1，即甲苯和环己烷的比率为62%:38%。

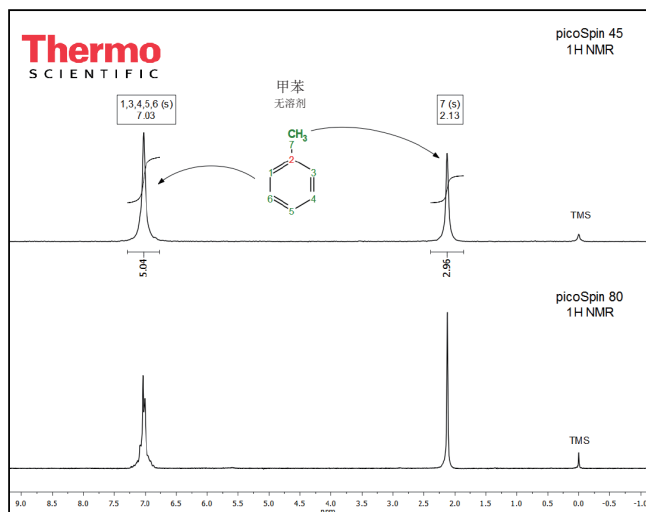


图2: 甲苯 (无溶剂, 含TMS) 的45 MHz氢谱 (上) 和82 MHz氢谱 (下)

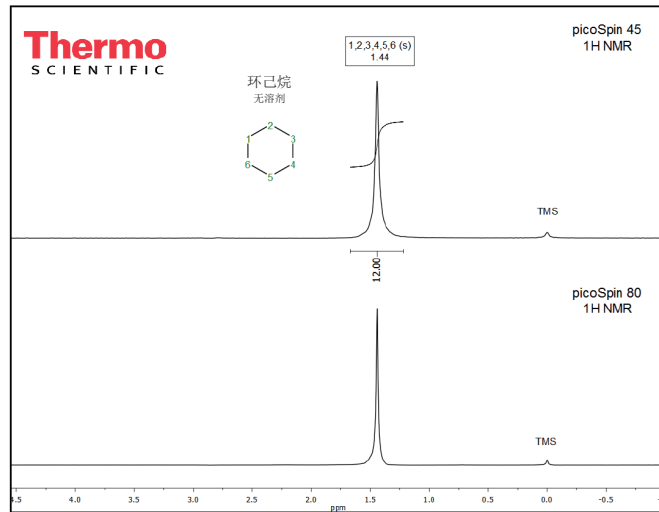


图3: 环己烷 (无溶剂, 含TMS) 的45 MHz氢谱 (上) 和82 MHz氢谱 (下)

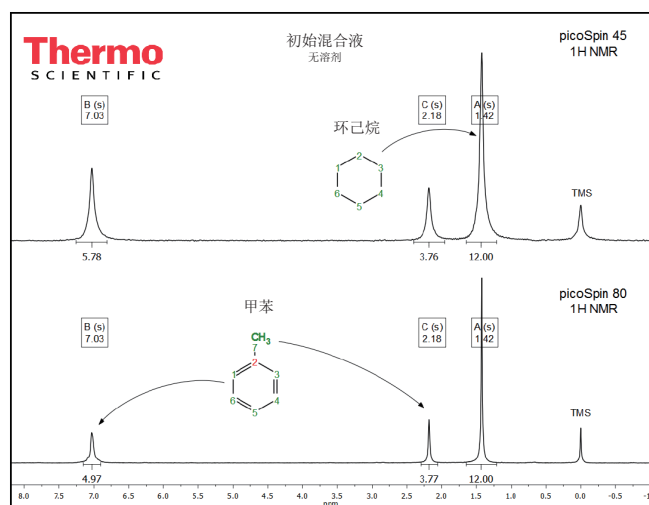


图4: 初始蒸馏混合物 (含TMS) 的45 MHz氢谱 (上) 和82 MHz氢谱 (下)

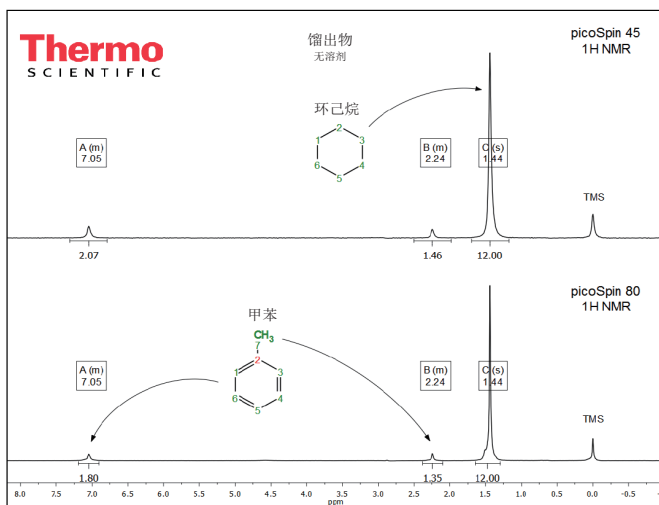


图5: 馏出物 (含TMS) 的45 MHz氢谱 (上) 和82 MHz氢谱 (下)

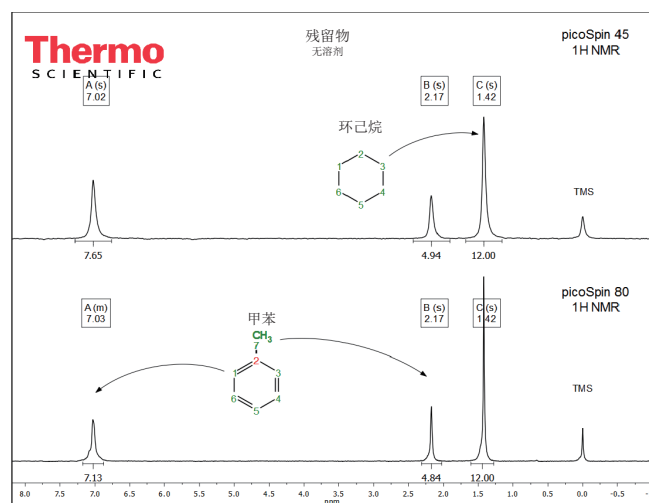


图6: 残留物 (含TMS) 的45 MHz氢谱 (上) 和82 MHz氢谱 (下)

表1: ^1H 核磁共振谱数据

图号	化合物	信号群	化学位移 (ppm)	原子核数	重数
2-6	TMS	Si(CH ₃) ₄	0	12 H	单峰
2,4-6	甲苯	C ₆ H ₅ CH ₃	2.24	3 H	单峰
		C ₆ H ₅ CH ₃	7.08(m)、7.04(o)、7.01(p)	5 H	单峰
3-6	环己烷	C ₆ H ₁₂	1.44	3 H	单峰
	氯仿	CHCl ₃	7.24	1 H	单峰
	丙酮	O=C(CH ₃) ₂	2.05	6 H	单峰

评论

本实验室未提供任何特殊难点。

自我观察结果

This image shows a full page of blank graph paper. The grid consists of small, uniform squares formed by thin, light blue horizontal and vertical lines. There are no margins, text, or other markings on the page.

©2014赛默飞世尔科技。版权所有。所有商标属于赛默飞世尔科技及其子公司。规格、条款和定价或按情况改变。不是所有的国家都能购买到所有的产品。欲知详情，请咨询您当地的销售代表。

赛默飞世尔科技
热线电话:
 8008105118
 4006505118
sales.china@thermofisher.com
www.thermofisher.cn