

如何科学有效地记录实验数据

在实验学科中，数据起着至关重要的作用，获得科学有效的数据是每个实验者所应具有 的素质。在我们实验室近十年工作经验的基础上，结合其他实验室的经验，主要对旋光、核 磁及对映体过量（ee 值）等数据测定中应注意的事项加以列举。**原则是：尽量第一时间收 集齐必要数据，否则以后补充数据会花费许多不必要的时间和精力，如果是已知物要和文 献数据加以对照。**对未知化合物应该收集核磁共振氢谱和碳谱、高分辨质谱或者元素分析、 熔点（如果是固体）、旋光（如果是手性化合物）和红外光谱等；对已知化合物应该收集核 磁共振氢谱、熔点（如果是固体）和旋光（如果是手性化合物）等。在测试结束后，应及时、 准确地将数据记录在实验记录本上（不要先抄写在一张小纸条上，然后再抄到实验记录本上， 步骤越多，出错的可能性越大），以备查阅、撰写论文和在以后的研究工作中作为参考。

第一部分：测定旋光注意事项

1. 得到产品后，要尽快测定其旋光（这里的旋光为比旋光度），不宜长时间放置后再 测定。因为长时间放置可能会导致产品变质，再次测量时瓶子的质量也可能因为天平没有校 正而发生变化，从而导致旋光值不准确。
2. 测定旋光前，如果是已知物要查明文献中报道的旋光值，最好多查几篇文献，因为 许多文献的数值不一致，尽量选择权威论文的数据，包括浓度、温度、溶剂及旋光值。测定 产品的旋光时，可以与文献值比较，做到心中有数。
3. 待测的产品在测量前一定要抽干，以保证称量质量的准确。
4. 配制待测产品溶液所用的溶剂最好用新开封的。因为已开封的溶剂在使用时可能被 污染，会有杂质，造成测定数据不准确。
5. 配制的待测产品溶液的浓度要适中，不宜太高，也不宜太低，一般浓度为 0.2-1.0 （10 mg/mL-100 mg/mL）左右为好。
6. 配制的待测溶液时，产品在其中要全部溶解。若溶解后为浑浊液，应考虑使用溶解 度更好的溶剂；若溶解后有 小颗粒，证明产品中有杂质，必须先将产品进行处理，除去不溶 性的杂质，再进行测定。
7. 测定旋光前最好用一个已知旋光值的物质作为标准，对所用旋光仪进行校准，以保 证旋光仪测量数据的准确。
8. 开启旋光仪后需等一段时间再进行测量。因为旋光仪所用钠光灯的正常起辉时间至 少 20 分钟，之后发光才能稳定，这时测定才会比较准确。
9. 测定管光面两端的玻璃，在测量时不要用手触摸，以免玻璃被污染，影响光路，使 测量不准确。如果不干净，用软布或专门的擦拭纸擦净，不要使用普通的纸，以免损伤玻璃 面，影响光路。
10. 将装有待测溶液的测定管放入样品室之前，一定要确保光路中没有气泡，否则会对 样品的旋光值有较大的影响。
11. 测定时应尽量固定测定管放置的位置和方向，做好标记，以减少测定管及盖玻片应 力的误差，使测量数据更准确。
12. 测定旋光时一定要及时记录测定时的温度。因为温度对物质的旋光有一定影响，不 同的温度下测定的旋光值可能有所差别。
13. 测定旋光时一定要及时记录所用的溶剂。因为在不同溶剂中，由于缔合、溶剂化 和解离等情况的不同，会使比旋度产生变化，甚至改变旋光方向。具有 1,3-丙二醇结构的氯 霉素 Chloramphenical，只有 (1R, 2R)-(-)-异构体才显示抗菌活性，其在无水乙醇中呈右旋 性，比旋光度+18.5~+21.5，而在乙酸乙酯中呈左旋性，比旋光度为-25.5。

14. 测定结束后，将测定管洗净晾干放回原处。数据要立即写在记录本上，最好将文献中的旋光数据也写在记录本上，与所得数据加以对照。

第二部分：核磁测试注意事项

1. 得到产品后，核磁共振要立即测，不宜长时间放置后再去测，因为长时间放置可能导致产品变质。其中一种极端情况是：长时间放置后产物会发生异构化，如反式异构体变为顺式异构体，或者发生重排反应等，从而导致测定的核磁共振数据不准确。

2. 实验室测试所用核磁管一般内径为 5 mm，（微量样品用 3 mm 的样品管）氘代试剂溶解后的样品体积在核磁管中高度约 3.5 cm，体积约 0.5 mL，溶剂量太少会影响匀场，溶剂量过多则造成浪费。

3. 氢谱测试所需样品量较少，约 3-7 mg，碳谱测试所需样品量较多，一般需要多于 20 mg，测试氢谱时浓度太低则噪音较大、基线不平；浓度太高则谱峰裂分不好，请适当掌握；测试 ^{13}C 时浓度高可缩短测试时间，噪音小，基线平直，谱图漂亮。若 ^1H 、 ^{13}C 谱同时做，要保证管装样品量大于 20 mg。

4. 为保证谱图质量，核磁管必须清洗干净，样品的纯度越高越好，其中残余溶剂必须除净，否则严重影响谱图的解析。样品在氘代试剂中溶解度要好（送样人要提前选好合适溶剂），溶解后溶液均匀透明，若有固体微粒必须首先过滤，否则仪器不能测试，并且样品中不得含顺磁性物质。

5. 核磁管要及时清洗，先加入对样品溶解性最好的溶剂冲洗，一般使用丙酮，清洗 2-3 次后，使用核磁管刷（末端绑上棉花）清洗，再用丙酮清洗干净。核磁管在干燥箱中最好不要平放，一定要多支捆绑在一起立着放，这样能保证核磁管在高温下不变形。

6. 有些样品在常温下两个构象异构体转化的能垒较高，不能迅速达到平衡，这时核磁共振谱图上会出现一些宽峰，甚至消失或不出现。这时如果把做核磁共振的温度提高，两种构象异构体异构体能迅速达到平衡（具体的例子，可参考：J. Org. Chem. 2005, 70, 1679），这样就能得到正常的核磁共振谱图。

第三部分：对映体过量（ee 值）测试注意事项

高效液相色谱测对映体过量（ee 值）时，需要的样品量不多，但是需要消旋的样品作为对照，否则无法区分杂质与样品的峰值（尤其是 ee 值高时）。同时也要注意以下几个方面：

1. 需要的样品量在色谱图上浓度在 80-200 mAU 之间为好，太少噪音峰容易造成干扰，太多可能会在柱上残留，信号峰强度最好不要超过 500 mAU，以防堵塞色谱柱。测试前可以在硅胶板上用毛细管点样用紫外灯显色后根据经验观察浓度是否合适。

2. 样品纯度要高，否则杂质可能会与目标峰完全重合或是部分重合，从而造成测定数据不准确，不能得到漂亮的色谱图；另外，若是样品中含有较多的杂质，特别是粉末状杂质，则会堵塞手性柱。因此，在配制样品时，应使样品完全溶解，或使用过滤器过滤得到澄清溶液。

3. 配置前样品中的残余溶剂要除净，防止因溶剂峰过高而不能得到漂亮的色谱图。溶解样品的溶剂最好选择和流动相相同的溶剂，或者是流动相中的溶解性较好的那种溶剂。

4. 配置样品时，要将样品完全溶解后，取一到两滴转移到专用的液相测量瓶中，再加入溶剂稀释到合适的浓度。对固体样品，一定要将样品完全溶解后配制，因为在固体样品中，各部分 ee 值可能不同（如外消旋化合物，一部分可能为 100% ee，另外一部分可能为 0% ee），这样可能造成数据重复性很差。所以对于固体样品，一定要将样品全部溶解后取适量于样品瓶中，再稀释到需要浓度。

5. 样品一般需要现场配制，长时间放置后容易变质。

6. 使用手性柱测定 HPLC 数据时，要注意柱压不要超过 50 bar。如使用异丙醇/正己烷作为流动相时，溶剂体积比为 90/10 时，流速一般不超过 1.0 mL/min，为 80/20 时，流

速一般不超过 0.8 mL/min, 选择更大极性的流动性时, 流速相应也要降低, 以使柱压不超过 50 bar.

7. 测定样品时, 要注意流动相的体积变化, 当少于总体积的 20%时, 应及时添加流动相, 以防止体系中进入气体。

8. 测定后的数据要及时记录在实验记录本和专用的 HPLC 数据记录本上。

以上为根据经验所总结的测定旋光、核磁和 ee 值中所需要注意的事项, 要获得科学的实验数据请参照上述经验进行操作。**原则是: 尽量第一时间收集齐所有的必要数据。**对未知化合物应该收集核磁共振氢和碳谱、高分辨质谱或者元素分析、熔点(如果有)、旋光(如果有)和红外光谱等; 对已知化合物应该收集核磁共振氢和碳谱、熔点和旋光(如果有)等。若有不足或不当之处, 请指正。