甲醛荧光试纸的制备及其传感检测 ——推荐一个研究型大学综合化学实验

业思晨, 陈琼, 吴琼友, 刘盛华, 尹军*, 原弘

华中师范大学化学学院, 农药与化学生物学教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要: 围绕甲醛的荧光检测, 设计了一个研究型综合化学实验。本实验涵盖了基于光诱导电子转移的荧光传感机理、甲醛荧光传感器的合成、甲醛试纸的制备与应用等内容。同时, 以科教融合的形式将具备应用前景的研究成果与日常生活中的甲醛污染与检测等实际应用相结合, 能够提高学生的科研创新意识, 并学以致用服务于日常生活。

关键词: 荧光传感器; 甲醛试纸; 萘酰亚胺; 综合化学实验

中图分类号: G64; O6

Preparation of Formaldehyde-Response Fluorescent Test Paper and the Determination of Formaldehyde: Recommending a Comprehensive Chemical Experiment

Sichen Ye, Qiong Chen, Qiongyou Wu, Shenghua Liu, Jun Yin *, Hong Yuan

Key Laboratory of Pesticides and Chemical Biology, College of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan 430070, China.

Abstract: In this paper, a comprehensive chemistry experiment based on fluorescent probe was designed for the detection of formaldehyde. This experiment covers the fluorescence sensing mechanism based on photo-induced electron transfer, the synthesis of formaldehyde-responsive fluorescence sensor, and the preparation and application of formaldehyde-responsive test paper. Simultaneously, the research results with application prospects will be combined with the practical application of formaldehyde pollution and detection in daily life through the form of the integration of science and education, which can improve students' awareness of scientific research innovation, and apply what they learn to serve daily life.

Key Words: Fluorescent sensors; Formaldehyde test paper; Naphthalimide; Comprehensive chemistry experiment

1 引言

综合化学实验是在基础实验的基础上, 融合了多个化学二级学科知识开设的一门具有系统性、连续性、交叉性的实验课程。综合有机化学实验侧重于考查多步连续反应、结构表征和性质测试等内容, 旨在进一步巩固学生实验操作技能、提高学生综合交叉实验能力。但结合学生课堂表现与综合教学考核结果来看, 我们发现部分实验内容的实用性、趣味性和学生的学习热情及主观能动性还有待进一步提高。因此, 基于综合化学实验教学理念, 进一步将实验项目内容与日常实际应用有机

收稿: 2021-09-29; 录用: 2021-12-27; 网络发表: 2022-02-11

*通讯作者, Email: yinjun@mail.ccnu.edu.cn

基金资助: 华中师范大学中央高校基本科研业务费专项资金(科研成果转化实验教学内容类) (CCNU20KYZHSY07)

结合,引入内容覆盖面广、应用性强的实验项目,对提高学生的学习积极性、拓展学生“学以致用”的实践能力、推进研究创新型教学^[1]、培养适应社会发展需求的应用型人才具有十分重要的现实意义。

甲醛(FA),又称蚁醛,是一种具有窒息性刺激臭味的无色气体。数十年来,甲醛已成为许多大规模化学工业生产过程中的重要平台试剂,在纺织、食品、医药等领域也有着广泛应用^[2]。然而,外源性甲醛作为室内第三大化学污染物,已被世卫组织(WHO)确定为致癌致畸物质^[3]。过度暴露在高浓度的甲醛环境中将损害人体免疫系统,诱发神经蛋白质错误折叠,进而引发各种神经退行性疾病、心脏病变,甚至肿瘤等^[4]。目前环境中释放的甲醛主要来源于人造板材家具中的胶粘剂、燃料及烟叶的不完全燃烧、用脲醛树脂生产的劣质仿瓷餐具及食品防腐剂残留等^[5];室内甲醛也因其对人体的累积危害而备受关注,因此对不同环境下甲醛进行快速定性/定量检测至关重要。

传统的甲醛检测方法主要有气相色谱法、电化学传感器、质谱法和高效液相色谱法等^[6,7]。但由于操作流程复杂、样品制备耗时、灵敏度低、仪器昂贵等原因,这些方法所受限制较大,不适合对日常生活中的甲醛进行快速检测。与上述方法相比,基于有机小分子荧光传感器的可视化检测技术具有极高的灵敏性和选择性^[8],易于快速、准确、便捷地检测环境样本中的甲醛含量,且不受时间和场地的限制。在众多荧光团中,1,8-萘酰亚胺作为一种光稳定性好、易于修饰、荧光量子效率高的经典荧光团^[9],在荧光传感器领域已经被广泛的使用。

基于以上背景,为了促进师范大学高等教育实验教学改革和化学学科拔尖创新人才的培养,我们紧密联系荧光传感器这一当前研究热点^[10],选取课题研究成果中具备科研完整性及教学可行性、且实践性强的内容,转化为研究型综合实验项目“甲醛荧光试纸的制备及其传感检测”。本实验旨在指导学生合成一种以肼为检测基团的甲醛荧光传感器。该传感器以肼与甲醛之间的缩合反应作为响应机制^[11],并通过荧光信号来判断甲醛含量的高低。学生通过荧光光谱对传感器性质及其在溶液中对甲醛的响应性进行评估,同时制备操作便捷的甲醛检测试纸对甲醛蒸气进行实际检测。通过本实验,学生能够了解荧光材料的发光原理及传感器设计的机理,并掌握紫外分光光度计和荧光分光光度计的使用方法;培养学生进行多步有机合成实验及文献检索、问题探究的能力;实验中融入了甲醛试纸制备的应用实践,可激发学习者的创新意识和专业认同感;通过科学与教育的深度融合,推动学生由传统学习应试型向探索创新型人才的转化。

2 实验目的

- (1) 了解甲醛荧光传感器的检测原理及传感机理;
- (2) 掌握甲醛荧光传感器的制备方法;
- (3) 了解紫外、荧光分光光度计的原理及操作方法;
- (4) 通过制备甲醛试纸快速可视化检测甲醛,开拓学生创新思维,强化化学理论的实际应用教学。

3 实验原理

3.1 荧光探针的制备

本实验选择具有优异光物理性质的1,8-萘酰亚胺为荧光团^[12],首先以4-溴-1,8-萘酐为初始原料,乙醇胺为反应物制备溴代萘酰亚胺中间体。随后,利用该中间体与水合肼之间的芳香族亲核取代反应(S_NAr),可制备含有联氨(NHNH₂)甲醛识别单元的1,8-萘酰亚胺水合肼化合物Naph-FA。两步反应的实验路线设计如图1所示。

3.2 光诱导电子转移(PET)

光诱导电子转移是光电转换体系中的重要过程之一,其定义为在受到光激发后,电子给体(D)或受体(A)两者之间发生的电子转移效应^[13]。在本实验设计的基于PET机理的萘酰亚胺水合肼荧光传感器中,在光诱导下,联氨基团裸露氨基上的孤对电子会转移至处于激发态的萘酰亚胺荧光团上,使得激发态荧光分子LUMO轨道上的电子无法正常跃迁回基态,从而导致荧光淬灭。因此,在未检测

图1 Naph-FA的合成路线

甲醛分析物之前,传感器化合物几乎无荧光;如图2所示,在与待测物甲醛反应之后,肼作为甲醛的相互作用位点能与甲醛发生醛亚胺缩合反应生成腙,形成C=N双键,轨道能级发生变化,PET过程受到抑制,导致荧光显著增强,从而实现快速检测甲醛的目的。

图2 传感器检测甲醛的反应原理及传感机理

4 试剂和仪器

4.1 反应试剂

实验中所需化学试剂如表1所示。

表1 实验主要使用的药品试剂

试剂名称	纯度	厂家	试剂名称	纯度	厂家
4-溴-1,8-萘醌	98%	上海麦克林生化科技有限公司	乙醚	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司
正己烷	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司	二甲亚砜	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司
乙醇	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司	甲醛溶液	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司
80%水合肼	分析纯AR	国药集团化学技术有限公司	乙醇胺	99%	上海安耐吉化学有限公司

4.2 实验仪器

实验操作需用到的玻璃仪器有圆底烧瓶、球形冷凝管、烧杯、抽滤瓶、石英比色皿等,其他所需大型仪器如表2所示。

表2 实验主要使用的仪器

仪器名称	型号	厂家
荧光分光光度计	Cary Eclipse	VARIAN, 美国
数控加热型磁力搅拌器	MS-H-PRO ⁺	武汉德盟科技有限公司
手提式紫外分析仪	Zf-5	上海力辰邦西仪器有限公司
循环水式真空泵	SHB-III A	郑州长城科工贸有限公司
电子分析天平	BT-25-S	北京赛多利斯仪器系统有限公司
紫外-可见分光光度计	UV-3600	SHIMADZU

5 实验步骤

5.1 Naph-FA的制备

取干燥洁净的100 mL圆底烧瓶, 先后加入4-溴-1,8-萘酐(500 mg, 1.8 mmol)、乙醇胺(220 mg, 3.6 mmol), 以及10 mL乙醇, 升温至80 °C回流1 h。反应完成后冷却至室温, 得到淡黄色沉积物, 过滤收集固体并用少量乙醇洗涤, 得到N-(2-羟基乙基)-4-溴-1,8-萘酐亚胺中间体。

取N-(2-羟基乙基)-4-溴-1,8-萘酐亚胺(82 mg, 0.51 mmol)和80%水合肼(0.77 mL, 3.3 mmol)于50 mL圆底烧瓶中, 加入8 mL的2-甲氧基乙醇, 升温至80 °C回流反应2 h, 冷却至室温后析出固体, 过滤, 并用2 mL乙醚、正己烷反复洗涤5–6次, 直至固体呈橙黄色颗粒状, 即为目标化合物N-(2-羟基乙基)-4-肼基-1,8-萘酐亚胺(Naph-FA)。称量并计算产率。

5.2 探针溶液中甲醛识别的荧光光谱测试

用含有1%的二甲亚砷的水溶液配制3 mL浓度为10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Naph-FA溶液, 测试并记录其与不同浓度(0、4、8、10、15、20、30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)甲醛溶液反应前后荧光吸收光谱与荧光发射光谱的变化。学生分组配制不同浓度梯度的溶液, 送样交由测试中心老师, 在指导下与教师共同完成测试。

5.3 甲醛试纸的制备

用含1%的二甲亚砷的乙醇溶液配制10 mL浓度为10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Naph-FA溶液, 取白色滤纸置于溶液中静置1 min, 使探针溶液润湿滤纸, 均匀浸润后将滤纸取出, 在室温干燥5 min后得到甲醛试纸。

5.4 甲醛蒸气的荧光检测

分别配制10 mL浓度为0, 10, 30, 50, 100, 300, 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 和1, 3, 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甲醛溶液于50 mL烧杯中, 在40 °C下进行密封20 min处理, 得到不同浓度的稳定甲醛气体氛围, 取附着Naph-FA的试纸于100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甲醛气氛中静置5 min, 在日光灯及手提紫外灯照射下分别拍照记录试纸颜色的变化。随后, 取相同的甲醛试纸分别置于上述浓度梯度的甲醛气氛中静置5 min, 记录试纸颜色变化趋势。

5.5 实验注意事项

(1) 实验过程中遵守实验室基本安全规范, 在反应制备以及甲醛溶液配制的过程中始终拉低通风橱, 保持室内通风良好, 并按照规定操作使用大型仪器设备, 确保实验安全。

(2) 在甲醛蒸气检测的实验中, 可在装有甲醛溶液的烧杯中再固定一个干燥的小烧杯, 对该装置进行密封处理后, 将其放置在磁力加热搅拌器上低温加热20 min。随后在杯口密封处打开小口, 快速将甲醛试纸放入干燥的小烧杯中, 再次密封处理静置5 min。结束实验后, 撤去实验装置, 取出试纸, 关闭通风橱10 min以保证没有甲醛气体, 再进行后续实验。

(3) 完成测试后需开展实验数据及图片的处理, 制作甲醛荧光试纸比色卡, 用于工业溶剂中甲醛含量测定。

(4) 对图谱荧光强度及甲醛试纸颜色变化进行合理分析, 当结果与预期不一致时可做到依据实验过程出现的问题分析误差; 课后撰写科研论文式实验报告, 要求实验报告书面整洁、格式规范且逻辑通顺, 并能对思考题详细分析给出合理答案。

6 结果与讨论

6.1 产率分析

反应结束后, 能够以96%的产率得到中间体N-(2-羟基乙基)-4-溴-1,8-萘酐亚胺, 产物烘干后为淡黄色固体; 并以90%的高产率得到最终产物N-(2-羟基乙基)-4-肼基-1,8-萘酐亚胺(Naph-FA), 为橘黄色固体。

6.2 光学性质分析

本实验通过紫外吸收光谱和荧光发射光谱测试Naph-FA对甲醛响应的光物理性质, 并于Origin软件中分别绘制吸光度、荧光强度与甲醛浓度的关系曲线。图3a显示, 在含1% DMSO的水溶液中,

Naph-FA在439 nm处出现最大吸收峰。随着甲醛溶液浓度增大其吸光度变化不大，但整体表现出微弱的升高趋势。由图3b可知，**Naph-FA**在检测甲醛之前几乎无荧光，当与甲醛发生作用时，能迅速观察到荧光强度变化，其最大发射波长位于550 nm处，且荧光强度随甲醛浓度的升高而显著增强，并呈现梯度变化。当用 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甲醛处理探针1 min后，荧光强度增强了约45倍。这些现象归因于甲醛与**Naph-FA**的联氨识别基团发生了缩合反应，导致荧光出现显著变化。这些研究结果表明：**Naph-FA**对甲醛高度敏感，具有快速响应特性。

图3 (a) **Naph-FA**在含不同浓度甲醛($0\text{--}30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的 H_2O (pH 7.4, 1% DMSO)中对甲醛的紫外吸收光谱;
(b) **Naph-FA**在含不同浓度甲醛($0\text{--}30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的 H_2O 中对甲醛的荧光响应, $\lambda_{\text{ex}} = 439\ \text{nm}$
Naph-FA经甲醛溶液处理1 min后记录光谱

6.3 甲醛蒸气检测效果评价

为了能够检测环境中的甲醛蒸气，本实验利用**Naph-FA**构建了荧光试纸系统。如图4所示，于白色滤纸条上附着浓度为 $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的**Naph-FA**。在自然光下，试纸呈化合物本身的橙黄色，在手持紫外灯(365 nm)下照射无明显荧光。当试纸暴露于密封的 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲醛气氛后，**Naph-FA**迅速识别甲醛蒸气并进行反应，在自然光下试纸颜色转变为肉眼可见的亮黄色；而在紫外灯照射下，显示出明亮黄绿色荧光。该结果表明：以**Naph-FA**为基本材料制备的甲醛试纸可作为检测甲醛蒸气的一种简便传感器，也可挥发性有机化合物的检测提供重要参考，具有实际应用的潜力。

图4 甲醛试纸的制备及甲醛蒸气检测

电子版为彩图

6.4 荧光比色卡的制作及潜在应用

基于甲醛试纸的快速可视化辨别能力, 本实验接着测试了与不同浓度甲醛作用后试纸颜色的变化趋势。结果表明: 甲醛蒸气的检测反应均在5 min内完成, 能迅速观察到试纸颜色发生变化并达到稳定。此外, 如图5所示, 随着甲醛蒸气浓度由0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 升高至5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 甲醛试纸在紫外灯(365 nm)照射下, 其颜色呈现出由浅棕色转变为明亮黄绿色荧光的变化趋势, 且甲醛浓度越高, 试纸荧光越强。该变化趋势与溶液中的荧光变化趋势一致。通过该荧光试纸系统的检测结果, 按甲醛浓度梯度排列制作的荧光检测比色卡, 可用于检测工业溶剂中的甲醛含量范围。

图5 探针Naph-FA在试纸条件下对不同浓度的甲醛蒸气的荧光检测

电子版为彩图

7 思考题

- (1) 肼可以作为甲醛的检测基团, 举例说明是否存在其他的检测基团?
- (2) 设计甲醛传感器的原材料, 应该具备哪些基本性质?
- (3) 简述甲醛传感器的检测原理与传感机理。

8 教学组织运行方式建议

本实验将科研课题研究成果应用于综合性化学实验的教学, 将荧光传感器检测甲醛的过程转化为实验教学内容。以综合设计实验及大学生创新实验等课程形式开展教学, 授课对象主要为大三年级本科生。教学学时为8学时, 主要分为课前调研、制备实验(4学时)和性质测试(4学时)三个阶段。我们从各小组实验基础理论的调研、实验方案的制定与实施、课后实践应用的开发及科研论文式实验报告的撰写等方面进行教学实践, 围绕这几方面并结合学生团体协作能力及个体表现对最终教学效果进行评价。

(1) 在课前调研阶段, 应发挥“云课堂”教学平台线上学习功能, 推进资源空间与物理空间的融合, 旨在培养学生的科研探究精神及现代学习理念。教师在云端平台为学生提供电子版课件资料及参考文献, 要求学生复习分析化学课程中荧光分析法部分内容, 理解荧光分光光度计内部构造及测试原理; 熟悉甲醛危害、应用及污染来源, 并初步了解荧光技术的前沿研究进展; 依据文献知识初步设计实验方案, 结合有机化学课程所学理论知识对甲醛检测的原理进行合理分析, 并对实验现象作出猜想假设。

(2) 传感器制备实验阶段(4学时), 学生在教师指导下进行反应装置的搭建和投料反应, 由授课教师全程巡视实验进展及安全情况, 并引导学生正确处理意外情况; 在实验进行的2小时中, 采取翻转课堂“以研促教”的形式, 以学生为中心进行互动式小组讨论, 对萘酰亚胺母体的结构特点及肼位点识别甲醛的反应机理进行分析, 提高师范生的能力; 且实验教学过程应做到对学生不同情况进行具体问题具体分析, 做到教学效率最大化。

(3) 在测试实验阶段(4学时), 由教师进行标准化仪器操作演示实验, 并对学生分组, 在教师协助下完成紫外吸收光谱以及荧光发射光谱的测试实验。此外, 学生在教师指导下拓展探针应用制备甲醛试纸用于甲醛蒸气的检测, 观察并记录实验现象; 课后经过数据分析及图像处理完成实验报告, 并鼓励学生将课堂所学融入校园生活, 丰富甲醛试纸的应用。

9 科教融合模式的可行性分析

本转化实验将前沿科研成果转化为教学资源,可加强学生课题式实验项目的训练,认识完整的科研过程。该实验综合性强,在内容上集多个化学二级学科以及与化学相关的物理、材料等跨一级学科于一体。其中涵盖了基础有机化学中的亲核加成-消除反应、芳香亲核取代反应和缩合反应等常见反应类型;分析化学中的荧光分析法及紫外-可见吸收光谱法;无机化学中的化学基本理论概念以及大学物理课程中的光电子跃迁等内容。具有高度交叉性,体现了该项目教学理论与实验操作的多样性。此外,在此基础上利用传感器的光学性质制作简易试纸检测甲醛,体现了学用并重的教学特点。该实验可实施性强,且结合了实验室具体条件,合成路线操作简单,反应时长较短、产率高,适合在本科实验教学中实施。该实验兼具目的创新性和科研完整性,便于开展研究性学习,有利于培养学生主观能动性及严谨的科研态度^[14]。

本项目所制备的甲醛试纸灵敏度高且实验现象明显,具备实验趣味性和实际应用前景,课时时间合适。此外,实验中引入大型精密仪器的综合运用,可拓宽本科生科研视野,提升实验内容先进性。专业数据分析软件的使用,有利于提高学生实验数据处理和剖析问题的能力。此外,该科研转化内容已在本校大学生创新创业项目中施行并取得良好成果。综上所述,该实验有利于提高学生灵活运用现代化学实验方法解决实际问题的科学实践能力,具备科教融合可行性。

10 结语

本实验引导学生通过简单的芳香亲核反应合成了以肼为甲醛识别单元的萘酰亚胺荧光传感器。该项目具有多学科交叉融合的特点,立意新颖、实用性强、实验安全性高、可重复性强、科研流程完整,且相较于其他耗时昂贵或需要大型仪器才能检测甲醛的传统技术,该传感器对甲醛蒸气具有高效、灵敏的检测性能,让学生能够在温和的条件下实现对甲醛的快速、低成本、可视化检测,加强科学研究与生活实践之间的联系。此外,该实验延伸性强,鉴于传感器材料良好的水溶性以及萘酰亚胺母体优异的光物理特性,后续可对传感器的应用加以拓展,用于生物活体内甲醛的荧光成像,推动本科生尽早进入课题组开展科研活动。因此,将科学研究的前沿成果纳入实验、把实验的核心思想融入科研,教学模式和内容的多维化利于培养学生的逻辑思维以及对实验问题、科研理论的探索精神,从而推动创新型人才的培养。

参 考 文 献

- [1] 万坚,梁德娟,于翔,刘德立,王玉凤,刘建清,杨光富,杨旭. 中国大学教学, **2009**, No. 5, 31.
- [2] Heim, L. E.; Konnerth, H.; Precht, M. H. G. *Green Chem.* **2017**, 19 (10), 2347.
- [3] Salthammer, T.; Mentese, S.; Marutzky, R. *Chem. Rev.* **2010**, 110 (4), 2536.
- [4] Tang, Y. H.; Zhao, Y. P.; Lin, W. Y. *Nat. Protoc.* **2020**, 15, 3499.
- [5] Wahed, P.; Razzaq, M. A.; Dharmapuri, S.; Corrales, M. *Food Chem.* **2016**, 202, 476.
- [6] Xu, Z. Q.; Chen, J. H.; L. L.; Tan, Y.; Liu, S. H.; Yin, J. *Chin. Chem. Lett.* **2017**, 28 (10), 1935.
- [7] Wang, Z. J.; Yang, J. B.; Li, G. P.; Sun, N. N.; Sun, W. C.; Peng, Q. S.; Liu, N. *Chin. J. Anal. Chem.* **2016**, 44 (8), 1193.
- [8] Chen, W. J.; Ma, X. X.; Chen, H. J.; Liu, S. H.; Yin, J. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 427, 213584.
- [9] Chai, X. Z.; Han, H. H.; Sedgwick, A. C.; Li, N.; Zhang, Y.; James, T. D.; Zhang, J. J.; Hu, X. L.; Yu, Y.; Wang, Y.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142 (42), 18005.
- [10] 郭栋才, 王玉枝, 李永军, 吴朝阳, 刘浩然, 蔡双莲, 高娜, 蔡焱. 大学化学, **2019**, 34 (4), 1.
- [11] Yang, B. M.; Dai, J.; Luo, Y. X.; Lau, K. K.; Lan, Y.; Shao, Z. H.; Zhao, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, 143 (11), 4179.
- [12] Geraghty, C.; Wynne, C.; Elmes, R. B. P. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 437, 213713.
- [13] Kim, H.; Kim, H. Y.; Lee, E. Y.; Choi, B. K.; Jang, H.; Choi, Y. *Adv. Sci.* **2020**, 7 (24), 2002988.
- [14] 马璐, 周勇. 化学教育(中英文), **2021**, 42 (17), 13.