

文章编号: 1000-7032(2025)11-2192-08

吩噻嗪基亚硫酸氢根荧光探针及其在 食品和体内成像中的应用

张月媛, 章焱煜, 尚主业*, 贾宏敏*, 张志强, 孟庆涛*

(辽宁科技大学 化学工程学院, 辽宁 鞍山 114051)

摘要: 二氧化硫(SO_2)及衍生物的过量排放对人体健康和自然环境将会造成严重危害,因此,检测食品及环境中的亚硫酸氢根(HSO_3^-)对保障公共卫生与环境安全至关重要。本文合成了一种红光增强型 HSO_3^- 荧光探针(FSQ2)。FSQ2的醛基与 HSO_3^- 发生亲核加成反应导致其荧光增强。该探针具备Stokes位移较大(212 nm)、选择性好和灵敏度高($\text{LOD}=2.52 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)等优点。利用FSQ2实现了食品样本中 HSO_3^- 的定量分析,同时通过智能手机辅助的FSQ2基测试条实现了水样中 HSO_3^- 的现场定量检测。最重要的是,利用FSQ2成功实现了活体内 HSO_3^- 的荧光成像。

关键词: 荧光探针; 亚硫酸氢根; 智能手机; 食品样本; 生物成像

中图分类号: O482.31 文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20250180

CSTR: 32170.14.CJL.20250180

Phenothiazine-based Bisulfite Fluorescent Probe and Its Applications in Food and *in vivo* Imaging

ZHANG Yueyuan, ZHANG Yanyu, SHANG Zhuye*, JIA Hongmin*,

ZHANG Zhiqiang, MENG Qingtao*

(School of Chemical Engineering, University of Science and Technology Liaoning, Anshan 114051, China)

* Corresponding Authors, E-mail: shangzhuye@ustl.edu.cn; jhongmin66@163.com; qtmeng@ustl.edu.cn

Abstract: Excessive emissions of SO_2 and its derivatives will cause serious harm to human health and the environment. Therefore, detecting HSO_3^- in food and environment is crucial for safeguarding public health and environmental safety. In this paper, a red-emission-enhanced fluorescent probe (FSQ2) for HSO_3^- was synthesized. The aldehyde group in FSQ2 undergoes a nucleophilic addition reaction with HSO_3^- , resulting in significant fluorescence enhancement. FSQ2 exhibited excellent performance, including a large Stokes shift (212 nm), high selectivity, and superior sensitivity ($\text{LOD}=2.52 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). The quantitative analysis of HSO_3^- in food samples was successfully achieved by FSQ2. Meanwhile, smartphone-assisted FSQ2-based test strips were developed for on-site quantitative detection of HSO_3^- in water samples. Most significantly, FSQ2 was successfully applied for *in vivo* fluorescence imaging of HSO_3^- .

Key words: fluorescent probe; bisulfite; smartphone; food samples; bioimaging

1 引 言

二氧化硫(SO_2)是一种具有强烈刺激性气味的有毒气体^[1-2], SO_2 及衍生物的过量排放对人体健

康和自然环境将会造成严重危害^[3]。 SO_2 及衍生物也是一种重要的食品添加剂,被用作抗菌剂和抗氧化剂应用于食品和饮料行业^[4-5]。此外,人体中 HSO_3^- 水平的紊乱和过量摄入不仅与多种呼吸

收稿日期: 2025-06-26; 修订日期: 2025-07-01

基金项目: 辽宁省高校功能材料重点实验室开放基金项目(2024KFKT-10)

Supported by Open Fund Project of Key Laboratory of Functional Materials in Universities of Liaoning Province (2024KFKT-10)

系统疾病密切相关,还涉及自发性高血压、肺癌、神经系统疾病以及心肌缺血等^[6-8]。因此,检测食品及环境中的 HSO_3^- ,确保其含量处于安全阈值(例如按 SO_2 计葡萄酒和白糖中 HSO_3^- 的最大添加量分别为 $0.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),对保障公共卫生与环境安全至关重要^[9-10]。

迄今为止,检测 HSO_3^- 的传统方法主要包括分光光度法^[11]、电化学分析法^[12]、色谱法^[13]、滴定法^[14]等。尽管传统方法为 HSO_3^- 检测做出了重要贡献,但它们也存在一些缺陷,例如操作繁琐、样品前处理复杂、仪器成本高昂和活体生物原位检测局限性等。相比之下,荧光探针因其操作简便、响应快速、灵敏度高和原位非侵入式实时检测等独特优势,被广泛应用于环境、食品及生物等领域的荧光研究中^[15-21]。因此,开发一种能现场快速测定二氧化硫衍生物的新方法,对环境监测和食品安全领域具有重要意义。

本研究合成了一种红光增强型荧光探针 **FSQ2**。该探针具有较大的 Stokes 位移、选择性好和灵敏度高等优点。利用 **FSQ2** 实现了对食品中 HSO_3^- 的定量检测。基于 **FSQ2** 的测试条与智能手机结合实现了实际水样中 HSO_3^- 的现场定量分析,并成功实现了活体内 HSO_3^- 的荧光成像检测。因此,**FSQ2**在生物系统、食品及环境系统中 HSO_3^- 检测方面展现出重要应用潜力。

2 实 验

2.1 试剂和仪器

主要试剂:2-甲氧基吩噻嗪和1-溴代丙烷购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;其他试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。所有试剂直接使用,无需再次纯化。

主要仪器:紫外/可见分光光度计 Lambda-900;荧光分光光度计 F-7100;高分辨质谱仪 6530 Q-TOF LC/MC;核磁共振波谱仪 AVANCE 400 MHz;小动物活体成像系统 SPECTRAL Ami。

2.2 探针 **FSQ2** 合成

根据文献报道^[22]合成化合物 **1**。在 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下向 DMF 中滴加 2 mL POCl_3 , 搅拌 1 h 后逐渐滴加化合物 **1** (1.0 g , 3.0 mmol) 的 DMF 溶液, 室温下反应 3 h , 之后加热至 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 反应 8 h 。反应完成后冷却至室温, 缓慢倒入 120.0 g 碎冰中, 用 Na_2CO_3 调节 pH 值至中性, 用 CH_2Cl_2 萃取, 经柱层析 ($V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=50:1$) 纯化得 **FSQ2**, 收率为 52%

(图 1)。HR-MS: m/z , $[\text{FSQ2}+\text{H}]^+=398.0613$, (计算值: $m/z=398.0612$)。 ^1H NMR(400 MHz , CDCl_3) δ : $10.28(\text{d}, J=6.7\text{ Hz}, 1\text{H})$, $8.32(\text{s}, 1\text{H})$, $7.67(\text{d}, J=6.7\text{ Hz}, 1\text{H})$, $7.23(\text{s}, 1\text{H})$, $7.19(\text{t}, J=7.1\text{ Hz}, 1\text{H})$, $7.11(\text{d}, J=6.4\text{ Hz}, 1\text{H})$, $7.00(\text{t}, J=7.4\text{ Hz}, 1\text{H})$, $6.91(\text{d}, J=8.2\text{ Hz}, 1\text{H})$, $6.69(\text{s}, 1\text{H})$, $3.90\sim 3.80(\text{m}, 2\text{H})$, $1.86(\text{h}, J=7.4\text{ Hz}, 2\text{H})$, $1.04(\text{t}, J=7.4\text{ Hz}, 3\text{H})$ 。 ^{13}C NMR(101 MHz , CDCl_3) δ : $192.1, 157.5, 155.1, 150.8, 143.9, 143.5, 142.1, 127.9, 127.9, 127.5, 126.0, 124.1, 122.9, 121.6, 117.2, 116.3, 113.3, 101.8, 50.3, 19.7, 11.1$ (图 S1~S3)。

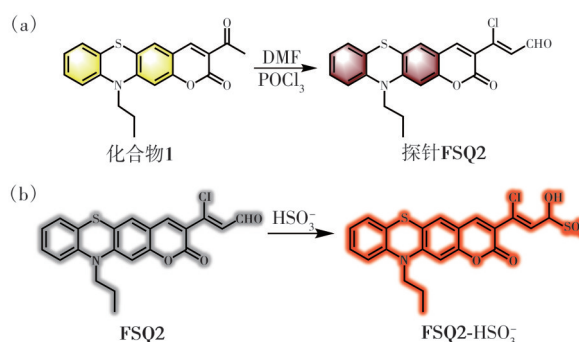


图 1 (a) 探针 **FSQ2** 的合成路线; (b) 探针 **FSQ2** 对 HSO_3^- 的传感机制

Fig.1 (a) The synthetic route of probe **FSQ2**. (b) The proposed sensing mechanism of probe **FSQ2** toward HSO_3^-

2.3 光谱测试溶液配制

将探针 **FSQ2** (9.9 mg) 溶于 50 mL 二甲亚砜 (DMSO) 中配制成浓度为 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液。所有的光谱测试溶液浓度为 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($V_{\text{DMSO}}:V_{\text{PBS}}=1:9$), 其中 PBS 缓冲溶液浓度为 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($\text{pH}=7.4$)。所有的阴离子和活性硫测试溶液均在去离子水中制备。活性氧溶液的配制参考已报道文献^[23]。光谱测试时将探针 **FSQ2** 和每种分析物混合 5 min 后进行测量, 激发狭缝为 20.0 nm , 发射狭缝为 5.0 nm 。

2.4 水样和食品中的 HSO_3^- 测试

将硅胶板 ($10\text{ mm}\times 30\text{ mm}$) 浸入探针 **FSQ2** ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 CH_2Cl_2 溶液中 2 min , 自然风干。然后将负载完探针的测试条浸入含有不同浓度 ($0, 0.5, 1, 1.5, 2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) HSO_3^- 的溶液中 10 min 取出, 自然风干。在自然光下采集测试条颜色, 得到标准比色条, 并通过智能手机 (iPhone 14 Pro Max) 的颜色识别器应用程序 (App) 采集测试条的颜色 RGB 数值。

食品中 HSO_3^- 的测试:将3.8 g白糖溶解于去离子水中,进一步稀释至10 mL得白糖样品溶液;用去离子水稀释3.1 g白葡萄酒至10 mL得白葡萄酒样品溶液。用上述食品样品溶液配制含不同浓度 HSO_3^- (0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的食品样品溶液,然后将其加入到 FSQ2 中并记录其在625 nm处的荧光强度。

2.5 体内成像分析

体内成像实验委托大连理工大学完成,小鼠实验得到了“大连理工大学”动物伦理委员会的批准(编号:DUTSCE20250702-01)。实验过程中采用异氟烷对裸鼠进行麻醉,首先在小鼠左腿和右腿同样位置皮下注射探针 FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 100 μL),然后将 HSO_3^- (1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 20 μL)进行原位注射,

左腿注射等量的缓冲溶液作对比。在 HSO_3^- 注射1, 3, 5, 10, 15 min时采集图像,激发和发射波长分别为465 nm和630 nm。

3 结果与讨论

3.1 FSQ2 对 HSO_3^- 的紫外-可见光谱响应

首先,探究了探针 FSQ2 对 HSO_3^- 的紫外-可见光谱响应。如图2(a)所示,探针 FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)本身在413 nm处显示一个主吸收带,逐渐加入 HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)后,330 nm和487 nm处出现新的吸收带,且413 nm处的吸收带逐渐降低。直到 HSO_3^- 浓度达到0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, FSQ2 在487 nm处的吸光度达到峰值(图2(a)插图)。

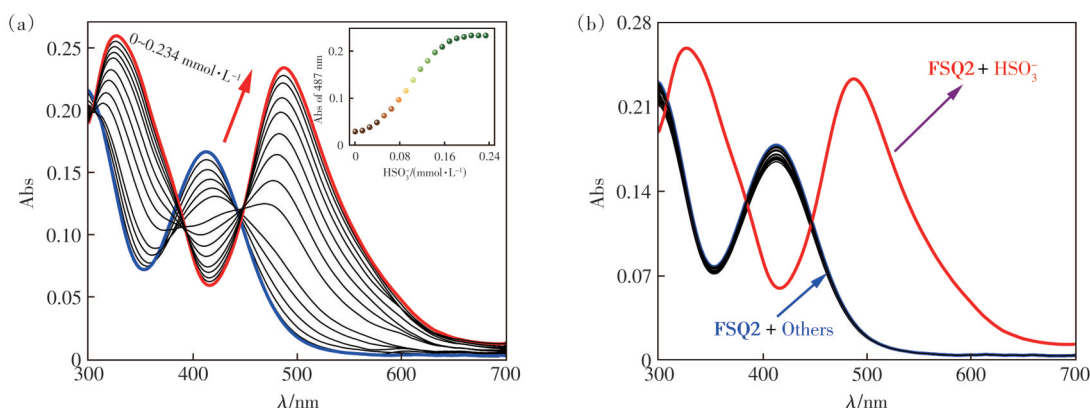


图2 (a) FSQ2 对 HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的紫外-可见光谱响应,插图: FSQ2 在487 nm处的吸光度与 HSO_3^- 浓度的曲线;(b) FSQ2 对各种分析物(0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的紫外-可见光谱响应,包括:空白、 HSO_3^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 F^- 、 H_2PO_4^- 、 $^1\text{O}_2$ 、 AcO^- 、 OH^- 、 ONOO^- 、 HCO_3^- 、 NO_3^- 、 SO_3^{2-} 、 S^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 NO_2^- 、 Hcy 、 ClO^- 、 H_2O_2 、 SO_4^{2-} 、 HSO_4^- 、 Cys 、 GSH 、 CO_3^{2-} 、 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$

Fig.2 (a) UV-Vis spectra response of FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) toward HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Inset: Curve of the absorbance of FSQ2 at 487 nm versus HSO_3^- concentration. (b) UV-Vis spectra response of FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) towards various analytes (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) including: blank, HSO_3^- , Cl^- , Br^- , F^- , H_2PO_4^- , $^1\text{O}_2$, AcO^- , OH^- , ONOO^- , HCO_3^- , NO_3^- , SO_3^{2-} , S^{2-} , PO_4^{3-} , NO_2^- , Hcy , ClO^- , H_2O_2 , SO_4^{2-} , HSO_4^- , Cys , GSH , CO_3^{2-} , $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$

随后,评估了 FSQ2 对各种分析物的紫外-可见光谱响应,包括 FSQ2 、 HSO_3^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 F^- 、 H_2PO_4^- 、 $^1\text{O}_2$ 、 AcO^- 、 OH^- 、 ONOO^- 、 HCO_3^- 、 NO_3^- 、 SO_3^{2-} 、 S^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 NO_2^- 、 Hcy 、 ClO^- 、 H_2O_2 、 SO_4^{2-} 、 HSO_4^- 、 Cys 、 GSH 、 CO_3^{2-} 、 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ (图2(b))。只有添加 HSO_3^- 后才会导致 FSQ2 的吸收峰发生显著变化,而其他干扰物对 FSQ2 的吸收光谱影响可以忽略不计,表明探针 FSQ2 在复杂环境中具有较高的抗干扰性,可以对 HSO_3^- 特异性识别。

3.2 FSQ2 对 HSO_3^- 的荧光光谱响应

探究 FSQ2 对 HSO_3^- 的荧光光谱响应之前,首先评估了探针 FSQ2 的光学稳定性。结果表明, FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在PBS缓冲溶液($V_{\text{DMSO}}:V_{\text{PBS}}=1:9$, 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH=7.4)中的荧光强度在30 h内基本

保持不变(图S5),表明 FSQ2 具有良好的荧光稳定性。

在413 nm光的激发下, FSQ2 在625 nm处显示出较弱的荧光信号,随着 HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)浓度的不断增加, FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在625 nm处的荧光发射强度逐渐增强(图3(a))(荧光量子产率 $\Phi=0.343$)。当 HSO_3^- 的浓度达到平衡浓度0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, FSQ2 的荧光强度达到最高(图3(a)右上插图)。同时,从图3(b)中可以发现,当 HSO_3^- 的浓度在0~0.04 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间时, FSQ2 (5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在625 nm处的荧光强度与 HSO_3^- 的浓度具有良好的正相关线性关系。根据公式 $\text{LOD}=3\sigma/k$ 计算 FSQ2 的检测限为2.52 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ [24]。

接下来,探究了探针 FSQ2 对各种常见分析物

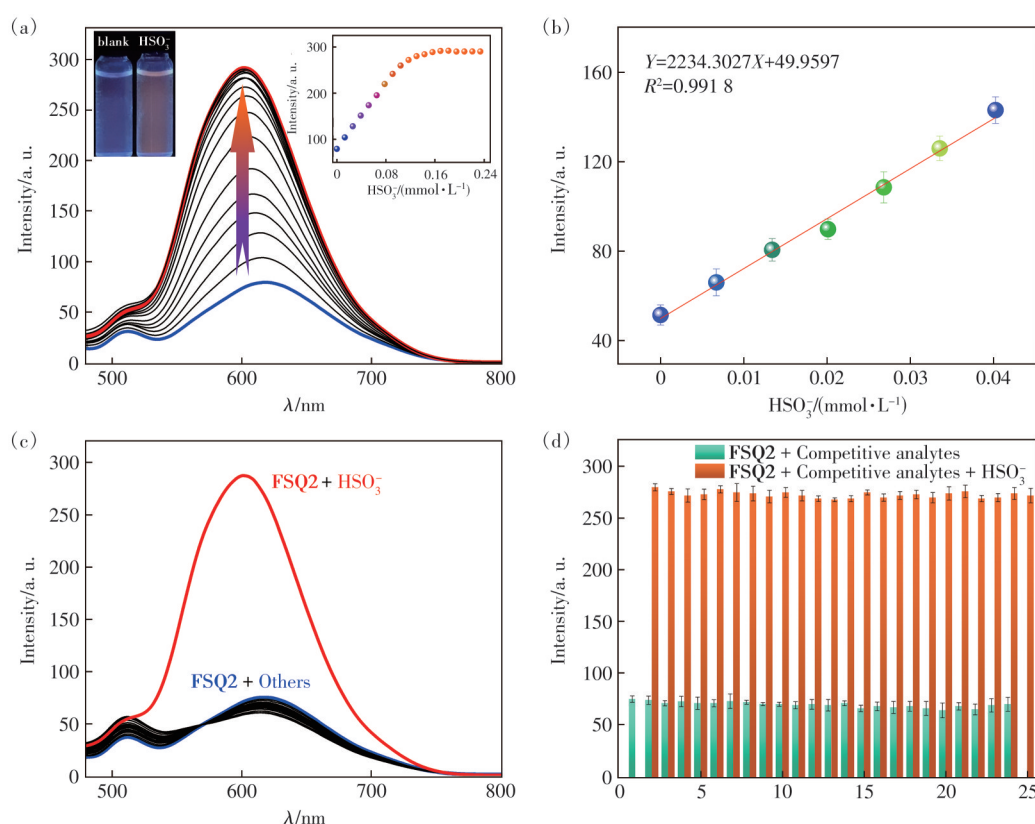


图3 (a)FSQ2对 HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的荧光光谱响应,插图:FSQ2的荧光强度对 HSO_3^- 浓度的曲线,激发波长413 nm; (b)FSQ2(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)与 HSO_3^- 浓度的线性关系曲线; (c)FSQ2对各种分析物(0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的荧光光谱响应,包括:1.空白,2. HSO_3^- ,3. Cl^- ,4. Br^- ,5. F^- ,6. H_2PO_4^- ,7. $^1\text{O}_2$,8. AcO^- ,9. OH^- ,10. ONOO^- ,11. HCO_3^- ,12. NO_3^- ,13. SO_3^{2-} ,14. S^{2-} ,15. PO_4^{3-} ,16. NO_2^- ,17.Hcy,18. ClO^- ,19. H_2O_2 ,20. SO_4^{2-} ,21. HSO_4^- ,22.Cys,23.GSH,24. CO_3^{2-} ,25. $\text{P}_2\text{O}_4^{7-}$; (d)在其他干扰物(0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)存在时,FSQ2(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对 HSO_3^- (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的荧光光谱响应

Fig.3 (a)UV-Vis spectra response of FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) toward HSO_3^- (0~0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). Inset: Curve of fluorescent intensities of FSQ2 versus HSO_3^- concentration. (b)Linear curves of fluorescence intensity (625 nm) with HSO_3^- concentrations. (c)Fluorescence spectra response of FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) toward common interfering analytes (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) including: 1. Blank, 2. HSO_3^- , 3. Cl^- , 4. Br^- , 5. F^- , 6. H_2PO_4^- , 7. $^1\text{O}_2$, 8. AcO^- , 9. OH^- , 10. ONOO^- , 11. HCO_3^- , 12. NO_3^- , 13. SO_3^{2-} , 14. S^{2-} , 15. PO_4^{3-} , 16. NO_2^- , 17. Hcy, 18. ClO^- , 19. H_2O_2 , 20. SO_4^{2-} , 21. HSO_4^- , 22. Cys, 23. GSH, 24. CO_3^{2-} , 25. $\text{P}_2\text{O}_4^{7-}$. (d)Fluorescence response of FSQ2 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) toward HSO_3^- (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) in the coexistence with other analytes (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

的荧光光谱响应。如图3(c)所示,只有加入 HSO_3^- 后FSQ2的荧光发射强度显著增强,而其他分析物种对FSQ2的光谱影响可以忽略不计,再次证实了FSQ2对 HSO_3^- 的特异性识别。另外,在其他竞争分析物存在时,探究了FSQ2对 HSO_3^- 的荧光响应。如图3(d)所示,添加了 HSO_3^- (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的FSQ2(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)溶液与其他分析物(0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)共存时的荧光强度(625 nm)与仅添加 HSO_3^- 的FSQ2溶液荧光强度基本相同。同时,FSQ2溶液仅在与 HSO_3^- 共存时才变成明显的橘红色荧光,通过“肉眼”再次验证了FSQ2对 HSO_3^- 的特异性识别(图S6)。结果表明,探针FSQ2对 HSO_3^- 的特异性识别具有在复杂环境中的强抗干扰能力。

探针FSQ2对分析物的响应时间也是探针性能的重要指标。因此,探究了探针FSQ2对 HSO_3^- 的荧光响应随时间的变化。如图4(a)所示,随着时间的延长,FSQ2(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)本身在625 nm处的发射强度在350 s内基本保持不变;然而,在加入 HSO_3^- (0.25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)后,FSQ2在625 nm处的荧光强度逐渐增强,并在250 s时达到最大值,这意味着探针FSQ2可以快速响应 HSO_3^- 。随后,探索了FSQ2对 HSO_3^- 检测的pH适用范围(图4(b))。首先检测了FSQ2(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在不同pH(3.0~11.5)条件下的荧光强度,发现探针FSQ2在3.0~10.5的pH范围内变化不大,表现出优异的稳定性;当

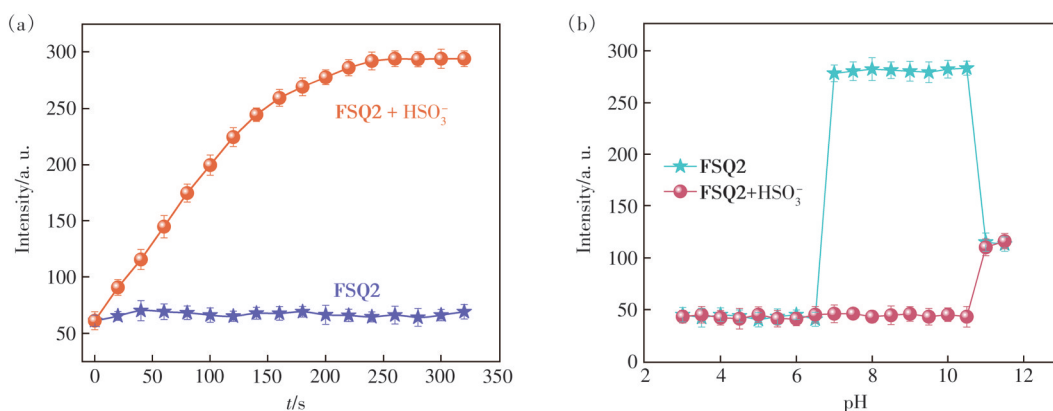


图4 (a)FSQ2对 HSO_3^- (0和 $0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的时间响应曲线;(b)在不同pH值(3.0~11.5)下,FSQ2($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对 HSO_3^- (0和 $0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的荧光响应

Fig.4 (a)Time-response experiment of FSQ2 ($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) towards HSO_3^- (0 and $0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). (b)Variation of the fluorescence intensity of FSQ2 ($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) towards HSO_3^- (0 and $0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) at different values of pH (3.0~11.5)

加入 HSO_3^- ($0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)后,探针FSQ2的荧光强度在7.0~10.5的pH范围内显著增加。因此,FSQ2适用于生理pH条件。

3.3 探针FSQ2对 HSO_3^- 的传感机制

为验证探针FSQ2对 HSO_3^- 的识别机制,对添加了 HSO_3^- 的FSQ2溶液进行了HR-MS分析。发现在 $m/z=478.0191$ 处出现了新的离子峰(图S4),该峰可归因于FSQ2与 HSO_3^- 发生亲核加成反应所生成的FSQ2- HSO_3^- (计算值; $m/z=478.0191$)。另外,通过 $^1\text{H NMR}$ 进一步探究了FSQ2对 HSO_3^- 的传感机制(图S8),在FSQ2中加入 HSO_3^- 后,在 $\delta=10.27$ 和 $\delta=10.29$ 处醛基H的信号峰明显向高场 $\delta=4.37$ 和 $\delta=4.40$ 移动,表明FSQ2的醛基与 HSO_3^- 发生了亲核加成反应。因此,通过HR-MS和 $^1\text{H NMR}$ 的实验结果有力地证实了图1(b)中提

出的传感机制。

3.4 食品和水样中 HSO_3^- 的检测

为了验证FSQ2在实际样品中对 HSO_3^- 的检测性能,对真实食品(白糖和白葡萄酒)进行了 HSO_3^- 检测。利用FSQ2的荧光强度曲线测得白糖和白葡萄酒中 HSO_3^- 的含量分别为 $17.99 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $13.19 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。然后,向白糖和白葡萄酒中添加不同浓度($10, 20, 30, 40, 50 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的 HSO_3^- 进行加标回收测定,两种食品的加标回收率在92.45%~103.80%范围内(表S1),表明FSQ2可用于实际食品中 HSO_3^- 的准确分析。

进一步将探针FSQ2制备成测试条以快速评估实际水样中的 HSO_3^- 水平。如图5(a)所示,随着 HSO_3^- 浓度($0\sim 2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的增加,自然光下基于FSQ2测试条的红棕色逐渐变成灰绿色。利用

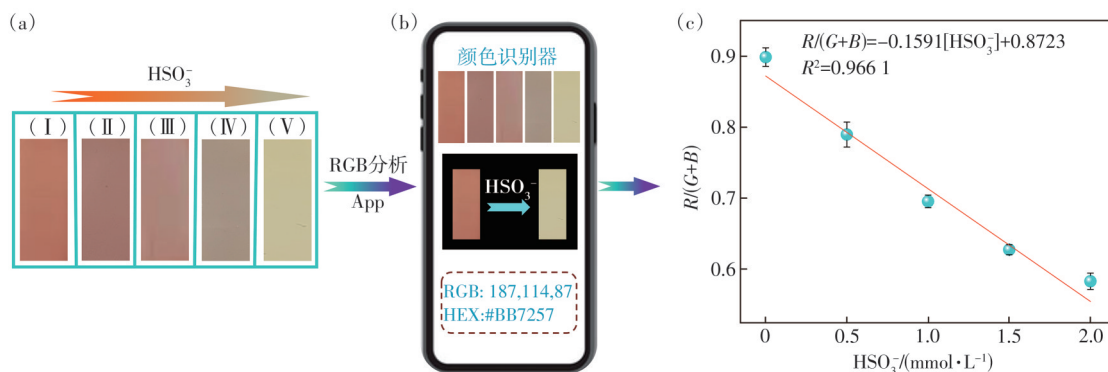


图5 (a)自然光下,基于FSQ2($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)测试条对不同浓度的 HSO_3^- (0, 0.5, 1.0, 1.5, $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的颜色响应;(b)通过智能手机的颜色识别器进行测试条颜色的RGB数值分析;(c)测试条颜色的 $R/(G+B)$ 值与 HSO_3^- 浓度的线性关系

Fig.5 (a) Under natural light, colorimetric responses of FSQ2 ($10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) towards different concentrations of HSO_3^- (0, 0.5, 1.0, 1.5, $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). (b) RGB analysis of FSQ2-based test strip color was performed using smartphone. (c) Curve of the $R/(G+B)$ value of test strip color versus HSO_3^- concentration

智能手机颜色识别器应用程序辅助提取其图片颜色的 RGB 值(图 5(b)),并将其 RGB 数值与 HSO_3^- 浓度绘制曲线。随着 HSO_3^- 浓度的增加, $R/(G+B)$ 的数值逐渐减小,并且 HSO_3^- 与 $R/(G+B)$ 存在良好的线性关系: $R^2=0.9796$ (图 5(c))。实验结果都表明,基于 **FSQ2** 的测试条可以快速定量检测实际水样中的 HSO_3^- 水平。

3.5 体内 HSO_3^- 的检测

首先通过 MTT 法评估了 **FSQ2** 的细胞毒性,

当 **FSQ2** 浓度达到 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细胞的存活率仍保持在 85% 以上(图 S7),表明 **FSQ2** 具有较低的细胞毒性。然后进行体内成像实验,如图 6(a) 所示,未处理和注射 **FSQ2** 之后的裸鼠腿部均没有明显的荧光信号。然而,向右腿原位注射 HSO_3^- 并且向左腿原位注射等量缓冲溶液之后,右腿的荧光信号强度逐渐增强,并于 15 min 时达到最大强度(图 6(b)),结果表明 **FSQ2** 可用于体内 HSO_3^- 的检测。

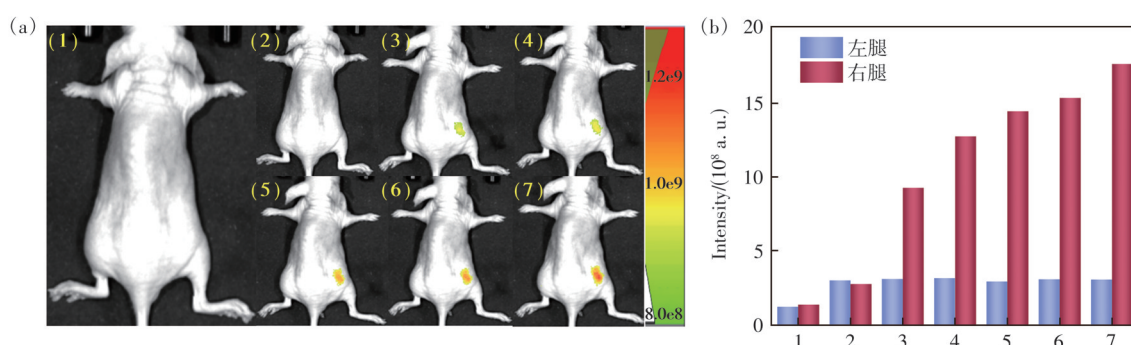


图 6 (a)裸鼠体内 HSO_3^- 的荧光成像,(1)空白裸鼠,(2)将 100 μL **FSQ2** ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 皮下注射到裸鼠的左右后腿,然后将 20 μL 的 HSO_3^- ($1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 进行原位注射,左腿注射等量缓冲溶液作为对照组,在 (3) 1, (4) 3, (5) 5, (6) 10, (7) 15 min 时拍摄的图像;(b)图(a)中注射部位的平均强度

Fig.6 (a) Fluorescent imaging of HSO_3^- in nude mice. (1) Blank mice, (2) 100 μL **FSQ2** ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was injected subcutaneously into the two hind legs of nude mice. Then, 20 μL HSO_3^- ($1\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) was injected *in situ*. Inject an equal amount of buffer solution into the left leg as the control group. Images were taken at (3) 1, (4) 3, (5) 5, (6) 10, (7) 15 min. (b) Average intensity of injection site in figure (a)

4 结 论

本文合成了一种检测 HSO_3^- 的增强型红光发射荧光探针(**FSQ2**)。探针 **FSQ2** 展现出优异的性能: Stokes 位移(212 nm)较大、灵敏度高($2.52\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和选择性好等。**FSQ2** 实现了对白糖和白葡萄酒中 HSO_3^- 的定量检测。基于探针 **FSQ2** 的测试条与智能手机结合,实现了实际水样中 HSO_3^- 的

定量分析。同时,探针 **FSQ2** 成功实现了活体内 HSO_3^- 的荧光成像检测。因此,探针 **FSQ2** 为理解人体中 HSO_3^- 的病理生理作用及环境监测提供了新方法,具有广阔的应用前景。

本文补充文件和专家审稿意见及作者回复内容的下载地址: <http://cjl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20250180>

参 考 文 献:

- [1] LI K, LI L L, ZHOU Q, *et al.* Reaction-based fluorescent probes for SO_2 derivatives and their biological applications [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2019, 388: 310-333.
- [2] ZHAO Y P, MA Y Y, LIN W Y. A near-infrared and two-photon ratiometric fluorescent probe with a large Stokes shift for sulfur dioxide derivatives detection and its applications *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2019, 288: 519-526.
- [3] KE X, WEI T, WEI G R, *et al.* Integrated process for zero discharge of coking wastewater: a hierarchical cycle-based innovation [J]. *Chem. Eng. J.*, 2023, 457: 141257.
- [4] HUANG Y F, ZHANG Y B, HUO F J, *et al.* A dual-targeted organelles SO_2 specific probe for bioimaging in related

- diseases and food analysis [J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, 433: 133750.
- [5] WINKLER C, FRICK B, SCHROECKSNADEL K, *et al.* Food preservatives sodium sulfite and sorbic acid suppress mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells [J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2006, 44(12): 2003-2007.
- [6] ZHANG Q, ZHANG Y, DING S S, *et al.* A near-infrared fluorescent probe for rapid, colorimetric and ratiometric detection of bisulfite in food, serum, and living cells [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2015, 211: 377-384.
- [7] PAUL S, GHOSH K, BHATTACHARYA M, *et al.* Detection of HSO_3^- : a rapid colorimetric and fluorimetric selective sensor for detecting biological SO_2 in food and living cells [J]. *ACS Omega* 2017, 2(12): 8633-8639.
- [8] JIANG Q, WANG Z L, LI M X, *et al.* A novel nopinone-based colorimetric and ratiometric fluorescent probe for detection of bisulfite and its application in food and living cells [J]. *Dyes Pigm.*, 2019, 171: 107702.
- [9] SHANG Z Y, LIU J H, HU Z Z, *et al.* A near-infrared fluorescence probe for the detection of bisulfite *in vivo* and food samples [J]. *Dyes Pigm.*, 2022, 200: 110119.
- [10] KALIMUTHU P, TKAC J, KAPPLER U, *et al.* Highly sensitive and stable electrochemical sulfite biosensor incorporating a bacterial sulfite dehydrogenase [J]. *Anal. Chem.*, 2010, 82(17): 7374-7379.
- [11] STIPANUK M H, UEKI I. Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur [J]. *J. Inher. Metab. Dis.*, 2011, 34(1): 17-32.
- [12] LIU F M, WANG Y L, WANG B, *et al.* Stabilized zirconia-based mixed potential type sensors utilizing MnNb_2O_6 sensing electrode for detection of low-concentration SO_2 [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2017, 238: 1024-1031.
- [13] KOCH M, KÖPPEN R, SIEGEL D, *et al.* Determination of total sulfite in wine by ion chromatography after in-sample oxidation [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58(17): 9463-9467.
- [14] VAHL J M, CONVERSE J E. Ripper procedure for determining sulfur dioxide in wine: collaborative study [J]. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1980, 63(2): 194-199.
- [15] 周金涛, 朱天翔, 尚主业, 等. 咪唑基近红外亚硫酸氢根荧光探针及其在水样和生物成像中的应用 [J]. *发光学报*, 2024, 45(12): 2066-2073.
- ZHOU J T, ZHU T X, SHANG Z Y, *et al.* Carbazole-based near-infrared bisulfite fluorescent probe and its applications in water sample and bioimaging [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2024, 45(12): 2066-2073. (in Chinese)
- [16] 尚主业, 舒丽, 王月, 等. 基于三苯胺的增强型 Fe^{3+} 荧光探针及性能 [J]. *发光学报*, 2022, 43(3): 453-461.
- SHANG Z Y, SHU L, WANG Y, *et al.* Synthesis and performances of triphenylamine based turn-on fluorescent probe for Fe^{3+} by an enhancement pattern [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2022, 43(3): 453-461. (in Chinese)
- [17] 何静, 杨心怡, 尚主业, 等. 近红外次氯酸荧光探针的构建及其类风湿性关节炎成像研究 [J]. *发光学报*, 2025, 46(7): 1333-1342.
- HE J, YANG X Y, SHANG Z Y, *et al.* Construction of near-infrared hypochlorous acid fluorescent probe and its imaging in rheumatoid arthritis [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2025, 46(7): 1333-1342. (in Chinese)
- [18] 徐衡, 杨萍, 桂乃成, 等. 基于喹啉基的噁二唑酮类荧光探针合成及对 Fe^{3+} 的识别 [J]. *发光学报*, 2022, 43(10): 1636-1644.
- XU H, YANG P, GUI N C, *et al.* Synthesis of oxadiazolidone fluorescent probes based on quinoline group and recognition of Fe^{3+} ions [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2022, 43(10): 1636-1644. (in Chinese)
- [19] 罗凡, 郑东滨, 阳志强, 等. 新型姜黄素衍生物荧光探针的合成及对半胱氨酸的选择性识别 [J]. *发光学报*, 2021, 42(11): 1810-1817.
- LUO F, ZHENG D B, YANG Z Q, *et al.* A novel curcumin derivatives fluorescent probe for selective recognition of cysteine [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2021, 42(11): 1810-1817. (in Chinese)
- [20] DUAN N, WANG H, LI Y N, *et al.* The research progress of organic fluorescent probe applied in food and drinking water detection [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, 427: 213557.
- [21] CHEN Z, ZHANG Z Y, QI J, *et al.* Colorimetric detection of heavy metal ions with various chromogenic materials: strategies and applications [J]. *J. Hazard Mater.*, 2023, 441: 129889.
- [22] LI Y F, LI H, DI G L. Ratiometric fluorescent probe with aggregation-induced emission features for monitoring HClO in living cells and zebra fish [J]. *New J. Chem.*, 2020, 44(33): 14286-14290.
- [23] YIN H Y, CHI H J, SHANG Z Y, *et al.* Development of a new water-soluble fluorescence probe for hypochlorous acid detection in drinking water [J]. *Food Chem.: Mol. Sci.*, 2021, 2: 100027.

- [24] SHANG Z Y, MENG Q T, TIAN D H, *et al.* Red-emitting fluorescent probe for hydrogen sulfide detection and its applications in food freshness determination and *in vivo* bioimaging [J]. *Food Chem.* , 2023, 427: 136701.



张月媛(1986-),女,河北保定人,博士研究生,2012年于大连理工大学获得硕士学位,主要从事分子识别与生物成像方面的应用研究。

E-mail: zhangyy202402@163. com



贾宏敏((1971-),女,辽宁辽阳人,博士,教授,2018年于辽宁科技大学获得博士学位,主要从事分子识别与生物成像方面的应用研究。

E-mail: jhongmin66@163. com



尚主业(1996-),男,辽宁鞍山人,博士,讲师,硕士生导师,2024年于辽宁科技大学获得博士学位,主要从事荧光分子探针智能识别与生物成像领域的研究。

E-mail: shangzhuye@ustl. edu. cn



孟庆涛(1981-),男,山东曲阜人,博士,教授,博士生导师,2011年于大连理工大学获得博士学位,主要从事生物及医用新材料方面(包括生物传感与生物成像材料、医用诊断与治疗材料和新型有机荧光染料)的应用基础研究。

E-mail: qtmeng@ustl. edu. cn