

文章编号: 1000-7032(2025)12-2383-09

次氯酸/联氨响应荧光探针构建及应用

李璐帆^{1†}, 乔子潇^{1†}, 方浩冉¹, 杨效登², 赵 伟³, 张 磊^{1*}, 王贝贝^{1*}

(1. 济宁学院 生命科学与工程学院, 山东 曲阜 273155;

2. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 化学与化工学院, 山东 济南 250353;

3. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 联氨(N_2H_4)与次氯酸根离子(ClO^-)作为高活性化学物质,在工业领域应用广泛。但过量使用会严重威胁环境、生态及人类健康。为评估 N_2H_4 和 ClO^- 引发的环境及食品危害,亟需高效方法实现其快速精准检测。本文报道了一种新型双响应比色/荧光探针5-((6-(二甲氨基)萘-2-基)亚甲基)-1,3-二乙基-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NSE),可检测环境、食物和生物样本中的 N_2H_4 与 ClO^- 。该探针对于二者显示出荧光开启响应、低检测限(N_2H_4 : 12 nmol/L; ClO^- : 21.2 nmol/L)及短响应时间。实际应用中,NSE被用于检测多种样品中的 N_2H_4 与 ClO^- 。负载NSE的便携式检测工具(棉签、测试条和棉线图案)能直观地、实时检测追踪 N_2H_4 与 ClO^- 。此外,NSE还可对细胞、拟南芥根部及洋葱表皮细胞中的 N_2H_4 与 ClO^- 成像,为监测环境、食物及生物样本中的 N_2H_4 与 ClO^- 提供了前景良好的工具。

关键词: 次氯酸根离子; 联氨; 比色/荧光探针; 食品样本; 便携式检测工具

中图分类号: O482.31 文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20250197 CSTR: 32170.14.CJL.20250197

Construction and Applications of Hypochlorous Acid/
Hydrazine-responsive Fluorescent ProbeLI Lufan^{1†}, QIAO Zixiao^{1†}, FANG Haoran¹, YANG Xiaodeng², ZHAO Wei³,ZHANG Lei^{1*}, WANG Beibei^{1*}

(1. School of Life Science and Bioengineering, Jining University, Qufu 273155, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences),
Jinan 250353, China;

3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

* Corresponding Authors, E-mail: zhangleijnx@163.com; 202310075@jnxu.edu.cn;

Abstract: Hydrazine (N_2H_4) and hypochlorite ions (ClO^-), as highly reactive chemical substances, have extensive applications across various industrial sectors. However, excessive usage of N_2H_4 and ClO^- poses a grave threat to the environment, ecosystems, and human health. To evaluate the environmental hazards caused by N_2H_4 and ClO^- , there is an urgent need for efficient approaches that can achieve rapid and precise detection of N_2H_4 and ClO^- . Here, we report a novel dual-responsive colorimetric/fluorescent probe, named 5-((6-(dimethylamino)naphthalen-2-yl)methylene)-1,3-diethyl-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1H,5H)-dione (NSE), capable of detecting N_2H_4 and ClO^- in environmental, food, and biological samples. This probe exhibits fluorescence turn-on response, along with low detection limits (N_2H_4 : 12 nmol/L; ClO^- : 21.2 nmol/L) and short response time. In practical applications, NSE has been employed to detect N_2H_4 and ClO^- in various samples. Portable detection tools loaded with NSE, including cotton swabs, test strips, cotton-thread patterns, enable intuitive and real-time detection of N_2H_4 and ClO^- . Moreover,

收稿日期: 2025-08-07; 修订日期: 2025-08-21

基金项目: 济宁学院百名卓越人才计划(2023ZYRC48)

Supported by Hundred Outstanding Talent Program of Jining University(2023ZYRC48)

†: 共同贡献作者

NSE can also be utilized for imaging N_2H_4 and ClO^- in cells, *Arabidopsis thaliana* roots, and onion epidermal cells. This presents a promising tool for monitoring N_2H_4 and ClO^- in environmental, food, and biological samples.

Key words: ClO^- ; N_2H_4 ; colorimetric/fluorescent probe; food samples; portable detection tools

1 引 言

联氨(N_2H_4)与次氯酸根离子(ClO^-)是工业生产常见物质,广泛用于农药、消毒剂等制备^[1-2]。联氨具有还原性与碱性,在多领域应用广泛^[3-4]。但它生物毒性高、不稳定,生产运输操作中会污染环境;水溶性好,易经口腔、皮肤侵入人体,危害肝脏等器官^[5-7]。WHO 认定其为可能致癌物,规定地表水和渔业用水中其安全阈值低于 312 nmol/L^[8]。次氯酸根是体内重要活性氧,对人体免疫影响显著,因强氧化性和抗菌性被用作漂白剂、消毒剂。但高浓度会引发眼和胃部不适,损害呼吸系统;其高反应性与非特异性使得其含量异常时,可能引发肾炎等多种疾病^[9-11]。因此,开发有效方法监测生物和环境系统中联氨与次氯酸根的浓度较为重要。

传统的 ClO^- 和 N_2H_4 检测方法包括电化学分析、色谱分析和毛细管电泳等。然而,这些检测方法需要特殊设备、复杂的样品处理过程、高成本,特别是对于活细胞或生物体内的 ClO^- 和 N_2H_4 分析,难以避免对细胞或组织的破坏^[12]。相比之下,荧光分析法因其高灵敏度、良好的选择性、经济性和操作简便等优点,适用于环境监测和疾病诊断^[13-16]。最近,联氨或次氯酸根响应荧光探针的研究取得了较好的成就^[17-19]。尽管这些荧光探针针对 ClO^- 或 N_2H_4 表现出优异的传感性能,但同时识别 ClO^- 和 N_2H_4 的传感器较少,而且该类探针存

在诸多缺陷,例如检测限较高、合成步骤复杂、缺乏基于智能手机的检测方法以及反应时间较长等,这些因素均限制了其广泛应用和实际使用(补充文件表 S1)。双响应荧光传感器能够通过一种材料以不同的荧光信号输出检测两种分析物,从而提高检测效率并降低合成成本^[20]。然而,这类传感器的实际应用仍面临挑战:受 ClO^- 与 N_2H_4 酸碱性质的制约,二者在多数情况下难以在中性条件下发挥作用。 N_2H_4 与水形成氢键后,其对探针的亲核性会被削弱;同时,共溶剂还会影响 ClO^- 和 N_2H_4 的溶解浓度。因此,目前能在生理条件下有效检测活细胞及生物体内 ClO^- 和 N_2H_4 浓度的探针较为匮乏。因此,开发一种能够识别和区分 ClO^- 和 N_2H_4 的高水溶性小分子荧光探针仍然备受期待。

本研究合理设计并合成了一种双响应化学传感器(NSE),该传感器通过萘甲醛与二乙基硫代巴比妥酸的缩合反应制备而成,能够以不同的荧光响应检测 ClO^- 和 N_2H_4 (图 1)。NSE 的 $\text{C}=\text{C}$ 键可被 ClO^- 氧化断裂形成醛结构,荧光从无变为绿色,具有高灵敏度和选择性。值得注意的是,NSE 还能与 N_2H_4 发生亲核加成反应,生成发射蓝色荧光的萘衍生物。因此,NSE 能够从不同的荧光发射通道检测 ClO^- 和 N_2H_4 。NSE 被应用于检测食物和环境样本中的 ClO^- 和 N_2H_4 。此外,NSE 已成功用于活细胞、洋葱表皮细胞和拟南芥根部 ClO^- 和 N_2H_4 的生物成像。

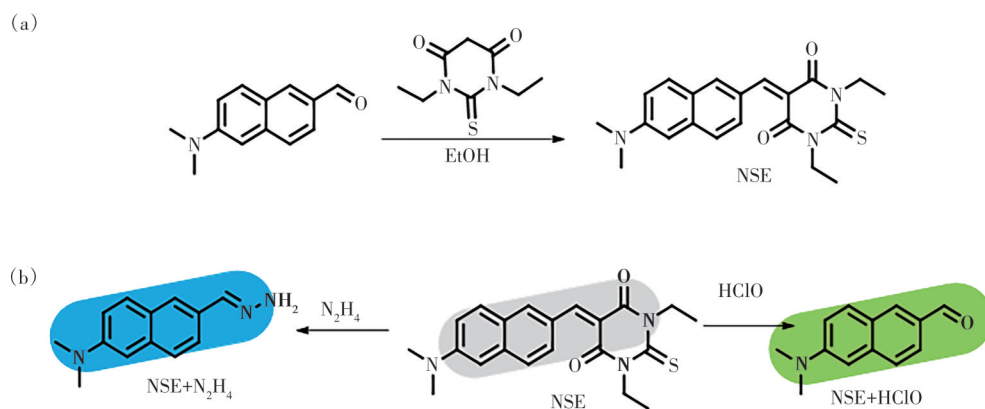


图 1 (a)NSE 的合成路线;(b)NSE 对次氯酸和肼的识别机理

Fig.1 (a)Synthetic route of NSE. (b)Recognition mechanism of NSE towards hypochlorous acid and hydrazine

2 实 验

2.1 仪器及试剂

6-(N,N-二甲基氨基)-2-萘醛和二乙基硫代巴比妥酸购自国药集团化学试剂有限公司(中国上海)。核磁共振谱图在德国布鲁克(Bruker Advance II 400 MHz)核磁共振谱仪上测得。高分辨率质谱(HRMS)图谱采用美国安捷伦(Agilent)科技有限公司(加利福尼亚州,美国)的7250仪器记录。吸收光谱和发射光谱分别使用日本岛津UV-2600分光光度计(京都,日本)和日本日立F-7000荧光分光光度计(东京,日本)进行测定。

2.2 探针NSE制备

将 6-(N,N-二甲基氨基)-2-萘醛(0.199 g, 10.0 mmol)、二乙基硫代巴比妥酸(0.2 g, 10.0 mmol)与 10 mL 乙醇混合, 倒入 100 mL 圆底烧瓶中, 在 80 °C 下搅拌 6 h。过滤得到深红色产物(NSE), 用乙醇洗涤, 并在真空条件下干燥, 最终获得产物总量为 0.26 g, 产率约为 80%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.69(s, 1 H), 8.61(s, 1 H), 8.31(d, J =8 Hz, 1 H), 7.82(d, J =8 Hz, 1 H), 7.56(d, J =8 Hz, 1 H), 7.12(d, J =8 Hz, 1 H), 6.82(s, 1 H), 4.60(t, J =8 Hz, 4 H), 3.16(s, 6H), 1.31~1.36(m, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 178.91, 161.72, 160.81, 159.06, 151.44, 140.22, 138.65, 132.11, 130.88, 126.72, 125.75, 125.30, 115.79, 114.13, 105.31, 44.14, 43.58, 40.35, 12.56, 12.48; HRMS (ESI⁺): calculated for C₂₁H₂₃N₃O₂S [M+H]⁺ 382.158 92, found 382.158 82(图 S1~S3)。

2.3 光谱测试

将 3.25 mg NSE 溶解于 DMSO 中, 配制成浓度为 10⁻³ mol/L 的母液。取 50 μ L 母液用 PBS (10 mmol/L, pH=7.4) 稀释至 5 mL, 获得 10 μ mol/L 的测试液。一氧化氮(NO)、超氧阴离子自由基(O₂^{-•})、过氧化氢(H₂O₂)、次氯酸(HClO)、硫代硫酸根(S₂O₃²⁻)、亚硫酸根(SO₃²⁻)、溴离子(Br⁻)、氯离子(Cl⁻)、乙酸根(CH₃COO⁻)、氟离子(F⁻)、亚硫酸氢根(HSO₃⁻)、亚硝酸根(NO₂⁻)、S₂O₄²⁻、S₂O₅²⁻、硫氰酸根(SCN⁻)、碳酸根(CO₃²⁻)、Pi、PPi、谷胱甘肽(GSH)、同型半胱氨酸(Hcy)、半胱氨酸(Cys)、氨(NH₃)以及联氨溶液均按文献[21]所述方法配制。在探针浓度为 10 μ mol/L 时记录吸收光谱和荧光光谱。联氨检测的激发波长为 340 nm, 次氯酸检测的激发波长为 430 nm, 激发和发射狭缝宽度均

设置为 5 nm。

2.4 细胞成像

采用已报道的方法^[22]对 RAW264.7 细胞进行培养。对于对照组, 将细胞与 10 μ mol/L 的 NSE 共同培养 30 min。进行共聚焦成像时, 先以不同浓度(10, 20 μ mol/L)的联氨或次氯酸处理细胞, 随后加入 10 μ mol/L 的 NSE。接着, 用 PBS(10 mmol/L, pH=7.4)洗涤细胞三次, 并使用共聚焦荧光显微镜记录细胞图像。检测联氨时, 激发波长(λ_{ex})为 405 nm, 发射波长(λ_{em})范围为 440~480 nm(蓝色通道); 检测次氯酸时, 激发波长(λ_{ex})为 405 nm, 发射波长(λ_{em})范围为 520~560 nm(绿色通道)。

2.5 拟南芥成像

将拟南芥种子置于 MS 培养基上, 在 22 °C 下培养两周以获得拟南芥幼苗。随后, 用不同浓度(10, 20 μ mol/L)的联氨和次氯酸溶液处理拟南芥根组织 4 h。接着, 将根组织与 10 μ mol/L NSE 共同孵育 2 h。用 PBS(10 mmol/L, pH=7.4)溶液洗涤三次后, 使用共聚焦显微镜对根组织进行荧光成像。

3 结果与讨论

3.1 探针NSE对次氯酸和联氨的响应光谱

在 PBS(10 mmol/L, pH=7.4) 中测定了 NSE 探针对次氯酸(HClO)和联氨(N₂H₄)的比色性能和吸收特性。NSE(10 μ mol/L)在可见光区 543 nm 处出现显著吸收带(图 S4(a)), 这归因于给体- π -受体(D- π -A)共轭结构及其分子内电荷转移(ICT)过程^[23]。与 10 μ mol/L N₂H₄反应后, 543 nm 处的吸收峰显著减弱直至完全消失, 同时 322 nm 处出现新吸收峰, 且 NSE 探针溶液颜色由深红色变为无色。在 PBS(10 mmol/L, pH=7.4) 中还测定了 NSE 探针对 HClO 的光谱响应。加入 10 μ mol/L HClO 后, 534 nm 处吸收带减弱, 364 nm 处出现新吸收中心, 溶液颜色由深红色变为无色。

此外, 在相同条件下测定了 10 μ mol/L NSE 探针的发射光谱。加入 N₂H₄后, NSE 在 448 nm 处的弱发射随 N₂H₄浓度(0~10 μ mol/L)增加而显著增强(图 2(a)), 当 N₂H₄浓度为 10~20 μ mol/L 时, 发射强度达到稳定状态。测试溶液中 NSE 与联氨反应产物的发射光谱与反应瓶中单独制备的 NSE-N₂H₄加合物的发射光谱一致, 进一步验证了所提出的传感机制的有效性(图 S5(a))。在 365 nm 紫外灯照射下, 20 μ mol/L N₂H₄存在时, 溶液发出蓝色荧光(图 S4(b)插图), 且在 0~10 μ mol/L 范

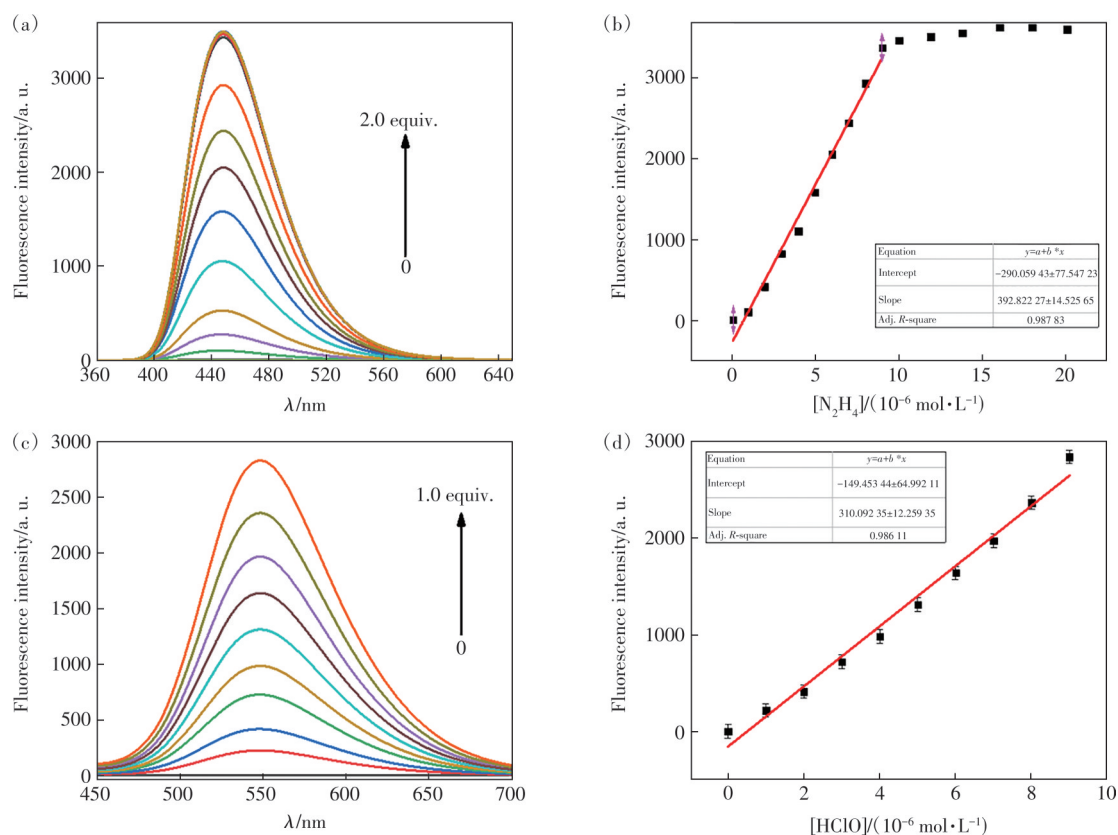


图2 不同胍浓度(激发波长 $\lambda_{\text{ex}}=340\text{ nm}$)(a)和不同次氯酸(HClO)浓度(激发波长 $\lambda_{\text{ex}}=430\text{ nm}$)(c)下NSE探针($10\text{ }\mu\text{mol/L}$)的发射光谱;(b) N_2H_4 ($0\sim 20\text{ }\mu\text{mol/L}$)浓度与荧光强度在448 nm处的拟合曲线;(d)次氯酸(HClO, $0\sim 10\text{ }\mu\text{mol/L}$)浓度与荧光强度在548 nm处的拟合曲线

Fig.2 Emission spectra of NSE($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) at hydrazine concentrations ($\lambda_{\text{ex}}=340\text{ nm}$)(a) and hypochlorous acid(HClO) concentrations ($\lambda_{\text{ex}}=430\text{ nm}$)(c). (b) Fitted curve of fluorescence intensity at 448 nm *via* hydrazine concentration ($0\sim 20\text{ }\mu\text{mol/L}$). (d) Fitted curve of fluorescence intensity at 548 nm *via* hypochlorous acid concentration (HClO, $0\sim 10\text{ }\mu\text{mol/L}$)

围内,荧光强度与 N_2H_4 浓度呈良好线性关系(图2(b))。在该条件下,检测限为 12 nmol/L ($\text{LOD}=3\sigma/k$, σ 为空白样品的标准偏差, k 为线性方程的斜率)^[24]。添加 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ HClO 时也观察到类似现象,主要区别在于发射波长为 548 nm (绿色荧光)。NSE 探针与 HClO 反应后的荧光光谱与 NSE-CHO 的光谱一致(图 S5(b)),表明 NSE 对 HClO 的传感机制为 $\text{C}=\text{C}$ 键断裂生成醛基,从而减弱 ICT 过程,导致绿色荧光出现。 548 nm 处发射强度与 $0\sim 10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 范围内 HClO 浓度呈良好的线性相关($R^2=0.986\ 11$)(图 2(c)、(d)),检测限为 21.2 nmol/L ,表明 NSE 探针可通过测量发射强度变化监测体外低浓度 HClO。

通过测试 NSE 探针对 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ 各种潜在干扰物(NO 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 HClO 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 SO_3^{2-} 、 Br^- 、 Cl^- 、 CH_3COO^- 、 F^- 、 HSO_3^- 、 NO_2^- 、 $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ 、 SCN^- 、 CO_3^{2-} 、 Pi 、 PPi 、 GSH 、 Hcy 、 Cys 、 NH_3 及 N_2H_4) 的响应,验证了 NSE 探针的选择性。如图 S6(a)~(b) 所示,仅

添加 N_2H_4 和 HClO 时,发射光谱发生明显变化,而添加其他潜在干扰物时,荧光光谱无显著变化。这些结果表明,NSE 探针即使在复杂环境和食品样品中也能准确监测 HClO 和 N_2H_4 。反应时间是评估 NSE 探针传感性能的另一个重要参数。我们研究了其荧光强度随时间的变化。如图 S7 所示,添加 HClO 后,发射强度逐渐增强, 100 s 后达到峰值;添加 N_2H_4 后, 5 s 内发射强度即达峰值。其次,还研究了 NSE 探针的光稳定性。在光连续照射 1 h 后,HClO 或 N_2H_4 的发射强度无明显变化(图 S8),表明其具有优异的抗光漂白稳定性。研究了 pH 值在 $4.0\sim 10.0$ 范围内对 NSE 探针与 N_2H_4 和 HClO 反应时发射强度的影响(图 S9)。NSE 探针对 N_2H_4 的响应在 $\text{pH}=4.0\sim 6.0$ 范围内不是最佳的,而在 $\text{pH}=7.0\sim 10.0$ 范围内稳定高效。另一方面,加入次氯酸后,NSE 探针荧光强度发生明显增强。这些结果证实,NSE 探针适用于生理条件下 HClO 和 N_2H_4 的检测。

3.2 响应机制验证

通过高分辨质谱(HRMS)验证了NSE与HClO或 N_2H_4 之间的反应。图S10(a)~(b)展示了NSE- N_2H_4 和NSE-HClO的高分辨质谱分析结果,其分子离子峰分别位于 m/z 214.134 04[NSE+ N_2H_4+H] $^+$ 和 m/z 200.107 14[NSE-CHO] $^+$ 。如图S11(a)所示,当NSE与次氯酸(HClO)反应时,核磁共振(NMR)谱在10.01处出现一个新峰,该峰归属于醛基,且原本位于12.35,12.30,8.76处的峰消失,这表明硫代巴比妥酸被次氯酸氧化生成了醛基。此外,为探究NSE与水合肼(N_2H_4)之间的反应,对核磁共振谱进行了测定(图S11(b))。核磁共振谱中8.41和1.34处出现新峰,同时12.35,12.30,8.76处的峰消失,这表明NSE中的碳碳双键($C=C$)可被亲核性的水合肼破坏,进而形成脞基。由此可见, N_2H_4 和HClO可特异性地与NSE探针的二乙基硫代巴比妥酸部分反应,通过断裂 $C=C$ 键生成相应的醛基和脞基,破坏原有的 $\pi-\pi$ 共轭体系,进而改变荧光信号。NSE对 N_2H_4 和HClO的传感机制如图1所示。

3.3 智能手机应用与试纸检测

利用NSE探针优异的光学传感特性,开发了一种基于智能手机的检测方法,用于现场实时测

定 N_2H_4 和HClO的浓度。NSE探针溶液在日光下呈暗红色,在365 nm紫外灯下发出微弱荧光。随后,研究了NSE溶液(10 $\mu\text{mol/L}$)对不同浓度 N_2H_4 (0,5,10,15,20 $\mu\text{mol/L}$)和HClO(0,2,4,6,8 $\mu\text{mol/L}$)的响应情况。如图3所示,随着分析物浓度的变化,NSE探针溶液发生变色,并伴随出现蓝色(N_2H_4)或绿色(HClO)荧光。利用智能手机应用程序(ColorAssist)收集红、绿、蓝(RGB)强度值,用于记录荧光变化与HClO或 N_2H_4 浓度的关系。结果显示,蓝色(B)值与 N_2H_4 浓度($R^2=0.9826$)、绿色(G)值与HClO浓度($R^2=0.9874$)之间均呈现良好的线性关系。利用ColorAssist应用程序计算得出HClO和 N_2H_4 的检测限分别为0.021 $\mu\text{mol/L}$ 和0.016 $\mu\text{mol/L}$ 。这些结果表明,基于智能手机传感平台该探针具有用于环境样品中 N_2H_4 和HClO检测的潜力。

制备了基于NSE的便携式传感器用于快速检测联氨和次氯酸^[25]。试纸条、棉签以及棉线编制的图案在与 N_2H_4 或HClO接触前无荧光(图4)。然而,暴露于HClO时,在日光下颜色由红色变为无色,并在365 nm紫外光下发出绿色荧光。同样,暴露于 N_2H_4 时,便携式传感器也出现明显的颜色和荧光变化。为探究可能存在的干扰,在其他分析物存在下进行了相同传感条件下的测试。如图S12所示,在该情况下未观察到颜色和荧光变化。此外,还研究

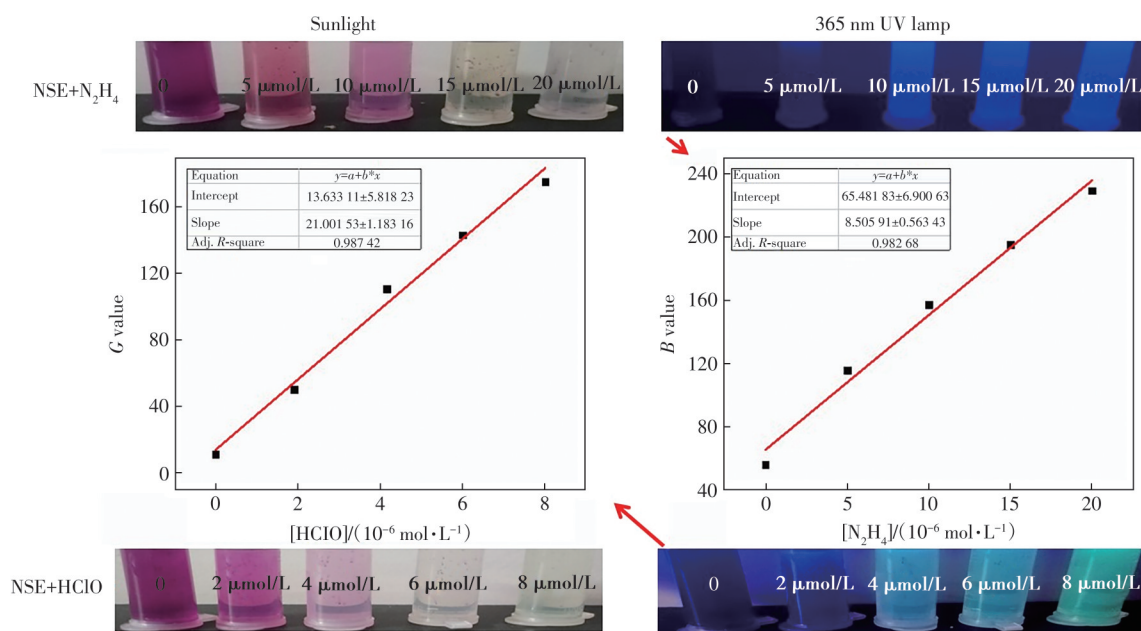


图3 在阳光或365 nm紫外灯下,10 $\mu\text{mol/L}$ NSE与不同浓度 N_2H_4 或HClO共存时的照片,监测 N_2H_4 或HClO浓度与B值或G值的拟合曲线

Fig.3 Photographs of 10 $\mu\text{mol/L}$ NSE in the presence of varying concentrations of N_2H_4 or HClO under sunlight or 365 nm UV lamp. Fitting curves of N_2H_4 concentration via B value and of HClO concentration via G value

了储存时间和温度的影响。在此情况下,一周内(图 S13)和 $-5\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度范围内(图 S14),便携式传

感器均未发生变化。其次, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,棉签在不同湿度下,荧光强度变化不明显(图 S15)。

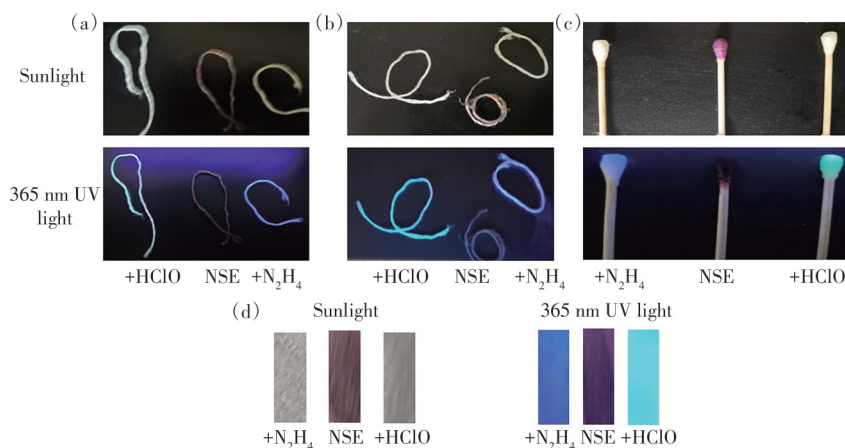


图 4 便携式传感器制备。(a)~(b)棉线编制的图案;(c)棉签;(d)试纸条

Fig.4 Preparation of the portable sensor. (a)~(b)Patterns woven with cotton thread. (c)Cotton swab. (d)Test strip

3.4 NSE 在环境和食品样品中的应用

采用NSE探针测定了土壤样品中 N_2H_4 和 HClO 的浓度。经探针预处理的土壤样品提取液荧光信号较弱。向土壤样品中添加 N_2H_4 或 HClO 后,可观察到明显的荧光变化且荧光强度随浓度增加呈逐渐增强趋势(图 5(a))。此外,还在苹果、香蕉和胡萝卜样

品中进行了 N_2H_4 或 HClO 的检测。如图 5(b)所示,经 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ NSE 处理的食物样品荧光较弱;暴露于 N_2H_4 或 HClO ($20\text{ }\mu\text{mol/L}$)后,食品样品表面分别呈现出显著的蓝色或绿色荧光。这些结果证实了该探针在监测食品和植物样品中 N_2H_4 或 HClO 的可行性,为食品安全和环境保护提供了新工具。

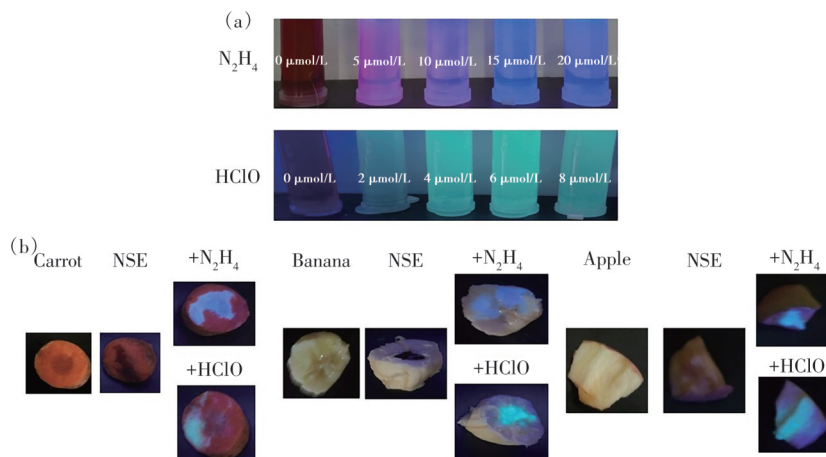


图 5 NSE 在土壤和食品样品中的应用。(a)NSE($10\text{ }\mu\text{mol/L}$)在含有不同浓度 N_2H_4 或 HClO 的土壤提取液中的荧光变化;(b)NSE($10\text{ }\mu\text{mol/L}$)在喷洒有 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ N_2H_4 或 HClO 的食物样品中荧光变化

Fig.5 Application of NSE in soil and food samples. (a)Fluorescence changes of NSE ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) in soil extracts containing different concentrations of N_2H_4 or HClO . (b)Fluorescence changes of NSE ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) on food samples sprayed with $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ N_2H_4 or HClO

3.5 活细胞和植物中联氨与次氯酸成像

为评估NSE探针在生物样品中实际应用的可能性,有必要对其相关细胞毒性进行测试。通过标准方法(MTT法)对NSE探针在RAW 264.7细胞中的细胞毒性进行检测。在不同NSE浓度(5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{mol/L}$)下获得的实验结果表明,该探

针毒性较低:24 h后,超过90%的细胞仍然存活(图 S16)。首先,仅用NSE($10\text{ }\mu\text{mol/L}$, 30 min)培养细胞,与预期一样,未检测到荧光发射。随后,先将细胞用不同浓度(10, 20 $\mu\text{mol/L}$)的 N_2H_4 或 HClO 溶液处理30 min,然后再用NSE($10\text{ }\mu\text{mol/L}$)孵育30 min。在405 nm激发波长下,细胞中可观

观察到明显的荧光发射信号。在所研究的浓度范围内, 荧光发射强度随 N_2H_4 或 HClO 浓度的增加而

增强(图 6)。上述结果证实了 NSE 探针可用于活细胞中 N_2H_4 或 HClO 的监测。

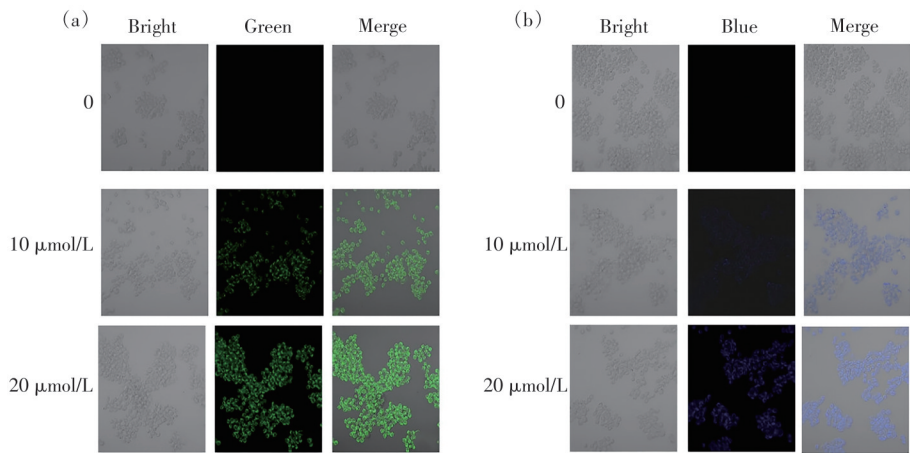


图 6 NSE(10 $\mu\text{mol/L}$)监测 RAW 264.7 细胞中不同浓度的 N_2H_4 或 HClO 。(a) HClO ;(b) N_2H_4

Fig.6 NSE (10 $\mu\text{mol/L}$) for monitoring different concentrations of (a) HClO and (b) N_2H_4 in RAW 264.7 cell

NSE 探针也被应用于监测植物样品中 N_2H_4 或 HClO 的浓度。首先, 仅用 NSE 探针 (10 $\mu\text{mol/L}$, 30 min) 孵育拟南芥根, 未观察到荧光(图 7)。然后, 用不同浓度 (10, 20 $\mu\text{mol/L}$) 的 N_2H_4 或 HClO 孵

育根 30 min, 可观察到明显的荧光发射, 且荧光强度与分析物浓度成正比。在洋葱表皮细胞中也获得了类似结果(图 8)。这些结果证实了 NSE 探针在植物中对 N_2H_4 或 HClO 进行成像的优异性能。

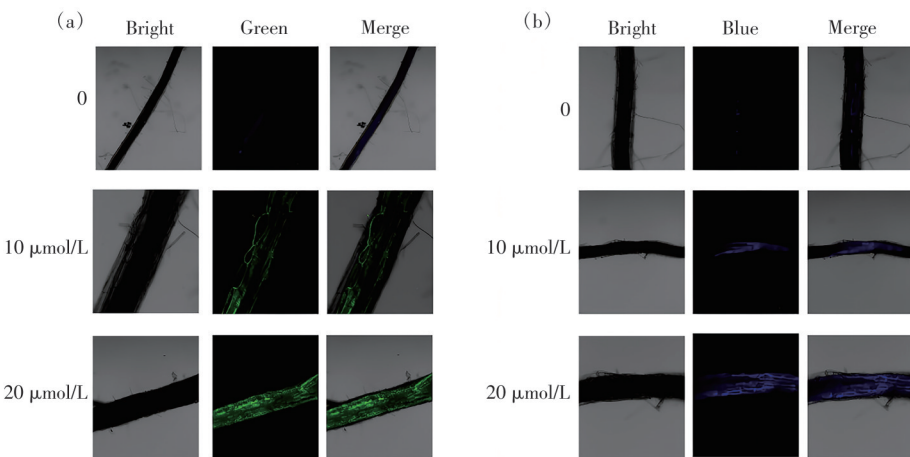


图 7 NSE(10 $\mu\text{mol/L}$)监测拟南芥根部中 N_2H_4 或 HClO 的浓度。(a) HClO ;(b) N_2H_4

Fig.7 NSE(10 $\mu\text{mol/L}$) for monitoring (a) HClO (0, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) and (b) N_2H_4 (0, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) in arabidopsis thaliana

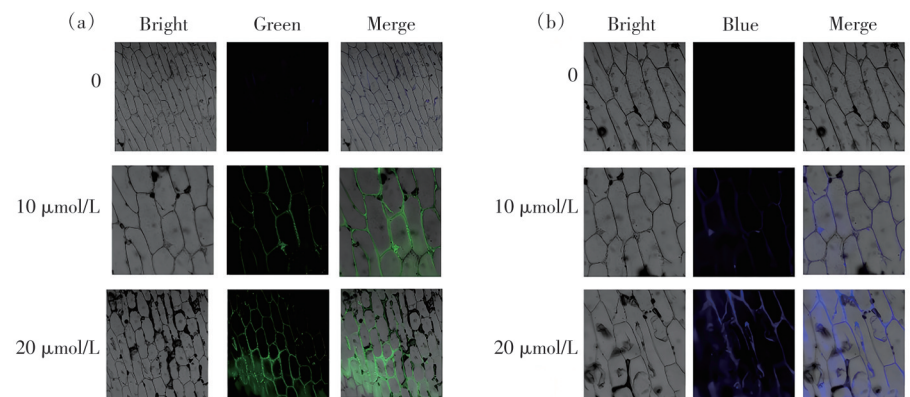


图 8 NSE(10 $\mu\text{mol/L}$)监测洋葱表皮细胞中 N_2H_4 或 HClO 的浓度。(a) HClO ;(b) N_2H_4

Fig.8 NSE (10 $\mu\text{mol/L}$) for monitoring (a) HClO (0, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) and (b) N_2H_4 (0, 10, 20 $\mu\text{mol/L}$) in onion epidermal cells

4 结 论

本文制备了一种基于二乙基硫代巴比妥酸和 6-二甲氨基-2-萘醛的新型萘基荧光探针,该探针对 N_2H_4 或 HClO 具有敏感性。由于在 N_2H_4 或 HClO 存在时,分析物会选择性地诱导探针分子中碳碳双键 ($\text{C}=\text{C}$) 发生断裂,从而导致探针的荧光和溶液颜色改变。NSE 探针的发射强度与 N_2H_4 或 HClO 的含

量呈现出良好的线性关系。此外,我们还开发了基于 NSE 的便携式传感器和智能手机检测应用程序,以获得低成本智能标签。NSE 也被用于监测活细胞、植物组织和食品样品中 N_2H_4 或 HClO 的浓度。

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.20250197>

参 考 文 献:

- [1] XIE R R, XIAO Y, WANG Z W, *et al.* Hydrazine-halogen exchange strategy toward $\text{N}=\text{N}$ -containing compounds and process tracking for mechanistic insight [J]. *Org. Lett.*, 2023, 25(14): 2415-2419.
- [2] GAO Y M, ZHANG L F, CAO F P, *et al.* Hydrothermal synthesis of blue-emitting silicon quantum dots for fluorescent detection of hypochlorite in tap water [J]. *Anal. Methods*, 2016, 8(13): 2723-2728.
- [3] MA J H, FAN J L, LI H D, *et al.* Probing hydrazine with a near-infrared fluorescent chemodosimeter [J]. *Dyes Pigm.*, 2017, 138: 39-46.
- [4] LI J, LIN X Q. Electrocatalytic oxidation of hydrazine and hydroxylamine at gold nanoparticle-polypyrrole nanowire modified glassy carbon electrode [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2007, 126(2): 527-535.
- [5] LI T, LIU J, SONG Z J, *et al.* A hemicyanine-based fluorescent probe for hydrazine detection in aqueous solution and its application in real time bioimaging of hydrazine as a metabolite in mice [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2019, 7(20): 3197-3200.
- [6] CARROD S, BOLLARD M E, NICHOLLS A W, *et al.* Integrated metabonomic analysis of the multiorgan effects of hydrazine toxicity in the rat [J]. *Chem. Res. Toxicol.*, 2005, 18(2): 115-122.
- [7] LI X Y, LI C X, LI C Y, *et al.* A novel perspective on the preventive treatment of hydrazine compound-induced liver injury: isoniazid liver injury as an example [J]. *J. Ethnopharmacol.*, 2023, 315: 116616.
- [8] 张应鹏, 李星星, 杨云裳, 等. 基于可视化检测肼的吡唑类荧光猝灭型探针 [J]. *无机化学学报*, 2025, 41(7): 1301-1308.
ZHANG Y P, LI X X, YANG Y S, *et al.* A pyrazole-based turn-off fluorescent probe for visual detection of hydrazine [J]. *J. Inorg. Mater.*, 2025, 41(7): 1301-1308. (in Chinese)
- [9] YAN K C, SEDGWICK A C, ZANG Y, *et al.* Sensors, imaging agents, and theranostics to help understand and treat reactive oxygen species related diseases [J]. *Small Methods*, 2019, 3(7): 1900013.
- [10] WANG Y, XIA J C, HAN J, *et al.* A fast-responsive fluorescent probe based on BODIPY dye for sensitive detection of hypochlorite and its application in real water samples [J]. *Talanta*, 2016, 161: 847-853.
- [11] 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)
- [12] 吴江, 郑先鸿, 高敏, 等. 一种特异性识别次氯酸新型喹啉-苯甲酰胺荧光探针的合成 [J/OL]. *合成化学*, 2025-10-24. <https://doi.org/10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.20250068>.
WU J, ZHENG X H, GAO M, *et al.* Synthesis of a novel quinoline-benzamide fluorescent probe for specific recognition of hypochlorous acid [J/OL]. *Chin. J. Synthetic Chem.*, 2025-10-24. <https://doi.org/10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.20250068>. (in Chinese)
- [13] ZHANG C L, LIU C, NIE S R, *et al.* Two novel fluorescent probes based on quinolinone for continuous recognition of Al^{3+} and ClO^- [J]. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2023, 300: 122917.
- [14] ZHANG S A, LONG Y, ZHANG P H, *et al.* Ultra-transparent $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3\text{:Cr}^{3+}$ glass-ceramics enabling high-efficiency true-transmission near-infrared light-emitting diodes [J]. *J. Adv. Ceram.*, 2025, 14(5): 9221075.
- [15] 孙新峰, 朱奕妍, 解晓华, 等. 香豆素席夫碱类肼荧光探针的合成及性能研究 [J]. *化学试剂*, 2024, 46(10): 52-57.

- SUN X F, ZHU Y Y, XIE X H, *et al.* Synthesis and properties of hydrazine fluorescent probe based on coumarin Schiff base [J]. *Chem. Reagents*, 2024, 46(10): 52-57. (in Chinese)
- [16] 王汉林, 郑汉, 黄杰勋, 等. 一种可视化检测胂的苯并噻唑类荧光增强型探针 [J]. *无机化学学报*, 2024, 40(2): 353-360.
- WANG H L, ZHENG H, HUANG J X, *et al.* A Benzoxazole-based turn-on fluorescent probe for visual detection of N_2H_4 [J]. *Chin. J. Inorg. Chem.*, 2024, 40(2): 353-360. (in Chinese)
- [17] KONG Y Y, HAN D, SHI X Y, *et al.* A dual-channel fluorescent probe for differential detection of $HClO$ and N_2H_4 [J]. *J. Mol. Struct.*, 2025, 1321: 140176.
- [18] TENG Z X, SHANGGUAN H M, LIU H F, *et al.* Design, synthesis and application of dual-channel fluorescent probes for ratiometric detection of $HClO$ and H_2S based on phenothiazine coumarins [J]. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2024, 316: 124312.
- [19] WANG B B, HE W M, LI X L, *et al.* Engineering a fluorescent probe for the visual and wearable detection of N_2H_4 in foods, environment samples and biological imaging [J]. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2025, 327: 125365.
- [20] ZHANG P S, WANG H, ZHANG D, *et al.* Two-photon fluorescent probe for lysosome-targetable hypochlorous acid detection within living cells [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2018, 255: 2223-2231.
- [21] LIANG Y Y, XU T T, YUE X Y, *et al.* A near-infrared ratiometric fluorescent probe for simultaneous detection of hydrazine and hypochlorous acid in biological systems and its portable detection in environmental samples using a smartphone [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2025, 488: 137425.
- [22] QU W B, GUO T Y, YANG B, *et al.* Tracking $HOCl$ by an incredibly simple fluorescent probe with AIE plus ESIPT *in vitro* and *in vivo* [J]. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2022, 281: 121649.
- [23] SONG H H, ZHOY Y M, XU C G, *et al.* A dual-function fluorescent probe: sensitive detection of water content in commercial products and rapid detection of hypochlorite with a large Stokes shift [J]. *Dyes Pigm.*, 2019, 162: 160-167.
- [24] 张成路, 暴金迪, 于丰铭, 等. 以噻唑啉酮为核心高选择高灵敏识别次氯酸根离子的荧光探针的合成及应用 [J]. *应用化学*, 2021, 38(8): 986-994.
- ZHANG C L, BAO J D, YU F M, *et al.* Synthesis and application of a fluorescence probe with quinazolinone as the core block for highly selective and sensitive detection of hypochlorite ion [J]. *Chin. J. Appl. Chem.*, 2021, 38(8): 986-994. (in Chinese)
- [25] ZHANG S A, LI Z Z, YE H C, *et al.* Data mining evoking scintillators auto-discovery for low-LoD high-resolution deep-penetrating X-ray imaging of portable digital radiography [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2025, 35(7): 2415220.



李璐帆(2005-),女,山东泰安人,在读本科生,主要从事荧光传感器相关的研究。

E-mail: 19712195229@163.com



张磊(1980-),男,山东蒙阴县人,博士,讲师,2011年于南京农业大学获得博士学位,主要从事荧光传感器的构建及功能性食品的研究。

E-mail: zhangleijnxy@163.com



乔子潇(2006-),女,山东济宁人,在读本科生,主要从事荧光传感器相关的研究。

E-mail: 13176198665@163.com



王贝贝(1990-),女,山东济宁人,博士,讲师,2023年于江南大学获得博士学位,主要从事荧光传感器的构建及性能的研究。

E-mail: 202310075@jnxu.edu.cn