

用于亚硒酸钠检测的近红外荧光探针的设计合成及其应用研究

张迪¹, 李漫¹, 郭洁¹, 马志伟^{1,2}, 魏亮亮¹, 王铁良^{1*}, 刘继红¹

(1. 河南省农业科学院, 农业质量标准与检测技术研究所, 郑州 450002; 2. 河南牧业经济学院理学院, 郑州 450046)

摘要: **目的** 建立一种基于近红外荧光探针的亚硒酸钠检测方法。**方法** 基于荧光探针的构建方法, 在近红外荧光团中引入乙酰丙氨酸基对荧光团结构中羟基进行保护并淬灭荧光, 设计并合成荧光增强型近红外探针 SeP1, 通过核磁氢谱(¹hydrogen-nuclear magnetic resonance, ¹H NMR)、核磁碳谱(¹³carbon-nuclear magnetic resonance, ¹³C NMR)和高分辨质谱法(high resolution mass spectrometry, HRMS)的确证其化学结构, 通过荧光光谱法研究探针 SeP1 对亚硒酸钠的识别效果。**结果** 在多种分析物中, 探针 SeP1 对亚硒酸钠具有高效专一的荧光选择性, 其最大荧光发射在近红外区(657 nm), 能够克服基质中常见背景荧光干扰。在其他常见阴离子存在的情况下, 具有较强的抗干扰能力并能够对亚硒酸钠实现裸眼识别。该探针对亚硒酸钠的最低检测限为 0.068 μmol/L。其原理是: 当亚硒酸根离子与探针结构中乙酰丙基基团发生特异性反应后, 使得探针结构中羟基脱保护重新生成带有羟基的中间体 1, 释放出强烈的荧光, 通过高分辨质谱进一步确证了上述识别机制。**结论** 该探针对亚硒酸钠具有高效专一的识别能力, 并成功的应用于饮用水中亚硒酸钠加标回收检测, 具备较强的实用性。

关键词: 荧光探针; 亚硒酸钠; 乙酰丙氨酸基; 近红外

Design, synthesis and application of a near infrared fluorescent probe for the detection of sodium selenite

ZHANG Di¹, LI Man¹, GUO Jie¹, MA Zhi-Wei^{1,2}, WEI Liang-Liang¹, WANG Tie-Liang^{1*}, LIU Ji-Hong¹

(1. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Faculty of Science, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for the determination of Na₂SeO₃ based on fluorescent probe. **Methods** Based on the construction method of fluorescent probe, a fluorescence enhanced near-infrared probe SeP1 was designed by introducing levulinyl group into the near-infrared fluorophore to protect the hydroxyl and quench the fluorescence, and its chemical structure was confirmed by ¹hydrogen-nuclear magnetic resonance (¹H NMR),

基金项目: 河南省农业科学院科技创新创意项目(2020CX05)、河南省农业科学院自主创新项目(2021ZC62)、河南省高等学校重点科研项目计划(20A150020)

Fund: Supported by the Scientific and Technological Innovation Project of Henan Academy of Agricultural Sciences (2020CX05), the Independent Innovation Project of Henan Academy of Agricultural Sciences (2021ZC62), and the Key Scientific Research Project of Colleges and Universities of Henan Province of China (20A150020)

***通信作者:** 王铁良, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: 30031409@qq.com

***Corresponding author:** WANG Tie-Liang, Assistant Professor, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Henan Academy of Agricultural Sciences, No.116, Huayuan Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: 30031409@qq.com

^{13}C carbon-nuclear magnetic resonance (^{13}C NMR) and high resolution mass spectrometry (HRMS), the recognition effect of probe SeP1 on Na_2SeO_3 was studied by fluorescence spectrometry. **Results** In a variety of analytical species, the probe SeP1 had high efficiency and specific near-infrared fluorescence selectivity for Na_2SeO_3 , and its maximum fluorescence emission was in the near infrared region (657 nm), which could overcome the common background fluorescence interference in the matrix. In the presence of other common anions, it had strong anti-interference ability, and could realize naked eye recognition for Na_2SeO_3 . The detection limit of the probe for Na_2SeO_3 was 0.068 $\mu\text{mol/L}$. The recognition mechanism was: When the selenite ion reacted specifically with the acetyl group in the probe structure, the hydroxyl group in the probe structure was deprotected, and intermediate 1 with hydroxyl structure was regenerated, releasing strong fluorescence, the above recognition mechanism was further confirmed by high-resolution mass spectrometry (HRMS). **Conclusion** The probe showed high efficiency and specificity in detecting Na_2SeO_3 , and it has been successfully applied to the detection of Na_2SeO_3 in drinking water with high practicability.

KEY WORDS: fluorescent probe; sodium selenite; levulinyl group; near infrared

0 引言

硒(Se)是人和动物生长发育过程中必需的微量元素,参与机体的多种重要的生化活动,具有抗氧化、抗炎、增强免疫功能和预防癌症等功效,健康人体血液中硒的标准值为 0.08 mg/kg^[1-3],人体内缺乏硒会导致多种疾病,适量补充硒能够防止器官老化与病变、延缓衰老、增强免疫力、缓解重金属中毒等^[4]。硒主要以无机硒和有机硒两种形态存在于自然界中。无机硒主要包括硒酸钠和亚硒酸钠,毒性较大,生物有效性低,容易导致环境污染;有机硒主要以硒蛋白、硒多糖、硒代氨基酸、硒多肽等形式存在,参与合成生物体内多种含硒酶和含硒蛋白,具有高抗氧化作用,可清除体内自由基,在延缓器官老化与病变、增强机体免疫力方面发挥着重要的生理作用^[5]。硒的化学形态对于其毒性、营养、代谢归宿非常重要,无机硒的毒性明显大于有机硒。因此,对不同化学形态的硒特别是无机硒的实时快速检测具有重要意义。

硒的分析技术有原子荧光光谱法、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法、电感耦合等离子体质谱法等,高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法、X 射线荧光法、紫外-可见分光光度法、伏安法和气相色谱法^[6-7]。这些常规的检测方法存在仪器昂贵、操作步骤复杂烦琐、检测时间较长等局限性,并且对操作人员的技术要求较高,难以实现对无机硒的实时快速检测。荧光探针技术因具有高选择性、高灵敏性、实时检测等优点,被广泛应用于各种金属离子和活性小分子的检测^[8-10]。因此,将荧光探针技术应用于无机硒的检测具有重要的科学意义。为了获得高选择性的亚硒酸盐(SeO_3^{2-})荧光探针,在探针的设计过程中,探针和亚硒酸钠之间的相互作用必须具有高度的特异性。根据文献报

道^[11-12],基于化学反应的探针与亚硒酸钠的相互作用可以满足高效专一的探针设计要求。

目前已经报道了多例基于荧光探针的硒探针,但是大多数荧光探针的荧光发射显示出较短的激发波长(<600 nm),导致探针在实际应用过程中容易受到检测物质背景荧光干扰,从而影响检测结果的准确性。近红外(650~900 nm)荧光探针与在可见光范围内(400~650 nm)发射和吸收的探针相比,具有光毒性低、穿透组织深、光散射小、受生物体背景荧光影响小等优点,可用于细胞的生物成像和复杂基质中相关污染物的检测^[13-15]。本研究基于经典的羟基保护和脱保护策略,即在近红外荧光团中引入乙酰丙氨酸基(一种常见的羟基保护基和亚硒酸钠的特异部分)对羟基进行保护淬灭荧光设计出荧光探针^[16]。探针能够与亚硒酸盐(SeO_3^{2-})发生特异性反应,从荧光探针中释放乙酰丙酯基团,并导致荧光信号的明显改变,而其他活性小分子物质不能导致探针的荧光信号发生变化,从而实现了对亚硒酸盐的专一性识别。

基于以上荧光探针设计理念,本研究拟设计合成一种用于亚硒酸盐(SeO_3^{2-})高效识别的近红外荧光探针(SeP1),通过荧光光谱测试考察探针对亚硒酸钠的选择性、抗干扰性、最低检测限等识别性能,并通过高分辨质谱验证探针识别亚硒酸钠的识别机制,为高效检测亚硒酸钠提供了一种高效可靠的分析方法。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与amp;设备

DTX-400M 核磁共振谱仪(德国 Burke 公司), F-7000 荧光光谱仪(激发和发射波长均设置为 5 nm,日本 HITACHI 公司); Q-Tof 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.2 材料与试剂

氰代氯仿、氯化铜、氯化钙、氯化钡、氯化锰、硫酸钠、亚硫酸钠、碳酸钠、磷酸二氢钠、醋酸钠、碘化钠、氟化钠、溴化钠、氯化钠、碳酸氢钠、亚硒酸钠、亚硝酸钠、硝酸钠(分析纯,上海阿达玛斯试剂有限公司);乙酰丙酸、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐[1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC]、4-二甲氨基吡啶(4-dimethylaminopyridine, DMAP)、对羟基苯甲醛、(3,5,5-三甲基环己-2-烯亚基)丙二腈(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);二氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚、乙醇(分析纯,天津市富宇化工有限公司)。

1.3 探针 SeP1 的合成路线

探针的具体合成路线如图1所示^[18]。

探针 SeP1 的具体合成方法: 50 mL 的单口烧瓶中, 将乙酰丙酸(116.0 mg 1.0 mmol)、EDC (384 mg, 2 mmol)和 DMAP (122 mg, 1 mmol)溶解于 15 mL 的无水二氯甲烷中, 室温条件下搅拌活化反应 10 min。将含有中间体 1 (435 mg, 1.5 mmol)的 15 mL 无水二氯甲烷溶液缓慢滴加入上述混合溶液中, 滴加完毕后室温反应 24 h, 用薄层色谱法监测反应。反应完全后, 将反应液用饱和食盐水洗涤(10 mL×3), 收集有机相并用无水硫酸钠干燥, 过滤。旋转蒸发器减压去除溶剂得到粗产品, 粗产品经柱层析(乙酸乙酯和石油醚为洗脱剂, 体积比为 1:15)分离提纯得到 302.6 mg 粉红色固体即为探针 SeP1。

1.4 测试条件

探针 SeP1 通过有机合成的方法^[18]得到, 其分子结构经过核磁共振(¹hydrogen-nuclear magnetic resonance, ¹H NMR)、核磁共振(¹³Carbon-nuclear magnetic resonance, ¹³C NMR)、高分辨质谱法(high resolution mass spectrometry, HRMS)的确证, 分析测试时将探针 SeP1 溶解于乙醇溶液中配制成 1 mmol/L 的储备液备用, 各种分析物溶解在高纯水中配制 10 mmol/L 的溶液备用。室温(25 °C)下, 通过荧光光谱仪研究探针对亚硒酸钠的识别性能。参考相关文献^[18]筛选出探针 SeP1 对亚硒酸钠的最佳识别体系为 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)溶液体系。荧光光谱仪设定参数: 激发波长为 550 nm, 发射波长为 657 nm, 狭缝宽度设定为 5 nm。

测试体系配制方法: 用乙醇(CH₃CH₂OH)和水(H₂O)配制成 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)混合溶液。在 5 mL 测试小瓶中, 加入 2.5 mL 的 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)混合溶液, 加入相应体积的测试样品溶液, 混合均匀后, 加入 30 μL 的 1 mmol 探针 SeP1 溶液, 最后滴加 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)混合溶液, 使总体积保持为 3 mL 的 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)的溶液测试体系。

选择性实验设计: 将探针溶液与各种分析物溶液分别混合于 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)溶液中, 采用荧光光谱仪分别测试荧光发射光谱图。

抗干扰性实验设计: 首先测试探针溶液与各种分析物溶液在 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)溶液中的荧光发射光谱图, 其次将亚硒酸钠溶液分别加入上述探针与各种分析物的混合溶液中, 运用荧光光谱仪测试相应的荧光发射光谱图。

检出限实验设计: 在 CH₃CH₂OH-H₂O (1:1, V:V)溶液中, 固定探针浓度, 分别加入连续浓度的亚硒酸钠溶液, 测试荧光发射光谱图, 取最大发射波长处的荧光发射值, 构建亚硒酸钠浓度与荧光发射值间的线性关系图。

1.5 数据分析

采用 F-7500 荧光光谱仪记录相关测试溶液体系 570~750 nm 之间的荧光发射光谱, 每组分析测试实验均平行测试 3 次取平均值, 相关数据采用 origin 8.5 版进行分析处理。合成步骤中探针的产率采用实际得到的样品质量 (302.6 mg) 除去理论产量(388.2 mg)所得。

2 结果与分析

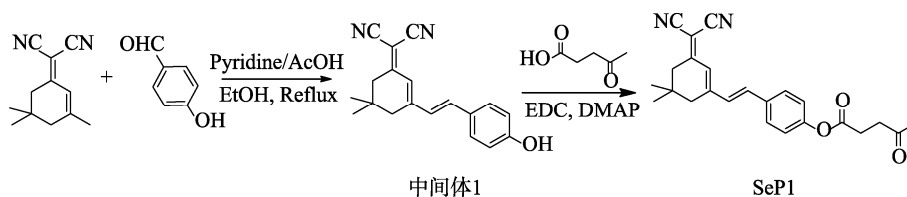
2.1 探针的结构表征

探针 SeP1 产率为 78%。

采用 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 对该探针的化学结构进行了确证, 结果见图 2 和图 3。具体数据如下: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 1.10 (s, 6 H), 2.25 (s, 3 H), 2.48 (s, 2 H), 2.62 (s, 2 H), 2.88 (m, 4 H), 6.86 (s, 1 H), 7.00 (q, J=18.2 Hz, 2 H), 7.15 (d, J=8.4 Hz, 2 H), 7.53 (d, J=8.4 Hz, 2 H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 206.4, 171.3, 169.3, 153.6, 151.7, 135.9, 133.4, 129.3, 128.6, 123.7, 122.2, 113.5, 112.7, 78.9, 43.0, 39.2 37.9, 32.1, 29.9, 29.7, 28.2, 28.0。高分辨质谱数据计算值: C₂₄H₂₃N₂O₃: 387.1709(负离子), 测试值 387.1729 负离子模式。核磁共振和碳谱数据、高分辨质谱数据确证了该探针的化学结构。

2.2 荧光选择性测试

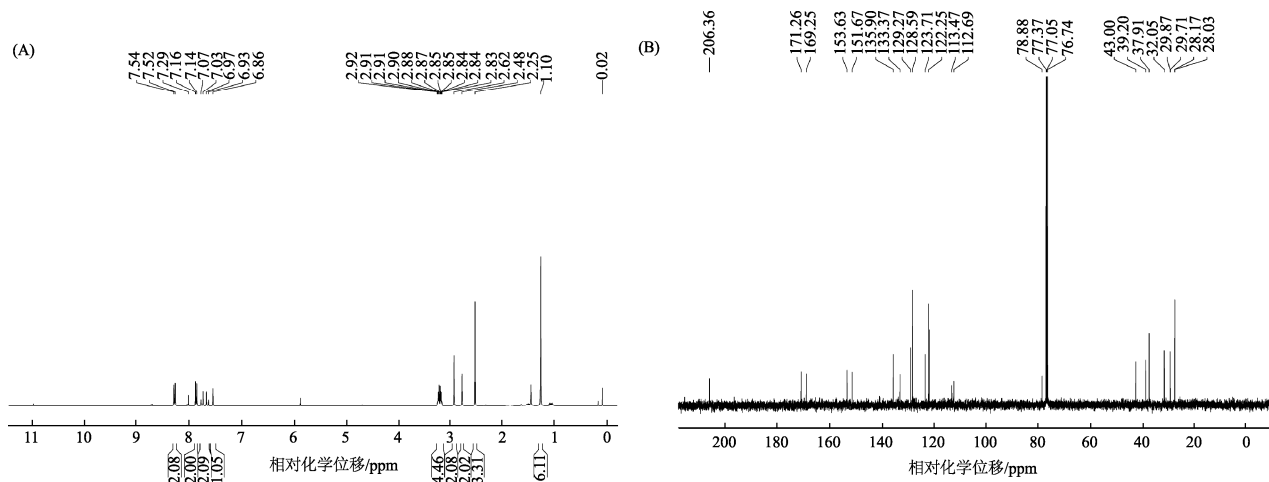
专一的选择性是衡量荧光探针是否优异的首要标准。本研究采用荧光光谱仪考察探针 SeP1 对亚硒酸钠的选择性能力。如图 4 所示, 单独他探针 SeP1 在溶液体系中几乎没有荧光发射, 当加入其他金属离子(Cu²⁺、Ca²⁺、Ba²⁺、Mn²⁺)和常见的阴离子(SO₄²⁻、SO₃²⁻、CO₃²⁻、H₂PO₄²⁻、AcO⁻、I⁻、F⁻、Br⁻、Cl⁻、HCO₃⁻、NO₂⁻、NO₃⁻)后, 溶液体系荧光发射几乎没有变化, 相应的溶液颜色也没有明显变化; 只有加入 SeO₃²⁻后, 体系荧光发射在 657 nm 处有明显增强。该探针识别 SeO₃²⁻后最大荧光发射在近红外区, 表明该探针对 SeO₃²⁻的识别可以克服常见背景荧光干扰。当探针与亚硒酸钠作用后, 其溶液颜色从淡黄色变为淡红色, 能够实现裸眼识别, 具有较好的应用价值。



注: 中间体 ^{1[17]} 是 2-[3-(4-羟基苯乙烯基)-5,5-二甲基-环己-2-烯-1-亚基]丙二腈, Pyridine 为吡啶, AcOH 为乙酸, EtOH 为乙醇, Reflux 为回流。

图 1 探针 SeP1 的合成路线

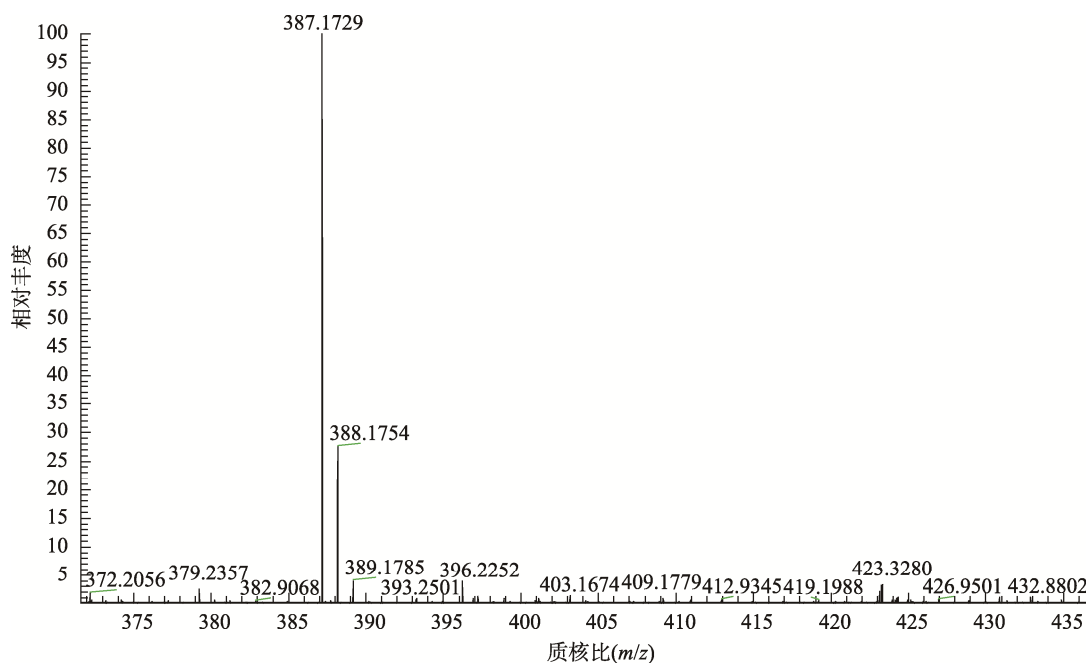
Fig.1 Synthesis route of probe SeP1



注: 溶剂为氘代氯仿。

图 2 探针 SeP1 的核磁氢谱图(A)和碳谱图(B)

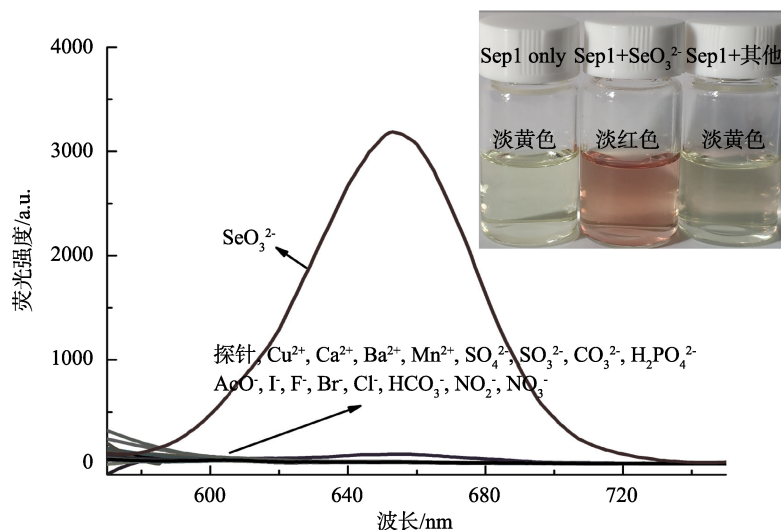
Fig.2 ¹H NMR (A) and ¹³C NMR (B) spectrums of probe SeP1



注: 负离子模式, 溶剂为甲醇。

图 3 探针 SeP1 的高分辨质谱图

Fig.3 HRMS spectrum of probe SeP1

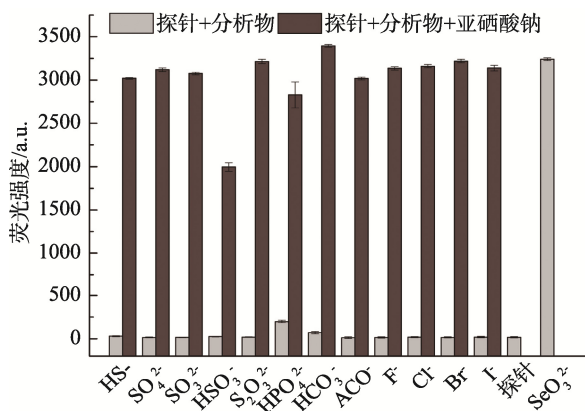


注: 插图分别为探针和各种分析物作用后可见光下的颜色变化图; 其他: Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 、 SO_4^{2-} 、 SO_3^{2-} 、 CO_3^{2-} 、 $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ 、 AcO^- 、 I^- 、 F^- 、 Br^- 、 Cl^- 、 HCO_3^- 、 NO_2^- 、 NO_3^- ; 荧光最大激发波长 $\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$ 。

图 4 探针 SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$)对常见金属离子和阴离子(167 $\mu\text{mol/L}$)的荧光选择性光谱图

Fig.4 Fluorescence selective spectrogram of probe SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) with common metal ions and anions (167 $\mu\text{mol/L}$)

本研究通过荧光干扰性实验进一步探讨探针 SeP1 对 SeO_3^{2-} 在复杂体系中的识别效果,结果如图 5 所示,在其他干扰离子存在的条件下,探针对 SeO_3^{2-} 的识别效果不受影响。以上结果表明探针 SeP1 对 SeO_3^{2-} 具有专一的荧光选择性,不易受其他离子的干扰。



注: 实验在 10 当量的其他分析物存在的条件下, 荧光最大激发波长 $\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$; 荧光最大发射波长 $\lambda_{\text{em}}=657 \text{ nm}$; 最后两个柱状图分别是单独探针的最大荧光发射值($\lambda_{\text{em}}=657 \text{ nm}$)和探针加上 SeO_3^{2-} 的最大荧光发射值($\lambda_{\text{em}}=657 \text{ nm}$)。

图 5 探针 SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$)对 SeO_3^{2-} (167 $\mu\text{mol/L}$)识别的荧光发射强度图($n=3$)

Fig.5 Fluorescence emission intensity diagram of the recognition of SeO_3^{2-} (167 $\mu\text{mol/L}$) by probe SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) ($n=3$)

2.3 荧光滴定和最低检出限测试

在探针的实际应用过程中,良好的最低检出限是衡量探针是否具有应用价值的重要指标之一。本研究采用荧光滴定方法测试探针 SeP1 对 SeO_3^{2-} 的最低检出限。在 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ -

H_2O (1:1, $V:V$)溶液中,固定探针 SeP1 浓度为 16.7 $\mu\text{mol/L}$,滴加入不同浓度的 SeO_3^{2-} ,分别测定其荧光发射光谱。结果如图 6A 所示,随着 SeO_3^{2-} 的增加,溶液体系荧光发射强度不断增强,表明探针对 SeO_3^{2-} 的识别是荧光增强型。进一步分析荧光发射强度(657 nm)和 SeO_3^{2-} 的浓度发现,荧光发射强度在 SeO_3^{2-} 的浓度为 0~2.5 当量(0~41.75 $\mu\text{mol/L}$)间呈线性($r^2=0.986$)(图 6B),根据国际理论和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)规则,经理论计算($3\text{sd}/k$)^[20-21]得出探针 SeP1 对 SeO_3^{2-} 的理论最低检出限为 0.068 $\mu\text{mol/L}$ 。以上实验结果表明探针对亚硒酸根的识别具有潜在的实际应用价值。

2.4 识别机制

以上荧光光谱研究结果表明探针 SeP1 对 SeO_3^{2-} 具有专一高效的识别效果,本研究同时对探针识别亚硒酸根的实验机理进行考察。本探针的设计是基于丙二腈异佛尔酮类结构中羟基裸露时释放出强烈的荧光,而羟基被乙酰丙酸基保护后基本上没有荧光释放的原理。根据文献报道^[22-23],亚硒酸根离子能够与乙酰丙酸基发生特异性反应,从而导致乙酰丙酸基离去使得探针结构中的羟基再次裸露,释放出强烈的荧光;其他金属离子或者常见阴离子并不能与乙酰丙酸基发生反应从而无法释放出荧光。本研究采用 HRMS 进一步验证上述机制,结果表明荧光探针 SeP1 识别亚硒酸根后生成了新的分子离子峰为 289.1347 ($[\text{M}-\text{H}]^-$),负离子模式,图 7),根据化学结构画图软件 chemdraw 模拟计算探针识别亚硒酸钠后形成的中间体 1 的负离子理论计算值为 289.1341。上述实验结果进一步证明了图 8 所示的识别机制。

2.5 方法学验证

为了进一步研究探针的实用性, 本研究在饮用水中进行了探针识别亚硒酸钠的加标回收实验, 每个实验均平行测试 3 次取平均值。在饮用水中加入不同浓度 (20.04、25.02、30.06 $\mu\text{mol/L}$) 的亚硒酸钠溶液, 测试相

应的荧光发射强度, 并根据标准工作曲线测算加标样结果, 对应的回收率分别为 116.39%、107.86%、97.24%, 结果符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》的要求。综上, 该探针可以用于检测饮用水中亚硒酸钠, 具有较强的实用性。

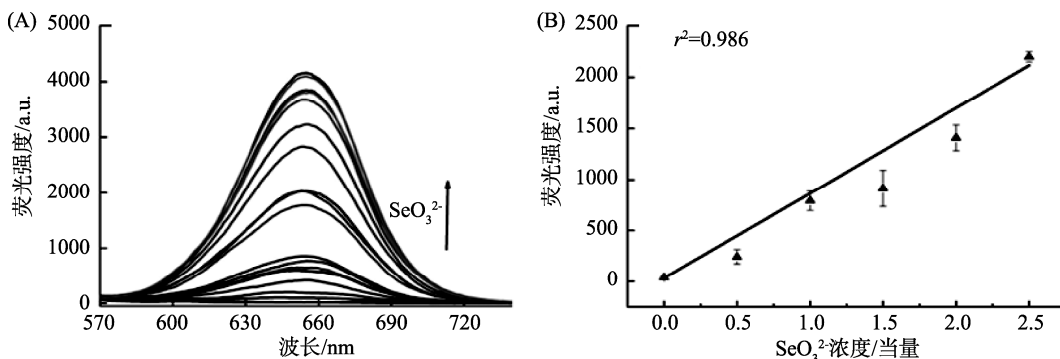
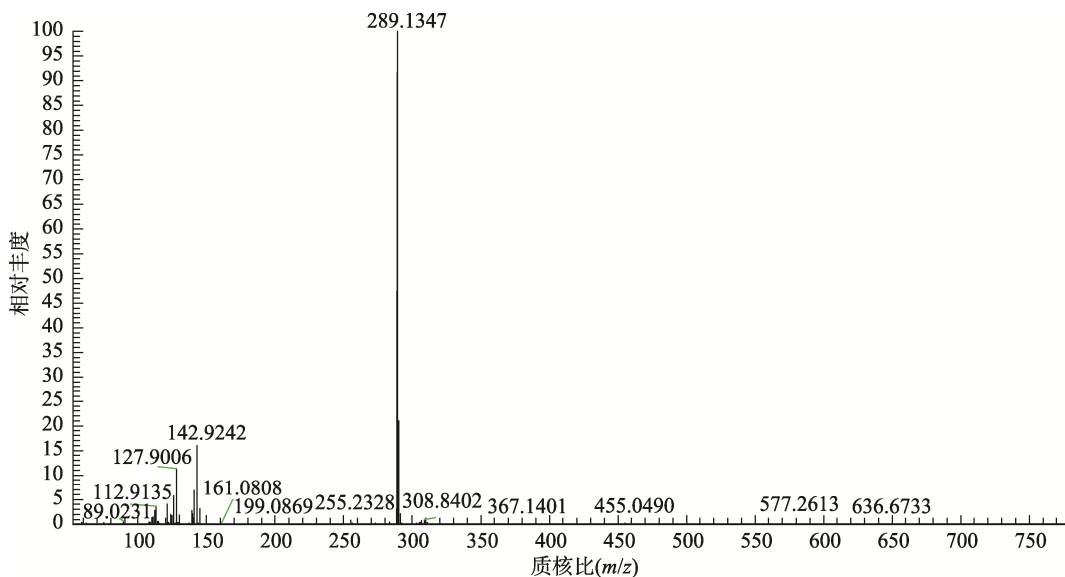


图 6 (A) 探针 SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) 识别 SeO_3^{2-} (0~167 $\mu\text{mol/L}$) 的荧光滴定图 ($\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$); (B) 探针 SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) 识别 SeO_3^{2-} 荧光发射强度与 SeO_3^{2-} 浓度的线性关系图 ($\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=657 \text{ nm}$)

Fig.6 (A) Fluorescence titration diagram of the recognition of SeO_3^{2-} (0~167 $\mu\text{mol/L}$) by probe SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) ($\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$); (B) Linear relationship between fluorescence emission intensity of the recognition of SeO_3^{2-} by probe SeP1 (16.7 $\mu\text{mol/L}$) and the concentration of SeO_3^{2-} ($\lambda_{\text{ex}}=550 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=657 \text{ nm}$)



注: 负离子模式, 溶剂为甲醇。

图 7 探针 SeP1 识别亚硒酸钠的高分辨机理验证图
Fig.7 HRMS spectrum of probe SeP1 recognizing NaSeO_3

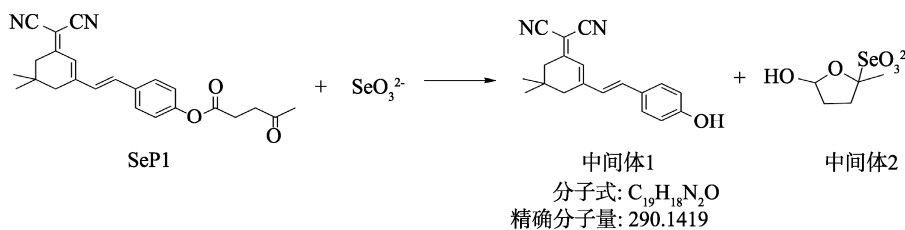


图 8 探针 SeP1 识别亚硒酸的机制图

Fig.8 Proposed mechanism of SeO_3^{2-} recognition by the probe SeP1

3 结论

本研究基于荧光探针设计中官能团的保护-脱保护策略,设计合成了用于亚硒酸钠检测的荧光探针 SeP1,其化学结构经过核磁氢谱、核磁碳谱和高分辨质谱法的验证。通过荧光光谱法对其识别亚硒酸钠能力进行了研究,探针对于亚硒酸钠具有高效专一的选择性,并能实现肉眼识别,能够克服常见金属离子和阴离子的干扰,其对亚硒酸钠的最低检出限为0.068 $\mu\text{mol/L}$ 。相对于已经报道过的亚硒酸钠荧光探针,本研究报道的荧光探针识别亚硒酸钠后最大荧光发射在近红外区,可以克服复杂基质中背景荧光干扰从而实现对于亚硒酸钠的专一性识别。通过高分辨质谱法进一步验证了探针识别亚硒酸钠的作用机制,并成功地应用于饮用水中检测亚硒酸钠的加标回收实验,表明该探针具有较强的实用性。

参考文献

- [1] 徐卫红, 张亚增, 申庆光, 等. 氢化物原子荧光法测定人体血清硒的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(6): 669-670.
XU WH, ZHANG YZ, SHEN QG, *et al.* Determination of selenium in human serum by hydride generation atomic fluorescence spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2001, 11(6): 669-670.
- [2] BIRNINGER M, PILAWA S, FLONE L. Trends in selenium biochemistry [J]. Nat Prod Rep, 2002, 19: 693-718.
- [3] RAYMAN MP. Selenium and human health [J]. Lancet, 2012, 379: 1256-1268.
- [4] WEEKLEY CM, HARRIS HH. Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease [J]. Chem Soc Rev, 2013, 42: 8870-8894.
- [5] MISRA S, BOYLAN M, SELVAM A, *et al.* Redox-active selenium compounds-from toxicity and cell death to cancer treatment [J]. Nutrients, 2015, 7: 3536-3556.
- [6] GUAN M, MI H, XU H, *et al.* Study of fluorescent imaging of Se (IV) in living cells using a turn-on fluorescent probe based on a rhodamine spirolactame derivative [J]. J Fluoresc, 2017, 27: 611-618.
- [7] GALLIGNANI M, VALERO M, BRUNETTO MR, *et al.* Sequential determination of Se(IV) and Se(VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se(VI) to Se(IV) [J]. Talanta, 2000, 52: 1015-1024.
- [8] KONG F, ZHAO Y, LIANG Z, *et al.* Highly selective fluorescent probe for imaging H_2Se in living cells and in vivo based on the disulfide bond [J]. Anal Chem, 2017, 89: 688-693.
- [9] DAI CG, WANG JL, SONG QH. Red fluorescent probes based on a Bodipy analogue for selective and sensitive detection of selenols in solutions and in living systems [J]. J Mater Chem B, 2016, 4: 6726-6733.
- [10] GAO P, PAN W, LI N, *et al.* Fluorescent probes for organelle-targeted bioactive species imaging [J]. Chem Sci, 2019, 10: 6035-6071.
- [11] LIU Y, FENG X, YU Y, *et al.* A review of bioselenol-specific fluorescent probes: Synthesis, properties, and imaging applications [J]. Anal Chim Acta, 2020, 1110: 141-150.
- [12] ZHANG B, GE C, YAO J, *et al.* Selective selenol fluorescent probes: design, synthesis, structural determinants, and biological applications [J]. J Am Chem Soc, 2015, 137: 757-769.
- [13] NIU LY, CHEN YZ, ZHENG HR, *et al.* Design strategies of fluorescent probes for selective detection among biothiols [J]. Chem Soc Rev, 2015, 44: 6143-6160.
- [14] YUAN L, LIN WY, ZHANG KB, *et al.* Far-red to near infrared analyte-responsive fluorescent probes based on organic fluorophore platforms for fluorescence imaging [J]. Chem Soc Rev, 2013, 42: 622-661.
- [15] TANG LJ, TIAN MY, CHEN HB, *et al.* An ESIPt-based mitochondria-targeted ratiometric and NIR-emitting fluorescent probe for hydrogen peroxide and its bioimaging in living cells [J]. Dyes Pigments, 2018, 158: 482-489.
- [16] ZHANG HY, YIN XY, HONG JX, *et al.* A NIR fluorescence probe having significant fluorescence turn-on signal at 700 nm and large Stokes shift for rapid detection of HOCl *in vivo* [J]. Talanta, 2021, 223: 121768.
- [17] CHOI MG, HWANG J, EOR S, *et al.* Chromogenic and fluorogenic signaling of sulfite by selective deprotection of resorufin levulinate [J]. Org Lett, 2010, 12: 5624-5627.
- [18] ZHANG D, WANG M, CHAI MM, *et al.* Three highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent chemosensors for Cu^{2+} in aqueous solution [J]. Sens Actuators B-Chem, 2012, 168: 200-206.
- [19] HONG J, ZHOU E, GONG S, *et al.* A red to near-infrared fluorescent probe featuring a super large Stokes shift for light-up detection of endogenous H_2S [J]. Dyes Pigments, 2019, 160: 787-793.
- [20] LIU W, ZHANG D, NI B, *et al.* Mitochondria-targeted and FRET based ratiometric fluorescent probe for SO_2 and its cell imaging [J]. Sens Actuators B-Chem, 2019, 284: 330-336.
- [21] WANG JM, NI Y, SHAO SJ, *et al.* A reversible fluorescence probe for detection of ClO $^-$ /AA redox cycle in aqueous solution and in living cells [J]. Talanta, 2016, 147: 468-472.
- [22] TIAN Y, XIN F, JING J, *et al.* Ratiometric fluorescence imaging for sodium selenite in living cells [J]. Dyes Pigments, 2019, 164: 133-138.
- [23] WU D, CHEN LY, KWON N, *et al.* Fluorescent probes containing selenium as a guest or host [J]. Chem, 2016, 1: 674-698.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



张迪, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究。
E-mail: pandy811@163.com



王铁良, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。
E-mail: 30031409@qq.com