

智能手机辅助的比率荧光探针用于H₂O₂的检测

赵坤仪¹, 咎琪¹, 王睿¹, 张雯佳^{2*}, 董川¹, 樊丽^{1*}

(1. 山西大学 环境科学研究所, 山西 太原 030006;

2. 山西大学 国有资产与实验室管理处, 山西 太原 030006)

摘要:过氧化氢(H₂O₂)作为一种常见的过氧化物,在医疗、环境和工业等领域有着广泛的应用。本文以吡啶-苯乙烯结构为荧光团,以硼酸酯为识别基团合成了一种用于检测H₂O₂的比率荧光探针PY-BE(1-methyl-4-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)styryl)-1-pyridine)。利用紫外-可见吸收光谱技术和荧光光谱技术研究了指针PY-BE对H₂O₂的特异性识别。结果表明,该探针可选择性地对H₂O₂作出比率荧光响应,荧光发射从430 nm红移至510 nm,且荧光强度比值($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$)与H₂O₂浓度在0 μmol/L~100 μmol/L范围内呈现良好的线性关系,检出限为1.54 μmol/L。同时,反应过程中溶液的荧光在365 nm紫外灯下发生了明显的颜色变化。基于此,利用智能手机辅助构建了准确检测H₂O₂含量的可视化传感平台,线性检测范围为0~70 μmol/L,检出限为2.37 μmol/L,并成功应用于实际水样中H₂O₂的加标回收检测,在环境分析方面具有应用潜力。

关键词:比率荧光探针;过氧化氢;智能手机传感;水样

中图分类号:O436

文献标志码:A

文章编号:0253-2395(2025)02-0400-09

Smartphone Assisted Ratiometric Fluorescence Probe for Detection of H₂O₂

ZHAO Kunyi¹, ZAN Qi¹, WANG Rui¹, ZHANG Wenjia^{2*}, DONG Chuan¹, FAN Li^{1*}

(1. Institute of Environmental Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. State-owned Assets and Laboratory Management Office, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Hydrogen peroxide (H₂O₂), as a common peroxide, is widely used in medical, environmental and industrial field. A ratiometric fluorescent probe PY-BE (1-methyl-4-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)styryl)-1-pyridine) was successfully synthesized for detection of H₂O₂, using pyridine-styrene structure as fluorophore and borate as recognition group. The specific recognition of PY-BE toward H₂O₂ was investigated by UV-vis absorption spectrometry and fluorescence spectrometry. The results show that PY-BE can selectively respond to H₂O₂ with a ratiometric fluorescence response, and the emission red-shifted from 430 nm to 510 nm. The fluorescence intensity ratio ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$) shows a good linear relationship with the concentration of H₂O₂ in the range of 0 μmol/L-100 μmol/L, and the detection limit is 1.54 μmol/L. Meanwhile, the fluorescence of the solution during the reaction has a significant color change under the 365 nm UV lamp. Based on this, a visual sensing platform for accurate detection of H₂O₂ was constructed with the assistance of a smartphone. The linear detection range is 0 μmol/L-70 μmol/L, with the detection limit of 2.37 μmol/L. It has been successfully applied to the labeling recovery detection of H₂O₂ in actual water samples, which has great application potential in environment analysis.

Key words: ratiometric fluorescent probe; hydrogen peroxide; smartphone sensing; water sample

收稿日期:2023-10-12;接受日期:2024-02-19

基金项目:国家自然科学基金(81901814);山西省科技合作交流专项项目(202204041101040)

作者简介:赵坤仪(1999-),女,山西太原人,硕士研究生,研究方向为化学与生物传感分析。E-mail:zky15235172308@163.com

* 通信作者:樊丽(FAN Li),E-mail:fanli128@sxu.edu.cn;张雯佳(ZHANG Wenjia),E-mail:wzhang@sxu.edu.cn

引文格式:赵坤仪,咎琪,王睿,等.智能手机辅助的比率荧光探针用于H₂O₂的检测[J].山西大学学报(自然科学版),2025,48(2):400-408. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2024039.

0 引言

过氧化氢(H₂O₂)是一种重要的氧化剂,在日常生活中常被用于消毒、治疗、漂白、水污染控制等,为人类的健康提供了必要保障^[1-6]。正常情况下,H₂O₂易分解,无法长期存在,但若过量使用或对其处理不当,会造成严重的环境污染和生物毒性,世界卫生组织国际癌症研究机构于2017年公布了一份致癌物清单,H₂O₂是其中的一种。此外,H₂O₂是生物体内一类重要的活性氧物种(ROS),参与调控多种生理和病理过程^[7-9]。当生物体内的H₂O₂含量异常时,会对机体造成损伤,易诱发如癌症、神经退行性疾病、动脉粥样硬化等多种疾病^[10-13]。因此,迫切需要开发具有高灵敏度特异性检测H₂O₂的方法,对于环境监测以及生物医学研究具有重要的意义。

近年来,据文献报道已建立了多种检测H₂O₂的方法,如电化学分析法、分光光度法、色谱法等^[14-17],但这些方法普遍需要借助大型仪器且存在灵敏度低、操作繁琐、检测成本较高、较难进行现场分析等缺陷。相比之下,基于小分子荧光探针的荧光分析方法凭借高灵敏性、非侵入性和实时原位检测等优势,已成为特异性识别生物体内各种活性物质的强有力手段,在生物医学研究和环境监测分析方面不可或缺^[7-8,13]。目前,在已开发的选择性识别H₂O₂的小分子荧光探针中,基于识别基团的不同可大致分为硼酸(酯)型^[13,18]、苯甲酰基型^[19-20]、磺酸盐基型^[21]、乙酰基型^[22-23]、甲基脒型^[24]、基于氧化硒型^[25]、基于Payne/Dakin反应型^[26]等,极大地推动了对H₂O₂的生物学功能及其参与相关疾病发生发展的深入理解。但这些探针大多是基于单一荧光发射检测,易受到微环境和仪器参数等外部条件的干扰^[18,27-28]。相反,比率荧光探针可通过测量不同发射的比值,有效地避免上述外部因素的干扰,进而能够在复杂环境中对目标物的高灵敏准确检测^[9,29-31]。一般而言,比率型荧光探针与分析物反应后在紫外灯下具有明显的颜色变化,但仅依靠肉眼进行区分,其准确性和灵敏度会受到限制。而通过智能手机拍摄采集图片,建立分析物浓度与图片色度值之间的线性关系,可

有效区分细微的颜色变化,提高数据测量的准确性和灵敏度,同时有望实现对分析物的现场和实时监测^[32]。例如,Peng等^[22]基于分子内电荷转移(ICT)机理,在二氰基异佛尔酮骨架上引入了不同的电子供体取代基合成了能够灵敏检测H₂O₂的探针。利用智能手机RGB(红Red,绿Green,蓝Blue)分析仪实现了牛奶样品中H₂O₂的比色荧光双信号检测。Bhosle等^[32]基于苯并噻唑衍生物构建了“turn-on型”H₂O₂荧光探针,以薄层色谱板(TLC板)为平台,通过智能手机图像采集系统,实现了固相中H₂O₂的定量检测。然而据我们所知,目前基于智能手机辅助检测H₂O₂含量的方法仍然极其有限。故此,发展具有选择性好、灵敏度高的比率荧光探针,构建智能手机辅助的可视化检测H₂O₂平台具有重要意义和实际应用价值。

本文合成了一种具有比率荧光发射特性的探针PY-BE用于H₂O₂的检测(图1)。PY-BE以吡啶-苯乙烯骨架为荧光母体结构,硼酸酯为H₂O₂识别位点。该探针本身在430 nm处具有蓝色发射;与H₂O₂反应后,红移至510 nm,呈现明显的比率发射荧光特性和荧光颜色变化。进一步借助智能手机建立了一种新型可视化H₂O₂传感平台,成功实现了对实际水样中H₂O₂的检测,为基于智能手机实现便携式环境检测提供了新思路。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1,4-二甲基吡啶碘化物和4-甲酰基苯硼酸频哪醇酯均购于阿拉丁试剂公司。实验过程中所使用的其余化学试剂均为市售分析纯,使用时未进一步处理。蒸馏水经超纯化系统处理后使用。

紫外-可见光谱利用TU-1901双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司,中国)上得到;使用FLS920爱丁堡荧光光谱仪(爱丁堡仪器公司,英国)对荧光光谱进行测定;利用Bruker AVANCE III 600 MHz超导核磁共振波谱仪(布鲁克公司,瑞士)以及Thermo Scientific Q Exactive组合型四级杆Orbitrap质谱仪(赛默飞世尔科技公司,美国)对化合物

1.3.2 分析测试物的配置

H₂O₂溶液(10 mmol/L)使用去离子水稀释体积百分数为30%的H₂O₂溶液制备;ONOO⁻的制备参考文献[33],利用其在紫外-可见光谱302 nm处的吸光度值确定其浓度(摩尔吸光系数=1 670 L·mol⁻¹·cm⁻¹);用去离子水稀释NaClO(含体积分数6%~14%活性氯)溶液制得次氯酸根离子(ClO⁻)储备液,其浓度利用292 nm处的吸光度值经计算确定(摩尔吸光系数=350 L·mol⁻¹·cm⁻¹);将亚硝酸钠溶于去离子水制得一氧化氮(NO)储备液(10 mmol/L);其他各种阴、阳离子和生物硫醇均将相应化学药品溶于去离子水中制为10 mmol/L的储备液。

1.3.3 PY-BE的光谱性质测定

光谱性能测试在2 mL磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline, PBS, pH=7.4)体系中进行。将10 μL的PY-BE母液(1 mmol/L)加入该测试体系中,混合均匀后加入不同浓度的H₂O₂(0~500 μmol/L)溶液,室温反应30 min后,分别测量其紫外-可见吸收光谱及荧光光谱。选择性实验也在上述同样的体系中进行,分析物终浓度为500 μmol/L。pH影响的荧光光谱实验中所选pH范围为pH 3.0~10.0。荧光光谱实验中激发波长均为375 nm,激发和发射狭缝均为2.5 nm。

1.4 智能手机拍照

1.4.1 标准曲线的建立

取探针PY-BE母液(1 mmol/L)10 μL加入2 mL PBS(pH 7.4)中,混合均匀后,加入不同浓度的H₂O₂,在室温下反应30 min;随后于365

nm紫外灯下利用智能手机(iphone 12)拍摄不同浓度H₂O₂下的荧光照片;利用“颜色提取”软件对所拍摄的照片进行识别,将颜色转换为对应的RGB以及HLS;最后选择H/H₀(H₀为H₂O₂含量为0时的H值)作为参数建立对H₂O₂进行定量检测的标准曲线。

1.4.2 定量检测不同水样中的H₂O₂含量

将该检测平台应用于去离子水、自来水以及地表水(山西大学令德湖水)中H₂O₂含量的检测。将取回的自来水以及地表水静置一段时间后用0.22 μm的滤膜过滤,随后利用pH计调节水样的pH值为7.4以此得到处理过的水样备用。取10 μL的PY-BE母液(1 mmol/L)加入2 mL处理过的水样中。混合均匀后,分别加入5、20、40、70 μmol/L的H₂O₂溶液,室温下反应30 min,利用上述拍照识别的方法计算回收率。

2 结果与讨论

2.1 探针PY-BE对H₂O₂的光谱响应研究

首先,我们在PBS(pH 7.4)的体系中研究了PY-BE在与H₂O₂反应前后的紫外-可见以及荧光光谱图。如图3(a)所示,探针本身的最大吸收峰在350 nm;与H₂O₂反应后,吸收峰红移至370 nm。此外,如图3(b)所示,探针PY-BE在与H₂O₂反应后,430 nm处的发射峰降低,同时510 nm处的发射峰明显增强。这一现象说明探针PY-BE可以与H₂O₂发生反应,并通过发射光谱的比率响应来检测H₂O₂。

2.2 探针PY-BE对H₂O₂的响应时间研究

接下来,我们进行了PY-BE对H₂O₂的反应

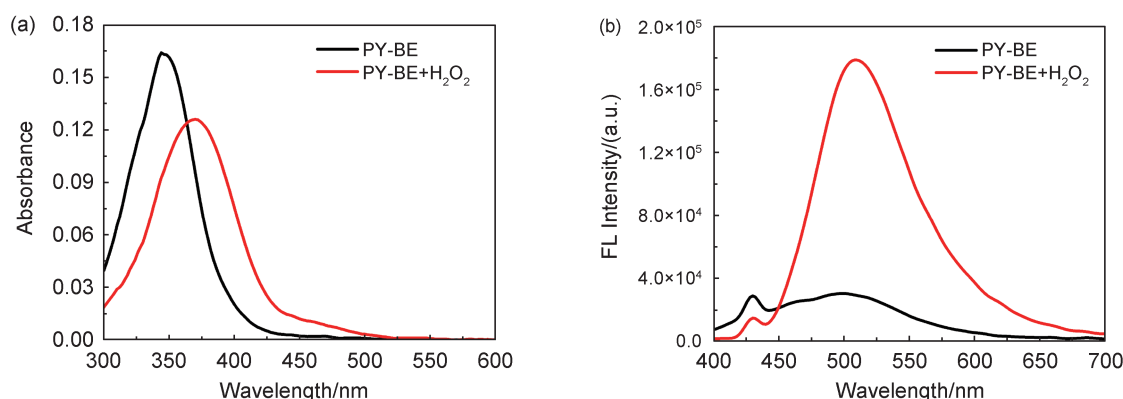


图3 PY-BE(5 μmol/L)在PBS(pH 7.4)中与H₂O₂(500 μmol/L)反应前后吸收光谱图(a)及荧光光谱图(b)

Fig. 3 (a) Absorption spectra and (b) fluorescence spectra of PY-BE (5 μmol/L) in the absence and presence of H₂O₂ (500 μmol/L) in PBS (pH 7.4)

时间研究。如图4(a)所示,当加入H₂O₂后,探针本身在430 nm处的荧光发射随反应时间延长逐渐降低,而510 nm处荧光发射不断增强,且在30 min后达到最大值并基本保持稳定。探针荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 随时间变化如图4(b)所示,荧光强度比值在加入H₂O₂后逐渐变大,在反应30 min后基本保持不变,表明PY-BE与H₂O₂在30 min时即反应完全。

2.3 探针PY-BE对H₂O₂的荧光滴定研究

随后,我们进行了PY-BE与H₂O₂反应的荧光滴定实验。如图5(a)所示,PY-BE在430 nm处的荧光强度随着H₂O₂浓度的逐渐增加而降低,同时在510 nm处的发射峰其荧光强度随着H₂O₂浓度的增加而逐渐增强。随着H₂O₂浓度的

增加,荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 的变化如图5(b)所示,当H₂O₂的浓度范围为0~100 μmol/L时,荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 与H₂O₂浓度具有良好的线性关系($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}} = 0.0419c(\text{H}_2\text{O}_2) + 0.9663$, $R^2=0.9930$);此外,通过计算得到PY-BE对H₂O₂浓度的检出限为1.54 μmol/L (LOD=3σ/k)。以上结果表明,探针PY-BE可以实现对H₂O₂的高灵敏定量检测。

2.4 探针PY-BE对H₂O₂的选择性研究

为了考察探针PY-BE对H₂O₂的特异性响应能力,选取了一系列常见的分析物进行了选择性实验。这些分析物包括活性氮(NO、NO₂⁻、ONOO⁻)、活性氧(CIO⁻)、活性硫(Cys、GSH、Hcy、S₂O₃²⁻、S²⁻、SO₄²⁻)、各种阳离子

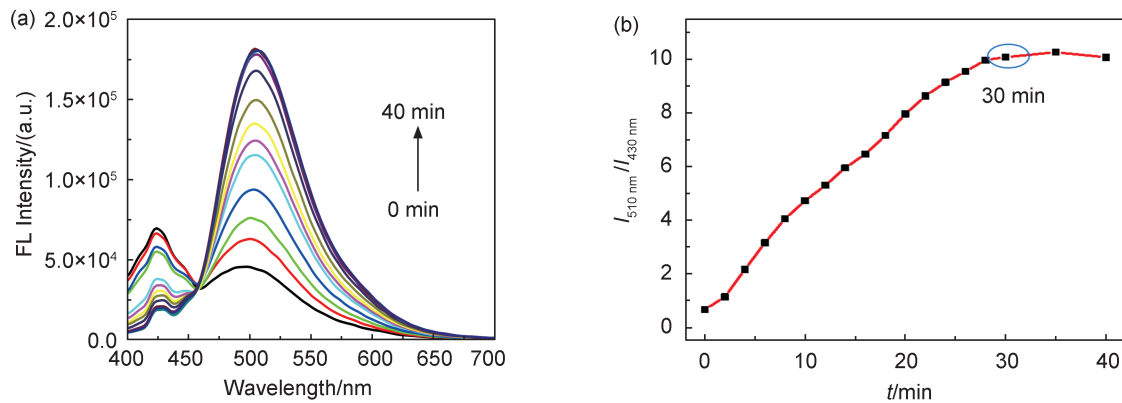


图4 PY-BE(5 μmol/L)与H₂O₂(500 μmol/L)反应随时间变化的荧光光谱图(a)和荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 随时间变化曲线图(b)
 Fig. 4 Fluorescence spectra (a) and the fluorescence ratio ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$) (b) of PY-BE (5 μmol/L) with H₂O₂ (500 μmol/L) for different time periods

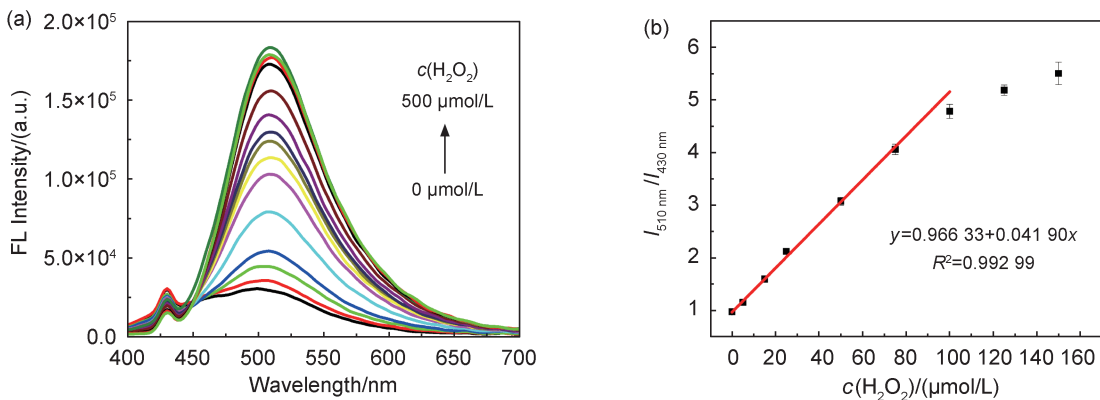


图5 PY-BE对H₂O₂的荧光光谱响应

(a)PY-BE(5 μmol/L)与不同浓度H₂O₂在PBS(pH 7.4)中反应的荧光滴定光谱图;(b)PY-BE的荧光强度比 ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$)与H₂O₂浓度(0~100 μmol/L)的线性关系图

Fig. 5 Fluorescence spectra of PY-BE in response to H₂O₂

(a) Fluorescence response of PY-BE (5 μmol/L) to various concentrations of H₂O₂ in PBS (pH 7.4); (b) The linear relationship between fluorescence ratio ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$) changes and H₂O₂ concentration in the range of 0 μmol/L-100 μmol/L

(Na⁺、K⁺、Cu²⁺、Ba²⁺、Cd²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Fe²⁺、Ca²⁺)以及阴离子(Cl⁻、Br⁻、CO₃²⁻、H₂PO₄⁻)。在相同体系中,将探针PY-BE分别与以上各种分析物在室温下反应30 min后进行检测。如图6所示,只有在与H₂O₂反应后,探针的荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 出现了显著变化;而加入其他分析物后,该荧光强度比值几乎没有明显变化。上述结果表明,探针PY-BE对H₂O₂具有良好的选择性,可以在复杂的生物环境中特异性检测H₂O₂。

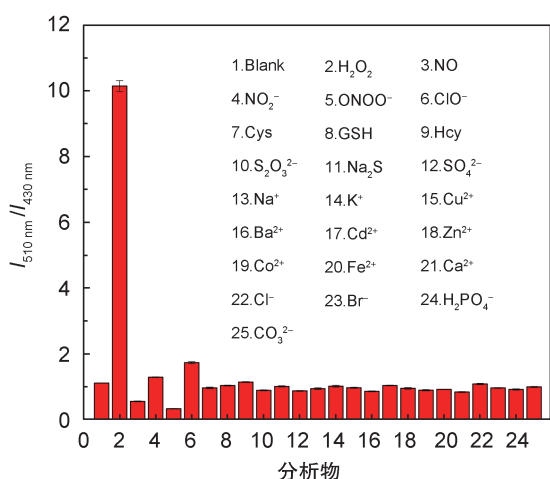


图6 PY-BE(5 μmol/L)与H₂O₂或其他分析物(500 μmol/L)反应后的荧光强度比($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$)

Fig. 6 Fluorescence ratio changes ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$) of PY-BE (5 μmol/L) toward H₂O₂ or various species (500 μmol/L)

2.5 pH对探针PY-BE与H₂O₂响应影响的研究

接下来,我们探究了不同pH对PY-BE对H₂O₂响应的影响。如图7所示,在pH为3.0~10.0的范围内,探针本身的荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 几乎

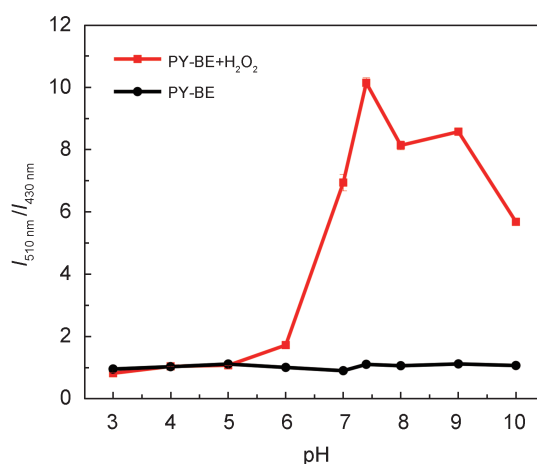


图7 PY-BE(5 μmol/L)与H₂O₂(500 μmol/L)反应的荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 随pH的变化

Fig. 7 The pH effect on the fluorescence ratio changes ($I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$) of PY-BE (5 μmol/L) in the absence and presence of H₂O₂ (500 μmol/L) in PBS with various pH values, respectively

没有变化;当加入H₂O₂并反应30 min后,在pH 7.0~10.0的范围内荧光强度比 $I_{510\text{ nm}}/I_{430\text{ nm}}$ 明显升高;且在pH为7.4时达到最大,这表明该探针非常适用于检测生理环境中H₂O₂的变化。

2.6 响应机理

H₂O₂可以与芳基硼酸类化合物反应形成不稳定的带负电荷的硼酸盐络合物,经分子内重排以及水解后生成酚类化合物和硼酸^[13]。通过对比PY-BE与H₂O₂反应前后的荧光光谱图,我们推测H₂O₂与PY-BE作用后发生重排水解反应,得到产物PY-OH(图1)。为证实这一推测,我们利用高分辨质谱对PY-BE以及PY-BE与H₂O₂反应后的溶液进行了分析。如图8,在 $m/z=322.1976$ 处,PY-BE存在较强的分子离

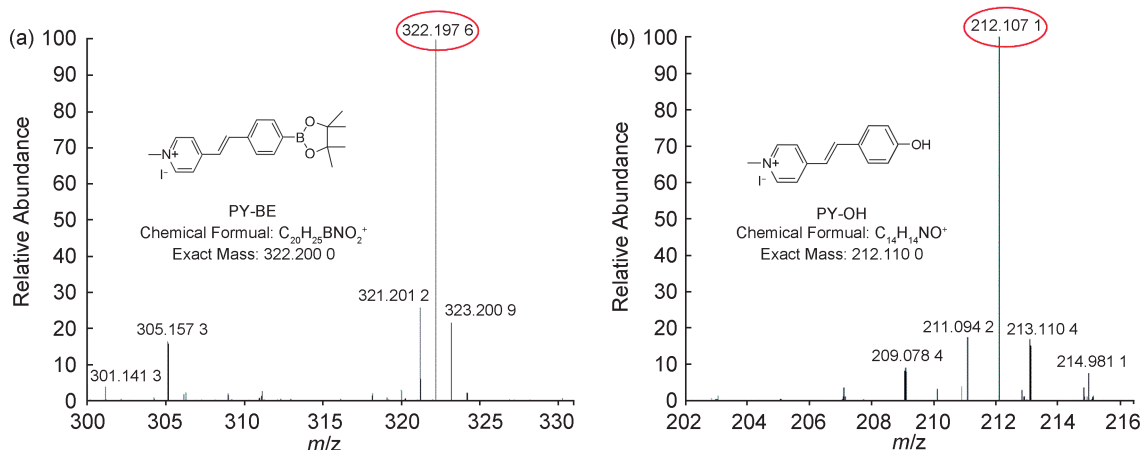


图8 PY-BE(a)及其与H₂O₂反应后(b)的高分辨质谱图

Fig. 8 The HR-MS of PY-BE (a) and PY-BE reacted with H₂O₂ (b)

子峰,这与PY-BE的分子量(322.240 0)基本保持一致。而与 H_2O_2 反应后在 $m/z=212.107 2$ 处存在较强的分子离子峰,与推测产物PY-OH($[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z=212.110 0$)相对应。以上结果证实 H_2O_2 可以与PY-BE络合经重排和水解后生成产物PY-OH。

2.7 智能手机拍照标准曲线的建立

由上述光谱实验可知,在365 nm紫外灯下,探针PY-BE与不同浓度 H_2O_2 反应后的溶液颜色由淡蓝色变为绿色(图9插图)。基于此,可利用智能手机辅助建立准确测量 H_2O_2 浓度的可视化平台。如图9所示,当 H_2O_2 的浓度位于0~70 $\mu\text{mol/L}$ 时,色相比值(H/H_0)与 H_2O_2 的浓度呈现良好的线性关系($H/H_0 = -0.003 1 c(\text{H}_2\text{O}_2) + 1.011 6$, $R^2=0.997 2$), LOD为2.37 $\mu\text{mol/L}$ 。以上结果充分说明了利用智能手机辅助传感平台能够快速、灵敏地实现 H_2O_2 的可视化检测,显著提高了 H_2O_2 检测的效率。

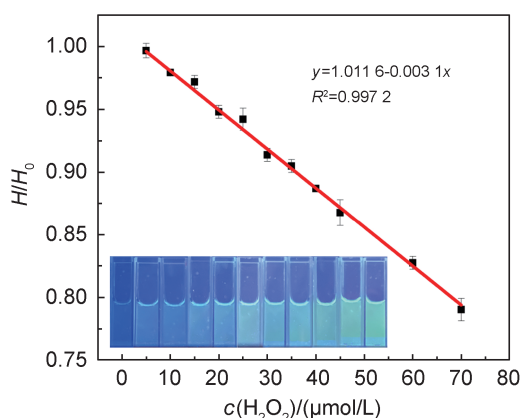


图9 PY-BE的 H/H_0 与 H_2O_2 浓度(0 $\mu\text{mol/L}$ ~70 $\mu\text{mol/L}$)的线性关系

Fig. 9 Linear relationship between the H/H_0 and H_2O_2 concentration in the range of 0 $\mu\text{mol/L}$ -70 $\mu\text{mol/L}$

2.8 智能手机拍照法在实际水样中的应用

随后,为了评价所构建的可视化平台的适用性,我们利用加标回收法将其应用于去离子水、自来水以及地表水(山西大学令德湖水)中 H_2O_2 含量的检测。检测结果如表1所示。BY-PE对 H_2O_2 的检测回收率为96.36%~105.99%,相对标准偏差(RSD)为0.12%~5.99%。良好的回收率表明我们利用智能手机辅助构建的这一传感平台在实际样品分析中具有潜在的适用性。

表1 智能手机辅助的传感平台用于不同水样中 H_2O_2 的检测结果

Table 1 Analysis results of H_2O_2 in different water samples based on the smartphone-assisted sensing platform

Sample	Added / μmol	Found / μmol	Recovery /%	RSD /%
Secondary water	5	5.30	105.99	5.99
	20	20.96	104.82	4.82
	40	38.59	96.46	3.53
	70	69.91	99.88	0.12
Tap water	5	4.97	99.42	0.58
	20	19.27	96.36	3.64
	40	40.46	101.15	1.15
	70	71.18	101.69	1.69
Surface water	5	5.01	100.25	0.25
	20	20.68	103.38	3.38
	40	39.85	99.63	0.37
	70	68.30	97.57	2.43

注:所有测试重复次数为3次。

3 结论

本文以苯乙烯为荧光团母体结构,苯硼酸酯为识别基团合成了一种用于检测 H_2O_2 的比率型荧光探针PY-BE。研究了探针PY-BE对 H_2O_2 的特异性识别性能。结果表明,探针PY-BE对 H_2O_2 具有比率响应特性以及高选择性和灵敏度,检出限为1.54 $\mu\text{mol/L}$ 。此外,利用智能手机辅助建立了可以准确测量 H_2O_2 浓度的可视化平台,检出限为2.37 $\mu\text{mol/L}$ 。最后将其应用于实际水样中 H_2O_2 的加标检测,获得满意的回收率,表明该探针在环境中 H_2O_2 的检测方面具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] TOTARO M, CASINI B, PROFETI S, *et al.* Role of Hydrogen Peroxide Vapor (HPV) for the Disinfection of Hospital Surfaces Contaminated by Multiresistant Bacteria[J]. *Pathogens*, 2020, 9(5): 408. DOI: 10.3390/pathogens9050408.
- [2] SMITH R A W, GARRETT B, NAQVI K R, *et al.* Mechanistic Insights into the Bleaching of Melanin by Alkaline Hydrogen Peroxide[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: 110-117. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.014.
- [3] ZINGARETTI D, VERGINELLI I, BACIOCCHI R. Catalyzed Hydrogen Peroxide Combined with CO_2 Sparging for the Treatment of Contaminated Groundwa-

- ter[J]. *Chem Eng J*, 2016, **300**: 119–126. DOI: 10.1016/j.cej.2016.04.056.
- [4] LIU Z H, GUO W L, HAN X M, *et al.* In Situ Remediation of Ortho-nitrochlorobenzene in Soil by Dual Oxidants (Hydrogen Peroxide/Persulfate)[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, **23**(19): 19707–19712. DOI: 10.1007/s11356-016-7188-x.
- [5] MAGALHÃES V M A, MENDES G P, COSTA-FILHO J D B, *et al.* Clay-based Catalyst Synthesized for Chemical Oxidation of Phenanthrene Contaminated Soil Using Hydrogen Peroxide and Persulfate[J]. *J Environ Chem Eng*, 2020, **8**(2): 103568. DOI: 10.1016/j.jece.2019.103568.
- [6] LI S R, XIAO Y S, CHEN C, *et al.* Recent Progress in Organic Small-molecule Fluorescent Probe Detection of Hydrogen Peroxide[J]. *ACS Omega*, 2022, **7**(18): 15267–15274. DOI: 10.1021/acsomega.2c00117.
- [7] GAO M J, HUA Y, XU J Q, *et al.* Near-infrared Fluorescence Probe with a Large Stokes Shift for Selectively Imaging of Hydrogen Peroxide in Living Cells and in Vivo [J]. *Dyes Pigm*, 2022, **197**: 109930. DOI: 10.1016/j.dyepig.2021.109930.
- [8] MAO S, DING G, WANG K, *et al.* A Novel Mitochondria-targeted Triphenylamine-based Fluorescent Chemo-sensors for Fast Detection of H₂O₂ in Living Cells and Its Imaging Application[J]. *J Mol Struct*, 2022, **1270**: 133951. DOI: 10.1016/j.molstruc.2022.133951.
- [9] FILOMENI G, DE ZIO D, CECCONI F. Oxidative Stress and Autophagy: The Clash Between Damage and Metabolic Needs[J]. *Cell Death Differ*, 2015, **22**(3): 377–388. DOI: 10.1038/cdd.2014.150.
- [10] LIN M T, BEAL M F. Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases[J]. *Nature*, 2006, **443**(7113): 787–795. DOI: 10.1038/nature05292.
- [11] HUA Y, SHANG Y J, GAO M J, *et al.* A "Turn-on" Fluorescent Probe with High Selectivity and Large Stokes Shift for the Detection of Hydrogen Peroxide and Its Bioimaging Applications[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, **265**: 120320. DOI: 10.1016/j.saa.2021.120320.
- [12] WU Y Y, JING F Y, HUANG H L, *et al.* A Near-infrared Fluorescent Probe for Tracking Endogenous and Exogenous H₂O₂ in Cells and Zebrafish[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2023, **302**: 123158. DOI: 10.1016/j.saa.2023.123158.
- [13] KHOT G, KABOLI M, CELIKEL T, *et al.* Electrochemical Detection of Adrenaline and Hydrogen Peroxide on Carbon Nanotubes[J]. *Surf Innov*, 2022, **10**(6): 379–386. DOI: 10.1680/jsuin.21.00038.
- [14] PENG L J, ZHOU H Y, ZHANG C Y, *et al.* Study on the Peroxidase-like Activity of Cobalt Phosphate and Its Application in Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide[J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Aspects*, 2022, **647**: 129031. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2022.129031.
- [15] IVANOVA A S, MERKULEVA A D, ANDREEV S V, *et al.* Method for Determination of Hydrogen Peroxide in Adulterated Milk Using High Performance Liquid Chromatography[J]. *Food Chem*, 2019, **283**: 431–436. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.01.051.
- [16] SONG M R, WANG J L, CHEN B Y, *et al.* A Facile, Nonreactive Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Detection Method Enabled by Ion Chromatography with UV Detector[J]. *Anal Chem*, 2017, **89**(21): 11537–11544. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02831.
- [17] ZHU N N, XU J H, MA Q J, *et al.* A New Lysosome-targeted Fluorescent Probe for Hydrogen Peroxide Based on a Benzothiazole Derivative[J]. *Methods*, 2023, **215**: 38–45. DOI: 10.1016/j.ymeth.2023.05.005.
- [18] GU T C, MO S Y, MU Y Q, *et al.* Detection of Endogenous Hydrogen Peroxide in Living Cells with Para-nitrophenyl Oxoacetyl Rhodamine as Turn-on Mitochondria-targeted Fluorescent Probe[J]. *Sens Actuat B Chem*, 2020, **309**: 127731. DOI: 10.1016/j.snb.2020.127731.
- [19] WANG S, ZHANG Y, WANG T R, *et al.* A Near-infrared Fluorescent Probe Based on the Hemicyanine Skeleton for the Detection of Hydrogen Peroxide in Vivo[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, **266**: 120435. DOI: 10.1016/j.saa.2021.120435.
- [20] SU J, ZHANG S P, WANG C R, *et al.* MACA Fast and Efficient Method for Detecting H₂O₂ by a Dual-locked Model Chemosensor[J]. *ACS Omega*, 2021, **6**(23): 14819–14823. DOI: 10.1021/acsomega.1c00384.
- [21] HAN H, HE X, WU M X, *et al.* A Novel Colorimetric and Near-infrared Fluorescence Probe for Detecting and Imaging Exogenous and Endogenous Hydrogen Peroxide in Living Cells[J]. *Talanta*, 2020, **217**: 121000. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121000.
- [22] PENG T, YE S, LIU R Y, *et al.* Colorimetric and Fluorescent Dual-signals Probes for Naked-eye Detection of Hydrogen Peroxide and Applications in Milk Samples and in Vivo[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2023, **297**: 122757. DOI: 10.1016/j.saa.2023.122757.
- [23] WEI Y F, WANG X, SHI W J, *et al.* A Novel Methylenealononitrile-BODIPY-based Fluorescent Probe for Highly Selective Detection of Hydrogen Peroxide in Living Cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2021, **226**:

113828. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113828.
- [24] PHAM D, BASU U, POHORILETS I, *et al.* Fluorogenic Probe Using a Mislow-evans Rearrangement for Real-time Imaging of Hydrogen Peroxide[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, **59**(40): 17435–17441. DOI: 10.1002/anie.202007104.
- [25] YE S, HU J J, YANG D. Tandem Payne/Dakin Reaction: A New Strategy for Hydrogen Peroxide Detection and Molecular Imaging[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, **57**(32): 10173–10177. DOI: 10.1002/anie.201805162.
- [26] LIU Y, NIU J, NIE J, *et al.* A Mitochondria-targetable Fluorescent Probe with a Large Stokes Shift for Detecting Hydrogen Peroxide in Aqueous Solution and Living Cells[J]. *New J Chem*, 2017, **41**(9): 3320–3325. DOI: 10.1039/C7NJ00107J.
- [27] LI Z H, XIAO L Y, SUN X Q, *et al.* An ESIPT-based Ratiometric Fluorescent Probe for Detecting H₂O₂ in Water Environment and Biosystems[J]. *Sci Total Environ*, 2023, **867**: 161609. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.161609.
- [28] YAO X Y, LI Y, GUO Y T, *et al.* An AIE-based Ratiometric Fluorescent Probe for Reversible Detection of Bisulfite and Hydrogen Peroxide and Its Application in Food Samples and Biological Imaging[J]. *J Photochem Photobiol A Chem*, 2024, **446**: 115116. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2023.115116.
- [29] YUE J Y, SONG L P, WANG Y T, *et al.* Fluorescence/Colorimetry/Smartphone Triple-mode Sensing of Dopamine by a COF-based Peroxidase-mimic Platform[J]. *Anal Chem*, 2022, **94**(41): 14419–14425. DOI: 10.1021/acs.analchem.2c03179.
- [30] LIU C Y, SHAO C X, WU H F, *et al.* A Fast-response, Highly Sensitive and Selective Fluorescent Probe for the Ratiometric Imaging of Hydrogen Peroxide with a 100 nm Red-shifted Emission[J]. *RSC Adv*, 2014, **4**(31): 16055–16061. DOI: 10.1039/C4RA01039F.
- [31] PENG B, XU J M, FAN M M, *et al.* Smartphone Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide in Real Samples Based on B, N, and S Co-doped Carbon Dots Probe[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, **412**(4): 861–870. DOI: 10.1007/s00216-019-02284-1.
- [32] BHOSLE A A, BANERJEE M, GUPTA V, *et al.* Mechanochemical Synthesis of an AIE-TICT-ESIPT Active Orange-emissive Chemodosimeter for Selective Detection of Hydrogen Peroxide in Aqueous Media and Living Cells, and Solid-phase Quantitation Using a Smartphone[J]. *New J Chem*, 2022, **46**(39): 18961–18972. DOI: 10.1039/d2nj03064k.
- [33] UPPU R M, PRYOR W A. Synthesis of Peroxynitrite in a Two-phase System Using Isoamyl Nitrite and Hydrogen Peroxide[J]. *Anal Biochem*, 1996, **236**(2): 242–249. DOI: 10.1006/abio.1996.0162.