



分子印迹比率荧光传感器研究进展

温宇浩^{1,2}, 孙大妮^{1,3}, 于佳洛¹, 齐骥¹, 张忠⁴, 宋志花^{5*}, 王晓艳⁶, 刘惠涛³, 陈令新^{1*}, 李金花^{1,2*}

1. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东省海岸带环境工程技术研究中心, 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 山东省海岸带环境过程重点实验室, 烟台 264003
2. 哈尔滨工业大学(威海)海洋科学与技术学院, 威海 264209
3. 烟台大学化学化工学院, 烟台 264005
4. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西省食品绿色加工与安全控制工程实验室, 西安 710062
5. 烟台大学药学院, 新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心, 分子药理和药物评价教育部重点实验室, 烟台 264005
6. 滨州医学院药学院, 烟台 264003

*通讯作者, E-mail: zhihuasong08@yeah.net, lxchen@yic.ac.cn, jhli@yic.ac.cn.

收稿日期: 2022-10-30; 接受日期: 2023-01-05; 网络版发表日期: 2023-01-31

国家自然科学基金(编号: 22176210, 22106179, 21876199, 21976209)、山东省自然科学基金(编号: ZR2020KC032, ZR2020QB105)、烟台市科技创新发展计划(编号: 2020MSGY112, 2020MSGY077)、陕西师范大学攀登学者项目(编号: GK202206038)和泰山学者特聘专家项目(编号: ts20190962)资助

摘要 荧光传感器具有灵敏度高、响应快、操作简便等优点;然而,在使用单发射荧光传感器时,背景信号、温度、pH值等因素都会对检测结果产生干扰.为使检测结果更灵敏、准确,具有自校正特性的比率荧光传感器应运而生.将模拟抗原抗体特异性结合作用的分子印迹技术引入到比率荧光体系中,即分子印迹比率荧光(molecular imprinting ratiometric fluorescence, MI-RFL)传感器,具有高选择、高灵敏及便捷性等特点,广受关注.本文梳理了2017年以来MI-RFL传感器构建与应用的研究进展.首先介绍了MI-RFL传感器的荧光源和工作机理,然后重点综述了能够提高传感器性能的印迹策略、荧光双/三发射类型,讨论了传感器的微型设计及在现场检测中的应用,最后,尝试提出了MI-RFL传感器面临的挑战,并展望了其发展前景.

关键词 比率荧光, 传感器, 分子印迹, 构建, 应用

1 引言

经典的化学/生物传感器通常是单一响应信号输出用于目标物的检测,然而由于可能受到来自内部或外部因素的干扰,如背景信号的影响、检测环境的变化、传感器基板的负载/操作等,不可避免地会出现灵

敏度低、抗干扰性差等现象^[1].为克服上述缺点,研究者们开发了多信号比率模式.多信号比率模式包含了对检测系统和背景信号干扰的内在内置校正,并在各种目标的检测过程中显示出较高的准确性和可靠性^[2],证明了多信号比率模式可以有效克服单响应信号输出模式的缺点.

引用格式: Wen Y, Sun D, Yu J, Qi J, Zhang Z, Song Z, Wang X, Liu H, Chen L, Li J. Recent advances in molecular imprinting-based ratiometric fluorescence sensors. *Sci Sin Chim*, 2023, 53: 196–206, doi: 10.1360/SSC-2022-0210

荧光法由于其灵敏度高、检测速度快、操作方便等优点, 现已广泛用于农业、工业、医药、环境、食品等领域^[3,4]. 然而, 基于单荧光信号的荧光法抗干扰能力比较差, 容易受到背景环境变化的干扰. 比率荧光法使用一种荧光信号作为工作信号, 另一种荧光信号保持不变或者产生与响应信号相反的变化, 极大地消除了背景环境变化引起的信号波动^[5]. 在比率荧光法中, 两种荧光信号应具有以下特点: (1) 荧光信号区分明显, 能良好分辨^[6]; (2) 对待测物独立响应^[7]; (3) 能被同一激发光激发^[8].

在传感器的实际应用中, 不可避免地出现一些与待测物结构、性质相似的杂质, 对检测结果产生干扰. 引入分子印迹技术(molecular imprinting technology, MIT)能有效解决这个问题. MIT是在模拟自然界中酶和底物及抗原抗体之间特异性结合作用的基础上发展起来的一种技术, 用于制备对特定目标分子具有特异选择性的聚合物即分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs), 常被形象地描绘为制造识别“分子钥匙”的“人工锁”的技术^[9]. MIPs是采用MIT制备的“定制”型高分子材料, 具有特定的识别位点, 与模板分子的大小、形状和官能团互补, 并具有化学和物理稳定性、易于合成、可重复使用、成本低等优势^[10-12]. 因此, MIPs已广泛应用于样品前处理、色谱分离、化学/生物传感、人工抗体、药物释放、模拟酶催化等领域^[11]. 将MIT引入到比率荧光传感器构建中, 获得分子印迹比率荧光(molecular imprinting based ratiometric fluorescence, MI-RFL)传感器, 结合了MIPs的特异识别性与比率荧光检测的高灵敏度, 目前已成为传感领域的研究热点^[13,14].

本文综述了2017年以来MI-RFL传感器的构建与应用, 主要内容如图1所示, 较为全面地总结了MI-RFL的荧光源和工作原理, 介绍了为提高传感器性能的MIPs制备策略, 以及荧光双发射和三发射两种类型, 讨论了MI-RFL传感器的微型化和现场应用. 最后, 提出了MI-RFL传感器面临的挑战, 对其构建和应用前景进行了展望.

2 MI-RFL传感器的荧光源和工作机理

比率荧光传感器包含荧光响应信号和参比信号, 得到的荧光光谱包含特定激发波长处的两个或多个发

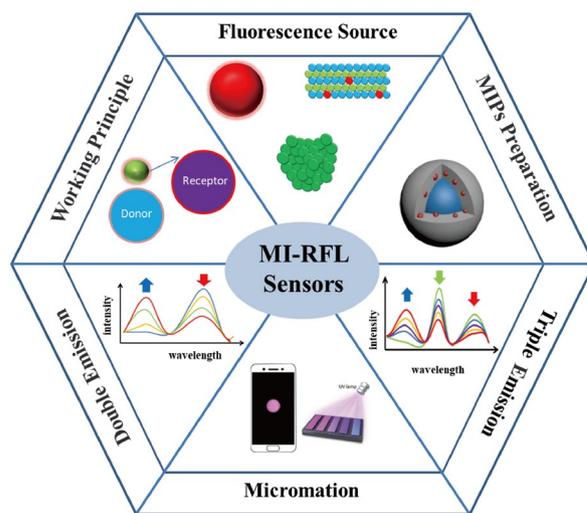


图1 本文的主要内容(网络版彩图)

Figure 1 The main contents of this work (color online).

射峰, 通过计算峰强度的比值作为传感器的输出响应. 因此, 构建MI-RFL传感器也是首先考虑荧光源, 并利用不同的工作机理实现对目标物的定量检测.

2.1 荧光源

比率荧光法的本质是利用荧光源产生两个或多个响应信号, 同时至少有一个信号随浓度呈线性变化^[15]. 因此, 构建传感器的过程中, 选用合适的荧光源非常重要. 随着对荧光研究的日益深入, 荧光材料的应用范围越来越广. 荧光材料除用于照明、显示等领域外, 还广泛应用于有机颜料、光学增白剂、探测、医疗、农业、药物示踪等领域^[16]. 常用的荧光材料有半导体量子点(quantum dots, QDs)^[17]、碳点(carbon dots, CDs)^[18]、金属纳米团簇(metallic nanoclusters, MNCs)^[19]和稀土上转换纳米颗粒(upconversion nanoparticles, UCNPs)^[20]等.

2.1.1 半导体量子点

QDs, 又称为半导体纳米颗粒, 是一类三维尺寸都在纳米量级的荧光材料. 在实际应用中, 由于不同的实际需求, 研究者们经常通过表面官能团的修饰来改变其光学性质^[21]. QDs具有稳定的物理化学性质、良好的生物相容性、分散性和简单的表面功能化等优点^[22,23]. 此外, 其还具有卓越的稳定性、优异的光学性能、可调的光致发光以及良好的抗光漂白性^[24]. 作为

一种性能优异的荧光材料, QDs在荧光领域得到了广泛应用. 例如, Yang等^[25]以CdTeS QDs包覆硅壳(CdTeS QDs@SiO₂)作为参考信号, 为环境因素提供内置校正. 将ZnCdS QDs封装在三维网络印迹聚合物(ZnCdS QDs@MIPs)以提供响应信号, 构建了MI-RFL传感器, 用于抗坏血酸的特异识别和灵敏比率测定.

2.1.2 碳点

CDs是近年来兴起的一种新型碳纳米材料, 其粒径较小, 具有量子尺寸效应^[26]. 与传统的荧光材料相比, CDs具有制备简单、成本低、环境友好、量子产率高、细胞毒性低、生物相容性好、抗光漂白能力强等优点^[26-28]. 因此, CDs是一种应用非常广泛的荧光源^[26]. 例如, Wang等^[29]以异硫氰酸荧光素为荧光增强信号, 使用蓝色CDs作为内标物, 构建了一种用于卵清蛋白(ovalbumin, OVA)荧光测定的MI-RFL传感器. 该传感器可以在365 nm紫外光灯下用荧光试纸进行肉眼选择性视觉识别.

2.1.3 金属纳米团簇

MNCs由几个至几百个金属原子组成, 通常尺寸在1~10 nm^[30], 显示特殊的量子尺寸效应. MNCs具有光稳定性好、低毒、斯托克斯位移大、无闪烁、高催化活性、抗菌等特性^[31]. Lu等^[32]以金纳米簇(AuNCs)为荧光源, 利用双发射纳米颗粒构建了MI-RFL传感器以检测双酚A (bisphenol A, BPA).

2.1.4 稀土上转换纳米颗粒

UCNPs作为新一代的荧光生物标记材料, 由主体材料、敏化剂和激活剂三部分组成^[33]. 与传统的发光材料不同, UCNPs的发光现象遵循反-斯托克斯规则, 即材料受到低能量的激发后发出高能量的光^[33]. 通过选择不同的镧系元素作掺杂剂, UCNPs可以展现出不同波长(及颜色)的转换, 如从近红外到可见光或紫外^[33]. 因此, UCNPs具有优越的发光性能和良好的应用价值. Xu等^[34]利用坡缕石构建了比率荧光纳米探针, 用于四环素类抗生素的实时、现场可视化和高灵敏度检测.

2.1.5 荧光待测物

除了上述常用的荧光源外, 有些待测物本身具有

荧光特性. 因此测定这类物质时, 只需再引入一种荧光源. 通过计算待测物本身的荧光与引入的参比信号的比值, 即可测量待测物的浓度. 例如, Li等^[35]研制了MI-RFL传感器, 用于叶酸(folic acid, FA)的比率荧光和视觉检测. FA本身具有蓝色荧光, 通过将印迹壳锚定在SiO₂纳米颗粒上, 并将CdTe QDs嵌入印迹壳中可提供FA依赖的荧光信号.

总之, 理论上讲, 所有发光材料其实都可用于MI-RFL传感器的构建, 但是在实际操作应用中发现, 具有以下性质的发光材料更适合作MI-RFL传感器的荧光源: 荧光强度高和荧光稳定性好, 如QDs和CDs等较难被酸碱溶液或者其他合成试剂影响的荧光材料; 具有能和印迹分子结合的功能基团, 方便进行修饰, 如修饰QDs常用的羧基; 对特定分析物具有特异性的荧光材料, 也有助于后续提供良好选择性; 作为模板分子的分析物具有自身荧光.

2.2 MI-RFL传感器的工作机理

在传感器的工作过程中, MIPs中的印迹空腔会特异性结合目标物, 可引起荧光源发生物理化学变化. 工作机理主要包括两种: 荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)和光诱导电子转移(photoinduced electron transfer, PET).

2.2.1 荧光共振能量转移

FRET是指在两个不同的荧光基团中, 如果一个荧光基团(供体)的发射光谱与另一个基团(受体)的吸收光谱有一定的重叠, 当这两个荧光基团间的距离合适时, 就可观察到荧光能量由供体向受体转移的现象, 即以供体的激发波长激发时, 可观察到受体发射的荧光^[36,37]. Yang等^[38]以有机配体HQ螯合在CdTe/ZnS QDs表面合成单组分双发射纳米颗粒, 构建了新型介孔结构MI-RFL传感器, 利用FRET机理, 可视化检测了亮蓝. 这种基于双发射颜色可控纳米颗粒的MI-RFL传感器为复杂基质中有色物质的高选择性和灵敏、快速、视觉检测提供了新思路.

2.2.2 光诱导电子转移

典型的PET体系是由包含电子给体的受体部分, 通过间隔基和荧光团相连而构成^[39]. 其中, 荧光团部分是吸收光能和发射荧光的场所, 受体部分则用来结

合客体, 这两部分被间隔基隔开, 又靠间隔基相连成一个分子, 构成了一个在选择性识别受体的同时又给出光信号变化的超分子体系^[36,39]. Wang等^[40]构建了一种新型的MI-RFL传感器, 基于PET检测2,4-二氯苯氧乙酸. 这种简单、快速、可靠的视觉传感策略为复杂基质的高选择性超痕量分析提供了潜在的应用.

3 提高MI-RFL传感器性能的MIPs制备策略

MIPs的基本制备过程如图2所示^[41]. 首先, 模板和功能单体进行自组装, 自组装后进行聚合. 然后, 通过洗脱将模板移去后, 得到MIPs. 聚合方法主要有溶胶-凝胶(sol-gel, s-g)法和自由基聚合两大类, 在MI-RFL传感器构建中主要使用s-g法^[42]. 例如, Jalili等^[43]利用s-g法制备了MIPs, 构建了一种简单、快速响应和高选择性的MI-RFL传感器, 用于室内外痕量氯霉素的灵敏视觉检测. MIPs制备的一些特殊的印迹策略, 包括虚拟模板印迹、片段模板印迹、多模板印迹、刺激响应印迹策略等, 能够提高MI-RFL传感器的性能, 即提高分子识别的选择性.

3.1 虚拟模板和片段模板印迹策略

虚拟模板印迹策略, 是指以一种与目标分子结构类似的物质作为模板分子合成MIPs, 即虚拟模板MIPs, 可有效避免模板泄漏对检测结果的影响, 提高分析准确度^[44]. 片段模板印迹策略, 是使用目标分子中含有特定官能团的一部分(片段结构)作为虚拟模板进行印迹, 通过对分子片段的识别达到对整个分子的识别^[9]. 片段模板印迹策略可实现对一类具有共同结构物质的选择性富集和同时分离测定^[9]. Lian等^[45]采

用莫能菌素钠盐作为虚拟模板制备MIPs, 然后以硝基苯并噻唑(NBD)为识别信号, 新型CDs为内标, 构建了具有自参照能力的MI-RFL传感器, 用于灵敏、可视化检测海水和沉积物样品中的冈田酸. 在荧光分析过程中, 肉眼可以很容易地分辨出具有从亮粉色到黄绿色两种不同色调的可靠视觉变化.

3.2 多模板印迹策略

通常, MIPs的制备主要涉及单个模板分子. 然而, 基于单模板的MIPs限制了其在同时识别和去除多个目标方面的应用. 为克服该缺点, 多模板印迹策略应运而生. 通过使用多个目标物作为模板, 即多模板印迹^[9], 在单个聚合物材料中产生多种类型的识别位点, 可以同时提取、富集、分离、分析不同类别的目标物, 大大拓宽了MIPs的实际应用^[9]. Deng等^[46]以多壁碳纳米管为载体材料, Fe_3O_4 为磁芯, 邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯和邻苯二甲酸二丁酯为模板分子, 制备了一种新型磁性多模板MIPs, 用于同时检测水中的邻苯二甲酸酯类物质.

3.3 刺激响应印迹策略

刺激响应策略是MIT在刺激响应的基础上发展起来的一种新型技术. 刺激响应聚合物的响应聚合单体分子的活性基团的结构和性质会随外界环境的物理化学或生物刺激而发生可逆改变, 使MIPs的印迹性能随着外界刺激改变而产生规律性应答^[47], 从而实现智能控制. 该策略也在MI-RFL构建中有应用. 例如, 本课题组^[48]以N-异丙基丙烯酰胺作为热响应功能单体, 发展了一种新型MI-RFL传感器, 通过温度调节用于藻蓝蛋白(phycoyanin, PC)检测. 在20和45℃的温度下, QDs和PC的荧光强度分别随PC浓度的增加而有规律地降低和增强, 实现了对PC的智能、灵敏检测.

4 提高MI-RFL传感器性能的荧光发射类型

多信号比率模式的本质就是产生两个或多个信号, 而类比到荧光法则是在荧光光谱图中产生多个发射峰. 根据荧光光谱图中发射峰个数不同, 主要分为双发射和多发射两种类型. MI-RFL传感器分为双发射和三发射两种, 比率荧光解决荧光识别的定量问题, 同时有一定的可视化效果.

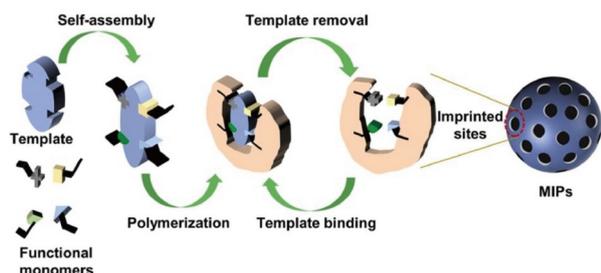


图2 MIPs的制备^[41] (网络版彩图)

Figure 2 Preparation of MIPs [41] (color online).

4.1 双发射

顾名思义, 双发射MI-RFL传感器产生两个发射峰. 与单发射传感器相比, MI-RFL传感器显示出更高的信噪比和精度. 根据引入信号的种类不同, 可以将传感器分成两类: 一类是引入对目标物不敏感的信号作为参比信号, 通过将目标敏感信号转换为比率测量方案, 可以对其进行归一化^[38]; 另一类MI-RFL传感器是引入“可逆”信号作为参比, 当响应信号变化时, 该信号与响应信号产生相反的变化. 又可称作固定荧光发射和不固定荧光发射两种双发射类型.

4.1.1 固定荧光发射

在构建此类传感器时, 通常将惰性荧光团作为参比包埋进介孔硅材料中, 同时将另一种目标敏感型荧光团接枝在印迹层表面^[49]. 随着目标分子浓度的增加, 敏感型荧光团的荧光强度随之改变, 而参比荧光强度不变, 基于两者荧光发射峰的强度比率实现对目标分子的定量检测^[50]. 由于参比信号对环境不敏感, 因此这种构建方法可以消除微环境相关因素的干扰, 以提高内置校正, 从而提高特定目标识别过程中信号转导的再现性. 此类MI-RFL传感器具有非常广泛的应用. 例如, Li等^[51]以CDs为敏感荧光团、钒酸铋掺铕($\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$)纳米粒子为参考荧光团构建MI-RFL传感器, 用于高灵敏、高选择地检测4-硝基苯酚(4-NP). 传感器的构建如图3a所示. 通过 SiO_2 前驱体的水解和缩合反应, CD和 $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ 可以通过一锅合成法, 经硅烷化反应并入 SiO_2 . 构建的MI-RFL传感器在单个激发波长下显示CDs(蓝色)和 $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (红色)的特征荧光发射. 随着4-NP的加入, CD的荧光被选择性猝灭, 产生比率荧光响应. 在最佳条件下, 该传感器的线性范围为0~12.0 $\mu\text{mol/L}$, 检出限(limit of detection, LOD)低至0.15 $\mu\text{mol/L}$. 该方法已成功应用于实际水样和人尿样中4-NP的测定, 具有良好的应用潜力. Amjadi等^[52]设计了一种MI-RFL传感器, 用于烯唑醇(diniconazole, DNZ)的特异性识别和灵敏的比值检测. 传感器的构建如图3b所示, CD掺杂的 SiO_2 用作参比信号, 并为环境影响提供内置校正; CdTe/CdS QDs封装在介孔 SiO_2 中, 提供分析信号. 在DNZ存在下, CdTe/CdS QDs的荧光猝灭, 伴随着可见的绿色到蓝色的变化. 传感器的线性响应范围为20~160 $\mu\text{g/L}$, LOD为6.4 $\mu\text{g/L}$. 该传感器对

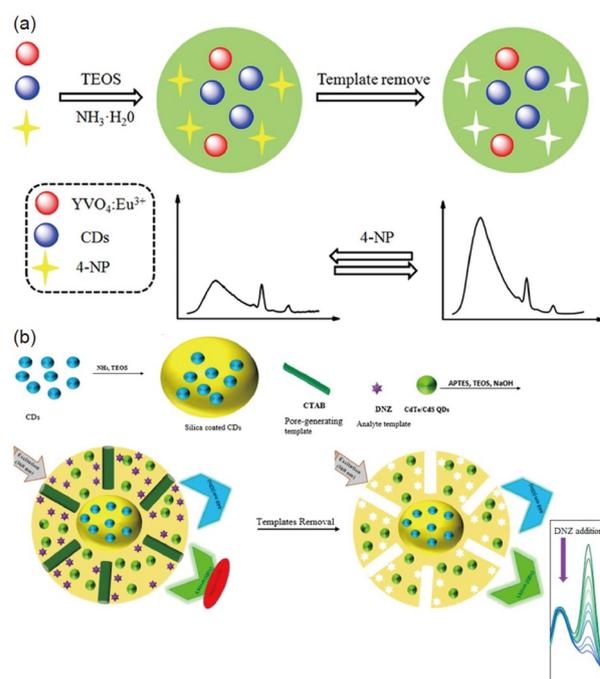


图3 (a) 一锅法制备MI-RFL传感器的示意图^[51]; (b) mMIP@CDs/QDs构建示意图和DNZ检测的工作原理^[52] (网络版彩图)

Figure 3 (a) Schematic diagram of the preparation of MI-RFL sensors in one pot ^[51]. (b) mMIP@CDs/QDs construction schematics and how DNZ detection works ^[52] (color online)

DNZ具有良好的识别特异性. 测定土壤、河水和废水样品中的DNZ, 获得了满意的回收率, 表明该传感方法具有良好的实际样品适用性.

4.1.2 不固定荧光发射

此类传感器大多是基于目标结合调控荧光团之间的电子传递或能量转移, 实现两个相互关联的荧光信号强度发生“可逆”的动态变化^[53]. 例如, Wang等^[53]将双功能 $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 与MIT相结合, 设计了一种用于软骨藻酸定量分析的MI-RFL传感器. $\text{NH}_2\text{-MIL-101(Fe)}$ 自身在452 nm处提供一个发射峰, 并且由于其出色的过氧化物酶样活性, 引发邻苯二胺氧化为2,3-二氨基吩嗪, 峰值在556 nm处. 由于内滤波效应, 两个相互影响的信号探针可以形成高灵敏度的复合荧光探针. 该传感器具有优异的灵敏度、抗干扰能力和选择性, 检测过程如图4a所示. 实验结果表明, 该传感器在0.01~10 $\mu\text{mol/L}$ 范围内具有良好的线性关系, LOD为8.2 nmol/L. 实际样品加标实验表明, 该MI-RFL传感器

具有广阔的应用前景. Wang等^[54]发展了一种简便的MI-RFL传感器构建策略, 即通过使用NBD作为荧光信号源的s-g聚合过程, 构建基于FRET的用于高选择性和灵敏检测PC的MI-RFL传感器. MIPs的制备过程和可能的检测原理如图4b所示. 利用NBD和PC的两个荧光峰发射强度的比值来确定PC的浓度, 可以有效地降低背景干扰和各种条件的波动. 该传感器具有高灵敏度, 且对PC的识别特异性优于其类似物, 具有9.1的高印迹因子(imprinting factor, IF). 此外, 该传感器在对湖水和自来水样品中三个加标水平下获得了93.8%~110.2%的高回收率. 该传感策略被证明是开发高效荧光传感器的可行方法, 适用于复杂基质的超痕量分析.

Lu等^[55]基于多级介孔结构SiO₂, 采用“印迹后修饰”策略构建了MI-RFL传感器用于检测BPA, 印迹后修饰过程如图4c所示. 传感器的响应在0.005~4.0 μmol/L范围内与BPA呈线性关系, LOD为0.57 nmol/L. 此外, 通过印迹后修饰, 可同时将CDs和QDs锚定在MIPs上, 成功用于测定河水中的BPA, 平均回收率为96.4%~102.0%, 相对标准偏差低于4.1%. 通过先印迹后修饰的构建策略引入具有额外荧光功能的位点, 不仅能够实现荧光背景降低、识别选择性提高和印迹空腔内信号转导, 而且利于颜色调控和构建比率型荧光传感器.

4.2 三发射

大多数MI-RFL传感器提供两种发射及其颜色组合, 主要涉及蓝色与红色混合、蓝色与绿色混合、绿色与红色混合; 在分析物识别时, 分别在蓝色-紫色-红色、蓝色-青色-绿色和绿色-黄色-红色的过渡色内实现荧光颜色变化^[56]. 虽然MI-RFL传感器的可视化能力远高于单发射MIPs传感器的“开启”或“关闭”荧光亮度变化^[57], 然而, 颜色演化窗口仍然很窄. 三发射MI-RFL传感器, 指的是合成及检测过程存在三种荧光物质, 在双发射的基础上增加一个新的荧光信号, 通过三元发射扩大可视化窗口、提高肉眼检测精确度^[58]. 因此, 三发射MI-RFL传感器有着更加优异的性能. 然而, 目前对于此类研究及应用非常少.

本课题组^[56]将蓝色/绿色/红色印迹聚合物(b-MIPs、g-MIPs和r-MIPs)以适当的比例进行混合, 实现了牛血红蛋白(bovine hemoglobin, BHb)的视觉检测.

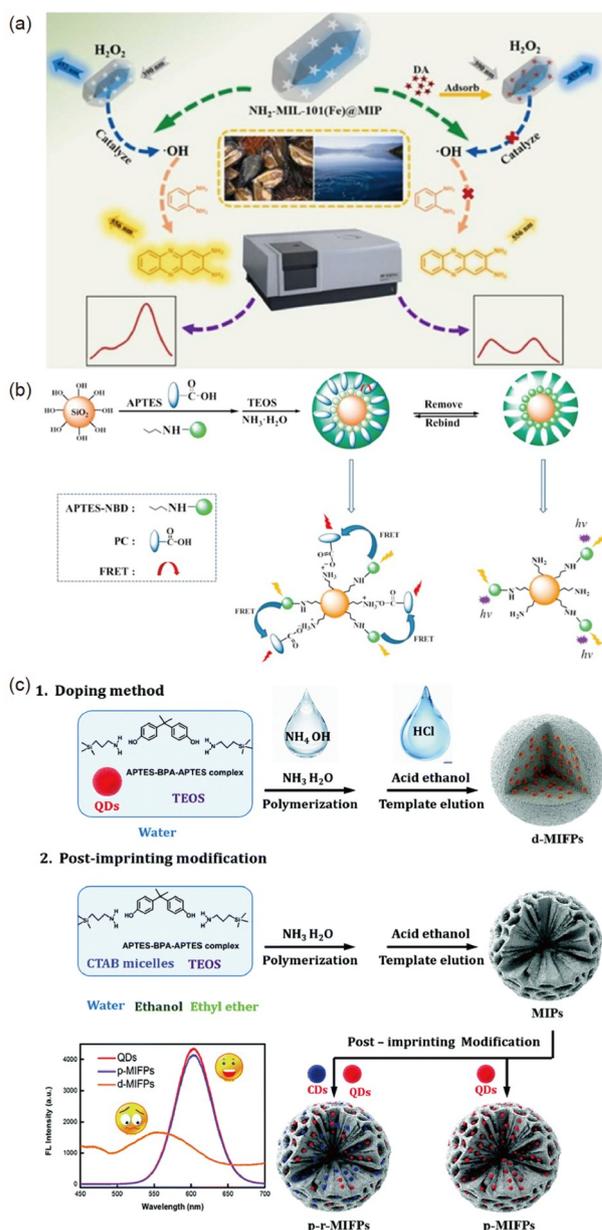


图4 (a) MI-RFL传感器的传感机理^[53]; (b) MIPs的制备过程和可能的检测原理示意图^[54]; (c) 通过掺杂方法和印迹后修饰方法制备MIPs的工艺^[55] (网络版彩图)

Figure 4 (a) Sensing mechanism of MI-RFL sensors ^[53]. (b) Schematic diagram of the preparation process and possible detection principles of MIPs ^[54]. (c) Preparation process of MIPs via the doping method and post-imprinting modification ^[55] (color online).

三元发射的比率荧光强度在0.025~3 μmol/L范围内呈线性变化. 由图5a可知, 整个体系伴随着丰富的荧光颜色演变, 从黄绿色到黄色, 再到紫色, 最后是蓝色. 其

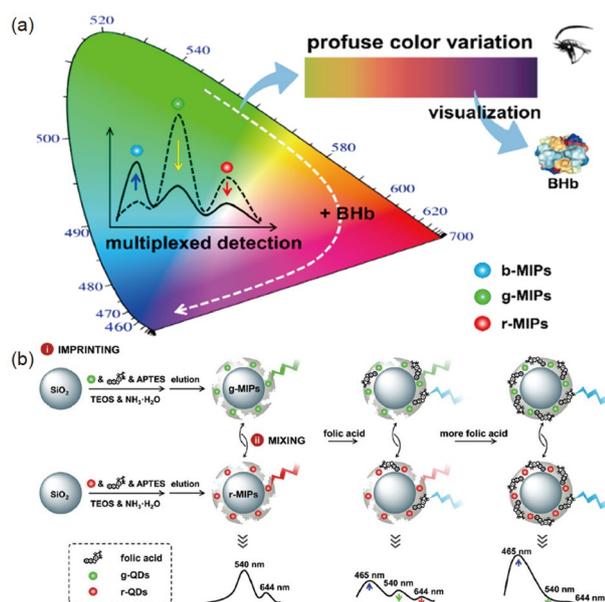


图5 (a) 基于三发射的MI-RFL传感器的构建显示颜色变化范围的色度图^[56]; (b) g-MIPs和r-MIPs的合成步骤, 三发射MIPs传感器的构建策略及其在FA测定中的应用^[59] (网络版彩图)

Figure 5 (a) Construction of a three-emission MI-RFL sensor chromaticity plot showing the color variation range^[56]. (b) Synthesis steps of g-MIPs and r-MIPs, as well as the construction strategy of the three-emission MIPs sensor and its application in FA determination^[59] (color online)

LOD低至7.8 nmol/L, IF高达15.2. 同样地, 采用该“印迹后混合”策略和基于该三色发射, 我们实现了对FA荧光分析物的可视化检测^[59]. 构建过程如图5b所示, 通过将g-QDs和r-QDs分别封装在SiO₂核上, 首先合成了两种以FA为模板的MIPs, 然后将它们以适当比例混合, 制得三发射MI-RFL传感器. 识别FA后, FA固有的蓝色荧光增强, QDs的绿色和红色荧光逐渐猝灭. 在FA浓度为

0.01~50 mg/L的范围内, 三发射的比率强度变化以逻辑函数形式变化, 相应的荧光颜色从黄色到橙色、红色到紫色, 最后到蓝色, 可视化效果显著. 这种通过先印迹后混合的构建策略, 可达到单次制备多次优化的效果, 将极大简化制备过程、加速实验进程.

5 MI-RFL传感器的POCT应用

在检测实际样品时, 由于一些物质不易储存及不易运输, 无法将其带回实验室进行检测. 通过将MI-

RFL传感器微型化, 可以使其广泛应用于即时检验. 即时检验(point-of-care testing, POCT), 是指在采样现场进行的检测方法, 使用便携式分析仪器快速获得检测结果^[60]. POCT具有以下特点: (1) 快速获得结果, 大大缩短了周转时间; (2) 仪器体积小, 便于携带; (3) 可以用于痕量样品或无需样品; (4) 操作简单, 非专业人员只需培训或阅读说明即可操作; (5) 成本低, 适合常规使用. 许多研究者致力于开发便携式快速检测装置, 比如多色荧光试纸传感器的设计, 不需要大型仪器、成本低、方便携带、操作简单, 只需要借助黑暗环境和紫外灯, 用肉眼即可实现对目标物的可视化检测, 有望解决环境监测和食品安全等领域中缺乏现场快速检测方法的难点问题以及扩展到其他化学或生物传感器的设计当中^[61]. MI-RFL传感器用于POCT, 主要包括试纸条、微流控芯片、智能手机模式等.

5.1 试纸条

近年来, 基于试纸条的检测方法经历了一场快速的革命. 嵌入试纸条中的纳米颗粒的组成和形态已经从AuNCs扩展到各种复杂的纳米结构, 这些纳米结构具有先进的光学性能^[61]. Wang等^[62]基于双发射荧光MIPs纳米颗粒开发了一种用于视觉检测神经递质多巴胺的简易试纸条. 试纸条的合成过程如图6a所示. 该试纸条最佳响应时间为3 min, 并显示了直接目视检测多巴胺水平的潜力, 只需在其上滴下少量生物流体样品. 这项工作为临床上快速、直观和现场检测生物流体提供了一种简便有效的策略.

5.2 微流控芯片

微流控分析技术是指将繁复的、庞大的分析过程浓缩在一张具有集成化、微型化、自动化的设备上. 该技术降低了试剂的消耗及成本, 可以实现高通量的同时检测^[63]. 其中, 微流控纸芯片是当前分析化学中最活跃的发展领域之一, 在生物医学、环境监测、致病微生物检测等众多领域得到广泛应用. Hao等^[64]构建了一种新型MI-RFL微流控纸芯片, 将绿色荧光作为对照荧光源, 以半胱氨酸修饰后的CDs的荧光变化来实现苯醚甲环唑的快速可视化检测, 最佳响应时间为10 min. 检测过程如图6b所示. 利用该纸芯片测定黄瓜样品, 获得了满意的效果. 与传统液相荧光传感材料相比, 固相基质的比率荧光传感器具备更好的携带性和

参考文献

- 1 Jin H, Sun Z, Sun Y, Gui R. *TrAC Trends Anal Chem*, 2021, 134: 116124
- 2 Li Q. *Chin J Lumin*, 2020, 41: 579–591 (in Chinese) [李庆芝. 发光学报, 2020, 41: 579–591]
- 3 Xu Y, Huang T, Hu B, Meng M, Yan Y. *Microchem J*, 2022, 172: 106899
- 4 Demchenko A. *Introduction to Fluorescence Sensing* (Volume 1: Materials and Devices). 3rd Ed. Heidelberg: Springer Nature, 2020
- 5 Wang X, Yu J, Ji W, Arabi M, Fu L, Li B, Chen L. *ACS Appl Nano Mater*, 2021, 4: 6852–6860
- 6 Han X, Qi J, Song Z, Shi Y, Liu F, Zhang Y, Han J, Xu H, Li B. *Sci Sin-Chim*, 2020, 50: 463–475 (in Chinese) [韩笑笑, 齐骥, 宋志花, 石雅君, 刘丰, 张昱, 韩京龙, 徐惠忠, 李博伟. 中国科学: 化学, 2020, 50: 463–475]
- 7 Yang Y, Li L, Lin L, Wang X, Li J, Liu H, Liu X, Huo D, Hou C. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 414: 2619–2628
- 8 Zhu R, Lai M, Zhu M, Liang H, Zhou Q, Li R, Zhang W, Ye H. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 244: 118845
- 9 Chen L, Wang X, Lu W, Wu X, Li J. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 2137–2211
- 10 Jia M, Zhang Z, Yang X, Li J, Chen L. *Sci Sin-Chim*, 2017, 47: 300–314 (in Chinese) [贾梦凡, 张忠, 杨兴斌, 李金花, 陈令新. 中国科学: 化学, 2017, 47: 300–314]
- 11 Wen Y, Sun D, Zhang Y, Zhou N, Liu H, Li J, Zhuang X. *Chem Reagents*, 2022, 44: 1334–1341 (in Chinese) [温宇浩, 孙大妮, 张悦, 周娜, 刘惠涛, 李金花, 庄旭明. 化学试剂, 2022, 44: 1334–1341]
- 12 Xiao G, Zhao Y, Su H. *Sci Sin-Chim*, 2018, 48: 266–276 (in Chinese) [肖刚, 赵怡琳, 苏海佳. 中国科学: 化学, 2018, 48: 266–276]
- 13 Gui W, Wang H, Liu Y, Ma Q. *Sens Actuat B-Chem*, 2018, 266: 685–691
- 14 Yang Q, Li J, Wang X, Peng H, Xiong H, Chen L. *Biosens Bioelectron*, 2018, 112: 54–71
- 15 Chen Y, Wang X, Lu C, Wu W, Wang X. *Food Control*, 2021, 129: 108218
- 16 Pei W, Han L, Su Y, Li G. *New Chem Mater*, 2020, 48: 1–5 (in Chinese) [裴婉莹, 韩乐, 苏毅, 李国斌. 化工新型材料, 2020, 48: 1–5]
- 17 Wei J, Chen H, Zhang W, Pan J, Dang F, Zhang Z, Zhang J. *Sens Actuat B-Chem*, 2017, 244: 31–37
- 18 Malfatti L, Innocenzi P. *Chem Rec*, 2018, 18: 1192–1202
- 19 Liu Y, Zhang Y, Zhang W, Wang X, Sun Y, Huang Y, Ma P, Ding J, Song D. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 262: 120087
- 20 Pirzada M, Altintas Z. *Chem Soc Rev*, 2022, 51: 5805–5841
- 21 Ponomaryova TS, Novikova AS, Abramova AM, Goryacheva OA, Drozd DD, Strokin PD, Goryacheva IY. *J Anal Chem*, 2022, 77: 402–409
- 22 Xiong J, Zhang H, Qin L, Zhang S, Cao J, Jiang H. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 4088
- 23 Liang X, Yuan Y, Cao T, Dong L. *Sci Sin-Chim*, 2017, 47: 1191–1197 (in Chinese) [梁潇, 袁野, 曹婷婷, 董丽杰. 中国科学: 化学, 2017, 47: 1191–1197]
- 24 Mittelstädt A, Schliwa A, Klenovský P. *Light Sci Appl*, 2022, 11: 11–17
- 25 Yang M, Wang C, Liu E, Hu X, Hao H, Fan J. *J Mol Liquids*, 2021, 337: 116438
- 26 Luo X, Han Y, Chen X, Tang W, Yue T, Li Z. *Trends Food Sci Tech*, 2020, 95: 149–161
- 27 Ren J, Stagi L, Innocenzi P. *Prog Solid State Chem*, 2021, 62: 100295
- 28 Innocenzi P, Malfatti L, Carboni D. *Nanoscale*, 2015, 7: 12759–12772
- 29 Wang X, Yu S, Wang J, Yu J, Arabi M, Fu L, Li B, Li J, Chen L. *Talanta*, 2020, 211: 120727
- 30 Yu P, Wen X, Toh YR, Ma X, Tang J. *Part Part Syst Charact*, 2015, 32: 142–163
- 31 Ayesha AI. *J Nanomater*, 2016, 2016: 2359019
- 32 Lu H, Xu S. *Biosens Bioelectron*, 2017, 92: 147–153
- 33 Sun C, Gradzielski M. *Adv Colloid Interface Sci*, 2022, 300: 102579
- 34 Xu J, Shen X, Jia L, Zhou T, Ma T, Xu Z, Cao J, Ge Z, Bi N, Zhu T, Guo S, Li X. *J Hazard Mater*, 2018, 342: 158–165
- 35 Li C, Yang Q, Wang X, Arabi M, Peng H, Li J, Xiong H, Chen L. *Food Chem*, 2020, 319: 126575
- 36 Sharma S, Ghosh KS. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 254: 119610
- 37 Hussain S, Chen X, Wang C, Hao Y, Tian X, He Y, Li J, Shahid M, Iyer PK, Gao R. *Anal Chem*, 2022, 94: 10685–10694
- 38 Yang Q, Li J, Wang X, Peng H, Xiong H, Chen L. *Sens Actuat B-Chem*, 2019, 284: 428–436
- 39 Yang C, Abbas F, Rhouati A, Sun Y, Chu X, Cui S, Sun B, Xue C. *Biosensors*, 2022, 12: 297

- 40 Wang X, Yu J, Wu X, Fu J, Kang Q, Shen D, Li J, Chen L. *Biosens Bioelectron*, 2016, 81: 438–444
- 41 Yang H, Liu HB, Tang ZS, Qiu ZD, Zhu HX, Song ZX, Jia AL. *J Environ Chem Eng*, 2021, 9: 106352
- 42 Li J, Sun D. *Langmuir*, 2022, 38: 13305–13312
- 43 Jalili R, Khataee A. *Food Chem Toxicol*, 2020, 146: 111806
- 44 Wang Y, Sun H, Wang L, Ji L, Sun D, Liu H, Song Z, Li J. *Chem Reagents*, 2022, 44: 1314–1324 (in Chinese) [王艺晓, 孙宏宵, 王莉燕, 纪灵, 孙大妮, 刘惠涛, 宋志花, 李金花. 化学试剂, 2022, 44: 1314–1324]
- 45 Lian Z, Zhao M, Wang J, Yu RC. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 346: 130465
- 46 Deng D, He Y, Li M, Huang L, Zhang J. *Environ Sci Pollut Res*, 2021, 28: 5966–5977
- 47 Zhang J, Hao Y, Tian X, Liang Y, He X, Gao R, Chen L, Zhang Y. *J Mater Chem B*, 2022, 10: 6634–6643
- 48 Li J, Fu J, Yang Q, Wang L, Wang X, Chen L. *Analyst*, 2018, 143: 3570–3578
- 49 Amiri NS, Milani-Hosseini MR. *Anal Methods*, 2019, 11: 5919–5928
- 50 Dan L, Wang HF. *Anal Chem*, 2013, 85: 4844–4848
- 51 Li W, Zhang H, Chen S, Liu Y, Zhuang J, Lei B. *Biosens Bioelectron*, 2016, 86: 706–713
- 52 Amjadi M, Jalili R. *Biosens Bioelectron*, 2017, 96: 121–126
- 53 Wang L, Wen L, Zheng S, Tao F, Chao J, Wang F, Li C. *Sens Actuat B-Chem*, 2022, 361: 131688
- 54 Wang X, Yu J, Kang Q, Shen D, Li J, Chen L. *Biosens Bioelectron*, 2016, 77: 624–630
- 55 Lu H, Wei D, Zheng R, Xu S. *Analyst*, 2019, 144: 6283–6290
- 56 Yang Q, Li J, Wang X, Xiong H, Chen L. *Anal Chem*, 2019, 91: 6561–6568
- 57 Okorochoenkova Y, Porubský M, Benická S, Hlaváč J. *Chem Commun*, 2018, 54: 7589–7592
- 58 Ma J, Lian Z, He C, Wang J, Yu R. *CJCSP*, 2021, 39: 775–780 (in Chinese) [马嘉欣, 连子如, 何橙, 王江涛, 于仁成. 色谱, 2021, 39: 775–780]
- 59 Yang Q, Li C, Li J, Wang X, Arabi M, Peng H, Xiong H, Chen L. *Nanoscale*, 2020, 12: 6529–6536
- 60 Li J, Angsantikul P, Liu W, Esteban-Fernández de Ávila B, Thamphiwatana S, Xu M, Sandraz E, Wang X, Delezuk J, Gao W, Zhang L, Wang J. *Angew Chem Int Ed*, 2017, 56: 2156–2161
- 61 Wang L, Wang X, Cheng L, Ding S, Wang G, Choo J, Chen L. *Biosens Bioelectron*, 2021, 189: 113360
- 62 Wang J, Dai J, Xu Y, Dai X, Zhang Y, Shi W, Sellergren B, Pan G. *Small*, 2019, 15: 1803913
- 63 Ma X, Hao G, Zhang Z, Li J, Yang X, Chen L. *Sci Sin-Chim*, 2020, 50: 393–405 (in Chinese) [马昕, 郝帼英, 张忠, 李金花, 杨兴斌, 陈令新. 中国科学: 化学, 2020, 50: 393–405]
- 64 Hao G, Zhang Z, Ma X, Zhang R, Qin X, Sun H, Yang X, Rong J. *Microchem J*, 2020, 157: 105050
- 65 Chu S, Wang H, Ling X, Yu S, Yang L, Jiang C. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 12962–12971
- 66 Li Y, Sun J, Mao W, Tang S, Liu K, Qi T, Deng H, Shen W, Chen L, Peng L. *Microchim Acta*, 2019, 186: 403–413
- 67 Wang J, Chen X, Wang X, Kang Q, Shen D, Chen L. *Sens Actuat B-Chem*, 2020, 322: 128581
- 68 Arabi M, Ostovan A, Li J, Wang X, Zhang Z, Choo J, Chen L. *Adv Mater*, 2021, 33: 2100543

Recent advances in molecular imprinting-based ratiometric fluorescence sensors

Yuhao Wen^{1,2}, Dani Sun^{1,3}, Jialuo Yu¹, Ji Qi¹, Zhong Zhang⁴, Zhihua Song^{5*}, Xiaoyan Wang⁶, Huitao Liu³, Lingxin Chen^{1*}, Jinhua Li^{1,2*}

¹ CAS Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Shandong Key Laboratory of Coastal Environmental Processes, Shandong Research Center for Coastal Environmental Engineering and Technology, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

² School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology (Weihai), Weihai 264209, China

³ College of Chemistry and Chemical Engineering, Yantai University, Yantai 264005, China

⁴ Shaanxi Engineering Laboratory for Food Green Processing and Safety Control, College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

⁵ Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation, Ministry of Education, Shandong Provincial High-efficiency Collaborative Innovation Center for Novel Formulations and Biotechnology Drug Research, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China

⁶ School of Pharmacy, Binzhou Medical College, Yantai 264003, China

*Corresponding authors (email: zhihuasong08@yeah.net; lxchen@yic.ac.cn; jhli@yic.ac.cn)

Abstract: Fluorescence sensors possess excellent advantages of high sensitivity, rapid response and simple operation. However, for single-emission fluorescence sensors, some uncontrollable factors, such as background signal, temperature, and pH, can interfere with the detection results. In order to attain more sensitive and accurate detection results, ratiometric fluorescence sensors come into being, with self-correcting characteristics. Molecular imprinting technology (MIT) that mimics the specific binding effect of antigen and antibody is introduced into the ratiometric fluorescence system, and thereby constitutes the molecular imprinting-based ratiometric fluorescence (MI-RFL) sensors. The sensors have the excellent performances such as high selectivity, high sensitivity and convenience, and receive wide concerns. Herein, we review the research advances of construction and application of MI-RFL sensors since 2017. Firstly, the fluorescence source and working mechanism of MI-RFL sensor are introduced. Then, the preparation strategy of imprinting material and fluorescence double/triple emission types developed to improve the performance of the MI-RFL sensors are highlighted. In addition, the micromotion design of the MI-RFL sensor and application in field detection are discussed. Finally, the challenges of MI-RFL sensors and their promising future are proposed.

Keywords: ratiometric fluorescence, sensors, molecular imprinting, construction, application

doi: [10.1360/SSC-2022-0210](https://doi.org/10.1360/SSC-2022-0210)