

# 基于上转换适配体荧光纳米材料特异性检测磺胺二甲氧嘧啶的方法研究

范丹阳<sup>1</sup>, 张学成<sup>1</sup>, 高俊<sup>1</sup>, 王家斌<sup>2</sup>, 吕海霞<sup>1\*</sup>

1. 福州大学材料科学与工程学院, 福建 福州 350108

2. 福州大学生物科学与工程学院, 福建 福州 350108

**摘要** 上转换纳米粒子(UCNPs)因其具有强生物穿透性、大斯托克位移、良好的光稳定性和生物相容性等优点而被广泛应用于生物医药分析领域。通过聚丙烯酸(PAA)对油酸(OA)配体的上转换纳米粒子(OA-UCNPs)进行表面改性得到亲水性纳米粒子 PAA-UCNPs, 再通过酰胺化反应将适配体(Apt)共价偶联到 PAA-UCNPs 表面得到 Apt-UCNPs 并将其作为能量供体, 以黑洞猝灭剂(BHQ1)作为能量受体, 构建了一种基于荧光共振能量转移特异性检测磺胺二甲氧嘧啶(SDM)的方法。通过红外光谱(FTIR)及扫描电镜(SEM)对 OA-UCNPs、PAA 以及 PAA-UCNPs 的结构和性能进行了表征。从红外光谱中可以看出, 相比较于 OA-UCNPs, PAA-UCNPs 于  $1\ 722\ \text{cm}^{-1}$  处出现了新峰, 可能为 PAA 的  $\text{—C=O}$  伸缩振动峰, 且在  $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$  附近存在的宽带可能归因于 PAA 中  $\text{O—H}$  伸缩振动; 从扫描电镜实验结果可以看出, PAA 修饰前分散在环己烷中的 OA-UCNPs 尺寸约为  $31\ \text{nm}$ , 而 PAA 修饰后分散在水溶液中的 UCNPs 直径约为  $49\ \text{nm}$ 。分析认为长链的 PAA 分子体积比油酸分子大, 因此包覆在 UCNPs 表面会使其尺寸增加, 以上结果均表明 PAA 可能已被修饰到 UCNPs 表面。通过紫外可见光谱对 Apt-UCNPs、Apt 及 PAA-UCNPs 的结构进行了表征。结果发现相对于 PAA-UCNPs, Apt-UCNPs 的紫外吸收光谱在  $260\ \text{nm}$  处出现了较明显的 Apt 特征吸收峰, 这表明适配体可能已被修饰到 UCNPs 表面。对 Apt-UCNPs 用于检测 SDM 的机理进行了初步探讨, 结果发现 Apt-UCNPs 在  $540\ \text{nm}$  的发射峰与 BHQ1 的吸收峰发生重叠, 表明 Apt-UCNPs 上的能量可通过共振能量转移效应转移到 BHQ1 使得 Apt-UCNPs 的荧光被猝灭。对猝灭剂 BHQ1 的浓度进行了优化, 结果表明当 BHQ1 浓度为  $15\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 荧光猝灭效率为  $55\%$ 。在最佳实验条件下, 相对荧光强度与 SDM 浓度( $150\sim 1\ 000\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )之间具有良好的线性关系, 选取与 SDM 结构相似的磺胺吡啶和磺胺醋酰作对照实验, 发现尽管磺胺吡啶和磺胺醋酰的浓度达到了  $500\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 但其检测体系中相较于加入 SDM 后的荧光强度恢复程度仍然较低, 这说明该检测方法可对 SDM 有特异性识别作用。

**关键词** 上转换纳米粒子; 磺胺二甲氧嘧啶; 适配体

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)11-3409-06

## 引言

磺胺二甲氧嘧啶(SDM)是一种常见的抗菌感染药物, 在世界各地广泛用于预防或治疗家禽疾病。由于过度使用, 其在环境中的残留可能会对人体造成危害。较为常用的检测磺胺二甲氧嘧啶的方法有高效液相色谱(HPLC)<sup>[1]</sup>、高效毛细管电泳(CE)<sup>[2]</sup>和液相色谱-电喷雾电离-串联质谱(LC-ESI-MS)<sup>[3]</sup>等, 虽然现有方法具有一定的可靠性与准确性, 但大多具有仪器较昂贵、难操作、耗时久或样品预处理繁琐等缺

点, 限制了在 SDM 检测上的应用, 因此有必要开发新的检测方法克服现有检测技术上的不足。

近年来, 荧光探针由于其低检测限、检测速度快、不依赖复杂仪器而在检测领域受到广泛应用。Chen<sup>[4]</sup>等采用一种基于适配体与量子点用于检测 SDM 的荧光传感器, 通过静电作用, 使适配体(Aptamer)和聚二烯丙基二甲基氯化铵(PDDA)形成双链, 阻碍了 PDDA 对量子点荧光的猝灭, 但适配体与 SDM 的特异性结合可能导致游离的 PDDA 释放, 导致荧光被猝灭, 从而实现在水样和鱼类样品中残留 SDM 的快速检测。然而现有用于检测 SDM 的方法大部分使用有

收稿日期: 2021-10-19, 修订日期: 2022-04-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31771893), 福建省科学计划引导项目(2019Y0003)资助

作者简介: 范丹阳, 1996 年生, 福州大学材料科学与工程学院硕士研究生 e-mail: 401964770@qq.com

\* 通讯作者 e-mail: hx\_lv@163.com

机染料或量子点,通常具有光化学稳定性差和光漂白等缺点,且在紫外可见光激发下还会受到生物样品基质的背景干扰,限制了其在复杂样品基质中的使用。与传统的荧光团相比,上转换纳米粒子(UCNPs)具有独特的优势,例如高的生物穿透性、窄的发射峰、大的斯托克位移<sup>[5]</sup>等优点,因此具有用作荧光探针的巨大潜力,进而被广泛用于各种物质的检测,例如毒素<sup>[6]</sup>、细菌<sup>[7]</sup>、农药<sup>[8]</sup>及抗生素<sup>[9]</sup>等,但目前有关于 UCNPs 用于 SDM 检测的研究仅见 Liu 等<sup>[10]</sup>利用沉积在适配体功能化后的磁性纳米粒子的表面上的 UCNPs 与 SDM 间的亲和性及磁性纳米粒子易于分离的优点,构建了一种对 SDM 的特异性且高灵敏度复合荧光探针,但该复合探针的制备及检测过程较为繁琐,因此开发出简便易于操作用于检测 SDM 的上转换纳米材料探针仍是一项挑战。

针对现有检测 SDM 的技术问题,合成了氯化镱、氯化钇、氯化铒作为稀土原料,油酸(OA)作为配体的上转换纳米粒子(OA-UCNPs),对其进行表面羧基功能化后得到亲水性上转换纳米粒子 PAA-UCNPs,再将其进行适配体功能化得到偶联适配体的上转换纳米粒子(Apt-UCNPs),构建了基于 Apt-UCNPs 的检测体系,并针对共振能量转移效应(FRET)与碱基互补配对原则对检测机理进行了探讨,验证了检测方法的可行性;该检测体系克服了传统方法的不足,具有操作简便、耗时少且不依赖昂贵仪器的优点,并对于磺胺二甲氧嘧啶的检测具有特异性,实现了对 SDM 的特异性检测,为磺胺二甲氧嘧啶的检测提供了简便且有效的方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

FluoroMax-4 型荧光光谱仪(法国 HORIBA Jobin Yvon 公司);2450 型紫外-分光光度计(日本岛津公司);Nicolet 5700 型傅里叶红外光谱仪(美国热电公司);SUPRA 55 型场发射扫描电子显微镜(德国卡尔蔡司有限公司)。

氢氧化钠(NaOH)、无水乙醇( $C_2H_5OH$ )、环己烷( $C_6H_{12}$ )、六水氯化钇( $YCl_3 \cdot 6H_2O$ )、六水氯化镱( $YbCl_3 \cdot 6H_2O$ )、六水氯化铒( $ErCl_3 \cdot 6H_2O$ )、油酸(OA)、1-十八烯(ODE)、甲醇( $CH_3OH$ )、氟化铵( $NH_4F$ )、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺钠盐(sulfo-NHS)、二甲基亚砜(DMSO)均购于阿拉丁化学试剂有限公司;氩气( $Ar_2$ )购于福州华鑫达气体有限公司;聚丙烯酸(PAA)、一缩二乙二醇(DEG)、甲苯( $C_7H_8$ )、氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、氯化镁( $MgCl_2$ )均购于国药集团化学试剂有限公司;SDM 适配体(序列: $NH_2-GAG GGC AAC GAG TGT TTA TAG A-3$ )、黑洞猝灭剂 cDNA-BHQ1(序列: $5'-CGT TGC CCT C-BHQ1$ )均购于上海生工生物工程股份有限公司,无特殊说明,试剂纯度为分析纯。

实验所用水为超纯水,所用缓冲液配制:20 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 50 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> NaCl, 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> KCl, 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, pH 8.0。

### 1.2 聚丙烯酸改性的上转换纳米粒子(PAA-UCNPs)的合成

根据文献<sup>[11]</sup>合成了 PAA-UCNPs,并做了少量修改:

将 0.78 mmol 的  $YCl_3 \cdot 6H_2O$ 、0.2 mmol 的  $YbCl_3 \cdot 6H_2O$  和 0.02 mmol 的  $ErCl_3 \cdot 6H_2O$  加入至 100 mL 三口烧瓶中,再加入 21 mL 的 OA/ODE 为 6:15 的溶液,通入氩气后在磁力搅拌下缓慢升温至 110 °C 除水 10 min,然后加热至 160 °C 保温 30 min,直到稀土氯化盐完全溶解。冷却后加入 10 mL 溶有 4 mmol  $NH_4F$  和 2.5 mmol NaOH 的甲醇,于 50 °C 保温 30 min,再升温至 80 °C 除去甲醇溶液,然后将混合溶液快速加热到 300 °C 下保温 1.5 h。加入乙醇沉降后,离心收集得到 OA-UCNPs 纳米粒子。

在 100 mL 三口瓶中加入 200 mg 的 PAA,再倒入 30 mL 的 DEG,将混合物加热至 110 °C,形成澄清溶液。缓慢加入分散有 50 mg 的 OA-UCNPs 纳米晶体的 2 mL 甲苯溶液,并在氩气保护下将温度升高至 130 °C 保持 10 min 除去甲苯,然后将溶液升高至一定温度回流保温一段时间。反应完后将所得溶液冷却至室温,并加入 0.2 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的 NaCl 溶液以使粒子沉淀。最后将粒子离心出来,得到 PAA-UCNPs。

### 1.3 Apt-UCNPs 的合成

将 200  $\mu$ L EDC (0.2 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 和 400  $\mu$ L sulfo-NHS (0.2 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 添加到 2.5 mL 含有 4 mg PAA-UCNPs 的 DMSO 中。将 10  $\mu$ L 100  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的适配体加到该分散液中,并在室温下搅拌 18 h。将分散液离心并用 DMSO 洗涤两次以去除未结合的适配体,然后分散在 4 mL 的 Tris 缓冲液中。

### 1.4 cDNA-BHQ1 对 Apt-UCNPs 的荧光猝灭

分别向浓度为 0.5 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的 Apt-UCNPs 溶液中加入不同浓度的 cDNA-BHQ1 (2.5, 5, 7.5, 10, 15  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>),于 30 °C 下孵育过夜,然后在 980 nm 激发光下测试其荧光强度。

### 1.5 UCNPs-BHQ1 检测体系用于检测 SDM

分别向分散在 Tris 缓冲液中的 Apt-UCNPs 加入不同浓度的 SDM (150, 300, 600, 1000 ng  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>),于 30 °C 孵育 3 h,然后分别加入 cDNA-BHQ1,继续孵育 3 h,并在 980 nm 激发光下测试其荧光强度。为了考察 Apt-UCNPs 对 SDM 的特异性识别作用,在不改变其他实验条件的情况下,将 SDM 替换成磺胺酯和磺胺吡啶,并在 980 nm 激发光下测试其荧光强度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 UCNPs 的表征

#### 2.1.1 UCNPs 与 PAA-UCNPs 的表征

对 PAA(图 1a)、OA-UCNPs(图 1b)与 PAA-UCNPs(图 1c)进行了红外光谱分析。从图中可以看到,由于油酸的存在,2 925 和 2 856  $cm^{-1}$  处对应于油酸链—CH<sub>2</sub> 的对称和不对称伸缩振动峰,在 1 561 和 1 456  $cm^{-1}$  出现的红外峰,被确定为—COO—的对称和不对称伸缩振动<sup>[12]</sup>,而 1 110  $cm^{-1}$  处的峰则对应于羧基的 C—O 伸缩振动峰。在 PAA 配体交换后,3 400  $cm^{-1}$  附近的宽带表征了 PAA 中羧基的 O—H 强伸缩振动,2 925 和 2 856  $cm^{-1}$  对应于油酸基团的峰强度变小,且于 1 722  $cm^{-1}$  处出现了新的峰,属于 PAA 的

—C=O 伸缩振动，并且  $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$  对应于羧基 C—O 的峰强度也随之增强。根据这些实验结果，推测可能已经完成了 PAA 对 OA-UCNPs 的交换配体改性。

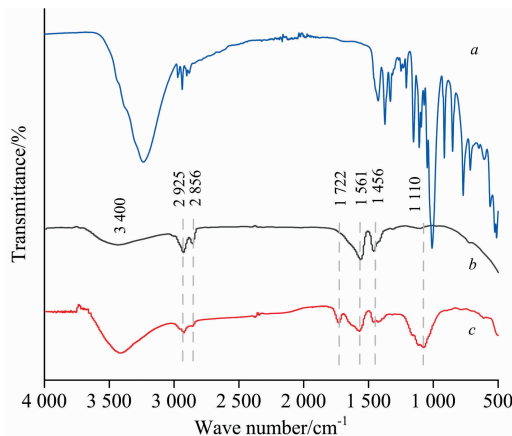


图 1 PAA, OA-UCNPs 和 PAA-UCNPs 的红外光谱图

a: PAA; b: OA-UCNPs; c: PAA-UCNPs

Fig. 1 FTIR spectra of PAA, OA-UCNPs and PAA-UCNPs

a: PAA; b: OA-UCNPs; c: PAA-UCNPs

对 OA-UCNPs[图 2(a)]和 PAA-UCNPs[图 2(b)]进行了扫描电镜测试。从图中可以看出，PAA 修饰前分散在环己烷中的 OA-UCNPs 尺寸约为 31 nm，而 PAA 修饰后分散在水溶液中的 UCNPs 直径约为 49 nm。这可能是由于长链的 PAA 分子体积比油酸分子大，因此包覆在 UCNPs 表面会使其尺寸增加，PAA 的修饰使得 UCNPs 具有较好的水分散性，良好的水分散性及经过 PAA 改性后 UCNPs 表面带有的基团为后续的应用提供了条件。

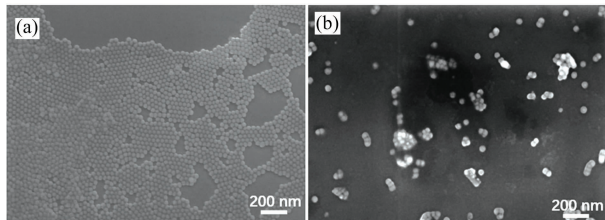


图 2 OA-UCNPs (a) 和 PAA-UCNPs (b) 的扫描电镜图

Fig. 2 SEM images of OA-UCNPs (a) and PAA-UCNPs (b)

### 2.1.2 Apt-UCNPs 的表征

为了验证适配体已经结合至 PAA-UCNPs 表面，分别测试了 PAA-UCNPs、Apt-UCNPs 和 Aptamer 在 220~400 nm 范围内的紫外吸收光谱，结果如图 3 所示。从图 3 可以看出，Aptamer 在 260 nm 附近有一个吸收峰，为适配体的特征吸收。而 PAA-UCNPs 的曲线在该范围内无明显吸收峰，与适配体反应后所得的 Apt-UCNPs 于 260 nm 处也出现了较明显的吸收峰，这个峰可以归属于适配体的特征吸收，证明了 SDM 适配体已偶联到 UCNPs 上。

### 2.2 检测机理研究及猝灭条件的优化

Apt-UCNPs 用于检测 SDM 的机理如图 4 所示。上转换纳米粒子用作产生信号的能量供体，BHQ1 用作接收信号的

能量受体，适配体用作识别剂。在没有 SDM 的情况下，Apt-UCNPs 表面的适配体链和带有猝灭荧光基团的互补 DNA (cDNA) 由于碱基互补配对原则互相结合，使 BHQ1 与 Apt-UCNPs 的距离很近<sup>[13]</sup>，从而进行荧光猝灭，而当环境中存在 SDM 时，适配体优先与其结合，导致 cDNA-BHQ1 远离 Apt-UCNPs，使得 Apt-UCNPs 的荧光恢复。根据 Apt-UCNPs 荧光的恢复程度可以用于定量检测 SDM 的浓度。

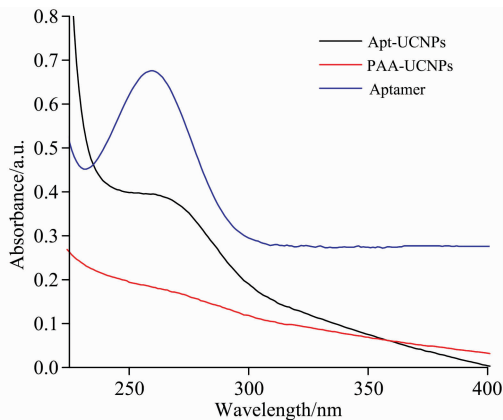


图 3 Aptamer, PAA-UCNPs 和 Apt-UCNPs 的紫外吸收光谱图

Fig. 3 UV-Vis absorption spectra of Aptamer, PAA-UCNPs and Apt-UCNPs

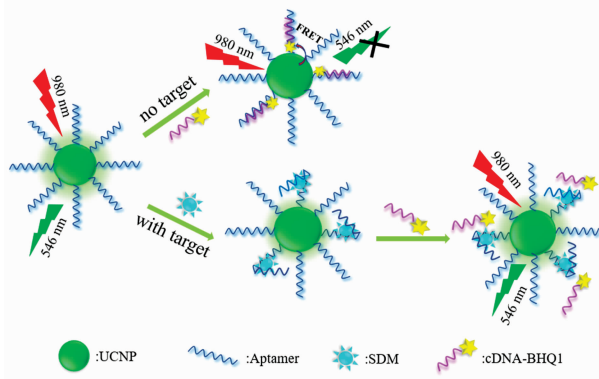


图 4 Apt-UCNPs 用于检测 SDM 的机理图

Fig. 4 Schematic diagram of Apt-UCNPs used to detect SDM

为了证实检测方案的可行性，考察了 SDM 的检测机理，由图 5 可知 Apt-UCNPs 在 540 nm 处有明显发射峰，使其在 980 nm 激发光下肉眼可见明显绿光，并且发射峰与 BHQ1 的吸收峰重叠，这表示 Apt-UCNPs 上的能量通过共振能量转移效应转移到 BHQ1 上是具有可行性的<sup>[14]</sup>，而 Apt-UCNPs 位于 660 nm 处的发射峰与 BHQ1 的吸收峰几乎没有重叠，所以 BHQ1 对 660 nm 处的荧光发射影响很小。

为使检测条件达到最优，优化了检测体系中猝灭剂的浓度。在相同浓度的 Apt-UCNPs 中加入不同浓度 cDNA-BHQ1，孵育一段时间后，使用 980 nm 的激发光分别检测其荧光强度，并考察 cDNA-BHQ1 浓度对 Apt-UCNPs 荧光猝灭的影响。如图 6(a) 可知，随着 cDNA-BHQ1 浓度的增大，Apt-UCNPs 位于 540 nm 处的发射峰强度不断减小，而 660

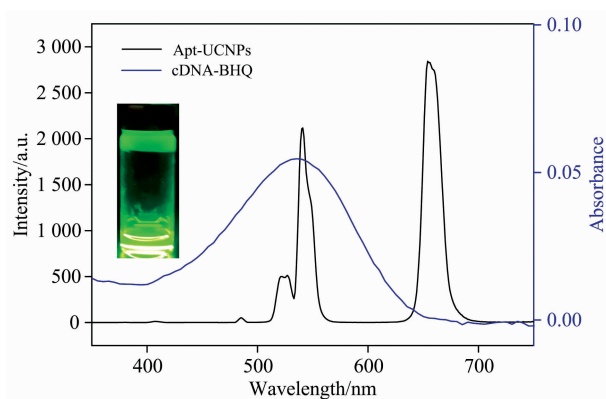


图 5 Apt-UCNPs 的荧光光谱和 cDNA-BHQ1 的吸收光谱

Fig. 5 Fluorescence spectra of Apt-UCNPs and absorption spectra of cDNA-BHQ1

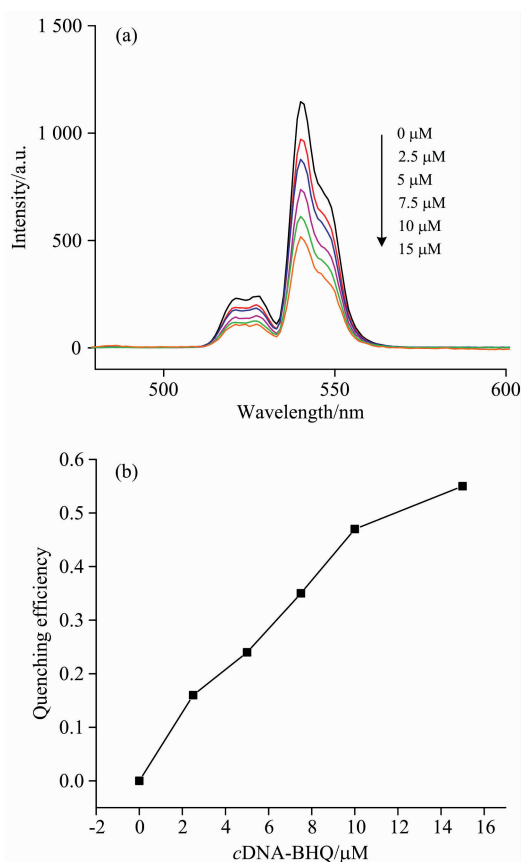


图 6 不同 cDNA-BHQ1 浓度下的 Apt-UCNPs 的 (a) 荧光光谱和 (b) 猝灭效率

Fig. 6 (a) Fluorescence spectra and (b) quenching efficiency of Apt-UCNPs at different concentrations of cDNA-BHQ1

nm 处的峰变化不大; 反之, Apt-UCNPs 的荧光猝灭效率随着 cDNA-BHQ1 浓度的增加而增加[图 6(b)]. 当 cDNA-BHQ1 浓度达到  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 荧光强度猝灭达 55%, 此时猝灭效率的趋势已经逐渐平缓, 这可能是由于 UCNPs 表面的适配体已基本与 cDNA-BHQ1 结合, 因此继续增加 cD-

NA-BHQ1 的量对其荧光强度的猝灭效果减小。综合上述原因, 选用浓度为  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 cDNA-BHQ1 进行后续的实验。

### 2.3 对 SDM 检测的应用

#### 2.3.1 检测体系用于 SDM 的识别

考察了传感器检测 SDM 的灵敏度, 其结果如图 7(a) 所示, 在一定的浓度范围内 ( $150 \sim 1000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), SDM 的浓度与 Apt-UCNPs 位于 540 nm 处发射峰的强度为正相关。根据 540 nm 处 Apt-UCNPs 荧光强度的恢复程度, 得到相对荧光强度  $(F - F_0)/F_0$  与 SDM 浓度的线性关系, 其结果如图 7(b) 所示, 其中  $F_0$  和  $F$  分别代表不存在和存在 SDM 情况下 Apt-UCNPs 的荧光强度。从图中可以看出, SDM 的浓度与相对荧光强度在  $150 \sim 1000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内具有较好的线性关系, 线性相关系数拟合结果为  $R^2 = 0.91728$ 。

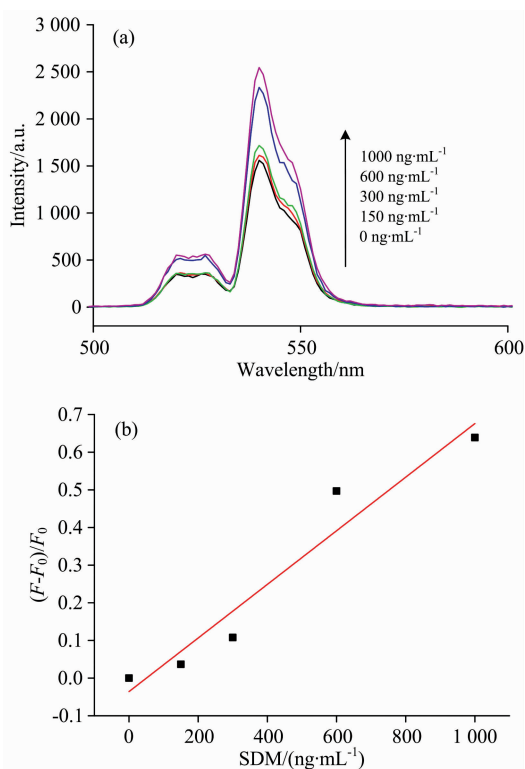


图 7 不同浓度 SDM 下 Apt-UCNPs 的 (a) 荧光光谱和 (b) 标准曲线

Fig. 7 (a) Fluorescence spectra and (b) standard curve of Apt-UCNPs under different concentrations of SDM system

#### 2.3.2 特异性分析

选取了与 SDM 结构相似的磺胺吡啶和磺胺醋酰作为对照实验测试 Apt-UCNPs 的特异性识别功能, 结果如图 8 所示, 尽管磺胺吡啶和磺胺醋酰的浓度达到了  $500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 体系中的荧光强度恢复仍然较少, 分析认为 SDM 适配体对 SDM 的高度亲和力, 能阻止 Apt-UCNPs 与 cDNA-BHQ1 之间 FRET 的发生, 而对其他结构类似物, 适配体的亲和力相对较低, 因此荧光强度变化较小, 证明了 Apt-UCNPs 传感

器对 SDM 具有较高的特异性识别作用。

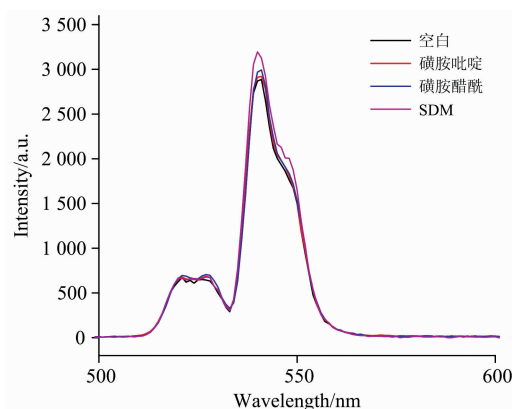


图 8 存在不同物质时 Apt-UCNPs 的荧光光谱  
Fig. 8 Fluorescence spectra of Apt-UCNPs in the presence of different substances

### 3 结 论

以适配体功能化上转换纳米粒子 (Apt-UCNPs) 作为能量供体, 以黑洞猝灭剂 (BHQ1) 作为能量受体, 构建了一种基于荧光共振能量转移的特异性检测磺胺二甲氧嘧啶 (SDM) 的方法。通过 FTIR, 和 SEM 对 PAA-UCNPs 和 Apt-UCNPs 的结构和性能进行了表征; 使用紫外分光光度计对 PAA-UCNPs, Apt-UCNPs 和 Aptamer 进行了表征。对猝灭剂 BHQ1 的浓度进行了优化, 结果表明当 BHQ1 浓度为  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 荧光猝灭效率为 55% 且基本达到平衡, 且当 SDM 浓度为  $150 \sim 1000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, Apt-UCNPs 于 540 nm 处发射峰的相对荧光强度与 SDM 浓度线性相关 ( $R^2 = 0.91728$ )。为了考察 Apt-UCNPs 对 SDM 特异性识别作用, 选取与 SDM 结构相似的磺胺吡啶和磺胺醋酰作为研究对象做对照实验。结果发现, 当磺胺吡啶和磺胺醋酰的浓度为  $500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, 体系中的荧光强度仍恢复较少, 而当浓度为  $300 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  SDM 加入到体系中时, Apt-UCNPs 的荧光信号增强更多, 说明 Apt-UCNPs 检测体系对 SDM 具有较好的特异性识别作用。

### References

- [ 1 ] Guo Y, Wei W, Zhang Y, et al. Journal of Separation Science, 2020; 43(17): 3499.
- [ 2 ] Li X, Yang Y, Miao J, et al. Electrophoresis, 2020, 41: 1584.
- [ 3 ] Li T, Wang C, Xu Z, et al. Chemosphere, 2020, 254: 126765.
- [ 4 ] Chen X X, Lin Z Z, Yao Q H, et al. Journal of Food Composition and Analysis, 2020, 91: 103526.
- [ 5 ] Kumar B, Malhotra K, Fuku R, et al. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2021, 139: 116256.
- [ 6 ] Wang P, Wang A, Hassan M, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 320: 128434.
- [ 7 ] Chen Q, Sheng R, Wang P, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 241: 118654.
- [ 8 ] QIN Ying-kai, LI Shuang, HONG Yang, et al(秦英凯, 李 双, 洪 畅, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2021, 49(12): 15.
- [ 9 ] GUI Li-juan, LIANG Zi-lu, LUO Yong-wen, et al(桂丽娟, 梁紫璐, 罗永文, 等). Modern Food Science & Technology(现代食品科技), 2021, (1): 1673.
- [10] Liu X, Gao T, Gao X, et al. Microchim Acta, 2017, 184: 3557.
- [11] Yang C C, Li Y Y, Wu N, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 326: 128841.
- [12] Yang C, Li Y, Wu N, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 326: 128841.
- [13] Wang Y, Bai J, Hua B, et al. Analytical Chemistry, 2018, 90(16): 9936.
- [14] Kza C, Na Z A, Yw A, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 342: 130062.

# Study on Specific Detection of Sulfadimethoxine Based on Aptamer-Modified Up-Conversion Fluorescent Nanomaterial

FAN Dan-yang<sup>1</sup>, ZHANG Xue-cheng<sup>1</sup>, GAO Jun<sup>1</sup>, WANG Jia-bin<sup>2</sup>, LÜ Hai-xia<sup>1\*</sup>

1. College of Materials Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China

2. College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China

**Abstract** Due to the strong biological penetration, large stoke shift, good photostability and biocompatibility, up-conversion nanoparticles (UCNPs) were widely used in biomedical analysis. In this study, OA-UCNPs, which are UCNPs with oleic acid (OA) as ligand, were modified by polyacrylic acid (PAA) in order to prepare hydrophilic nanoparticles PAA-UCNPs, and then aptamers (Apt) were covalently coupled to the surface of PAA-UCNPs by amidation reaction to obtain Apt-UCNPs. A method for specific detection of sulfadimethoxine (SDM) was constructed by using Apt-UCNPs as energy donors and black hole quencher (BHQ1) as an energy acceptor fluorescence resonance energy transfer. The structure and performance of UCNPs, PAA and PAA-UCNPs were characterized by infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscope (SEM). The results of FTIR showed that compared with UCNPs, PAA-UCNPs appeared at a new peak at  $1\ 722\ \text{cm}^{-1}$  which was attributed to the  $\text{—C=O}$  stretching vibration peak of PAA, and the wide band around  $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$  attributed to the  $\text{O—H}$  stretching vibration of PAA; the results of the SEM test indicated that the size of UCNPs and PAA-UCNPs was 31 and 49 nm, respectively. It may be because the molecular volume of long-chain PAA is larger than that of oleic acid, so coating on the surface of UCNPs will increase its size, and the above results indicated PAA may have had been modified to the surface of UCNPs. The structure and properties of Apt-UCNPs, Apt and PAA-UCNPs, were characterized by ultraviolet-visible spectroscopy. It was found that compared with PAA-UCNPs, Apt-UCNPs had a more obvious Apt characteristic absorption peak at 260 nm, which showed that the aptamer could have been modified to the surface of UCNPs. In addition, the mechanism of using Apt-UCNPs to detect SDM was also discussed. The results showed that the emission peak of Apt-UCNPs at 540 nm overlapped with the absorption peak of BHQ1, which indicated that the energy on Apt-UCNPs can be transferred to BHQ1 through the fluorescence resonance energy transfer effect so that the fluorescence of Apt-UCNPs could be quenched. The concentration of BHQ1 in the detection system was optimized and the results showed that when the concentration of BHQ1 was  $15\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the fluorescence quenching efficiency was as high as 55%. Under the best experimental conditions, there was a good linear relationship between the relative fluorescence intensity and the SDM concentration ( $150 \sim 1\ 000\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). The analogues of SDM (sulfapyridine and sulfacetamide) were selected as control experiments. It was found that although the concentration of sulfapyridine and sulfacetamide reached  $500\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , the fluorescence intensity recovery in the system was less, which indicated that the detection method could specifically recognize SDM.

**Keywords** Up-conversion nanoparticles; Sulfadimethoxine; Aptamer

(Received Oct. 19, 2021; accepted Apr. 17, 2022)

\* Corresponding author