(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2024 年 8 月 22 日 (22.08.2024)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2024/169486 A1

(51) 国际专利分类号:
C09K 11/06 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
C09K 11/65 (2006.01) *G01N 21/01* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/072230

(22) 国际申请日: 2024 年 1 月 15 日 (15.01.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202310125627.9 2023年2月16日 (16.02.2023) CN

(71) 申请人: 江 苏 大 学 **(JIANGSU UNIVERSITY)** [CN/CN]; 中 国 江 苏 省 镇 江 市 京 口 区 学 府 路 301号, Jiangsu 212013 (CN)。

(72) 发明人:孙宗保**(SUN, Zongbao)**; 中国江苏省镇江市京口区学府路301号, Jiangsu 212013 (CN)。 李晨 **(LI, Chen)**; 中国江苏省镇江市京口区学府路301号, Jiangsu 212013 (CN)。 邹小波 **(ZOU, Xiaobo)**; 中国江苏省镇江市京口区学府路301号, Jiangsu 212013 (CN)。 张文**(ZHANG, Wen)**; 中国江苏省镇江市京口区学府路301号, Jiangsu 212013 (CN)。 高云龙**(GAO, Yunlong)**; 中国江苏省镇江市京口区学府路301号, Jiangsu 212013 (CN)。

(74) 代理人: 南 京 智 造 力 知 识 产 权 代 理 有 限 公 司 **(NANJING IPZHI INTELLECTUAL PROPERTYAGENCY CO., LTD.)**; 中 国 江 苏 省 南 京 市 江 宁 区 芝 兰 路 18 号 4 幢 1202 室, Jiangsu 211100 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,

(54) **Title:** COMPOSITE MAGNETIC-ASSISTED RATIOMETRIC FLUORESCENT PROBE, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种复合磁助比率荧光探针及其制备方法和应用

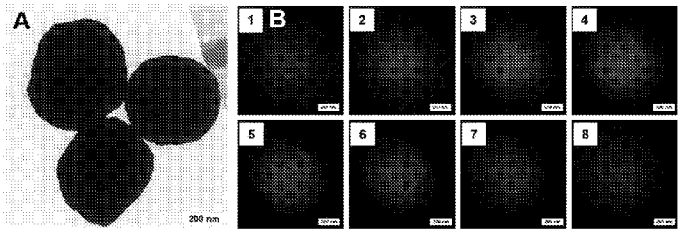


图 1

(57) **Abstract:** The present invention belongs to the technical field of preparation of nano materials and sensors. Provided are a composite magnetic-assisted ratiometric fluorescent probe, a preparation method therefor, and the use thereof. The composite magnetic-assisted ratiometric fluorescent probe of the present invention is obtained by compounding blue fluorescent carbon dots and a magnetically functionalized europium polymer. With the addition of chloramphenicol, changes on the fluorescence signals of the composite magnetic-assisted ratiometric fluorescent probe can be observed. In addition, the composite magnetic-assisted ratiometric fluorescent probe has a built-in calibration function, so that interferences caused by environment and instruments can be reduced. Moreover, the composite magnetic-assisted ratiometric fluorescent probe has good selectivity on chloramphenicol while achieving good anti-interference performance against common antibiotics and inorganic ions, and therefore can be used for visual detection of chloramphenicol in foods.

(57) 摘要: 本发明提供了一种复合磁助比率荧光探针及其制备方法和应用，属于纳米材料和传感器制备技术领域；本发明所述复合磁助比率荧光探针由蓝色荧光碳点和磁功能化的铕聚合物复合得到，随着氯霉素的加入可观察到复合磁助比率荧光探针的荧光信号变化；所述复合磁助比率荧光探针具有内置校准功能，能降低环境和仪器带来的干扰，并且其对氯霉素有良好的选择性，对常见的抗生素和无机离子具有良好的抗干扰性能，能够用于可视化检测食品中的氯霉素。

WO 2024/169486 A1

[见续页]

PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种复合磁助比率荧光探针及其制备方法和应用

技术领域

本发明属于纳米材料和传感器制备技术领域，具体涉及一种复合磁助比率荧光探针及其制备方法和应用。

背景技术

氯霉素（CAP）是一种有效的广谱抗生素，它通过抑制细菌蛋白质的合成而起作用，然而，过量使用和残留氯霉素会影响人体健康。一方面，过量的氯霉素会对造血系统和消化系统造成不可逆的损害；另一方面，食品中存在的药物残留也会严重威胁人类健康。因此，氯霉素已经在全球畜牧业中被禁止使用。目前，常用的氯霉素检测和分类方法包括酶联免疫吸附法（ELISA）、高效液相色谱法（HPLC）和免疫分析法。尽管上述方法检测精度高，但仍存在实验耗时长、设备昂贵、对操作者技能要求高、结果易受基质干扰产生假阴性和假阳性等问题，且不适用于现场即时检测。因此，设计一种高灵敏性的氯霉素的方法。

近年来，荧光方法因操作简单、精度高、可视化等优点被大量研究，这有利于突破环境限制，在不同条件下对氯霉素实时监测。因此，开发高灵敏性的氯霉素荧光检测探针具有重要的实际意义。镧系材料具有尖锐的线状发射带和长的荧光寿命，特别是基于铕离子（Eu^{3+}）的配位聚合物具有良好的红色荧光发射，适用于荧光定量和可视化检测。但是，基于铕离子的单信号容易受到环境和仪器的干扰，这使得荧光探针的稳定性和重现性较差。因此，迫切需要设计和开发一种稳定性好、重现性好且能用于氯霉素检测的比率型荧光探针。

发明内容

针对现有技术中存在不足，本发明提供了一种复合磁助比率荧光探针及其制备方法和应用；本发明所述复合磁助比率荧光探针由荧光微球探针和磁功能化的铕聚合物复合得到，随着氯霉素的加入可观察到复合磁助比率荧光探针的荧光信号变化；所述复合磁助比率荧光探针具有内置校准功能，能降低环境和仪器带来的干扰，并且其对氯霉素有良好的选择性，对常见的抗生素、生理物质、无机离子具有良好的抗干扰性能，能够用于可视化检测食品中的氯霉素。

本发明首先提供了一种复合磁助比率荧光探针，所述复合磁助比率荧光探针由荧光微球探针和磁功能化的铕聚合物复合得到；所述荧光微球探针形状接近球体，表面粗糙；所述磁功能化的铕聚合物自组装制备得到，其形状接近球体，有明显的层状结构；所述荧光微球探针在磁功能化的铕聚合物的不同层面分布均匀。

本发明还提供了上述复合磁助比率荧光探针的制备方法，具体包括如下步骤：

（1）BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光微球探针的制备：

将柠檬酸和聚乙烯亚胺（PEI）超声混合后在恒温加热条件下进行反应 1，反应 1 结束后冷却、洗脱、纯化，干燥得到 BCDs；将 $CaCl_2$、羧甲基纤维素（CMC）和 BCDs 混合均匀，然后加入 Na_2CO_3 水溶液进行矿化反应 2，矿化反应 2 结束后然后离心、洗涤、干燥得到 BCDs@$CaCO_3$；

将 BCDs@$CaCO_3$、N-羟基磺基琥珀酰亚胺（NHS）、碳二亚胺盐酸盐（EDC）、氯霉素适配体（CAP-Apt）分散在 MES 缓冲液中混匀进行反应 3，反应 3 结束后离心、洗涤，最终得到所述的 BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光探针。

其中，所述柠檬酸和 PEI 的质量比为 2:1；所述 BCDs 反应 1 的条件为在 200～250 ℃下反应 6～10 h；

所述 $CaCl_2$、CMC、BCDs 和 Na_2CO_3 的质量比为 1:1:1.5:1，矿化反应 2 的条件为室温下反应 24～30 h。

所述 BCDs@$CaCO_3$、NHS、EDC 的质量比为 5～15:2～8:3～12，反应 3 的反应时间为 4～10 h，混合溶液中 CAP-Apt 的终浓度为 0.1～1 mg/mL。

（2）磁功能化的铕配位聚合物的制备：

S1. Fe_3O_4@SiO_2 的制备：

将六水合氯化铁和柠檬酸钠溶于乙二醇中，向其中加入醋酸钠并在恒温加热条件下进行反应 4，反应 4 结束后冷却、洗涤、干燥，得到 Fe_3O_4；

向 Fe_3O_4 的乙醇水溶液中加入氨水和正硅酸四乙酯（TEOS），然后进行搅拌反应 5，反应 5 结束后冷却、洗涤得到 Fe_3O_4@SiO_2。

其中，所述六水合氯化铁、柠檬酸钠和醋酸钠的质量比为 3:1:6，六水合氯化铁与乙二醇加入比为 0.3 g:10 mL；反应 4 的条件为在 200～250 ℃下反应 10～16 h；

Fe_3O_4 与乙醇水溶液 1:5 混合，乙醇水溶液中乙醇的体积分数为 80%，氨水和正硅酸四乙酯的体积比为 1:2，搅拌反应 5 的时间为 12～15 h。

S2. 铕配位聚合物的制备：

将苯甲酰三氟丙酮（TTA）和 2，2'-联嘧啶（bpm）加入乙醇溶液中溶解后，缓慢加入六水合氯化铕乙醇溶液混合均匀得到混合反应体系，然后混合反应体系调节 pH 至 6~7 后进行陈化反应 6，反应结束后抽滤、洗涤、干燥，得到所述铕配位聚合物，记为$[Eu(TTA)_3]_2$bpm；

其中，六水合氯化铕乙醇溶液、苯甲酰三氟丙酮（TTA）、2，2'-联嘧啶（bpm）质量比为 2～8:5～10:1～4；

所述混合反应体系中的乙醇总体积与六水合氯化铕乙醇溶液、苯甲酰三氟丙酮和 2，2'-

联嘧啶的体积和相同；

所述陈化反应 6 的反应时间为 1～4 h。

S3. 磁功能化的铕配位聚合物的制备：

将 Fe_3O_4@SiO_2 与 N，N-二甲基甲酰胺（DMF）混合均匀并调节 pH 至中性，然后向其中加入$[Eu(TTA)_3]_2$bpm 和氨水，超声混合均匀，然后加入 TEOS 进行搅拌反应 7，反应结束后、离心、洗涤、干燥，得到 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 磁性荧光微球；

将 3-氨丙基三乙氧基硅烷（APTES）溶液加入 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液中进行反应 8，反应结束后洗涤干燥，得到 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-NH_2；

将氯霉素半抗原（CAP-Hapten）、N-羟基磺基琥珀酰亚胺（NHS）和碳二亚胺盐酸盐（EDC）在甲醇溶液中混合，加入 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-NH_2 的 MES 缓冲液搅拌反应 9、分离、洗涤，最终获得磁功能化的铕配位聚合物，记为 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten。

其中，Fe_3O_4@SiO_2、N，N-二甲基甲酰胺（DMF）、$[Eu(TTA)_3]_2$bpm、氨水和 TEOS 的用量比为 20～60 mg：80～240 mL：10～30 mg：1.25～3.75mL：1～5 mL；

所述反应 7 的条件为超声搅拌 10～20 min，室温下反应 10～15 h；

所述 3-氨丙基三乙氧基硅烷（APTES）溶液的溶剂为无水乙醇，Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液的溶剂为纯水，3-氨丙基三乙氧基硅烷（APTES）溶液与 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液的体积比为 10～50:1～5；

反应 8 的条件为室温反应 10～15 h；

所述氯霉素半抗原（CAP-Hapten）、N-羟基磺基琥珀酰亚胺（NHS）、碳二亚胺盐酸盐（EDC）和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 的质量比为 1～5:2～10:3～15:10～50；

所述反应 9 的条件为搅拌反应 4～8 h。

（3）复合磁助比率荧光探针的制备：

将 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液混合均匀后即可得到复合磁助比率荧光探针溶液，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten。

其中，所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液的体积比为 1～6:1～9；

所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液浓度为 10 mg/mL，Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液浓度为 10 mg/mL，即所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液的浓度和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液的浓度相同。

本发明中还提供了上述复合磁助比率荧光探针在可视化检测氯霉素中的应用，所述可视化检测为半定量检测或定量检测。

进一步的，所述应用具体包括如下步骤：

（1）氯霉素检测标准曲线的绘制：

将氯霉素水溶液与 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 混合得到荧光复合体系，通过荧光分析法拟合出氯霉素浓度的标准曲线，并记录荧光复合体系在紫外灯下的颜色情况。

（2）将待测样品与比率荧光复合体系混合后放置在紫外灯下，记录颜色信息，得到氯霉素浓度范围；然后检测混合液的荧光强度值，根据标准曲线得出氯霉素浓度。

与现有技术相比，本发明的有益效果在于：

1. 本发明的复合磁助比率荧光探针运用竞争法进行检测，通过免疫氯霉素半抗原与氯霉素竞争氯霉素适配体进行检测，氯霉素半抗原能与适配体结合，但结合能力弱于氯霉素；适配体具有较强的特异性，相较于抗体和酶，有高的稳定性和环境适应性。与现有技术相比，本发明所述方法的检测时间相比其他荧光分析法缩短了一半，检测限从现有检测方法的 0.7 ng/mL 精确到 0.09 ng/mL。

2. 本发明的复合磁助比率荧光探针可观察到两种荧光信号，随着氯霉素的加入，其中一种荧光信号会发生变化，由于免疫反应，BCDs@$CaCO_3$-Apt 优先与氯霉素结合，在磁场作用下，磁功能化的铕聚合物保留，蓝色荧光在冲洗后被去除，因此蓝色荧光减弱，红色荧光不变。相比单荧光信号探针，本发明的优势是能降低环境和仪器带来的干扰。

3. 本发明的复合磁助比率荧光探针与不同浓度氯霉素混合后在紫外灯下可以产生梯度的颜色变化，随着氯霉素浓度的增加，混合体系的荧光颜色发生变化。根据颜色可半定量判断出氯霉素浓度范围，更易于实现待测物的可视化检测。

4. 本发明的复合磁助比率荧光探针对氯霉素有良好的选择性，对常见的抗生素和无机离子具有良好的抗干扰性能，在食品检测方面具有一定的实用价值。

5. 本发明所述磁功能化的铕配位聚合物在铕的二元配合物中引进另一个配位体——2，2'-联嘧啶（bpm）形成三元配合物，使原配合物的发光强度得到极大提高，铕离子发光性质在双配体的作用下得到增强和修饰，从而提高稀土配合物的发光效率。本发明中将碳点和铕聚合物结合形成的比率荧光带有自校准功能，能消除外界因素带来的波动，提高检测结果的可靠性和重现性。

附图说明

图 1 是本发明所得 BCDs@$CaCO_3$-Apt 的透射电镜图（A）和激光共聚焦图（B），图中 1-8 分别为不同层面的单球荧光共聚焦图片。

图 2 是本发明所得 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 的透射电镜图（A）和激光共聚焦图（B），图 1-4 分别为不同层面的单球荧光共聚焦图片。

图 3 是加入不同浓度氯霉素后复合磁助比率荧光探针的荧光图谱。

图 4 为荧光强度比值 F_{435}/F_{615} 与氯霉素浓度拟合的校准曲线。

图 5 是不同浓度氯霉素对应比率荧光探针的荧光颜色图。

图 6 是本发明所得比率荧光探针的选择性示意图；其中 A 为复合磁助比率荧光探针对不同种抗生素（头孢匹林、阿莫西林、四环素、恩氟沙星和磺胺甲恶唑）的选择性示意图，B 为复合磁助比率荧光探针对不同种无机离子（钾离子、钠离子、镁离子、锌离子、碳酸根离子、硫酸根离子、硝酸根离子）的选择性示意图。

具体实施方式

下面结合附图以及具体实施例对本发明作进一步的说明，但本发明的保护范围并不限于此。以下实施例中所述试剂如无特殊说明，均可通过商业购买获得。

实施例 1：复合磁助比率荧光探针的制备

（1）BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光微球探针的制备：

将 1.0 g 的柠檬酸和 0.5 g 的 PEI 溶解在 30 mL 超纯水中超声混合，将混合物转移到 50 mL 特氟龙内衬中，200 ℃加热 6 h 后冷却至室温，产物用甲醇洗脱、用硅胶色谱柱纯化，在旋转蒸发仪中干燥获得浓缩 BCDs 溶液，通过冷冻浓缩溶液（−80 ℃），然后真空干燥，得到 BCDs。

将 33.4 mg $CaCl_2$、30 mg CMC 和 50 mg BCDs 溶于 30 mL 水中恒定速率搅拌 30 min，然后加入 31.8 mg Na_2CO_3 水矿化反应 24 h，溶液 5000 rpm 离心 10 min，纯水洗涤后真空干燥，得到 BCDs@$CaCO_3$。

将 50 mg BCDs@$CaCO_3$、10 mg NHS、15 mg EDC 分散在 5 mL MES 缓冲液（pH=6.2）中反应 4 h，加入 100 μL 的 CAP-Apt（5.0 mg/mL，购自上海生工生物试剂有限公司），再反应 4 h 后，以 5000 rpm 离心 10 min，用纯水洗涤 3 次，最终获得 BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光探针溶液。

如图 1 透射电镜图所示，制备的 BCDs@$CaCO_3$-Apt 大小分布均匀，没有聚集，粒径为 675～925 nm，由激光共聚焦图可以看到荧光分布均匀。

（2）磁功能化的铕配位聚合物的制备：

S1. Fe_3O_4@SiO_2 的制备：

将 0.65 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 0.20 g 柠檬酸钠溶解在 20 mL 乙二醇中，再加入 1.20 g NaAc 搅拌 30 min，将混合液转入 50 mL 特氟龙内衬中，200 ℃加热 10 h，冷却至室温后，产品用乙醇和去离子水分别洗涤 3 次，在 60 ℃真空下干燥 6 h 得到 Fe_3O_4。

将 20 mg Fe_3O_4 溶于 80 mL 乙醇和 20 mL 水中，加入 1.25 mL 氨水，超声分散 10 min 后加入 2.5 mL 的 TEOS，搅拌 12 h，产物用乙醇洗涤 3 次，获得 Fe_3O_4@SiO_2。

S2. 铕配位聚合物的制备：

0.73 g $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶于 20 mL 乙醇中；1.30 g TTA，0.20 g bpm 溶于另外 20 mL 乙醇，

置于 50 ℃油浴中，同时磁力搅拌。然后将 $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 的乙醇溶液缓慢滴入配体溶液中，用 NaOH 调节 pH=6~7，继续反应 1 h，陈化、抽滤、洗涤、干燥，得到铕配位聚合物，记为 $[Eu(TTA)_3]_2$bpm。

S3. 磁功能化的铕配位聚合物的制备：

将 20 mg $Fe_3O_4@SiO_2$ 加入 80 mL DMF 和 20 mL 纯水中，用 0.1 mol/L 的 HCl 将溶液调到中性，然后加入 10 mg $[Eu(TTA)_3]_2$bpm 和 1.25 mL 氨水，超声 10 min 后加入 2.5 mL TEOS，继续反应 12 h，用无水乙醇洗涤 3 次，干燥后得到 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$。将 50 mg Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$ 分散于 50 mL 超纯水中，加入 2 mL APTES 后在摇床上反应 12 h，用乙醇和超纯水分别洗涤 3 次后 50 ℃真空干燥 8 h。将 5.0 mg CAP-Hapten（购自上海生工生物试剂有限公司）、10 mg NHS 和 15 mg EDC 溶解在 1 mL 甲醇中反应 4 h，将混合物加入含有 50.0 mg Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$ 的 MES 缓冲液（5 mL）中搅拌 3 h，洗涤后获得磁功能化的铕配位聚合物，记为 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten。

图 2 是 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 的透射电镜图（A）和激光共聚焦图（B）；如透射电镜图所示，通过自组装制备的铕配位聚合物具有清晰层状结构，由激光共聚焦图可以看到各层都有较强的荧光。

（3）复合磁助比率荧光探针的制备：

将 30 μL 的 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 溶液和 20 μL 的 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液混合，其中，所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液浓度为 10 mg/mL，Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 溶液浓度为 10 mg/mL，得到复合磁助比率荧光探针，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten。

实施例 2：复合磁助比率荧光探针的制备

（1）BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光微球探针的制备：

将 1.0 g 的柠檬酸和 0.5 g 的 PEI 溶解在 30 mL 超纯水中超声混合，将混合物转移到 50 mL 特氟龙内衬中，220 ℃加热 8 h 后冷却至室温，产物用甲醇洗脱、用硅胶色谱柱纯化，在旋转蒸发仪中干燥获得浓缩 BCDs 溶液，通过冷冻浓缩溶液（−80 ℃），然后真空干燥，得到 BCDs。

将 33.4 mg $CaCl_2$、30 mg CMC 和 50 mg BCDs 溶于 30 mL 水中恒定速率搅拌 30 min，加入 31.8 mg Na_2CO_3 水矿化反应 24 h，溶液 5000 rpm 离心 10 min，纯水洗涤后真空干燥。

将 10 mg BCDs@$CaCO_3$、10 mg NHS、10 mg EDC 分散在 5 mL MES 缓冲液（pH=6.2）中反应 10 h，加入 80 μL 的 CAP-Apt（5.0 mg/mL），再反应 4 h 后，以 5000 rpm 离心 10 min，用纯水洗涤 3 次，最终获得 BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光探针溶液。

（2）磁功能化的铕配位聚合物的制备：

S1. $Fe_3O_4@SiO_2$ 的制备：

将 0.65 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 0.20 g 柠檬酸钠溶解在 20 mL 乙二醇中，再加入 1.20 g NaAc 搅拌 30 min，将混合液转入 50 mL 特氟龙内衬中，200 ℃加热 10 h，冷却至室温后，产品用乙醇和去离子水分别洗涤 3 次，在 60 ℃真空下干燥 6 h 得到 Fe_3O_4。

将 20 mg Fe_3O_4 溶于 80 mL 乙醇和 20 mL 水中，加入 1.25 mL 氨水，超声分散 10 min 后加入 2.5 mL 的 TEOS，搅拌 12 h，产物用乙醇洗涤 3 次，获得 $Fe_3O_4@SiO_2$。

S2. 铕配位聚合物的制备：

0.4 g $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶于 20 mL 乙醇中；0.8 g TTA，0.20 g bpm 溶于另外 20 mL 乙醇，置于 50 ℃油浴中，同时磁力搅拌。然后将 $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 的乙醇溶液缓慢滴入配体溶液中，用 NaOH 调节 pH=6~7，继续反应 2 h，陈化、抽滤、洗涤、干燥，得到铕配位聚合物，记为 $[Eu(TTA)_3]_2bpm$。

S3. 磁功能化的铕配位聚合物的制备：

将 20 mg $Fe_3O_4@SiO_2$ 加入 50 mL DMF 和 20 mL 纯水中，用 0.1 mol/L 的 HCl 将溶液调到中性后加入 15 mg $[Eu(TTA)_3]_2bpm$ 和 2 mL 氨水，超声 10 min，加入 3 mL TEOS，继续反应 15 h，用无水乙醇洗涤 3 次，干燥后得到 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$。将 50 mg Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$ 分散于 50 mL 超纯水中，加入 5 mL APTES 后在摇床上反应 15 h，用乙醇和超纯水分别洗涤 3 次后 50 ℃真空干燥 8 h。将 5.0 mg CAP-Hapten、15 mg NHS 和 20 mg EDC 溶解在 1 mL 甲醇中反应 4 h，将混合物加入含有 80.0 mg Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$ 的 MES 缓冲液（5 mL）中搅拌 5 h，洗涤后获得磁功能化的铕配位聚合物，记为 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten。

（3）复合磁助比率荧光探针 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 的制备：

将 10 μL 的 Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 溶液和 30 μL 的 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液混合，其中，所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液浓度为 10 mg/mL，Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten 溶液浓度为 10 mg/mL，得到复合磁助比率荧光探针，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-$Fe_3O_4@SiO_2$-Hapten。

实施例 3：复合磁助比率荧光探针的制备

（1）BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光微球探针的制备：

将 1.0 g 的柠檬酸和 0.5 g 的 PEI 溶解在 30 mL 超纯水中超声混合，将混合物转移到 50 mL 特氟龙内衬中，200 ℃加热 6 h 后冷却至室温，产物用甲醇洗脱、用硅胶色谱柱纯化，在旋转蒸发仪中干燥获得浓缩 BCDs 溶液，通过冷冻浓缩溶液（−80 ℃），然后真空干燥，得到 BCDs。

将 33.4 mg $CaCl_2$、30 mg CMC 和 50 mg BCDs 溶于 30 mL 水中恒定速率搅拌 30 min，加入 31.8 mg Na_2CO_3 水矿化反应 24 h，溶液 5000 rpm 离心 10 min，纯水洗涤后真空干燥。

将 60 mg BCDs@$CaCO_3$、28 mg NHS、40 mg EDC 分散在 5 mL MES 缓冲液（pH=6.2）中反应 7 h，加入 120 μL 的 CAP-Apt（5.0 mg/mL），再反应 4 h 后，以 5000 rpm 离心 10 min，

用纯水洗涤 3 次，最终获得 BCDs@$CaCO_3$-Apt 荧光探针溶液。

（2）磁功能化的铕配位聚合物的制备：

S1. Fe_3O_4@SiO_2 的制备：

将 0.65 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 0.20 g 柠檬酸钠溶解在 20 mL 乙二醇中，再加入 1.20 g NaAc 搅拌 30 min，将混合液转入 50 mL 特氟龙内衬中，220 ℃加热 12 h，冷却至室温后，产品用乙醇和去离子水分别洗涤 3 次，在 60 ℃真空下干燥 6 h 得到 Fe_3O_4。

将 20 mg Fe_3O_4 溶于 80 mL 乙醇和 20 mL 水中，加入 1.25 mL 氨水，超声分散 10 min 后加入 2.5 mL 的 TEOS，搅拌 12 h，产物用乙醇洗涤 3 次，获得 Fe_3O_4@SiO_2。

S2. 铕配位聚合物的制备：

1.4 g $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶于 20 mL 乙醇中；1.8 g TTA，0.6 g bpm 溶于另外 20 mL 乙醇，置于 50 ℃油浴中，同时磁力搅拌。然后将 $EuCl_3 \cdot 6H_2O$ 的乙醇溶液缓慢滴入配体溶液中，用 NaOH 调节 pH=6~7，继续反应 4 h，陈化、抽滤、洗涤、干燥，得到铕配位聚合物，记为 $[Eu(TTA)_3]_2$bpm。

S3. 磁功能化的铕配位聚合物的制备：

将 20 mg Fe_3O_4@SiO_2 加入 130 mL DMF 和 20 mL 纯水中，用 0.1 mol/L 的 HCl 将溶液调到中性后加入 30 mg $[Eu(TTA)_3]_2$bpm 和 3 mL 氨水，超声 10 min，加入 5 mL TEOS，继续反应 10 h，用无水乙醇洗涤 3 次，干燥后得到 Eu-Fe_3O_4@SiO_2。将 80 mg Eu-Fe_3O_4@SiO_2 分散于 50 mL 超纯水中，加入 8 mL APTES 后在摇床上反应 10 h，用乙醇和超纯水分别洗涤 3 次后 50 ℃真空干燥 8 h。将 8.0 mg CAP-Hapten、40 mg NHS 和 80 mg EDC 溶解在 1 mL 甲醇中反应 4 h，将混合物加入含有 100.0 mg Eu-Fe_3O_4@SiO_2 的 MES 缓冲液（5 mL）中搅拌 8 h，洗涤后获得磁功能化的铕配位聚合物，记为 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten。

（3）复合磁助比率荧光探针 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 的制备：

将 10 μL 的 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液和 25 μL 的 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液混合，其中，所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液浓度为 10 mg/mL，Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液浓度为 10 mg/mL，得到复合磁助比率荧光探针，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten。

实施例 4：氯霉素检测标准曲线绘制

用 PBS 配制氯霉素标准溶液，将 100 μL 氯霉素水溶液与实施例 1 所述的复合磁助比率荧光探针 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 混合后得到氯霉素浓度分别为 0，0.1，0.5，1，3，5，7，10，15 和 20 ng/mL 的复合体系，在常温状态下孵育 10 min，除去混合物的上清液，沉淀物由磁铁收集，随后再分散在 1 mL 的 PBS 中，在 365 nm 激发光下，记录不同氯霉素浓度下的复合体系在 350~650 nm 下的荧光光谱。

如图 3 所示，当没有氯霉素存在时，复合磁助比率荧光探针同时发出红色荧光和蓝色荧光，随着氯霉素的加入可观察到荧光信号变化，由于免疫反应，BCDs@$CaCO_3$-Apt 优先与氯霉素结合，在磁场作用下，磁功能化的红色荧光保留，蓝色荧光在冲洗后被去除，因此蓝色荧光减弱。

图 4 是根据 435 nm 和 615 nm 处荧光强度比值 F_{435}/F_{615} 与氯霉素浓度变化拟合的校准曲线，对应的函数为 Y=6.663-0.304X，相关系数 R^2=0.997，线性范围为 0~20 ng/mL。

实施例 5：氯霉素半定量可视化检测

将实施例 1 中获得的复合磁助比率荧光探针在不同氯霉素浓度下比率荧光复合，孵育 10 min 后除去上清液，由磁铁收集沉淀物，随后将沉淀物分散在 PBS 中，放置在紫外灯下，记录上述溶液对应的颜色信息，将颜色信号与氯霉素浓度分别对应，按照从小到大的顺序记录颜色变化。

图 5 为荧光强度比值 F_{435}/F_{615} 与氯霉素浓度拟合的校准曲线，从图中可以看出，在 365 nm 紫外光下，通过肉眼可以清晰地看到，添加不同浓度氯霉素浓度（0~20 ng/mL）后，混合体系的荧光颜色从紫色变到红色。因此，本发明所述的复合磁助比率荧光探针根据颜色信息可实现氯霉素的半定量可视化检测。

实施例 6：牛奶样品中氯霉素的检测分析

为了测试智能手机与复合磁助比率荧光探针结合后在实际样品中的定量分析效果，本实施例选择待测样本检测残留情况，具体步骤如下所示：

在 2 mL 样品中加入 20 μL 的三氯乙酸（20 %V/V），超声处理 30 min，并在 10000 rpm 下离心 5 min，用滤纸过滤上清液，得到含有氯霉素的提取液；将提取液加入到实施例 1 所述的复合比率荧光探针中，孵育 10 min 后除去混合物的上清液，沉淀物是由磁铁收集，随后再分散在 PBS 中，溶液放置在 365 nm 紫外灯下，观察到溶液颜色。将上述溶液放置在荧光光谱仪中，在 360 nm 激发光下测定荧光光谱，得到荧光强度比值 F_{435}/F_{615}，将得到的 F_{435}/F_{615} 带入到实施例 4 所述的拟合方程中得到样品中氯霉素含量。用标准加标方法探索复合磁助比率荧光探针在氯霉素检测中的准确性，结果显示加标氯霉素可以准确测量，回收率较高（从 97%到 107%），精密度较好（RSD<5.2%）。

实施例 7：复合磁助比率荧光探针的特异性评估

本实施例中分别配制了种抗生素（头孢匹林、阿莫西林、四环素、恩氟沙星和磺胺甲恶唑）、无机离子（钾离子、钠离子、镁离子、锌离子、碳酸根离子、硫酸根离子、硝酸根离子）等标准溶液作为干扰物质测试评估复合磁助比率荧光探针的特异性，浓度均为 1 M。

将不同种抗生素分别加入到实施例 1 所述的复合比率荧光探针溶液中，最终抗生素的浓

度均为 10 ng/mL，采用实施例 5 所述方法进行检测，检测结果如图 6A 所示。

图 6A 是本发明所得复合磁助比率荧光探针对头孢匹林、阿莫西林、四环素、恩氟沙星和磺胺甲恶唑这五种抗生素的选择性示意图，从图中可以看出，荧光比值变化仅在含有 CAP 而不是其他加标样品的溶液中发现，说明适配体识别具有优异的选择性，也说明该复合体系检测氯霉素具有特异性，不会被共存的其他抗生素干扰。

将氯霉素分别与不同种无机离子混合，将混合液分别加入到实施例 1 所述的复合比率荧光探针溶液中得到复合体系，最终复合体系中无机离子的浓度均为 500 μM，氯霉素的浓度为 50 μM，采用实施例 5 所述方法进行检测，检测结果如图 6B 所示。

图 6B 是复合比率荧光探针对钾离子、钠离子、镁离子、锌离子、碳酸根离子、硫酸根离子、硝酸根离子的选择性示意图，从图中可以看出，混合液的信号与氯霉素单独存在时的信号未观察到显著变化，说明该传感器对氯霉素具有良好的选择性，不会受到溶液中其他离子的干扰。

综上，成功构建了一种复合磁助比率荧光探针，实现了氯霉素的高灵敏度和高选择性检测。

所述实施例为本发明的优选的实施方式，但本发明并不限于上述实施方式，在不背离本发明的实质内容的情况下，本领域技术人员能够做出的任何显而易见的改进、替换或变型均属于本发明的保护范围。

权 利 要 求 书

1. 一种复合磁助比率荧光探针，其特征在于，所述复合磁助比率荧光探针由荧光微球探针和磁功能化的铕聚合物复合得到；所述荧光微球探针形状接近球体，表面粗糙；所述磁功能化的铕聚合物自组装制备得到，其形状接近球体，有明显的层状结构；所述荧光微球探针在磁功能化的铕聚合物的不同层面分布均匀。

2. 权利要求 1 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，

（1）荧光微球探针的制备：

将 BCDs@$CaCO_3$、N-羟基磺基琥珀酰亚胺、碳二亚胺盐酸盐、氯霉素适配体分散在 MES 缓冲液中混匀得到混合液，然后将混合液室温下反应，反应结束后离心、洗涤，得到所述荧光微球探针，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt；

（2）磁功能化的铕配位聚合物的制备：

S1. 铕配位聚合物的制备：

将苯甲酰三氟丙酮和 2，2'-联嘧啶加入乙醇溶液中溶解后，缓慢加入六水合氯化铕乙醇溶液混合均匀得到混合反应体系，然后混合反应体系调节 pH 至 6~7 后进行陈化反应，反应结束后抽滤、洗涤、干燥，得到所述铕配位聚合物，记为$[Eu(TTA)_3]_2$bpm；

S2. 磁功能化的铕配位聚合物的制备：

将 Fe_3O_4@SiO_2 与 N，N-二甲基甲酰胺混合均匀并调节 pH 至中性，然后向其中加入 $[Eu(TTA)_3]_2$bpm 和氨水，超声混合均匀，然后加入 TEOS 进行第一搅拌反应，反应结束后、离心、洗涤、干燥，得到 Eu-Fe_3O_4@SiO_2；

将 3-氨丙基三乙氧基硅烷溶液加入 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液中进行反应，反应结束后洗涤干燥，得到 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-NH_2；

将氯霉素半抗原、N-羟基磺基琥珀酰亚胺和碳二亚胺盐酸盐在甲醇溶液中混合，加入 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-NH_2 的 MES 缓冲液进行第二搅拌反应，反应结束后分离、洗涤，最终获得磁功能化的铕配位聚合物，记为 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten；

（3）复合磁助比率荧光探针的制备：

将 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液混合均匀后即可得到复合磁助比率荧光探针溶液，记为 BCDs@$CaCO_3$-Apt/Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten。

3. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤（1）中，所述 BCDs@$CaCO_3$、N-羟基磺基琥珀酰亚胺和碳二亚胺盐酸盐的质量比为 5～15:2～8:3～12；

所述室温下反应的时间为 4～10 h；

所述混合液中的氯霉素适配体的终浓度为 0.1～1 mg/mL。

4. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤 S1 中，六水合氯化铕乙醇溶液、苯甲酰三氟丙酮和 2，2'-联嘧啶质量比为 2～8:5～10:1～4；

所述混合反应体系中的乙醇总体积与六水合氯化铕乙醇溶液、苯甲酰三氟丙酮和 2，2'-联嘧啶的体积和相同；

所述陈化反应的反应时间为 1~4h。

5. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤 S2 中 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 制备时：

所述 Fe_3O_4@SiO_2、N，N-二甲基甲酰胺、$[Eu(TTA)_3]_2$bpm、氨水和 TEOS 的用量比为 20～60 mg：80～240 mL：10～30 mg：1.25～3.75mL：1～5 mL；

所述第一搅拌反应的条件为：超声搅拌 10~20min 后，在室温下反应 10~15h。

6. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤 S2 中 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-NH_2 制备时：

所述 3-氨丙基三乙氧基硅烷溶液与 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液的体积比为 10～50:1～5；所述 3-氨丙基三乙氧基硅烷溶液的溶剂为无水乙醇，Eu-Fe_3O_4@SiO_2 溶液的溶剂为纯水，

所述反应条件为室温下反应 10~15h。

7. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤 S2 中 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 制备时：

所述氯霉素半抗原 CAP-Hapten、N-羟基磺基琥珀酰亚胺、碳二亚胺盐酸盐和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2 的质量比为 1～5:2～10:3～15:10～50；

所述第二搅拌反应的条件为搅拌反应 4～8 h。

8. 根据权利要求 2 所述的复合磁助比率荧光探针的制备方法，其特征在于，步骤（3）中，所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液的体积比为 1～6:1～9；

所述 BCDs@$CaCO_3$-Apt 溶液的浓度和 Eu-Fe_3O_4@SiO_2-Hapten 溶液的浓度相同。

9. 权利要求 2~8 所述方法制备的复合磁助比率荧光探针或权利要求 1 所述的复合磁助比率荧光探针在可视化检测氯霉素中的应用。

10. 权利要求 9 所述的应用，其特征在于，所述可视化检测为半定量检测或定量检测。

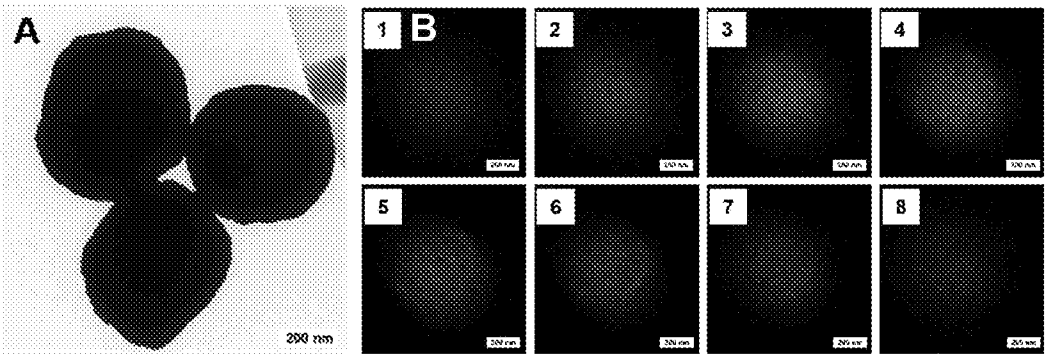

A
200 nm
1 B
2
3
4
5
6
7
8

图 1

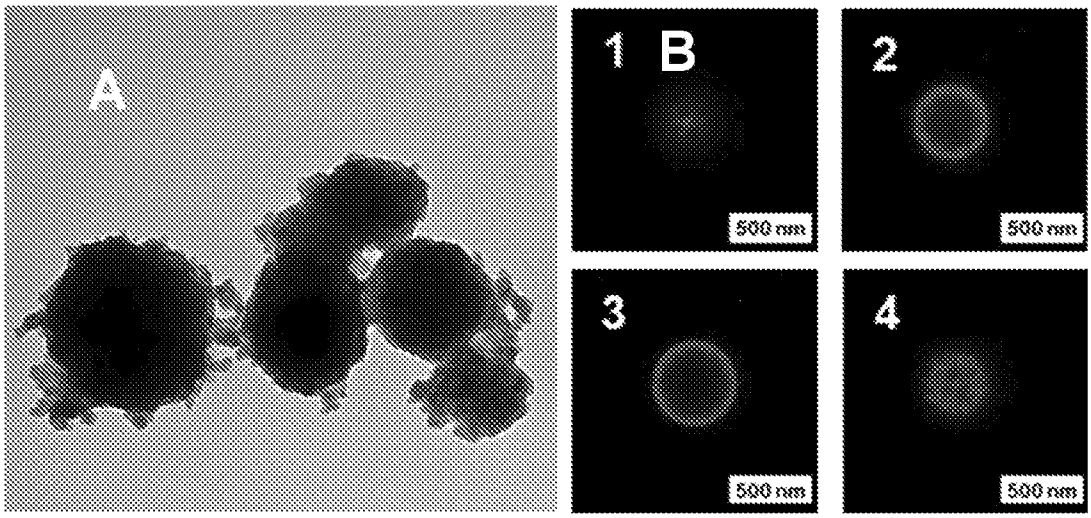

A
1 B
500 nm
2
500 nm
3
500 nm
4
500 nm

图 2

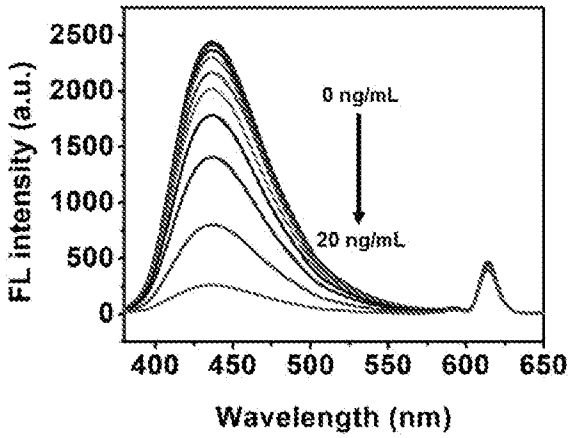

FL intensity (a.u.)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 ng/mL
20 ng/mL
400
450
500
550
600
650
Wavelength (nm)

图 3

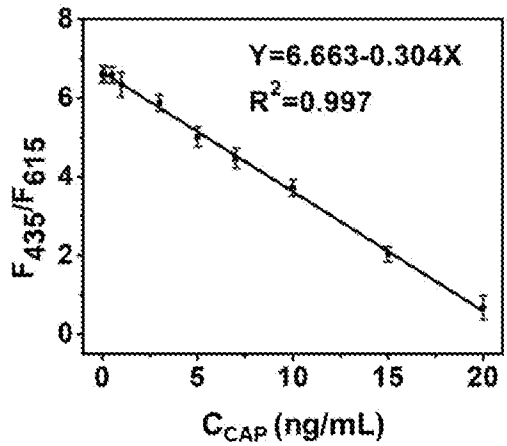

Y=6.663-0.304X
R²=0.997
F435/F615
CCAP (ng/mL)

图 4

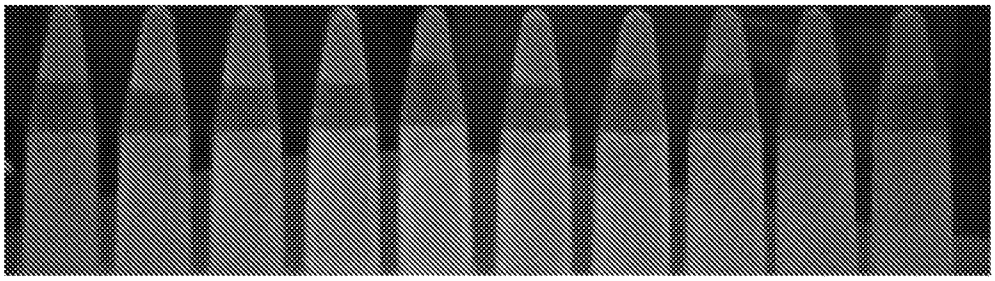


图 5

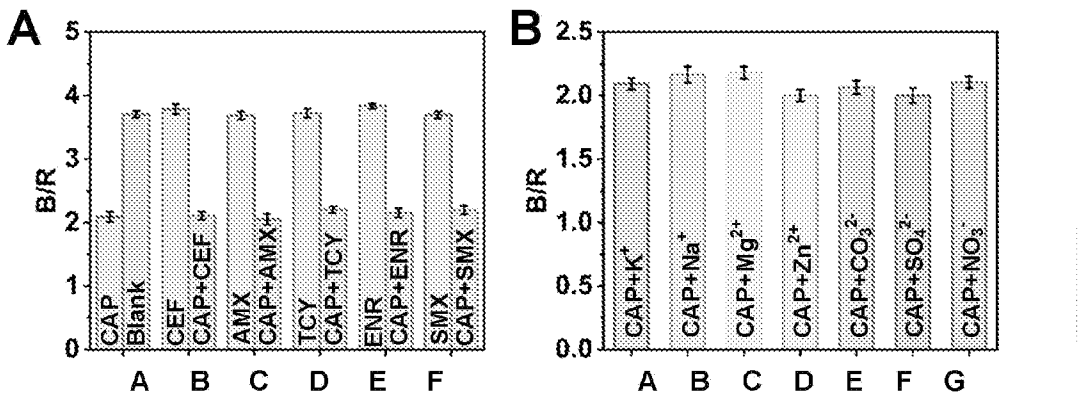

A
B/R
CAP
Blank
CEF
CAP+CEF
AMX
CAP+AMX
TCY
CAP+TCY
ENR
CAP+ENR
SMX
CAP+SMX
B
CAP+K+
CAP+Na+
CAP+Mg2+
CAP+Zn2+
CAP+CO32-
CAP+SO42-
CAP+NO3-

图 6

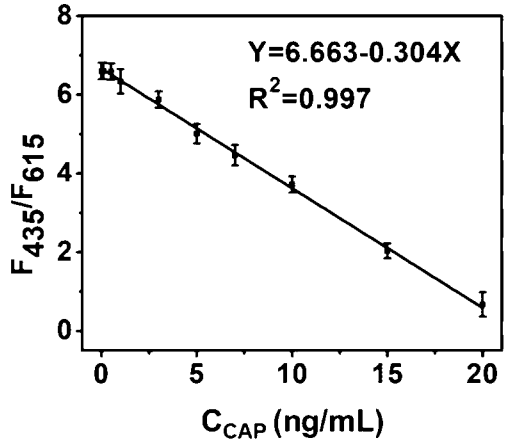

Y=6.663-0.304X
R2=0.997
F435/F615
CCAP (ng/mL)

图 4



图 5

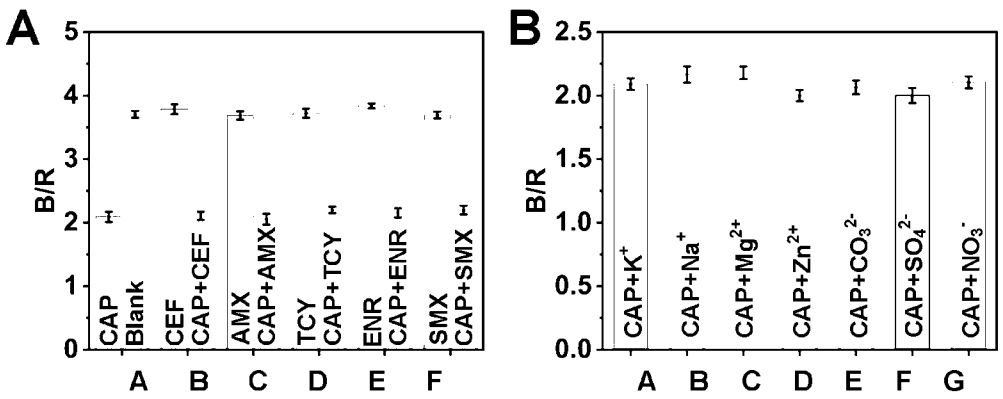

A
B/R
CAP
Blank
CEF
CAP+CEF
AMX
CAP+AMX
TCY
CAP+TCY
ENR
CAP+ENR
SMX
CAP+SMX
B
B/R
CAP+K+
CAP+Na+
CAP+Mg2+
CAP+Zn2+
CAP+CO32-
CAP+SO42-
CAP+NO3-

图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2024/072230

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C09K11/06(2006.01)i; C09K11/65(2006.01)i; G01N21/64(2006.01)i; G01N21/01(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:C09K11/-,G01N21/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT, DWPI, ENTXTC, STN (REGISTRY, CAPLUS): 荧光微球, 量子点, 碳点, 纳米颗粒, 纳米粒, 铕, EU, 稀土, 稀有, 配位, 配合, 络合, MOF, 有机框架, 自组装, 层, 复合, 磁, FE3O4, 检测, 探针, 苯甲酰三氟丙酮, 联嘧啶, 竞争, 抗原, 氯霉素, 适配体, 碳酸钙, 特异性抗体, BCD, bmp, CACO3, probe, quantum, TTA, carbon dot?, microsphere, ratio, magnetite, fluorescence, fluorescent, complex, chloramphenicol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116120920 A (JIANGSU UNIVERSITY) 16 May 2023 (2023-05-16) entire document	1-10
Y	CN 112798565 A (ZHANG LEI) 14 May 2021 (2021-05-14) embodiment 1, and description, paragraph 19	1
Y	CN 114149592 A (JIANGSU UNIVERSITY) 08 March 2022 (2022-03-08) claim 1, and embodiment 1	1
Y	CN 110776647 A (ZHEJIANG UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 11 February 2020 (2020-02-11) description, paragraph 8	1
A	CN 101225305 A (CHANGCHUN INSTITUTE OF APPLIED CHEMISTRY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 23 July 2008 (2008-07-23) entire document	1-10

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 March 2024	**01 April 2024**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 113788984 A (GUANGDONG TANZI TECHNOLOGY CO., LTD.) 14 December 2021 (2021-12-14) entire document	1-10
A	CN 108535486 A (BEIJING HUAHAI JUNYE TECHNOLOGY DEVELOPMENT CO., LTD.) 14 September 2018 (2018-09-14) entire document	1-10
A	US 8722415 B1 (U.S. DEPARTMENT OF ENERGY) 13 May 2014 (2014-05-13) entire document	1-10
A	Rashid Ilmi et al. "Monochromatic red electroluminescence from a homodinuclear europium(III) complex of a β-diketone tethered by 2,2'-bipyrimidine" *Journal of Materials Chemistry C*, Vol. 8, No. 29, 07 August 2020 (2020-08-07), pages 9816-9827, full text	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2024/072230

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 116120920 A	16 May 2023	None	
CN 112798565 A	14 May 2021	CN 112798565 B	15 July 2022
CN 114149592 A	08 March 2022	CN 114149592 B	17 January 2023
CN 110776647 A	11 February 2020	CN 110776647 B	08 April 2022
CN 101225305 A	23 July 2008	None	
CN 113788984 A	14 December 2021	CN 113788984 B	05 May 2023
CN 108535486 A	14 September 2018	None	
US 8722415 B1	13 May 2014	None	

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2024/072230

A. 主题的分类

C09K11/06(2006.01)i；C09K11/65(2006.01)i；G01N21/64(2006.01)i；G01N21/01(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC:C09K11/−,G01N21/−

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNTXT,DWPI,ENTXTC,STN(REGISTRY,CAPLUS):荧光微球，量子点，碳点，纳米颗粒，纳米粒，铕，EU，稀土，稀有，配位，配合，络合，MOF，有机框架，自组装，层，复合，磁，FE3O4，检测，探针，苯甲酰三氟丙酮,联嘧啶，竞争,抗原,氯霉素,适配体,碳酸钙,特异性抗体，BCD，bmp，CACO3，probe，quantum，TTA，carbon dot?，microsphere，ratio，magnetite，fluorescence，fluorescent，complex，chloramphenicol

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 116120920 A (江苏大学) 2023年5月16日 (2023 - 05 - 16) 全文	1−10
Y	CN 112798565 A (张磊) 2021年5月14日 (2021 - 05 - 14) 实施例1，说明书第19段	1
Y	CN 114149592 A (江苏大学) 2022年3月8日 (2022 - 03 - 08) 权利要求1，实施例1	1
Y	CN 110776647 A (浙江工业大学) 2020年2月11日 (2020 - 02 - 11) 说明书第8段	1
A	CN 101225305 A (中国科学院长春应用化学研究所) 2008年7月23日 (2008 - 07 - 23) 全文	1−10
A	CN 113788984 A (广东碳紫科技有限公司) 2021年12月14日 (2021 - 12 - 14) 全文	1−10

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2024年3月28日	2024年4月1日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 张丹 电话号码 (+86) 010−62086317

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 108535486 A (北京华海骏业科技发展有限公司) 2018年9月14日 (2018 - 09 - 14) 全文	1-10
A	US 8722415 B1 (US DEPT ENERGY) 2014年5月13日 (2014 - 05 - 13) 全文	1-10
A	Rashid Ilmi等. "Monochromatic red electroluminescence from a homodinuclear europium(III) complex of a β-diketone tethered by 2,2'-bipyrimidine" Journal of Materials Chemistry C, 第8卷，第29期，2020年8月7日 (2020 - 08 - 07)， 9816-9827页 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2024/072230

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	116120920	A	2023年5月16日	无			
CN	112798565	A	2021年5月14日	CN	112798565	B	2022年7月15日
CN	114149592	A	2022年3月8日	CN	114149592	B	2023年1月17日
CN	110776647	A	2020年2月11日	CN	110776647	B	2022年4月8日
CN	101225305	A	2008年7月23日	无			
CN	113788984	A	2021年12月14日	CN	113788984	B	2023年5月5日
CN	108535486	A	2018年9月14日	无			
US	8722415	B1	2014年5月13日	无			