

功能材料

光热光动力协同抗菌碳点的制备、表征及性能

吕 菊, 潘 浪, 邱愚衡, 张馨月*, 李萌婷, 尹学琼*

(海南大学 海南省精细化工工程技术研究中心, 海南 海口 570228)

摘要: 以烯丙基三甲基氯化铵 (QAC) 为碳源、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 为 Cu 掺杂原料, 采用一步水热法合成了具有光热光动力协同抗菌性能的铜离子掺杂碳点 (CuQACDs)。通过 TEM、Zeta 电位、FTIR、XPS、Raman 光谱、UV-Vis 吸收光谱对 CuQACDs 进行了结构表征。选用大肠杆菌 (*E. coli*) 及金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 评价了 CuQACDs 的抗菌性能。结果表明, $n(\text{QAC}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 2$ 制备的 CuQACD2 是具有良好分散性的球形纳米颗粒, 平均水合粒径约为 4.9 nm, Zeta 电位为 8.17 mV; 在功率密度 1.5 W/cm^2 的 808 nm 激光照射下, CuQACD2 光热转换效率为 21.7%, 同时可在细菌细胞内显著生成活性氧 (ROS); CuQACD2 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 均有显著抑制效果, 在质量浓度 1.50 g/L 下, 采用功率密度 1.5 W/cm^2 的 808 nm 激光照射 10 min 后, *E. coli* 的细胞存活率为 1.67%, *S. aureus* 的细胞存活率为 1.06%。

关键词: 碳点; 一步水热法; 光热转换; 抗菌性; 活性氧; 功能材料

中图分类号: TQ127.11; TB34

文献标识码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

文章编号: 1003-5214 (2024) 08-1745-09



Preparation, characterization and properties of photothermal/photodynamic synergistic antibacterial carbon dots

LYU Ju, PAN Lang, QIU Yuheng, ZHANG Xinyue*, LI Mengting, YIN Xueqiong*

(Hainan Provincial Fine Chemical Engineering Research Center, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China)

Abstract: Copper-doped carbon dots (CuQACDs) with photothermal/photodynamic synergistic antibacterial ability were prepared from one-step hydrothermal reaction of allyl trimethyl ammonium chloride (QAC) and $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, characterized by TEM, Zeta potential, FTIR, XPS, Raman spectrum and UV-Vis adsorption spectrum, and evaluated on their antibacterial properties by *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). The results showed that CuQACD2 prepared with $n(\text{QAC}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 2$ exhibited a well-dispersed spherical nanostructure with an average hydrated particle size of about 4.9 nm and a Zeta potential of 8.17 mV. Under the irradiation of 808 nm laser with a power density of 1.5 W/cm^2 , CuQACD2 showed a photothermal conversion efficiency of 21.7%, with ROS produced in bacterial cells. CuQACD2 with a mass concentration of 1.50 g/L displayed significant antibacterial activity on *E. coli* and *S. aureus*, the *E. coli* and *S. aureus* cell survival rates were 1.67% and 1.06%, respectively, after irradiation for 10 min with 808 nm laser at 1.5 W/cm^2 .

Key words: carbon dots; one-step hydrothermal method; photothermal conversion; antibacterial properties; reactive oxygen species; functional materials

细菌感染引起的一系列并发症, 如肺炎、脑膜炎、皮肤溃疡等对人类的健康造成巨大的威胁。使用传统的抗生素治疗措施, 不但很难完全杀死

生物膜内的细菌, 而且往往需要大剂量的抗生素, 这会引发细菌对抗生素的耐药性, 随着耐药细菌的不断出现, 许多抗生素在治疗细菌感染方面变

收稿日期: 2023-08-27; 定用日期: 2023-09-08; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230712

基金项目: 海口市重点科技计划项目 (2021-024); 大学生创新创业计划项目 (S202210589012)

作者简介: 吕 菊 (1992—), 博士生, E-mail: lj123456781992@163.com。联系人: 张馨月 (1992—), 女, 讲师, E-mail: xinyuezhang@hainanu.edu.cn; 尹学琼 (1975—), 女, 教授, E-mail: yxq@hainanu.edu.cn。

得越来越无效,这可能导致病人感染时间延长,治疗费用增加,甚至增加细菌感染的死亡率^[1]。这就催生了新型抗生素的研发需求,然而,新型抗生素面临开发成本高、有效时间短等问题,使得抗生素的开发跟不上耐药菌的出现速度,不能从根本上解决细菌耐药的问题。因此,开发一种新型抗菌方式替代传统抗生素治疗细菌感染具有重要的现实意义。

光热疗法 (PTT) 是一种由光热剂在合适光源存在下,通过产生高温诱导细菌损伤的方法。因其具有无创、靶向选择性、副作用小、广谱抗菌、治疗时间短以及几乎无细菌耐药性等优点,被认为是抗菌、消毒和肿瘤治疗的一种有效方法^[2-3]。光动力抗菌 (APDT) 是一种新兴的非侵入性抗菌疗法,在特定波长光照下,以光敏剂 (PS) 为媒介,产生具有细胞毒性的活性氧 (ROS), ROS 可广泛氧化细菌细胞结构中的多种基本组成大分子,导致细胞结构损伤,其不单独作用于某一路径,因此具有优异的广谱抗菌特性,被认为是传统抗生素疗法新型替代方法^[4-5]。然而,单一 PTT 会因局部过热等问题破坏正常组织细胞,且其需要高浓度 ROS 来杀死细菌,过量的 ROS 会引起正常细胞的炎症、纤维化和坏死。将 PTT 和 APDT 协同使用不仅可利用各自的优点,还可降低 PTT 使用温度和 APDT 所需 ROS 浓度,从而达到更好的抗菌效果。

碳纳米材料是目前被研究较为广泛的一类性能优异的光敏剂,具有光稳定性好、光热转换效率高、生物相容性好、绿色安全、低成本等优点。其中,碳点 (CDs) 是一种尺寸 < 10 nm 的超细、分散、准球形碳纳米颗粒,可通过物理作用破坏细胞膜结构和诱导增加 ROS 来引起氧化损伤,从而实现 APDT 灭菌^[6]。部分 CDs 具有光热转换特性,可在光源激发下提高局部温度,引起细菌 DNA 损伤和蛋白质变性,实现 PTT 抗菌^[7-8]。目前,CDs 抗菌的研究以 PTT 或光动力疗法 (PDT) 单模式为主,SAI 等^[9]采用分别具有光热和光动力性能的两种光敏剂形成复合光敏剂,实现将 PTT 和 PDT 结合协同作用。LIU 等^[10]采用较低波长光源 (660 nm) 对 CDs 进行辐照产生作用。CDs 的 C=C 键的 *p-p* 相互作用使大多数 CDs 的吸收通常在短波长区。与其他波长的光相比,近红外光 (780~2526 nm) 具有较好的组织穿透性,对皮肤和组织的伤害最小。因此,开发同时具有光热和光动力双光疗性能的绿色安全且可以在近红外光照射下产生作用的 CDs 是抗菌治疗的一个重要研究方向。

细菌细胞膜含有脂多糖和磷脂酸成分,其表面呈负电性,容易通过静电相互作用吸附表面带正电

荷的 CDs,从而破坏细菌结构。因此,控制制备具有特殊结构的带正电的 CDs,有望得到一种自身具有抗菌性能的 CDs,如对 CDs 掺杂 Cu^{2+} ,一方面可增加正电性增强 CDs 的抗菌性;另一方面 Cu^{2+} 的 *d* 轨道在配体场的作用下会发生分裂,产生较高的 e_g 轨道和较低的 t_{2g} 轨道。 e_g 和 t_{2g} 之间的能隙与近红外区域的能量相匹配,从而增强 CDs 在近红外区域的吸收,提高近红外光热性能^[11]。研究表明,CDs 制备中可能会保留原料的部分活性结构^[12],如果选择具有抗菌活性的试剂为碳源,也可进一步提升 CDs 的抗菌性能。

本文拟选择具有抗菌活性的烯丙基三甲基氯化铵 (QAC) 为碳源,与 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 共同溶解于去离子水中,经一步水热法制备一种 Cu 掺杂 CDs (CuQACDs),通过 TEM、FTIR、XPS、Zeta 电位、Raman 光谱、紫外光谱对 CuQACDs 进行结构表征,以革兰氏阴性菌大肠杆菌 (*E. coli*) 及革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 为代表评价 CuQACDs 的抗菌性能,以期对细菌感染和伤口治疗提供一种新的抗菌材料和抗菌模式。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

QAC、2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯 (DCFH-DA), AR, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、亚甲基蓝, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 2,2,6,6-四甲基哌啶 (TEMP)、5,5-二甲基-1-吡咯啉-*N*-氧化物 (DMPO)、1,3-二苯基异苯并咪唑 (DPBF), AR, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 磷酸盐缓冲溶液 (PBS, pH=7.4), 上海源叶生物科技有限公司; LB 固体培养基、LB 液体培养基, 广东环凯微生物科技有限公司。

LR-MFJ-808 激光器, 宁波远明激光技术有限公司; TESTO871 红外热成像仪, 德图仪器国际贸易 (上海) 有限公司; Talos F200X 场发射透射电子显微镜 (TEM)、EscaLab 250Xi X 射线光电子能谱仪 (XPS)、DXRxi 显微拉曼成像光谱仪 (Raman)、Plasma 300 电感耦合等离子体质谱分析仪 (ICP-MS), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; UV2600 紫外-可见分光光度计 (UV-Vis), 日本 Shimadzu 公司; DSX-18L-1 手提式高压蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; ESR5000 电子顺磁共振波谱仪 (ESR), 德国 Bruker 公司; iS10 傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Nicolet 公司; ZF-5 手提式紫外分析仪, 温州铭仁仪器有限公司; Fluoro Log-3 荧光分光光度计, 日本堀场公司; MAL1077738 动态光散射仪 (DLS), 英国马尔文仪器有限公司。

1.2 制备方法

按 $n(\text{QAC}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 2$, 将 0.2034 g (1.5 mmol) QAC 和 0.5114 g (3.0 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 加入到 15 mL 去离子水中, 在常温下搅拌溶解得到混合溶液。然后, 将混合溶液转移入 25 mL 反应釜中, 在 180 °C 下水热反应 6 h 后静置至室温, 使用 0.45 μm 水系滤头过滤除去杂质, 再使用截留相对分子质量 500~1000 的纤维素透析袋透析溶液 12 h 使样品纯化。将纯化后的样品溶液在 -40 °C 冷冻干燥 48 h, 得到黑色固体粉末 CuQACDs, 记为 CuQACD2。

固定其他条件不变, 改变 $n(\text{QAC}) : n(\text{Cu}^{2+})$, 将 $n(\text{QAC}) : n(\text{Cu}^{2+}) = 1 : 1$ 和 $2 : 1$ 制备的 CuQACDs 分别记为 CuQACD1 和 CuQACD3。

最后, 准确称量 CuQACDs 配制成适宜质量浓度的 CuQACDs 母液。

1.3 表征方法与性能测试

1.3.1 表征方法

取 CuQACDs 母液, 加去离子水稀释至适宜质量浓度, 使用 DLS 测试 CuQACDs 在水溶液中的平均水合粒径及 Zeta 电位。取稀释后的 CuQACDs 溶液, 滴在超薄碳膜上, 待溶液干燥后使用 TEM 和 HRTEM 分析 CuQACDs 的形貌、晶格条纹和粒径信息。取约 10 mg CuQACDs 粉末, 进行 XPS 元素分析, 由此分析 CuQACDs 的元素组成, 判断 Cu 元素的掺杂成功与否, 同时分析其中生成的化学键。取少量 CuQACDs 粉末, 使用光谱纯的 KBr 作为固体分散剂, 使用玛瑙研钵研磨后压片, 进行 FTIR 测试, 测试范围为 4000~500 cm^{-1} 。取约 10 mg CuQACDs 粉末, 研磨后使用显微拉曼成像光谱仪进行测试, 计算 D 带和 G 带强度比值 (I_D/I_G)。在对 CuQACDs 样品进行消解后, 对其中 Cu 元素的质量分数进行 ICP-MS 测试, 其中激光器的发射功率为 1.15 kW, 等离子气流量为 15 L/min, 辅助气流量为 1.5 L/min, 雾化气流量为 0.75 L/min。

1.3.2 光热性能测试

取 1 mL CuQACDs 溶液置于 1.5 mL 离心管中。使用激光器从距离离心管上方 5 cm 处照射 10 min。使用红外热成像仪, 每 0.5 min 记录 1 次温度, 作温度-时间曲线。对 CuQACDs 不同质量浓度下的光热升温性能进行测试, CuQACDs 溶液的质量浓度分别为 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 g/L, 测试功率密度为 1.5 W/cm^2 。另外, 对质量浓度为 0.50 g/L CuQACDs 溶液在不同功率密度下的光热升温性能进行测试, 测试功率密度设置为 0.5、1.0、1.5、2.0 W/cm^2 。选择纯水作为空白对照组。

通过监测不同质量浓度 CuQACDs 溶液在激光

器 808 nm (1.5 W/cm^2 、10 min) 环境温度下的温度变化, 确定 CuQACDs 的光热转换效率^[13]。测定 CuQACDs 的光热稳定性, 方法是用功率密度 1.5 W/cm^2 的 808 nm 激光照射 10 min 后, 关闭激光器, 使溶液自然冷却降温 20 min, 重复 5 次, 每隔 0.5 min 记录 1 次温度。

除此之外, 根据文献[14]的方法按照式(1)计算 CuQACDs 的光热转换效率:

$$\eta / \% = \frac{hS(T_m - T_r) - Q_0}{P(1 - 10^{-A_{808}})} \times 100 \quad (1)$$

式中: η 为光热转换效率, %; h 为传热系数, $\text{W}/(\text{m}^2 \cdot \text{K})$; S 为样品容器表面积, m^2 ; T_m 为稳态最高温度, K; T_r 为环境室温, K; Q_0 为不添加 CuQACDs 时溶剂和样品容器输入的基准能量, J; P 为激光功率, W; A_{808} 为 CuQACDs 溶液在 808 nm 处的吸光度。

1.3.3 细胞外光动力性能测试

选择 DPBF 探针检测 CuQACD2 在 808 nm 激光照射下的光动力性能。根据文献[15]的方法, 将 1.5 mL 质量浓度为 1.5 g/L CuQACD2 溶液与 30 μL 质量浓度为 1 g/L DPBF 溶液混合, 进行单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 产率的计算。

采用 ESR 光谱对 CuQACDs 在激光照射下产生的 ROS 种类进行测试。以 TEMP 为自由基捕获剂, 检测 CuQACDs 产生的 $^1\text{O}_2$; 以 DMPO 为自由基捕获剂, 检测 CuQACDs 产生的超氧自由基 ($\cdot\text{O}_2^-$) 和羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)。

1.3.4 细胞内光动力性能测试

根据文献[16]的方法, 对 CuQACDs 的细胞内光动力性能进行测试, 评估 CuQACDs 在细菌细胞内的 ROS 产生能力。将不同质量浓度的 CuQACDs 分散在等体积 PBS 中, 以 DCFH-DA 为荧光探针, 检测 CuQACDs 在细菌细胞内 ROS 产生情况。细菌采用 *E. coli* 与 *S. aureus*, 每种细菌的细胞内光动力测试实验设置 6 组, 以 CuQACDs 的质量浓度为主要分组依据, 分别为不进行激光照射 (Control) 的 0 g/L 组 (不含碳点的 PBS 空白对照组)、1.00 g/L 组、1.50 g/L 组及进行激光照射 (Laser) 的 0 g/L+Laser 组、1.00 g/L+Laser 组、1.50 g/L+Laser 组。光照条件为用功率密度 1.5 W/cm^2 的 808 nm 激光照射 10 min。

1.3.5 抗菌性能测试

选取形态完整、状态良好的 *E. coli* 与 *S. aureus* 菌落各 1 个, 分别接种于装有 LB 液体培养基的锥形烧瓶中, 并在 37 °C 和 180 r/min 条件下恒温培养摇床内孵育 24 h。使用移液枪吸取菌液放入 24 孔板中, 每个孔添加 1 mL 菌液。再向每个装有菌液的孔中加入 1 mL 一定质量浓度的 CuQACDs 溶液。吹打

菌液使 CuQACDs 溶液与菌液充分混合，之后使用功率密度为 1.5 W/cm² 的 808 nm 激光照射菌液，并保持照射距离相同。之后在 37 °C 下培养 12 h。最后，取稀释 1×10⁶ 倍的菌液进行平板涂布。涂布后的培养平板在 37 °C 下培养 12 h，进行拍照和菌落计数，使用式 (2) 计算细菌存活率：

$$CV/\% = N_e/N_c \times 100 \quad (2)$$

式中：CV 为细菌存活率，%；N_e 为实验组的菌落数，个；N_c 为未加 CuQACDs 空白对照组的菌落数，个。

2 结果与讨论

2.1 形貌分析

图 1 为 CuQACD2 形貌和粒径的表征结果。

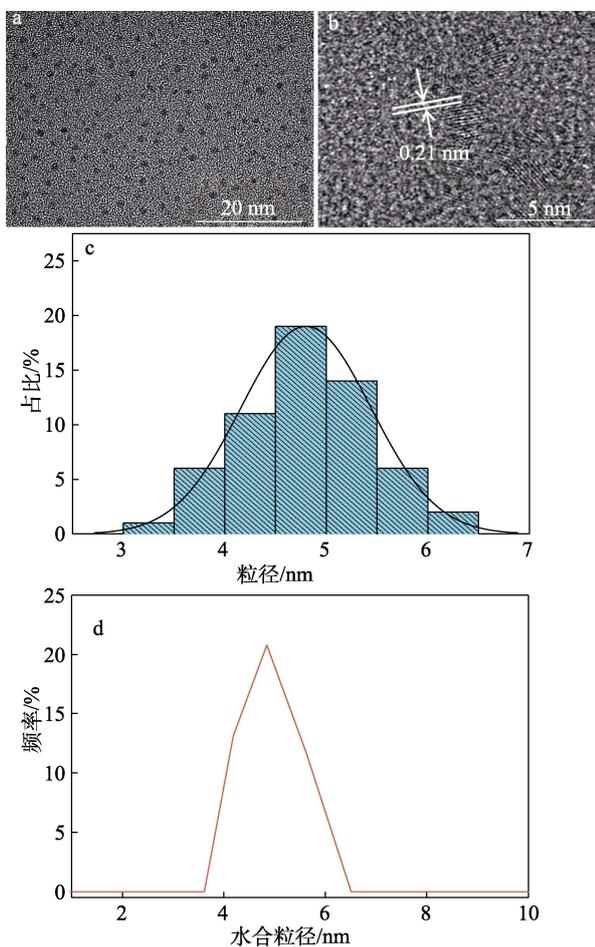


图 1 CuQACD2 的 TEM 图 (a)、HRTEM 图 (b)、粒径分布 (c) 和 DLS 曲线 (d)

Fig. 1 TEM image (a), HRTEM image (b), particle size distribution (c) and DLS plot (d) of CuQACD2

从图 1a 可以看出，CuQACD2 为具有良好分散性的球形纳米颗粒。从图 1b 可见，CuQACD2 的晶格间距为 0.21 nm，与石墨烯的(100)晶面相对应^[17]，表明了 CDs 的成功合成。由图 1c 可知，其粒径在 3~7 nm 范围内呈高斯分布，拟合曲线的峰值约为

4.8 nm，表明 CuQACD2 具有较为均一的尺寸分布。而从图 1d 可知，CuQACD2 的平均水合粒径约 4.9 nm，与 TEM 的测试相吻合，其 Zeta 电位为 8.17 mV。

2.2 基本结构分析

图 2 为 CuQACD2 的 FTIR 及 Raman 谱图。

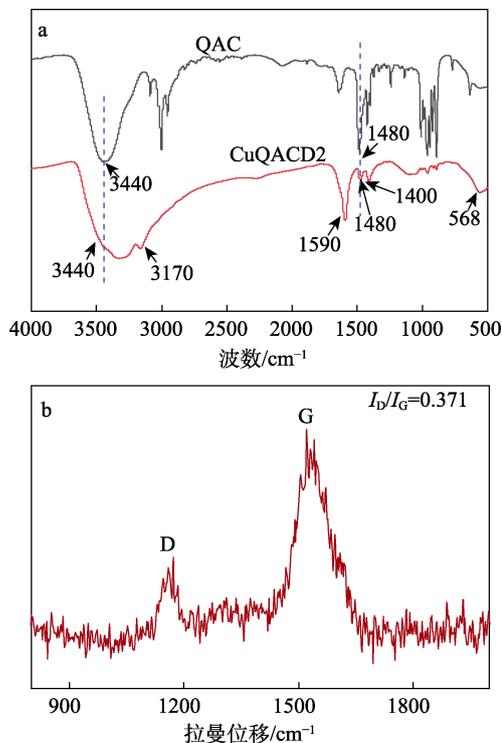
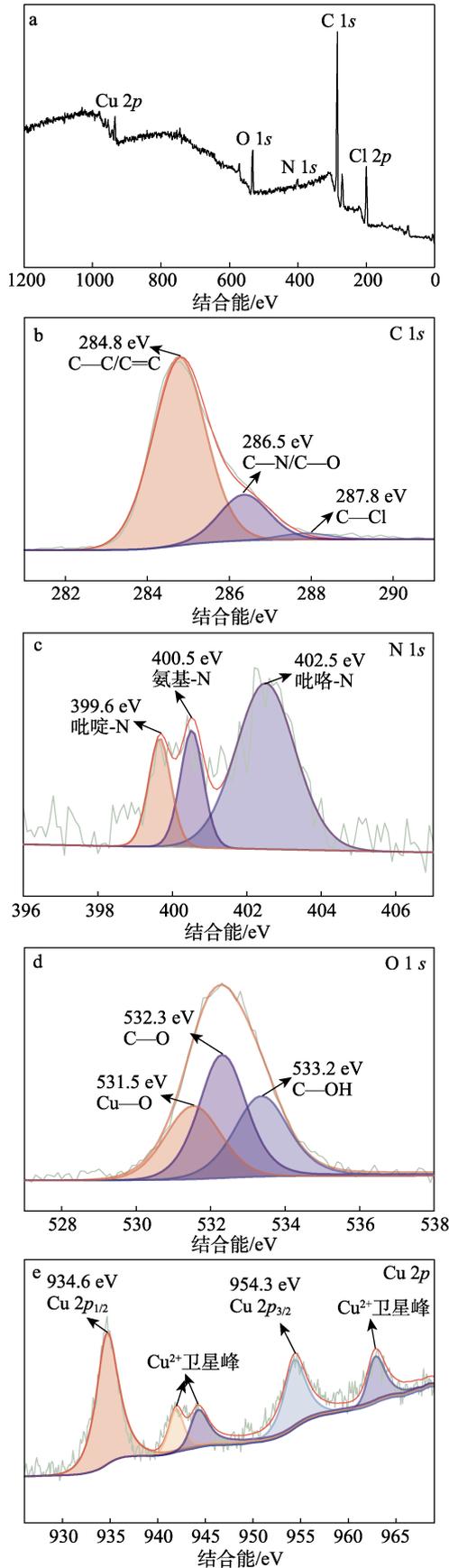


图 2 CuQACD2 的 FTIR (a) 及拉曼 (b) 光谱
Fig. 2 FTIR (a) and Raman (b) spectra of CuQACD2

由图 2a 可知，3440 cm⁻¹ 处吸收峰为—OH 的伸缩振动，1480 cm⁻¹ 处的吸收峰为 QAC 的 C—N 键的伸缩振动^[18-19]。结果表明，CuQACD2 保留了原料 QAC 的部分结构，为其本身具有抗菌能力提供了理论支撑。3170 cm⁻¹ 处吸收峰为 C—H 的伸缩振动，1590 cm⁻¹ 处吸收峰为 C=C 键的伸缩振动^[20]，表明在 CuQACD2 表面含有疏水链。1400 cm⁻¹ 处吸收峰对应 Cu—O 键，568 cm⁻¹ 处吸收峰对应 C—Cl 键^[21]，这两种化学键的存在表明，CuQACD2 中 Cu 元素和 Cl 元素的成功掺杂。由图 2b 可知，1172 cm⁻¹ 处的特征 D 带说明 CuQACD2 中碳原子晶格存在缺陷，1521 cm⁻¹ 处的特征 G 带说明 sp² 杂化碳原子的振动与石墨的 E_{2g} 模式相联系^[22]，说明 CuQACD2 为由 sp² 和 sp³ 杂化碳构成，其中 I_D/I_G=0.371。综上所述，CuQACD2 具有高度石墨化和无定形的特点。

对 CuQACD2 进行了 ICP-MS 检测，结果表明，其 Cu 质量分数为 0.44% (理论值为 1.21%)，进一步证明了 Cu 元素在 CuQACD2 中的成功掺杂。

图 3 为 CuQACD2 的 XPS 谱图。



a—XPS 全谱; b—高分辨 C 1s; c—高分辨 N 1s; d—高分辨 O 1s; e—高分辨 Cu 2p

图 3 CuQACD2 的 XPS 谱图

Fig. 3 XPS spectra of CuQACD2

从图 3a 可见, CuQACD2 共检测到 5 个峰, 分别为 Cl 2p (167.0 eV)、C 1s (284.0 eV)、N 1s (399.0 eV)、O 1s (530.0 eV) 及 Cu 2p (975.0 eV), 各元素的摩尔分数分别为 5.02% (Cl)、80.21% (C)、4.23% (N)、8.20% (O) 和 2.34% (Cu), 结果表明, CuQACD2 表面具有含氮和含氧基团, 同时有 Cl 和 Cu 掺杂, 且未发现其他杂质元素, 说明合成的 CDs 较为纯净。由图 3b 可见, 3 个峰分别对应 C—C/C=C (284.8 eV)、C—N/C—O (286.5 eV) 和 C—Cl (287.8 eV)^[23]。由图 3c 可见, 3 个峰分别对应吡啶-N (399.6 eV)、氨基-N (400.5 eV) 和吡咯-N (402.5 eV) 3 种类型的 N^[24]。高分辨 O 1s 谱图也可分为 3 个峰 (图 3d), 分别对应 Cu—O (531.5 eV)^[25]、C—O (532.3 eV) 和 C—OH (533.2 eV) 3 种基团。高分辨 Cu 2p 谱图可分为 5 个峰 (图 3e), 其中, 934.6 eV 对应 Cu 2p_{1/2} 特征峰, 954.3 eV 对应 Cu 2p_{3/2} 特征峰, 941.9 和 944.2 eV 处的峰代表 Cu²⁺ 的强卫星峰, 962.8 eV 处为 Cu²⁺ 的另一个强卫星峰。结果表明, Cu 元素成功掺杂, 且在 CuQACD2 中存在的形式接近 CuO 结构^[26]。

2.3 光热性能分析

图 4 为不同物料配比制备的 CuQACDs 的光热性能。

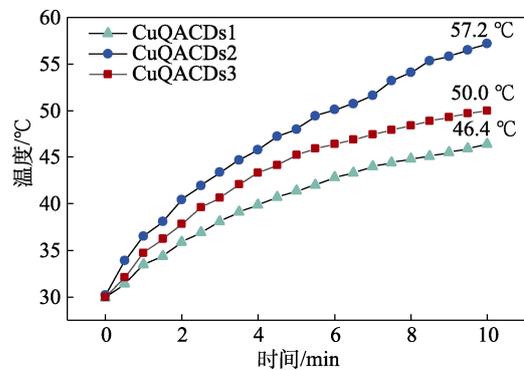
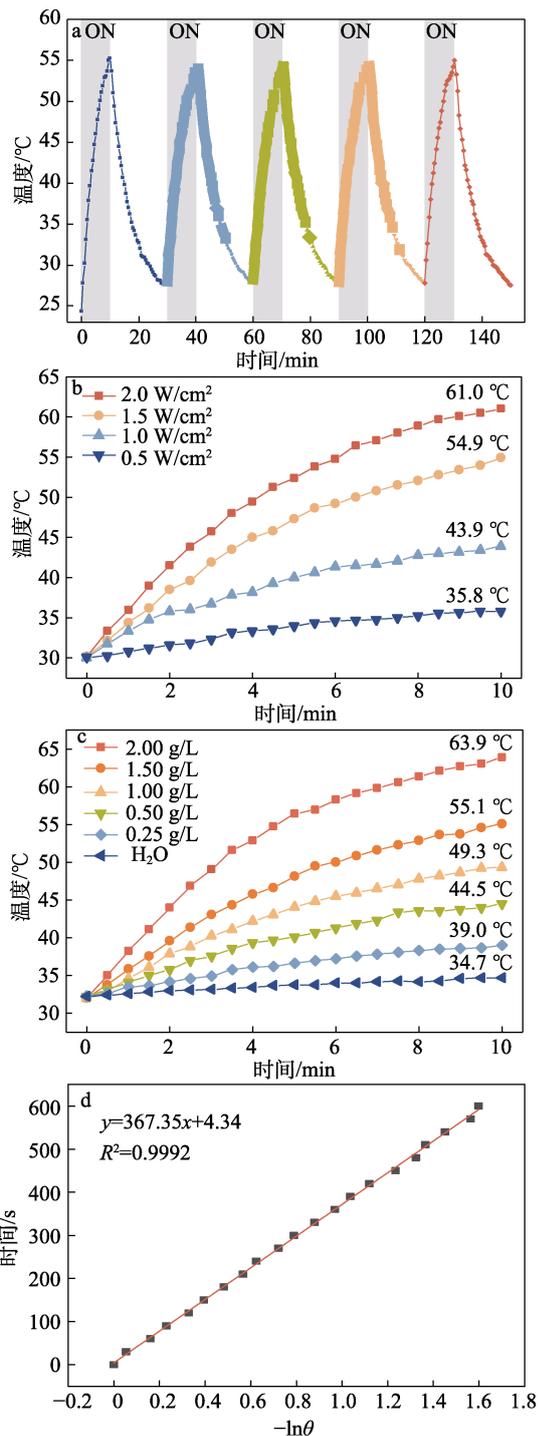


图 4 不同样品的温度随时间变化曲线

Fig. 4 Temperature change with time plots of different samples

从图 4 可见, 在样品质量浓度为 1.5 g/L、经功率密度 1.5 W/cm² 的 808 nm 激光照射 10 min 后, CuQACD1 最高温度为 46.4 °C, 未达到杀灭细菌的温度; CuQACD2 最高温度为 57.2 °C, 且升温速率较快; CuQACD3 虽然最高温度可达 50.0 °C, 但升温速率较慢, 光热转换效率较低。因此, 后续选择升温速率最快、具有良好光热性能的 CuQACD2 作为最佳测试方案。

对不同质量浓度 CuQACD2 溶液的光热性能进行了测试, 结果见图 5。



a—循环测试；b—不同质量浓度测试；c—不同功率密度测试；d 冷却时间与 $-\ln\theta$ 的关系图

图 5 CuQACD2 光热性能测试

Fig. 5 Photothermal performance test of CuQACD2

从图 5a 可知，5 次光热循环后，CuQACD2 均能保持相近的升温速率，且在 10 min 中内达到 55.0 °C，表明其具有良好的热重现性和光热稳定性^[27]。

从图 5b 可以看出，质量浓度为 1.5 g/L 的 CuQACD2 溶液在照射功率密度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 W/cm² 时，经 10 min 的激光照射后，各组样品溶液的最高温度依次为 35.8、43.9、54.9、61.0 °C，

考虑到皮肤能接受的最大激光照射功率密度为 1.5 W/cm²^[28]，且在该功率密度下 CuQACD2 溶液可以达到适用于抗菌治疗的温度，因此，选择 1.5 W/cm² 为最佳激光照射功率密度。此时，CuQACD2 的光热转换效率为 21.7%。

从图 5c 可以看出，随着 CuQACD2 质量浓度从 0 g/L 增加到 2.00 g/L，各溶液可达到的最高温度依次为 34.7、39.0、44.5、49.3、55.1、63.9 °C。其中，质量浓度为 1.50 和 2.00 g/L 溶液的最高温度 ≥ 55.1 °C，并具有良好的升温速率，说明二者均可对细菌产生有效杀伤。

从图 5d 可以看出，在质量浓度为 1.5 g/L CuQACDs 存在下，冷却时间与驱动力温度的负自然对数 ($-\ln\theta$) 呈正相关。

综上，最佳光热条件为 CuQACD2 的质量浓度 1.5 g/L、照射功率密度为 1.5 W/cm²，后续实验均在此条件下进行。

2.4 细胞外光动力性能分析

图 6 为 CuQACD2 与 DPBF 混合后在功率密度 1.5 W/cm² 的 808 nm 激光照射不同时间的 UV-Vis 吸收光谱。

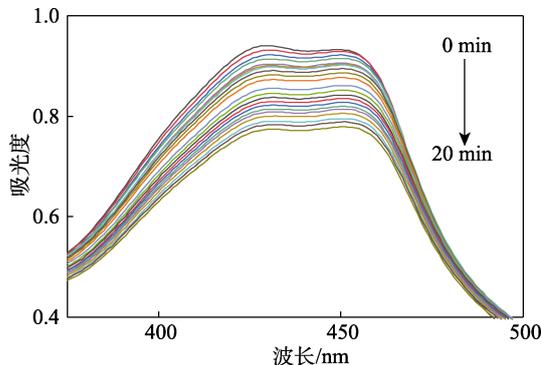


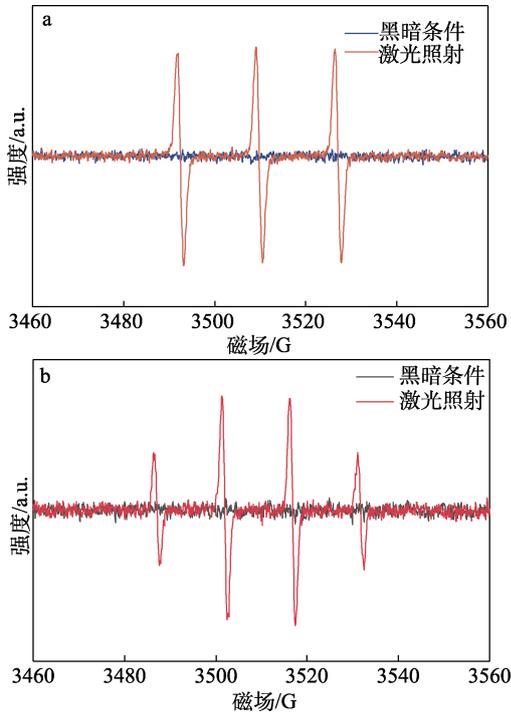
图 6 CuQACD2 与 DPBF 混合物在激光照射下不同时间的 UV-Vis 吸收光谱

Fig. 6 UV-Vis absorption spectra of CuQACD2 and DPBF mixture at different times under laser irradiation

从图 6 可知，CuQACD2 与 DPBF 混合物在 430 nm 处的吸光度随着照射时间的增加而持续下降。对 CuQACD2、标准物质亚甲基蓝 (MB) 及捕获剂 DPBF 在功率密度 1.5 W/cm² 的 808 nm 激光照射后，430 nm 处吸光度 (y) 随时间 (x) 变化进行线性拟合，分别得到拟合曲线方程 $y=0.94+0.017x$ ($R^2=0.9992$)、 $y=0.93+0.038x$ ($R^2=0.9994$)、 $y=0.94+0.003x$ ($R^2=0.9992$)，经计算发现，在 10 min 内，CuQACD2、MB 和 DPBF 的吸光度分别下降了 17.7%、39.7% 和 3.2%。根据文献[15]方法计算，CuQACD2 的 ¹O₂ 产率约为 0.23，可知其 ¹O₂ 产生能力略低于 MB (0.52)，可减少伤口治疗时对正常组织的损伤，适宜作为光

动力治疗剂。

图 7 为 CuQACD2 在激光照射下产生的 ROS 种类测试的 ESR 光谱。



a—以 TEMP 为 $^1\text{O}_2$ 捕获剂; b—以 DMPO 为 $\cdot\text{OH}$ 捕获剂
图 7 ROS 种类测试的 ESR 光谱
Fig. 7 ESR spectra for ROS species tests

从图 7a 可见, ESR 光谱呈现峰强度比为 1 : 1 : 1 的三联体信号, 为 TEMP 被 $^1\text{O}_2$ 氧化后的产物 2,2,6,6-四甲基哌啶-氮-氧化物特征峰, 表明 CuQACD2 具有产生 $^1\text{O}_2$ 的能力。从图 7b 可见, ESR 光谱中呈峰强度比为 1 : 2 : 2 : 1 的四重峰, 为 DMPO- $\cdot\text{OH}$ 加合物的特征峰, 表明 CuQACD2 具有产生 $\cdot\text{OH}$ 的能力。综上, CuQACD2 具有同时产生 $^1\text{O}_2$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的能力, 可作为光动力治疗试剂。

2.5 细胞内光动力治疗分析

图 8 为 *E. coli* 及 *S. aureus* 和与不同质量浓度的 CuQACD2 共同培养后的荧光谱图。

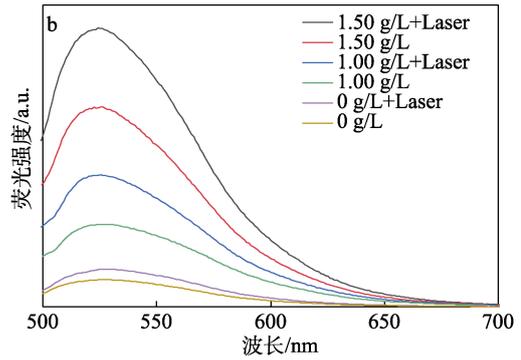
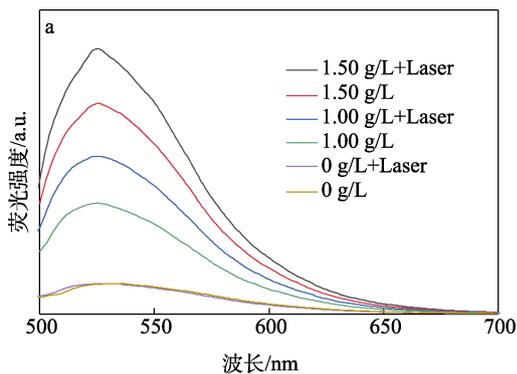


图 8 *E. coli* (a) 及 *S. aureus* (b) 在不同处理条件下的 DCFH-DA 荧光强度
Fig. 8 DCFH-DA fluorescence intensity of *E. coli* (a) and *S. aureus* (b) under different treatment conditions

从图 8 可见, 各激光照射组与未照射组相比, 荧光强度明显增强。各未照射组的荧光强度也比空白对照组的增强, 可能是由于细胞与 CuQACD2 共同培养产生氧化应激作用, 导致细胞内 ROS 水平提高^[29]。然而, 在仅加入等量 PBS 与细菌细胞共同培养的空白对照组中, 无论是否进行激光照射, 样品的荧光强度几乎没有变化, 表明细胞内几乎无 ROS 的产生。综上, 在 808 nm 激光照射下, CuQACD2 可在细胞内显著生成 ROS, 具有作为近红外光敏剂应用于抗菌治疗的潜力。

2.6 CuQACD2 抗菌性能分析

图 9 为 CuQACD2 体外光热光动力协同抑菌活性测试结果。

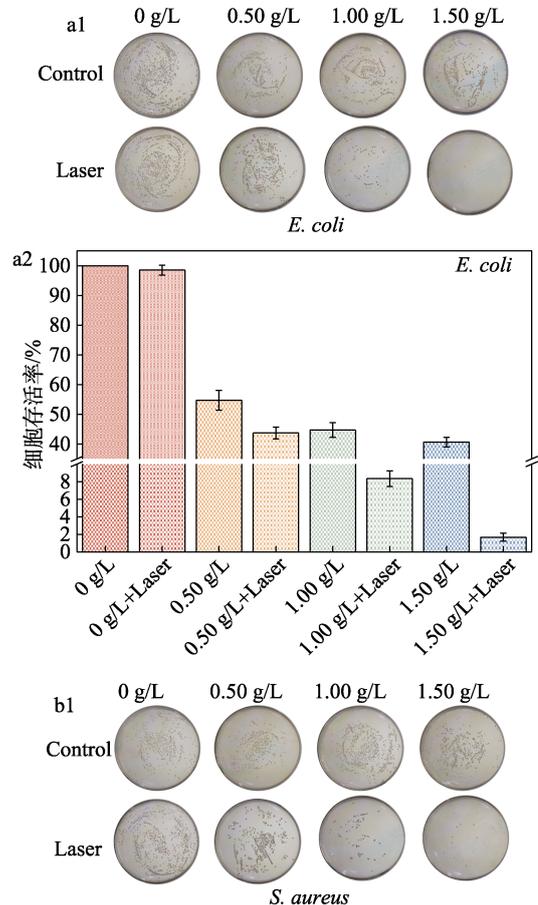


图 9 为 CuQACD2 体外光热光动力协同抑菌活性测试结果。

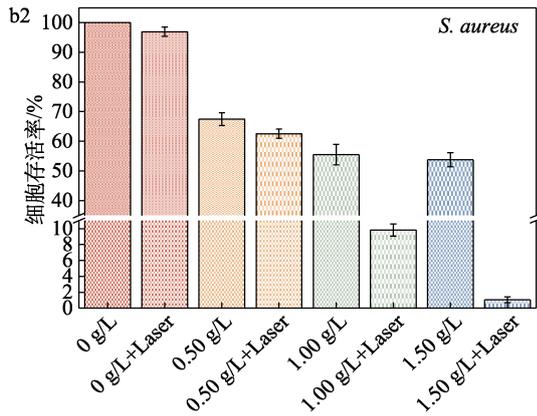


图 9 *E. coli* (a1、a2) 及 *S. aureus* (b1、b2) 在用不同质量浓度 CuQACD2 处理后的细菌菌落照片和细胞存活率

Fig. 9 Photographs of bacterial colonies and cell survival rates of *E. coli* (a1, a2) and *S. aureus* (b1, b2) after treatment with different mass concentrations of CuQACD2

从图 9 可见，当 CuQACD2 质量浓度为 0 g/L 时，两种菌株的琼脂平板上均出现大量菌落，且激光照射前后细胞存活率相近。如图 9a2、b2 所示，*E. coli* PBS 空白对照组照射前为细胞存活率为 100%，照射后为 98.47%，*S. aureus* PBS 空白对照组照射前为 100%，照射后为 96.95%。随着 CuQACD2

质量浓度 (0.50、1.00、1.50 g/L) 的提高，未经激光照射 (Control) 的各组的细胞存活率逐渐降低，其中，*E. coli* 组对应的细胞存活率分别为 54.74%、44.71% 和 40.67%；*S. aureus* 组的细胞存活率分别为 67.46%、55.51%、53.78%。原因可能是 CuQACD2 表面保留了原料 QAC 的季铵盐基团和疏水链，且表面呈正电荷，可吸附于带有负电荷的细菌表面，进而发生静电相互作用，在侵入细胞壁后破坏细菌的细胞膜，导致细菌死亡^[30]。经激光照射组具有更低的细菌细胞存活率，且随着 CuQACD2 质量浓度 (0.50、1.00、1.50 g/L) 的提高而降低，*E. coli* 组对应的细胞存活率分别为 43.73%、8.36%、1.67%；*S. aureus* 组对应的细胞存活率分别为 62.55%、9.83%、1.06%。其中，1.50 g/L+Laser 组的抗菌效果最好，这是 CDs 自身、近红外激发下的 PTT 以及 APDT 三重协同杀菌产生的效果。结果表明，CuQACD2 在多模态抗菌领域具有进一步应用的潜力。

图 10 为 *E. coli* 及 *S. aureus* 细胞经过不同处理后的 SEM 图。分组为：空白对照组 (Control)、激光照射组 (Control+Laser)、1.5 g/L 的 CuQACD2 溶液共培养组 (CuQACD2)、1.5 g/L 的 CuQACD2 溶液共培养+激光照射组 (CuQACD2+Laser)。条件为：808 nm 激光、照射功率密度 1.5 W/cm²，照射时间 10 min。

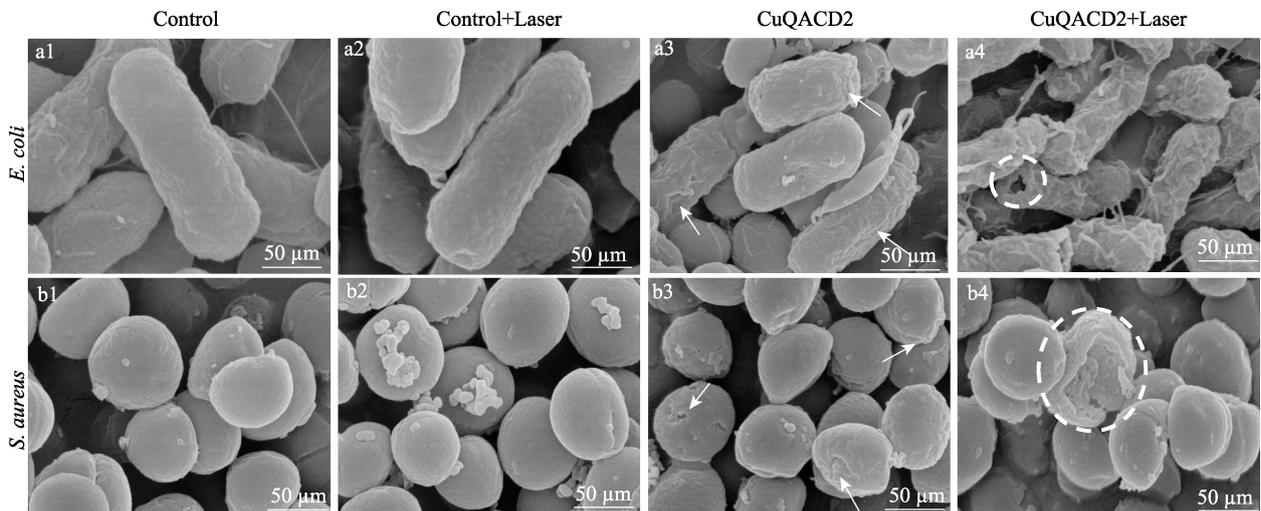


图 10 *E. coli* (a1、a2、a3、a4) 及 *S. aureus* (b1、b2、b3、b4) 在经过不同处理后细菌菌落的 SEM 图

Fig. 10 SEM images of bacterial colonies of *E. coli* (a1, a2, a3, a4) and *S. aureus* (b1, b2, b3, b4) after different treatments

从图 10 可见，激光照射前后的空白对照组中，*E. coli* 与 *S. aureus* 的细胞壁和细胞膜均呈现光滑完整的状态，未出现明显的褶皱或破损 (图 10a1、b1、a2、b2)；与质量浓度 1.50 g/L 的 CuQACD2 溶液共培养后，在未进行激光照射的情况下 (图 10a3、b3)，如白色箭头标示，*E. coli* 和 *S. aureus* 的细胞表面均出现了皱缩、不平滑的状态，表明 CuQACD2 自身对细胞膜产生了破坏。在与质量浓度为 1.50 g/L 的

CuQACD2 溶液共同培养并进行激光照射后，两种细菌的细胞膜均出现了更为严重的皱缩和损伤 (图 10a4、b4)，其中如虚线圈所示，部分细胞呈现了破溃的状态^[31]，结果表明，CuQACD2 可以通过其自身结构 (如季铵盐结构、荷正电性、Cu²⁺)，在单一 808 nm 激光照射下实现 50 °C 的热疗，并产生足量 ROS 来实现对这两种细菌细胞结构的协同破坏，从而导致细菌死亡。结果进一步表明，CuQACD2 可

通过表面季铵盐基团在静电相互作用和疏水相互作用下附着于细菌细胞表面, 并对细胞膜造成一定的损伤, 提高细菌对周边环境温度及 ROS 水平改变的敏感性, 使 PTT 和 APDT 更容易造成细胞膜的损坏及内部物质如细胞质、蛋白质和核酸等的外泄, 从而导致细菌细胞结构的破坏^[32]。综合以上实验结果, CuQACD2 在近红外区单一波长 808 nm 激光照射后, 对细菌具有良好的杀伤效果。

3 结论

以具有良好抗菌活性的季铵盐 QAC 为碳源, 与 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 一步水热法合成了在近红外光激发下具有光热/光动力协同性能的铜掺杂碳点 CuQACD2。CuQACD2 光热转换效率为 21.7%, 且多次循环光照处理后, 仍能保持较好的光热性能。在 808 nm 激光照射下, CuQACD2 可产生 $^1\text{O}_2$ 和 $\cdot\text{OH}$ 。Cu 元素的成功掺杂和季铵盐官能团的存在进一步提升了 CuQACD2 的近红外光下的光热光动力性能和抗菌效果, 在 808 nm 激光照射 10 min 后, *E. coli* 的细胞存活率为 1.67%, *S. aureus* 的细胞存活率为 1.06%。CuQACD2 呈现 CDs 自身、近红外激发下的 PTT 以及 APDT 三重协同杀菌效果, 在创面修复和抗菌抑菌方面呈现出良好的应用前景。

参考文献:

- [1] SINGH A, GAUTAM P K, VERMA A, *et al.* Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review[J]. *Biotechnology Reports*, 2020, 25: e00427.
- [2] BAO Z H, LI K X, HOU P P, *et al.* Nanoscale metal-organic framework composites for phototherapy and synergistic therapy of cancer[J]. *Mater Chem Front*, 2021, 5(4): 1632-1654.
- [3] OU H L, LI J, CHEN C, *et al.* Organic/polymer photothermal nanoagents for photoacoustic imaging and photothermal therapy *in vivo*[J]. *Science China-Materials*, 2019, 62(11): 1740-1758.
- [4] CIEPLIK F, DENG D, CRIELAAD W, *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy-what we know and what we don't[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2018, 44(5): 571-589.
- [5] JIA Q Y, SONG Q, LI P, *et al.* Rejuvenated photodynamic therapy for bacterial infections[J]. *Adv Healthc Mater*, 2019, 8(14): e1900608.
- [6] HUANG H H, ANAND A, LIN C J, *et al.* LED irradiation of halogen/nitrogen-doped polymeric graphene quantum dots triggers the photodynamic inactivation of bacteria in infected wounds[J]. *Carbon*, 2021, 174: 710-722.
- [7] FAN X, YANG F, HUANG J B, *et al.* Metal-organic-framework-derived 2D carbon nanosheets for localized multiple bacterial eradication and augmented anti-infective therapy[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(9): 5885-5896.
- [8] HUO J J, JIA Q Y, HUANG H, *et al.* Emerging photothermal-derived multimodal synergistic therapy in combating bacterial infections[J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(15): 8762-8789.
- [9] SAI D L, LEE J, NGUYEN D L, *et al.* Tailoring photosensitive ROS for advanced photodynamic therapy[J]. *Experimental and Molecular Medicine*, 2021, 53(4): 495-504.
- [10] LIU M, HUANG L, XU X Y, *et al.* Copper doped carbon dots for addressing bacterial biofilm formation, wound infection, and tooth staining[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(6): 9479-9497.
- [11] LIN M, WANG D D, LIU S W, *et al.* Cupreous complex-loaded chitosan nanoparticles for photothermal therapy and chemotherapy of oral epithelial carcinoma[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(37): 20801-20812.
- [12] SONG J P, LIANG X M, MA Q, *et al.* Fluorescent boron and nitrogen co-doped carbon dots with high quantum yield for the detection of nimesulide and fluorescence staining[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 216: 296-302.
- [13] WU L N, YANG Y J, HUANG L X, *et al.* Levofloxacin-based carbon dots to enhance antibacterial activities and combat antibiotic resistance[J]. *Carbon*, 2022, 186: 452-464.
- [14] WU Y Z, XIONG W F, WANG Z K, *et al.* Self-assembled MXene-based Schottky-junction upon transition metal oxide for regulated tumor microenvironment and enhanced CDT/PTT/MRI activated by NIR irradiation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 427: 131925.
- [15] WAN P Q, GUO W, WANG Y J, *et al.* Photosensitizer-polypeptide conjugate for effective elimination of candida albicans biofilm[J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11(16): e2200268.
- [16] WANG R B, XIA G J, ZHONG W T, *et al.* Direct transformation of lignin into fluorescence-switchable graphene quantum dots and their application in ultrasensitive profiling of a physiological oxidant[J]. *Green Chemistry*, 2019, 21(12): 3343-3352.
- [17] SHIN J H, GUO J, ZHAO T T, *et al.* Functionalized carbon dots on graphene as outstanding non-metal bifunctional oxygen electrocatalyst [J]. *Small*, 2019, 15(16): 1900296.
- [18] DE SOUZA N M P, MACHADO B H, KOCHE A, *et al.* Detection of metabolic syndrome with ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics in blood plasma[J]. *Spectrochim Acta A*, 2023, 288: 122135.
- [19] TRANT H, AU D B, DIAWARA B, *et al.* How the chemical structure of the plasma-deposited SiO_x film modifies its stability and barrier properties: FTIR study[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2019, 137: 105332.
- [20] LI J S, YAO X W, CHEN S K, *et al.* Investigation on the co-pyrolysis of agricultural waste and high-density polyethylene using TG-FTIR and artificial neural network modelling[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2022, 160: 341-353.
- [21] ZHAO N, SONG J Q, ZHAO L S. Metallic deep eutectic solvents-assisted synthesis of Cu, Cl-doped carbon dots as oxidase-like and peroxidase-like nanozyme for colorimetric assay of hydroquinone and H_2O_2 [J]. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 648: 129390.
- [22] FENG Y Q, LI R X, ZHOU P, *et al.* Non-toxic carbon dots fluorescence sensor based on chitosan for sensitive and selective detection of Cr(VI) in water[J]. *Microchemical Journal*, 2022, 180: 107627.
- [23] HU Y P, GAO Z J, LUO J F. Fluorescence detection of malachite green in fish tissue using red emissive Se,N,Cl-doped carbon dots[J]. *Food Chem*, 2021, 335: 127677.
- [24] LEI M X, XIE Y T, CHEN L, *et al.* Surface state modulation of blue-emitting carbon dots with high quantum yield and high product yield[J]. *RSC Adv*, 2022, 12(42): 27431-27441.
- [25] ZHANG Y Q, FANG J, YE S Y, *et al.* A hydrogen sulphide-responsive and depleting nanoplatfor for cancer photodynamic therapy[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1685.
- [26] ARIPOMMAMMAL S, VELVIZHI R. Structural, spectroscopic, and magnetic studies on copper tartrate crystals[J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section A-A Journal of Physical Sciences*, 2019, 74(9): 813-819.
- [27] CHIEN H W, CHEN X E. Spent coffee grounds as potential green photothermal materials for biofilm elimination[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(1): 107131.