

具有抗氧化和促氧化活性的碳点制备及其在草莓保鲜中的应用

陈嘉俊, 张学杰, 张浩然, 雷炳富*, 李 唯*

(华南农业大学 材料与化学工程学院, 广东 广州 510642)

摘要: 草莓是在全球广泛种植的水果,具有较高的营养价值和经济效益。然而,草莓含水量高且新陈代谢旺盛,因此保质期极短。本研究通过一步水热法合成了一种兼具抗氧化与促氧化特性的双功能柠檬酸铵-尿素基碳点(AU-CDs)。在黑暗或弱光条件下(光强 $< 0.1 \text{ mW/cm}^2$), AU-CDs 表现类超氧化物歧化酶(SOD-like)和类过氧化氢酶(CAT-like)活性,可有效清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)、过氧化氢(H_2O_2)和过氧亚硝基阴离子(ONOO^-);在较强光照下(光强 $\geq 0.1 \text{ mW/cm}^2$), AU-CDs 表现出优异的促氧化性能,可光诱导生成 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2 。表面结构修饰分析表明, AU-CDs 的抗氧化能力主要来源于其氮掺杂的石墨碳核与表面丰富的羟基(-OH)、羰基(-C=O)、羧基(-COOH)和氨基(-NH₂)官能团;能级结构计算分析显示, AU-CDs 的促氧化活性源于光生空穴-电子对的高效分离。草莓保鲜实验表明, AU-CDs 可有效延缓采后草莓的失重与霉变,并对常见腐败病原菌灰霉菌具有显著抑制作用。该研究为草莓及其他易腐水果的绿色保鲜提供了新途径,有助于减少对传统化学防腐剂的依赖。

关键词: 碳点; 抗氧化; 促氧化; 草莓保鲜

中图分类号:

DOI: 10. 37188/CJL. 20260069

文献标识码:

CSTR: 32170. 14. CJL. 20260069

Preparation of Carbon Dots with Antioxidant and Prooxidant Activities for Strawberry Preservation

CHEN Jiajun, ZHANG Xuejie, ZHANG Haoran, LEI Bingfu*, LI Wei*

(College of Materials and Chemical Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

* Corresponding Authors, E-mail: tleibf@scau.edu.cn; liwei@scau.edu.cn

Abstract: Strawberries are fruits which widely cultivated worldwide, possessing high nutritional value and economic benefits. However, their high water content and vigorous metabolic activity result in an extremely short postharvest shelf life. In this study, a kind of dual-functional ammonium citrate-urea-based carbon dots (AU-CDs), possessing both antioxidant and pro-oxidant properties, was synthesized via a one-step hydrothermal method. Under dark or low-light conditions (light intensity $< 0.1 \text{ mW/cm}^2$), AU-CDs exhibit superoxide dismutase (SOD)-like and catalase (CAT)-like activities, effectively scavenging hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$), superoxide anions ($\cdot\text{O}_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), and peroxy nitrite anions (ONOO^-). Under relatively high light intensity ($\geq 0.1 \text{ mW/cm}^2$), AU-CDs demonstrate excellent photocatalytic performance, generating $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$, and H_2O_2 through photo-induction. Surface structure modification analysis indicates that the antioxidant capacity of AU-CDs primarily originates from their nitrogen-doped graphitic carbon core and abundant surface functional groups, including hydroxyl (-OH), carbonyl (-C=O), carboxyl (-COOH), and amino (-NH₂) groups. Furthermore, energy level structure calculations reveal that the pro-oxidant activity of AU-CDs is attributable to the

收稿日期: XXXX-XX-XX; 修订日期: XXXX-XX-XX

基金项目: 国家自然科学基金(52572165); 广东省自然科学基金(2026A1515010828) 资助项目

Supported by National Natural Science Foundation of China(52572165); Natural Science Special Project of Guangdong Province(2026A1515010828)

efficient separation of photogenerated electron-hole pairs. Strawberry preservation experiments demonstrate that AU-CDs effectively delay postharvest weight loss and mold spoilage in strawberries, and significantly inhibit *Botrytis cinerea*, a common pathogenic fungus responsible for fruit decay. This study provides a novel approach for the green preservation of strawberries and other perishable fruits, contributing to a reduced reliance on conventional chemical preservatives.

Keywords: carbon dots; antioxidant; prooxidant; strawberry preservation

1 引 言

采摘后的水果果实持续进行水分蒸发与呼吸作用等生理活动,使其对环境中的非生物胁迫(如高温、干旱)和生物胁迫(如微生物侵染)高度敏感,易发生腐败变质的情况^[1]。数据显示,我国水果采后损耗率高达10%~30%^[2]。高损耗主要归因于水果的高含水量,以及在贮藏运输过程中微生物不可控繁殖与氧化反应的共同作用^[3]。草莓含水量高且新陈代谢旺盛,相较于其他水果更易腐烂,因此保质期短、销售范围受限,市场价格常年居高^[4]。有效保护运输中的草莓并延长其保鲜期,已成为水果采后保鲜领域的重要研究课题。目前常用的水果保鲜技术主要包括温度控制、气调、超高压等物理方法,以及施用防腐剂、抗氧化剂等化学方法。然而,物理方法常面临设备复杂、操作要求高、成本投入大等问题;化学方法则存在农药残留、致畸性及慢性食物中毒等安全风险^[5]。近年来,基于纳米材料的涂层保鲜技术因其安全、有效且能较好保持果实品质而受到广泛关注。

碳点(CDs)作为新型的碳纳米材料,表面富含功能基团和未配对电子,这赋予其模拟天然酶(如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等)活性来清除自由基的能力,并且表现出比天然酶更广泛的活性氧(ROS)清除能力、更高的抗氧化效率以及更低的制备成本。此外,CDs纳米酶在恶劣环境下仍保持较高的物理化学稳定性和更强的耐久性^[6]。因此,CDs纳米酶在调控ROS生成、缓解氧化应激方面显示出显著潜力,已在水果保鲜等领域取得良好应用效果^[7]。与此同时,CDs能够模拟天然酶(如POD、氧化酶(OXD))以高效产生ROS。此外,CDs具有可调带隙及可作为电子供体或受体的特性,在适当的光照激发下可实现光生载流子的有效分离,并通过表面官能团(如-OH、-NH₂和

-COOH等)或掺杂杂原子(如氮、硫、磷等)调控其能带结构与电荷转移路径^[8],进而有效驱动·OH和·O₂等多种ROS的产生。ROS能够氧化和破坏细菌细胞膜和生物分子,从而有效地使细菌失活^[9]。基于这一促氧化性能,CDs已在抗菌方面获得成功应用^[5]。

然而,目前兼具抗氧化与促氧化协同功能的CDs报道仍然有限。Shi等^[10]制备的镁掺杂CDs在黑暗中具有类SOD活性并可清除¹O₂与·OH,在光照下可将氧气转化为·O₂⁻和¹O₂;Zhao等^[11]开发的金/氮掺杂CDs在黑暗下表现出类OXD活性,光照下则可生成·OH、·O₂⁻和¹O₂。Ri-ahi等^[12]制备的壳聚糖基碳量子点在黑暗下能够清除ABTS和DPPH自由基,而在可见光照射下生成·OH和·O₂⁻。尽管如此,上述CDs存在可能释放不稳定的金属离子影响生物体活性、合成步骤繁琐或制备周期较长等问题,限制了其实际应用。

为解决上述问题,本研究以柠檬酸铵和尿素为原料,采用简单的一步水热法成功制备光强依赖抗氧化/促氧化活性的AU-CDs。AU-CDs不仅表现出显著的类SOD、CAT活性,具有优异的自由基清除能力;还表现出优异的促氧化性能,可高效产生·O₂⁻、·OH和H₂O₂。值得注意的是,AU-CDs具有简单的抗氧化/促氧化特性,实现了暗态ROS清除与光照下ROS生成之间的条件可控切换(图1)。实验证实,AU-CDs具有良好的生物相容性,并且在草莓保鲜实验中效果明显。此外,AU-CDs对引起草莓腐败的灰霉菌有优异的抑制作用。本研究具备制备周期短、合成步骤简便的显著优势;材料对生物体活性无明显影响,并具备适应环境光强的智能特性。该特性为材料实现采后保鲜提供了一种新策略,具有重要的实际应用价值,有望推动相关水果保鲜技术的发展。

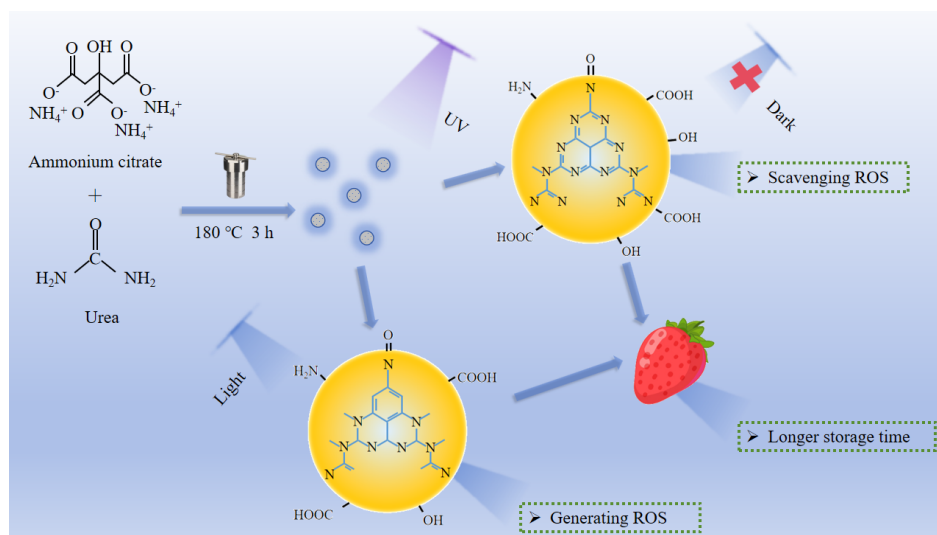


图1 AU-CDs的合成方法及其在草莓保鲜中的应用示意图

Fig.1 Schematic diagram illustrating the process for the synthesis of AU-CDs and their application in strawberry preservation

2 实验

2.1 试剂和仪器

本实验所使用的柠檬酸铵、尿素、2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸钠均购自上海麦克林生化科技有限公司(中国上海),商用SOD(纯度:2500-7000 u/mg)购自上海源叶生物科技有限公司,盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、1-萘胺、9,10-蒽二基-双(亚甲基)二甲酸均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司(中国上海),高锰酸钾购自广州市化学试剂厂。所有化学试剂使用前未做进一步纯化操作。

所制备的碳点利用傅里叶变换红外光谱(FT-IR)(型号:Nicolet Avatar 360)、X射线光电子能谱(XPS)(型号:Thermo Scientific K-Alpha)、多功能电化学工作站(型号:Solartron Modulab XM)、荧光光谱仪(型号:Hitachi F-7000)、紫外分光光度计(型号:Hitachi UV-2550)、稳态/瞬态荧光光谱仪(型号:EDINBURGH INSTRUMENTS FLS920)对其形貌、成分、光学性质及光电性质进行表征。光源由氙灯(型号:PLS-SXE300+)提供。自由基测试在电子顺磁共振波谱仪(EPR)(型号:Bruker EMXplus-6/1)上进行。

2.2 碳点的制备

在Zhao等^[13]的方法上稍作修改,具体是将柠檬酸铵(0.0785 g)与尿素(1.44 g)溶于20 mL去离子水中,经超声辅助搅拌至完全溶解。随后,将混合溶液转移至100 mL聚四氟乙烯内衬的高压反应釜中,于180 °C条件下反应3 h。反应结束后,待体系自然冷却至室温,得到红棕色溶液。使

用0.22 μm滤膜进行抽滤以去除大颗粒杂质,随后将滤液加入至50 mL去离子水中进行稀释,经冷冻干燥处理后获得AU-CDs。

2.3 AU-CDs的自由基清除能力测试

(1) AU-CDs对高锰酸钾(KMnO₄)降解率测试:向EP管中分别加入100 μL 400 μM的KMnO₄溶液和100 μL AU-CDs(终浓度为10、20、40、80、100、120和240 mg/mL),用同等体积的去离子水代替AU-CDs溶液和KMnO₄以设置空白对照组和去除AU-CDs自身光吸收背景的影响。将混合液振荡均匀后,于黑暗中静置30 min,随后测定混合液515 nm处的吸光值(OD₅₁₅)。AU-CDs对KMnO₄的降解率计算公式如下:

$$(A_0 - A_1 + A_2) * 100\% / A_0 \quad (1)$$

其中,A₀、A₁和A₂分别代表对照组、各浓度AU-CDs处理组和纯AU-CDs组的吸光值。

(2) AU-CDs对DPPH的清除能力测试:向96孔板中分别加入100 μL的DPPH乙醇溶液(40 mg/L)和100 μL AU-CDs(终浓度为10、20、40、80、100、120和240 mg/mL),同时,分别用同等体积的去离子水代替AU-CDs溶液和DPPH,以设置空白对照组和去除AU-CDs自身光吸收背景的影响。将混合液振荡均匀后,于黑暗中静置100 min,随后测定混合液517 nm处的吸光值(OD₅₁₇)。AU-CDs对DPPH的降解率按公式(1)计算。

(3) ONOO-清除能力测试:在Li等^[14]的方法上稍作修改。具体为在冰水浴条件下,将10 mL亚硝酸钠(50 mM)和10 mL的过氧化氢(50 mM)加

入烧杯中,高速搅拌 3 min,随后迅速同时加入 5 mL 的盐酸(1 M)和 5 mL 的氢氧化钠(1.5 M),此时溶液呈现浅黄色,继续于冰浴中搅拌约 30 min,即可得到 ONOO⁻溶液。将不同浓度的 AU-CDs 加入到新鲜的 ONOO⁻溶液中,并在反应 1 min 后测量溶液在 302 nm 波长处的吸光值(OD₃₀₂)。用同等体积的去离子水代替 AU-CDs 溶液和 ONOO⁻溶液以设置空白对照组和去除 CDs 自身光吸收背景的影响。AU-CDs 对 ONOO⁻的清除率按公式(1)计算。

2.4 AU-CDs 的促氧化能力测试

(1)·O₂⁻生成能力测试:取 0.5 mL AU-CDs 溶液,加入 0.5 mL PBS 缓冲液(0.05 M, pH=7.8)及 1 mL 盐酸羟胺溶液(10 mM)后摇匀,混匀后于 37 °C 下保温 10 min。以 PBS 缓冲液代替 AU-CDs 溶液作为对照管,反应结束后,向各管中依次加入 1 mL 对氨基苯磺酸(17 mM),1 mL 1-萘胺(7 mM),混合均匀后于 37 °C 下保温 5 min,使用对照管调零,取粉红色溶液测定 540 nm 波长处吸光值(OD₅₄₀)。

(2)·OH 生成能力测试:将 360 μL 2-脱氧核糖溶液(4 mM)、180 μL PBS 缓冲液(1X, pH7.2-7.4)与 180 μL 各浓度(10、20、40、80、100、120 和 240 mg/mL)AU-CDs 混合均匀(对照组以等体积 PBS 缓冲液替代 2-脱氧核糖溶液),于 35 °C 避光反应 1 小时。反应结束后,加入 720 μL 硫代巴比妥酸(TBA)溶液(360 μL 0.8% TBA + 360 μL 20% 醋酸)。充分混匀后,将反应体系置于 95 °C 水浴中保温 10 min 进行显色反应,随后冰浴冷却至 25 °C。取上清液测定 532 nm 波长处吸光值(OD₅₃₂)。实验组净吸光值变化计算公式如下:

$$A = A1 - A2 \quad (2)$$

其中,A、A1 和 A2 分别代表实验组净吸光值、实验组吸光值和对照组吸光值。

(3)¹O₂生成能力测试:将 1.5 mL 9,10-蒽二基-双(亚甲基)二甲酸(ABDA)溶液(0.1 mM)与 1.5 mL 各浓度(0 和 240 mg/mL)AU-CDs 混合均匀(对照组以等体积去离子水替代 ABDA)。随后,将混合溶液置于 100 mW/cm²光照与黑暗交替循环的条件下,使用紫外-可见分光光度计在 400 nm 波长处监测吸光度(OD₄₀₀),持续 30 min。实验组净吸光值变化按公式(2)计算。

(4)ROS 测试:使用 2',7'-二氯二氢荧光素二

乙酸酯(DCFH-DA)探针进行测定。首先将 40 μM DCFH-DA 溶于含有 0.01 M NaOH 的乙醇溶液中,活化 30 min 后得到 DCFH。随后在 DCFH 中加入 NaH₂PO₄以中和过量 NaOH。记录周期性 2 min 光照/熄灭且持续 20 min 后的 AU-CDs 在 525 nm(488 nm 激发)发射峰处的荧光强度。

2.3.5 草莓保鲜实验

实验所使用的红颜草莓购买自当地市场。选取果径为 20±2 mm、果重为 20±2 g、大小均匀且无机械损伤的新鲜草莓。每颗草莓单独置于经灭菌处理的聚丙烯(PP)培养杯中(杯体尺寸:下底直径 44 mm,上口直径 66 mm,高 68 mm)中。配制不同浓度(0、1、5、20 及 40 mg/mL)的 AU-CDs 溶液并分别装入 100 mL 喷雾瓶中,每天对草莓表面进行一圈喷洒以确保表面均匀覆盖 AU-CDs 溶液。保鲜实验在室内可控条件下开展,环境参数设定为:温度 25 °C、相对湿度 60%、持续光照强度 0.05 mW/cm²,光照周期为 24 h。分别于处理第 1 天和第 10 天取样,对草莓进行称重与图像采集,以分析其失重率与腐败情况。

2.3.6 灰霉菌抑制实验

使用无菌打孔器(直径:6 mm)在标准草莓灰霉菌菌饼平板中截取直径为 6 mm 的菌饼,将其接种于含有不同浓度 AU-CDs(0、1、5、20 和 40 mg/mL)的 PDA 平板中央。所有培养皿均以封口膜密封,置于恒温光照培养箱(25±1 °C,相对湿度 85%,光照强度 40 mW/cm²)进行培养。培养七天后,使用游标卡尺(精度 0.02 mm)测量菌落直径,以评估菌丝径向生长情况。

3 结果与讨论

3.1 AU-CDs 的结构与光学表征

如图 2(a)所示,AU-CDs 为均匀单分散,其晶格间距为 0.18 nm,对应于石墨碳(102)面^[13]。由 TEM 图像估计,AU-CDs 的直径主要分布在 2~8 nm 范围内。采用荧光光谱和紫外-可见(UV-vis)吸收光谱对 AU-CDs 的光学性质进行了表征。在最佳激发波长 362 nm 下,AU-CDs 于 437 nm 处呈现蓝色荧光发射峰(图 S1)。随着 100 mW/cm²白光氙灯(320 nm~780 nm)光照时间延长,该荧光发射峰逐渐蓝移且强度下降(图 S2),由于光致发光发射强度和峰位会因 CDs 不同的表面状态以及碳核结构的存在而变化^[15],因此 AU-CDs 可能发生了结构的变化。UV-vis 吸收光谱显示,AU-CDs 在紫

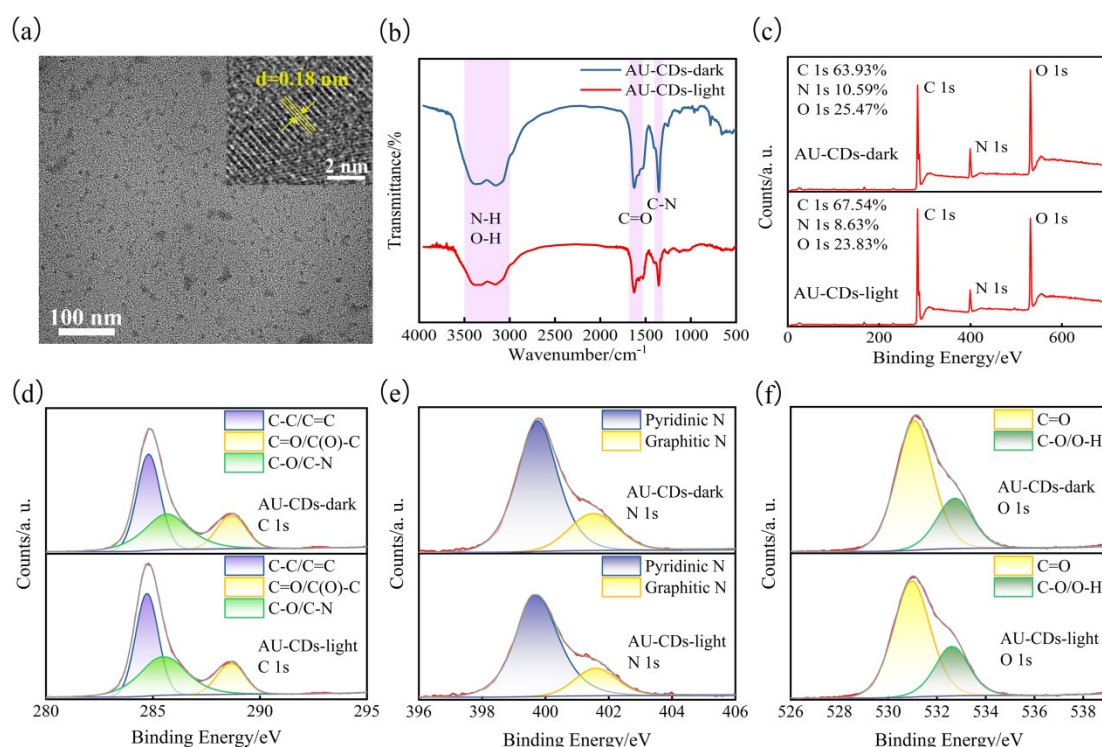


图2 (a) AU-CDs的TEM图像以及放大的HRTEM图像(插图);(b) AU-CDs在黑暗和光照30 min下的FT-IR图; AU-CDs在黑暗和光照30 min下的XPS全谱(c)、高分辨C 1s谱(d)、N 1s谱(e)和O 1s谱(f)

Fig.2 (a) TEM images and magnified HRTEM image (inset) of AU-CDs. (b) FT-IR spectra of AU-CDs in the dark and under illumination for 30 min. (c) Full-range XPS spectra of AU-CDs in the dark and under illumination for 30 min, High-resolution C 1s spectra(d), N 1s spectra(e), O 1s spectra(f)

外区(250~400 nm)具有显著吸收,并在234 nm和340 nm处出现两个明显吸收峰,分别归因于 π - π^* (C=C/C=N)和 n - π^* (C=O/C-O/C-C)跃迁^[13]。随着光照时间延长,270 nm和330 nm处的吸收峰强度逐渐降低,而231 nm处的吸收强度逐渐上升(图S3)。此外,光照后AU-CDs的荧光寿命从8.74 ns缩短至5.42 ns(图S4,表S1),表明在光照过程中其表面官能团或碳核结构可能发生了氧化断裂^[16]。

利用FT-IR光谱(图2(b))对AU-CDs的表面官能团进行分析。黑暗与光照条件下AU-CDs的吸收峰位基本一致:3000~3500 cm^{-1} 处的宽吸收带对应于O-H/N-H键的伸缩振动;1605~1630 cm^{-1} 处的吸收峰归因于C=O键的伸缩振动;1360 cm^{-1} 处的吸收峰反映了C-N键的拉伸振动^[13]。这些结果表明AU-CDs表面富含-OH、-COOH、-C=O和-NH₂官能团,光照后吸收峰强度明显减弱。XPS分析表明AU-CDs由碳(C)、氧(O)和氮(N)组成(图2(c))。光照后,AU-CDs中N和O含量百分比分别从10.59%和25.47%下降至8.63%和23.83%

(表S2),这可能是光照下部分含氧和含氮官能团不稳定,断裂后生成挥发性小分子^[16]。由图2((d)~(f))可知,C 1s高分辨谱在284.8、286.4和288.5 eV处出现三个峰,分别对应于C-C/C=C、C-N和-COOH;N 1s谱在399.7 eV和401.5 eV处的峰可分别归属为吡啶氮和石墨氮;O 1s谱中531.5 eV和533.3 eV处的强峰分别对应C-OH和C=O键^[13]。XPS结果与FT-IR分析一致,表明AU-CDs表面存在丰富的亲水性含氧官能团(如-OH、-COOH),这为其良好的水分散性和与生物体系的相互作用奠定了基础。综上,AU-CDs可推断为由类石墨烯碳核与丰富表面基团组成的结构。

3.2 AU-CDs在黑暗下的抗氧化能力和纳米酶特性

FT-IR和XPS研究表明,AU-CDs表面富含-OH、-COOH等多种功能基团,这些结构特征可能为其提供了显著的电子与氢原子转移能力,进而赋予其显著的自由基清除能力。为系统评估AU-CDs的抗氧化性能,首先采用高锰酸钾(KMnO₄)还原法进行测试^[17]。图3(a)显示,随着AU-CDs浓

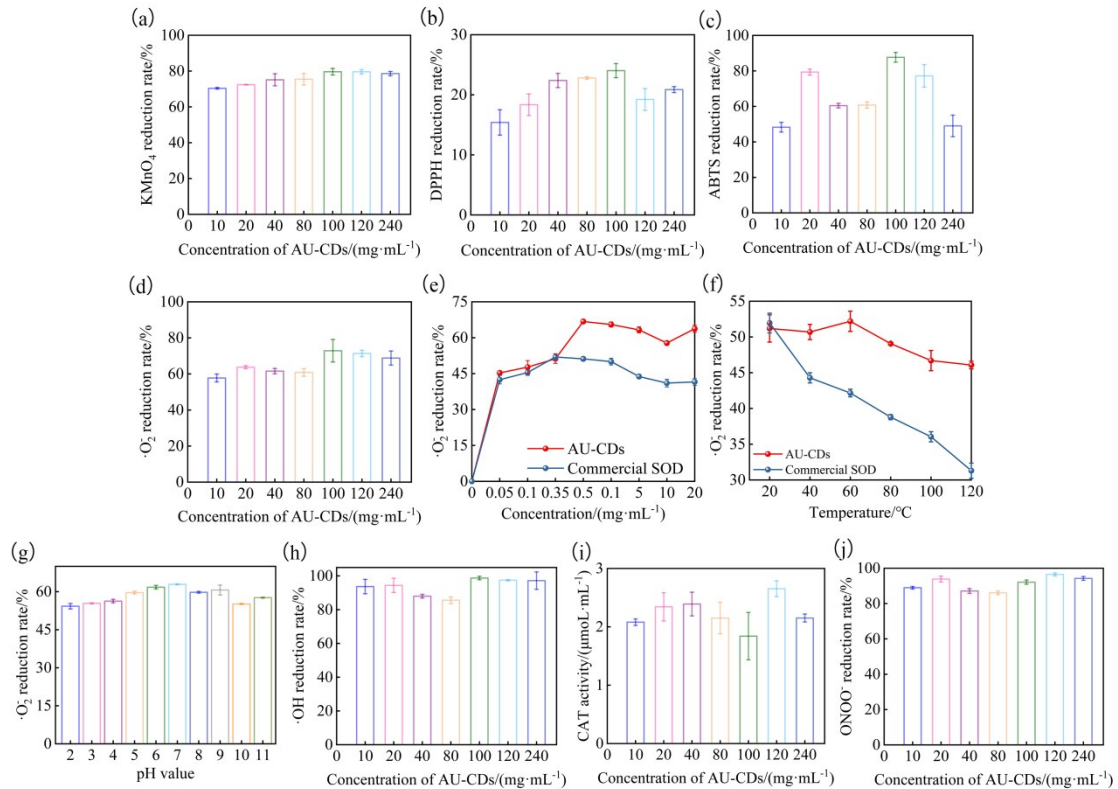


图3 不同浓度(10, 20, 40, 80, 100, 120和240 mg/mL)下 AU-CDs的 KMnO_4 (a)、DPPH(b)、ABTS(c)和 $\cdot\text{O}_2^-$ (d)清除率; ((e)-(g))AU-CDs/商业SOD清除 $\cdot\text{O}_2^-$ 的效率与稳定性比较;各浓度(10, 20, 40, 80, 100, 120和240 mg/mL)下 AU-CDs的 $\cdot\text{OH}$ 清除率(h)、CAT活性(i)和ONOO⁻清除率(j)。数据为三次重复的平均值 \pm 标准误差

Fig.3 Scavenging rates of KMnO_4 (a), DPPH (b), ABTS (c), and (d) $\cdot\text{O}_2^-$ by AU-CDs at different concentrations (10, 20, 40, 80, 100, 120, and 240 mg/mL). ((e) - (g)) Comparison of the efficiency and stability of $\cdot\text{O}_2^-$ scavenging by AU-CDs and commercial SOD, $\cdot\text{OH}$ scavenging rates (h), CAT activity (i) and ONOO⁻ scavenging rates (j) of AU-CDs at various concentrations (10, 20, 40, 80, 100, 120, and 240 mg/mL). Data are presented as the mean \pm standard error of three replicates

度逐渐升高, KMnO_4 的还原率呈现上升趋势,在浓度为100 mg/L时达到峰值(79.65%)。继续提高浓度后,尽管还原率出现小幅下降,但仍维持在75%以上,表明AU-CDs具备持续且稳定的抗氧化能力。

进一步采用1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除实验评估AU-CDs的抗氧化活性。抗氧化剂可通过提供氢原子或电子使DPPH自由基还原为稳定形态,从而导致DPPH溶液颜色逐渐由紫红转为浅黄,其褪色程度可反映材料抗氧化潜力^[18]。如图3(b)所示,DPPH清除率与AU-CDs浓度呈正相关,在100 mg/mL时达到最高值(24.02%)。该清除率相对偏低,可能与DPPH体系主要适用于脂溶性抗氧化剂,而AU-CDs作为水相分散材料存在溶解性限制有关^[19]。为此,选用适用范围更广、对水相体系更为灵敏的

ABTS自由基清除实验进行验证。结果显示,AU-CDs对ABTS⁺的清除作用同样呈现浓度依赖性(图3(c)),在100 mg/mL浓度下清除率达87.68%,显著高于DPPH体系结果,证实AU-CDs具有优异的抗氧化能力。

为全面考察AU-CDs对不同类型ROS的清除效能,本研究进一步选取三种代表性ROS($\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2)进行评价。 $\cdot\text{O}_2^-$ 是生物体内常见且破坏性较强的ROS之一,其强氧化性可对生物体造成严重损伤,但SOD可通过歧化反应将其清除^[17]。如图3(d)所示,AU-CDs对 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除效率随浓度增加而增加,在100 mg/mL时达72.87%。采用商用SOD作为对照进行平行测试发现,在相同的浓度梯度(0.05、0.1、0.35、1、5、10和20 mg/mL)下,除0.35 mg/mL外,AU-CDs的 $\cdot\text{O}_2^-$ 清除能力均优于商用SOD,且AU-CDs的最大清除率约为商用SOD

的1.5倍(图3(e))。稳定性测试表明, AU-CDs在20 °C~120 °C范围内仍保持60%以上的 $\cdot\text{O}_2^-$ 清除能力, 且未出现因热变性导致的活性丧失, 表现出优于商业SOD的热稳定性(商业SOD对超氧阴离子的清除能力随着温度的升高而显著下降)(图3(f))。此外, 在pH为2~11的广泛范围内, AU-CDs仍保持54%以上的 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除效率(图3(g))。这些结果进一步证实了AU-CDs作为普通商业SOD替代品的潜力, 其酶活性和稳定性均表现出显著优势。

$\cdot\text{OH}$ 是氧化活性极强的短寿命自由基, 可诱发脂质过氧化及DNA损伤^[17]。清除实验表明, 不同浓度(10、20、40、80、100、120和240 mg/mL)下的AU-CDs对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率均维持在80%以上, 并在100 mg/mL时清除率高达98.74%(图3(h)), 优于多数文献报道的碳基纳米材料^[20, 21]。

H_2O_2 是 $\cdot\text{O}_2^-$ 经过SOD歧化反应生成的主要稳态产物, 具有强氧化性。过氧化氢酶(CAT)的核心功能是催化 H_2O_2 分解为水。由图3(i)可知, 各浓度(10、20、40、80、100、120和240 mg/mL)下的AU-CDs均表现出显著的类CAT活性。这些结果表明AU-CDs能够通过类CAT活性清除 H_2O_2 。此外, 未检测出AU-CDs具有明显的过氧化物酶样活性, 说明其催化机制具有选择性。除ROS外, 本研究亦考察了AU-CDs对代表性RNS——ONOO \cdot 的清除能力。ONOO \cdot 是一种具有高度反应活性的自由基物质, 在生物体内由一氧化氮(NO)与 $\cdot\text{O}_2^-$ 快速反应生成^[4]。其能与蛋白质、脂质体、核酸等生物大分子反应, 造成细胞损伤。由图3(j)可看出不同浓度的AU-CDs对ONOO \cdot 的清除率均达到85%以上, 这说明AU-CDs对RNS亦具有广泛中和能力。

综上所述, AU-CDs作为一种多功能纳米酶, 能够高效清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 H_2O_2 及ONOO \cdot 等自由基, 并展现出优异的环境稳定性与催化特异性。

3.3 AU-CDs在光照下的促氧化能力

首先, 在固定光照时间(30 min)的条件下, 考察了不同光强对AU-CDs(240 mg/mL)生成 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 H_2O_2 和 $\cdot\text{OH}$ 的影响。如表S3所示, 在黑暗或弱光照(光强 $< 0.1 \text{ mW/cm}^2$)条件下, 均未检测到AU-CDs显著的ROS生成; 当明显光照(光强 $\geq 0.1 \text{ mW/cm}^2$)时, $\cdot\text{O}_2^-$ 、 H_2O_2 和 $\cdot\text{OH}$ 的生成量明显增加, 并随光照强度增强而呈上升趋势。因此, 为使

AU-CDs产生最大化的ROS, 后续实验将光照强度设定为 100 mW/cm^2 。

在 100 mW/cm^2 氙灯光照下, 不同浓度(10、20、40、80、100、120和240 mg/mL)的AU-CDs均表现出明显的 $\cdot\text{O}_2^-$ 生成能力(图4(a)); 当AU-CDs浓度达到20 mg/mL时, 体系中 $\cdot\text{O}_2^-$ 的生成量达到最高值, 为 160.761 nmol/mL 。以上结果初步证实, 在光照条件下AU-CDs能够有效催化分子氧转化为 $\cdot\text{O}_2^-$ 。

其次, 为评估AU-CDs在光照下生成 H_2O_2 的能力, 采用 H_2O_2 含量检测试剂盒对其产率进行了定量分析。结果如图4(b)所示, H_2O_2 生成量随AU-CDs浓度的增加而升高, 两者呈正相关关系。当AU-CDs浓度为240 mg/mL时, H_2O_2 生成量达到 $0.66 \mu\text{mol/mL}$ 。此外, 为探究 $\cdot\text{OH}$ 的生成情况, 本研究采用基于2-脱氧核糖的氧化检测方法。该方法通过测定在532 nm处的吸光度以间接评估 $\cdot\text{OH}$ 的生成量。实验数据表明, 随着AU-CDs浓度的增加, 体系在532 nm处的吸光度呈现轻微但持续的上升趋势(图4(c)), 这提示AU-CDs在反应中可能产生了 $\cdot\text{OH}$ 。为获得更直接的证据, 进一步采用电子自旋共振(EPR)光谱技术, 以5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO)作为自由基捕获剂, 对光照条件下AU-CDs是否产生 $\cdot\text{OH}$ 进行了验证。与未光照的对照组相比, 光照5 min和10 min的样品均清晰检测到特征峰强度比为1:2:2:1的DMPO $\cdot\text{OH}$ 加合物信号, 且光照10 min时捕获到的信号强度显著高于光照5 min时的信号(图4(d))。上述结果明确证实了AU-CDs在光照条件下能够生成 H_2O_2 和 $\cdot\text{OH}$ 。

此外, 为评估单线态氧($^1\text{O}_2$)的生成潜力, 本研究使用了 $^1\text{O}_2$ 特异性荧光探针ABDA进行检测。ABDA可与 $^1\text{O}_2$ 发生选择性反应, 生成相应的内过氧化物, 导致其在400 nm波长处的吸收下降^[22]。实验结果显示, 在白光氙灯照射下, 含有AU-CDs的反应体系中ABDA的吸收曲线与空白对照组几乎完全重合, 未出现明显的衰减趋势(图4(e)), 说明AU-CDs无法通过能量转移途径催化氧气生成 $^1\text{O}_2$ 。

基于此, 本研究进一步采用DCFH-DA荧光探针针对AU-CDs在光照下产生的ROS总量进行了动态监测。DCFH-DA本身无荧光, 可在胞内或类似环境中被ROS氧化生成具有强绿色荧光的DCF, 其

荧光强度与 ROS 总水平正相关^[23]。荧光动力学曲线显示,光照启动 1 min 内,AU-CDs 体系的荧光强度即迅速上升,表明 ROS 在短时间内大量生成(图 4(f));随后荧光强度逐渐趋于稳定,并维持在一定平台期,这证明了 AU-CDs 具备持续、稳定产生

ROS 的能力。综上所述,本研究通过多表征共同证实:AU-CDs 在光照条件下能够通过电子转移过程有效催化产生 $\cdot\text{OH}$ 与 $\cdot\text{O}_2^-$,并伴随生成少量 H_2O_2 ;但其无法通过能量转移途径生成 $^1\text{O}_2$ 。这些结果系统阐明了 AU-CDs 在光激发下的 ROS 生成特性。

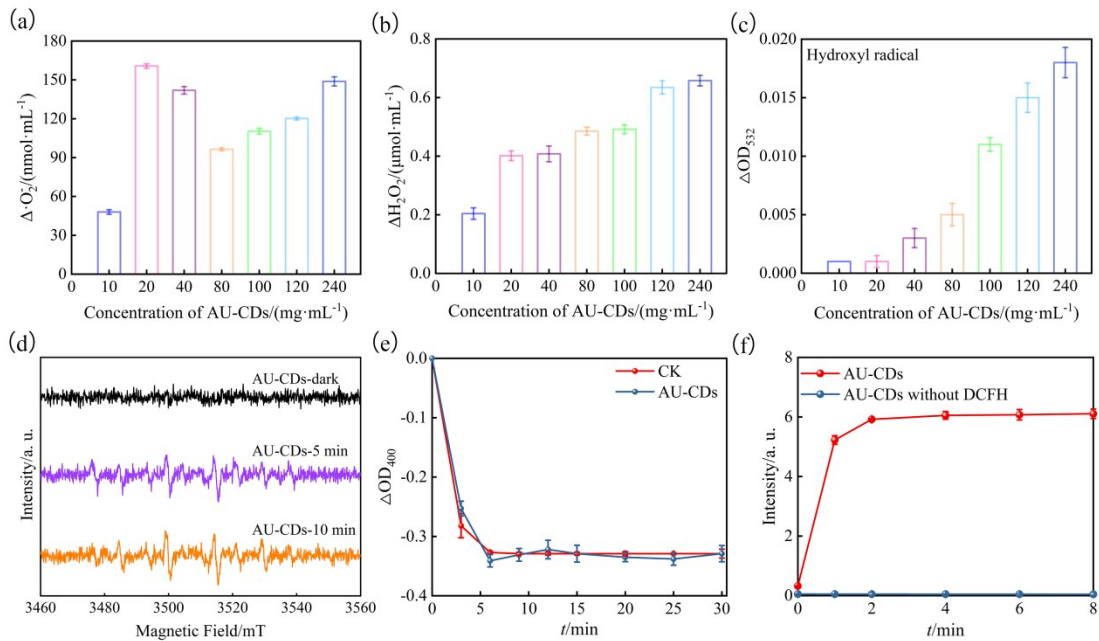


图 4 不同浓度的 AU-CDs 在 $100 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 氙灯光照 30 min 下生成的 $\cdot\text{O}_2^-$ 含量(a); H_2O_2 含量(b)和 $\cdot\text{OH}$ 含量(以 OD_{532} 表示)(c);(d) AU-CDs 在黑暗(0 min)和光照(5, 10 min)下的 EPR 谱图(AU-CDs: 240 mg/mL);(e) 以 ABDA 为荧光探针,检测 30 min 内 240 mg/mL AU-CDs 的 $^1\text{O}_2$ 含量(以 OD_{400} 表示);(f) 以 DCFH 为荧光探针,检测 8 min 内 240 mg/mL AU-CDs 的 ROS 产生;以 525 nm 处的荧光强度表示。数据为三次重复的平均值 \pm 标准误差

Fig.4 The content of $\cdot\text{O}_2^-$ (a), H_2O_2 (b) and $\cdot\text{OH}$ (expressed as OD_{532}) (c) generated by different concentrations of AU-CDs under $100 \text{ mW}/\text{cm}^2$ xenon lamp irradiation for 30 min. (d) EPR spectra of AU-CDs (240 mg/mL) in the dark (0 min) and under light irradiation (5, 10 min). (e) $^1\text{O}_2$ production of 240 mg/mL AU-CDs within 30 min, detected using ABDA as a fluorescence probe (expressed as OD_{400}). (f) ROS generation of 240 mg/mL AU-CDs within 8 min, detected using DCFH as a fluorescence probe and represented by the fluorescence intensity at 525 nm. Data are presented as the mean \pm standard error of three replicates

3.4 AU-CDs 光强依赖抗氧化和促氧化活性的可能催化机制

研究表明, SOD 活性与 CDs 纳米酶表面的功能基团的类型和数量有关^[24]。鉴于所制备的 AU-CDs 具有较高的类 SOD、CAT 活性且表面富含 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 和 $\text{C}=\text{O}$ 官能团, 我们通过多种表面修饰策略(图 5(a)), 系统探究了 AU-CDs 结构特征对其自由基清除能力的影响, 以深入阐明其催化机制。

为明确 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 基团在 AU-CDs 的类 SOD 活性中的作用, 本研究采用 1,3-丙磺酸内酯(PS)对上述官能团进行选择性修饰。PS 可以与 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 基团反应, 分别生成酯、

醚及仲胺结构。FT-IR 光谱(图 5(b))分析表明, PS 修饰后的 AU-CDs(标记为 $\text{AU-CDs}_{(\text{C}=\text{O})}$)中, $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰由 1620 cm^{-1} 位移至 1670 cm^{-1} , 证实酯键形成^[6]。由于酯键在碱性条件下可水解恢复为 $-\text{COOH}$, 而醚键与仲胺结构相对稳定, 因此随后对样品进行碱处理。结果显示, 碱处理后的 AU-CDs(标记为 $\text{AU-CDs}_{(-\text{COOH}/\text{C}=\text{O})}$)的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰恢复至 1620 cm^{-1} , 表明 $-\text{COOH}$ 基团成功恢复(图 5(c))。为进一步探究 $-\text{C}=\text{O}$ 基团的贡献, 我们使用硼氢化钠(NaBH_4)对 AU-CDs 表面的 $\text{C}=\text{O}$ 进行还原处理。FT-IR 光谱(图 5(d))显示, 还原后的样品(标记为 $\text{AU-CDs}_{(-\text{COOH}/-\text{OH}/-\text{NH}_2)}$)在 1620 cm^{-1} 处的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动显著减弱, 同时在 1000 cm^{-1} 附近出

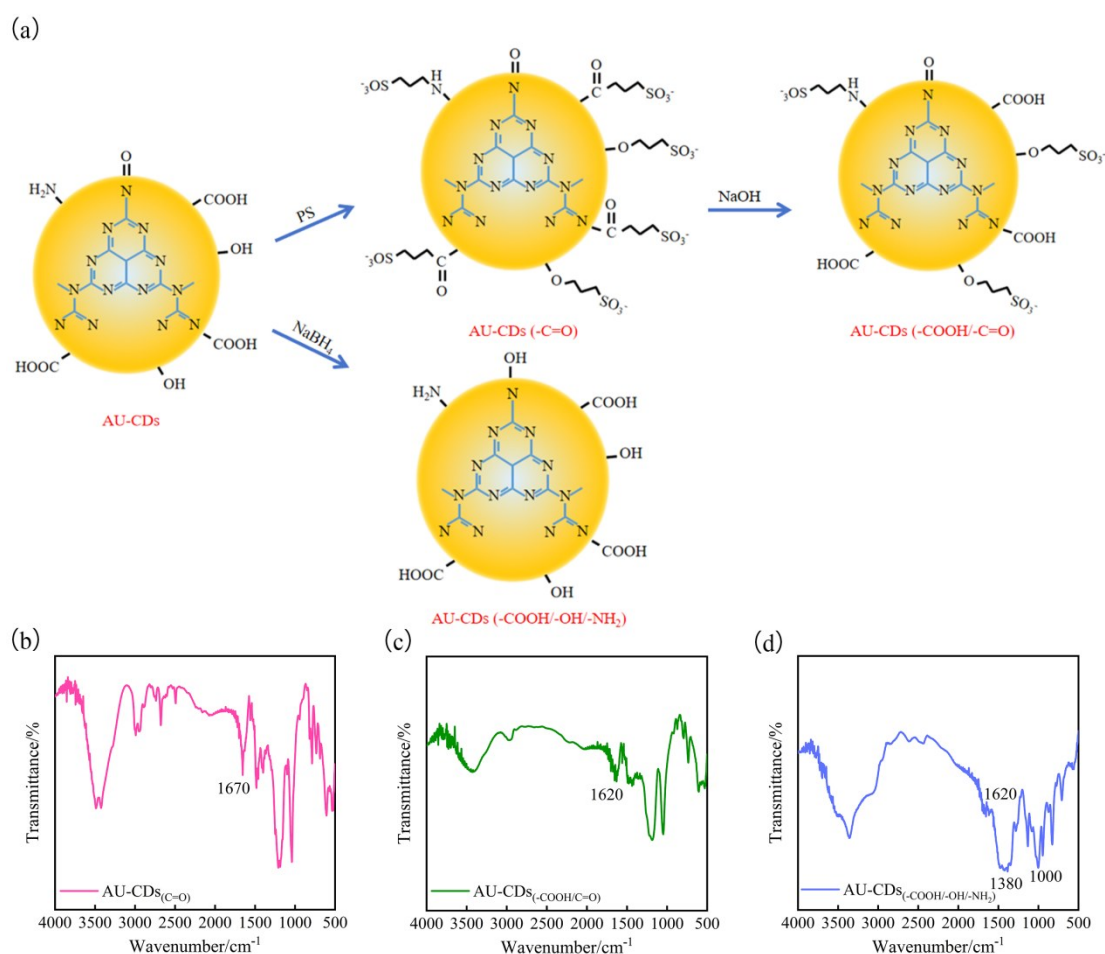


图5 (a) AU-CDs 表面的 -NH_2 、 -COOH 、 -OH 和 -C=O 官能团修饰示意图; $\text{AU-CDs}_{(\text{C=O})}$ 、 $\text{AU-CDs}_{(\text{COOH/C=O})}$ 和 $\text{AU-CDs}_{(\text{COOH/OH/NH}_2)}$ 的 FT-IR 光谱((b)-(d))

Fig.5 (a) Schematic diagram illustrating the modification of -NH_2 , -COOH , -OH , and -C=O functional groups on the surface of AU-CDs, FT-IR spectra of $\text{AU-CDs}_{(\text{C=O})}$, $\text{AU-CDs}_{(\text{COOH/C=O})}$, and $\text{AU-CDs}_{(\text{COOH/OH/NH}_2)}$ ((b)-(d))

现 C-O 特征吸收峰,证明 C=O 基团被有效还原为 -OH ,从而实现对该官能团的选择性钝化。

图 6((a)~(c))显示, $\text{CDs}_{(\text{C=O})}$ 、 $\text{CDs}_{(\text{COOH/C=O})}$ 和 $\text{CDs}_{(\text{COOH/OH/NH}_2)}$ 对 KMnO_4 、DPPH、ABTS、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2$ 和 $\text{ONOO}\cdot$ 的清除能力均受到显著抑制,其中 $\text{CDs}_{(\text{C=O})}$ 的抑制效果最显著。这说明 CDs 表面的 C=O 和 -OH 基团与其纳米酶活性及自由基清除能力密切相关。已有研究指出, -COOH 可通过提供氢原子在自由基清除及抗氧化过程中发挥关键作用,且 -COOH 与自由基之间的相互作用为无能垒过程,因此表现出高的自由基清除活性^[25]。另一研究进一步表明,除 -COOH 通过氢原子转移(HAT)机制发挥作用外, -NH_2 也可通过单电子转移-质子转移(SET-PT)机制参与抗氧化过程^[26]。因此 -COOH 和 -NH_2 很可能也对 AU-CDs 的抗氧化能力具有重要贡献^[17]。

MnO_4^- 得到来自 AU-CDs 的电子后被氧化成无

色的 MnO_4^{2-} ,因此 AU-CDs 表现出高的 KMnO_4 还原率^[27]。需要注意的是,一种自由基的清除可能涉及两种或多种还原途径。例如,ABTS 自由基的还原原则主要基于 SET-PT,同时进行电子转移(ET)和质子转移,或是先进行 ET,而后再质子转移; DPPH 自由基的还原原则主要通过 HAT 途径进行^[28]。AU-CDs 对 ABTS 和 DPPH 的还原能力表明其可通过 HAT 和 SET-PT 两种机制发挥抗氧化作用。对于 $\cdot\text{OH}$,其还原可通过 ET 生成 OH^- ,或通过 HAT 最终生成水,两种途径均能消除其高氧化性^[29]。 $\text{ONOO}\cdot$ 的清除则可能是主要遵循 HAT 途径^[30]。

关于 AU-CDs 的类 CAT 活性,已有研究阐明了其催化机制^[31]。AU-CDs 表面的缺电子活性位点(-COOH)可作为 H_2O_2 的结合位点,而 -OH 基团则作为催化活性位点,二者协同促进 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 。本研究中 AU-CDs 表面富含 -OH 和

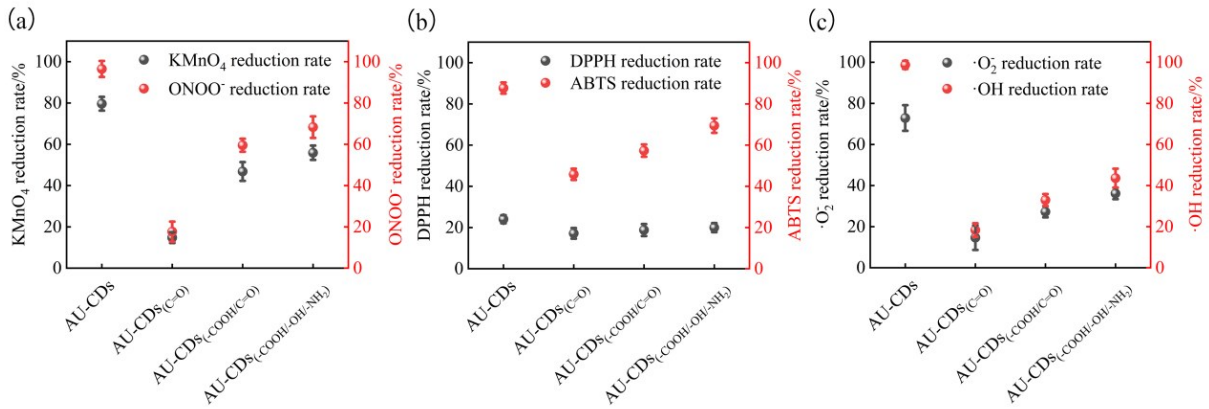


图6 AU-CDs、AU-CDs_(C=O)、AU-CDs_(-COOH/C=O)和AU-CDs_(-COOH/-OH/-NH₂)对KMnO₄和ONOO⁻(a);DPPH和ABTS(b);·O₂和·OH(c)的清除率比较。数据为三次重复的平均值±标准误差

Fig.6 Comparison of the scavenging rates of AU-CDs, AU-CDs_(C=O), AU-CDs_(-COOH/C=O), and AU-CDs_(-COOH/-OH/-NH₂) against KMnO₄ and ONOO⁻(a), DPPH and ABTS(b), ·O₂ and ·OH(c) Data are presented as the mean ± standard error of three replicates

-COOH,这一结构特征显著增强了其类CAT活性。

基于上述实验结果,并参考Chen等^[6]的研究,本研究提出AU-CDs类酶活性的具体可能催化机制:首先,·O₂通过氢键相互作用被有效地固定在AU-CDs表面,主要结合位点为-COOH、-OH和-NH₂基团;随后,由于其独特的缺电子结构,AU-CDs能够有效捕获·O₂的一个电子,使得·O₂被氧化生成O₂,同时AU-CDs自身转变为还原态。AU-CDs具有主要源于氮掺杂的石墨碳核及C=O基团的大的π共轭体系^[28],因此所捕获的电子能够通过p-π共轭作用得以稳定,形成稳定的还原态AU-CDs中间体。此后,另一个·O₂从该中间体接受一个电子,被还原生成H₂O₂,同时AU-CDs恢复至初始氧化态。最后,AU-CDs表面的-COOH基团作为H₂O₂结合位点,与作为催化活性位点的-OH协同作用,催化生成的H₂O₂分解为H₂O和O₂,进而实现AU-CDs的级联催化循环。该机制不仅深入揭示了AU-CDs的类酶催化特性,也为高效碳基纳米酶的设计提供了理论依据。

为阐明AU-CDs产生ROS的机理,我们通过光电流密度曲线、莫特-肖特基(Mott-Schottky)曲线和XPS价带谱(VB-XPS)进行表征,系统探究了AU-CDs的能级结构对其自由基生成能力的影响,从而深入揭示其促氧化机制。在40 mW/cm²的氙灯光照下,AU-CDs表现出显著的光电流响应(图7(a)),证实了高效的光诱导电荷分离过程的发生。一般来说,AU-CDs的导带(CB)位置可通过

Mott-Schottky曲线在500、800和1000 Hz频率下的平带电位(V_{fb})来确定的。图7((b)~(c))显示,光照前后AU-CDs的线性曲线斜率均为正(1/C² vs. potential),表示二者类型均为N型^[32]。通过Mott-Schottky曲线分析可知光照前后AU-CDs的平带电位分别为-0.73 V和-0.50 V(vs. Ag/AgCl)。标准电极电势与标准氢电极(NHE)电势的换算可用以下公式计算^[32]:

$$E(\text{NHE}) = E(\text{Ag/AgCl}) + 0.22 \text{ V}, \quad (3)$$

经计算,光照前后AU-CDs的V_{fb}为-0.51 V和-0.28 V(vs. NHE)。对于N型半导体,CB位置通常较V_{fb}位置负0.1~0.2 V^[33]。我们假设该偏移量为0.20 V,则光照前后AU-CDs的CB位置为-0.71 V和-0.48 V(vs. NHE)。光照后AU-CDs的导带位置低于标准O₂/·O₂⁻氧化还原电位(-0.33 V vs. NHE),表明其能将O₂还原为·O₂⁻。VB-XPS显示,光照前后AU-CDs的价带位置分别为1.86 eV和2.12 eV(图7(d))。价带电势(vs. NHE)可根据以下公式计算^[34]:

$$E(\text{NHE}) = \varphi + E(\text{VB} - \text{XPS}) - 4.44, \quad (4)$$

其中,φ是XPS分析仪器的电子功函数(其值取4.55 eV),为XPS价带谱测得的数据。计算得到光照前后AU-CDs的价带电势分别为1.97和2.23 V(vs. NHE)。光照后AU-CDs的价带位置接近于标准·OH/H₂O氧化还原电位(2.31 V vs. NHE)^[35],这表明AU-CDs的光生空穴具备氧化水分子的热力学驱动力。此外,高效的光生电子-空穴对的分离过程有助于增强光生空穴的氧化能

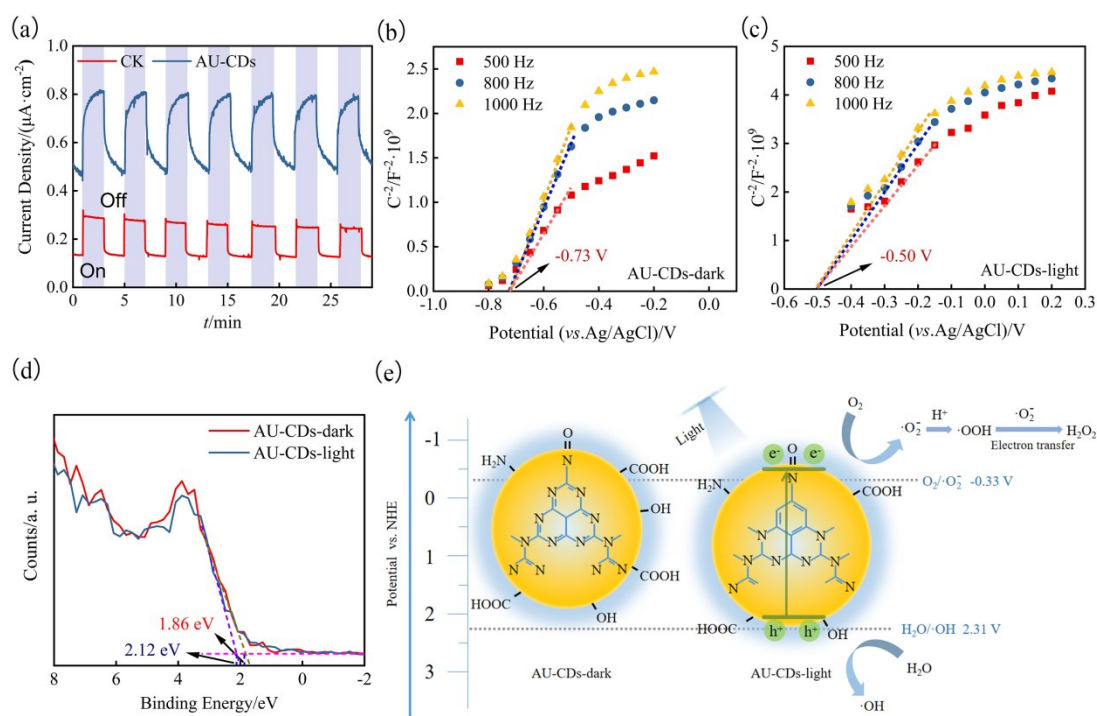


图7 (a)40 mW/cm²氙灯光照下空白碳纸电极在含有不同浓度 AU-CDs(0,240 mg/mL)的PBS缓冲液中,连续光照/熄灭条件下随时间的光电流密度曲线;AU-CDs 黑暗(b)和光照(c)下的 Mott-Schottky 曲线图;(d)AU-CDs 在黑暗和光照下的 VB-XPS;(e)AU-CDs 黑暗和光照下的价带与导带能级以及标准 $\cdot\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{O}_2/\cdot\text{O}_2^-$ 氧化还原电位(V vs. NHE)

Fig.7 (a)Photocurrent density curves over time of a blank carbon paper electrode in PBS buffer containing different concentrations of AU-CDs(0, 240 mg/mL) under intermittent illumination(light on/off cycles) with 40 mW/cm² xenon light. Mott-Schottky plots of AU-CDs in the dark(b) and under illumination(c). (d)VB-XPS of AU-CDs in the dark and under illumination. (e)Valence band and conduction band energy levels of AU-CDs in the dark and under illumination, along with the standard $\cdot\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ and $\text{O}_2/\cdot\text{O}_2^-$ redox potentials(V vs. NHE)

力,使其可与水分子发生反应生成 $\cdot\text{OH}$ (图7(e))。

基于上述结果,AU-CDs的光诱导类氧化还原活性可归因于其激发态下的催化行为。在适当光源激发下,AU-CDs吸收光子能量,其表面基团与共轭结构中的价电子从基态(S0)跃迁至激发态(S1),从而实现光生空穴-电子对的有效分离。随后,多数处于S1态的电子经辐射弛豫返回至S0态并发射荧光;同时,部分S1态电子则可通过系间窜越途径跃迁至能级相近的三重态(T1),形成寿命较长的激发三重态物质。在此基础上,处于T1态 AU-CDs可将电子转移至氧气(O_2)生成 $\cdot\text{O}_2^-$ ^[36],而后发生质子化反应转化为 $\cdot\text{OOH}$,并经过电子转移过程最终生成 H_2O_2 ^[37]。与此同时,具有显著氧化能力的空穴可与水分子发生反应生成 $\cdot\text{OH}$ 。上述两类 ROS 生成路径协同作用,共同构成了 AU-CDs 在光激发条件下的类氧化还原反应机制。

3.5 AU-CDs在草莓保鲜的应用

为确保 AU-CDs 在果蔬应用中的安全性,我

们采用了 CCK8 法对其针对 HeLa 细胞的生物相容性进行了系统测定。如图 S5 所示,在梯度浓度 AU-CDs (0, 0.1, 0.5, 1, 10, 40, 100 和 240 mg/L) 中,细胞存活率保持在 90% 以上的高水平,证明了 AU-CDs 的低毒性和良好生物相容性。

图 8(a)呈现了不同处理组草莓在储藏 1 天和 10 天时的外观形态。储藏 1 天时,所有草莓均保持良好新鲜状态,表面光滑、色泽正常且无可见霉斑。至储藏 10 天时,CK 组(未经过 AU-CDs 处理的草莓组)与 AU-CDs 浓度为 0 mg/mL(即纯水喷洒)的处理组中多数草莓出现明显霉变,表面覆盖大量白色菌丝,果实颜色暗沉,质地软化,表明纯水喷洒对草莓保鲜并无影响。而经 AU-CDs 处理的草莓霉变程度显著减轻,尤其在 20 mg/mL 和 40 mg/mL 处理组中,草莓几乎未见霉变,色泽与质地保持较好,说明 AU-CDs 对草莓具有显著的保鲜效果,且保鲜效果并非源自喷洒形成的薄膜所导致的物理隔离效应。

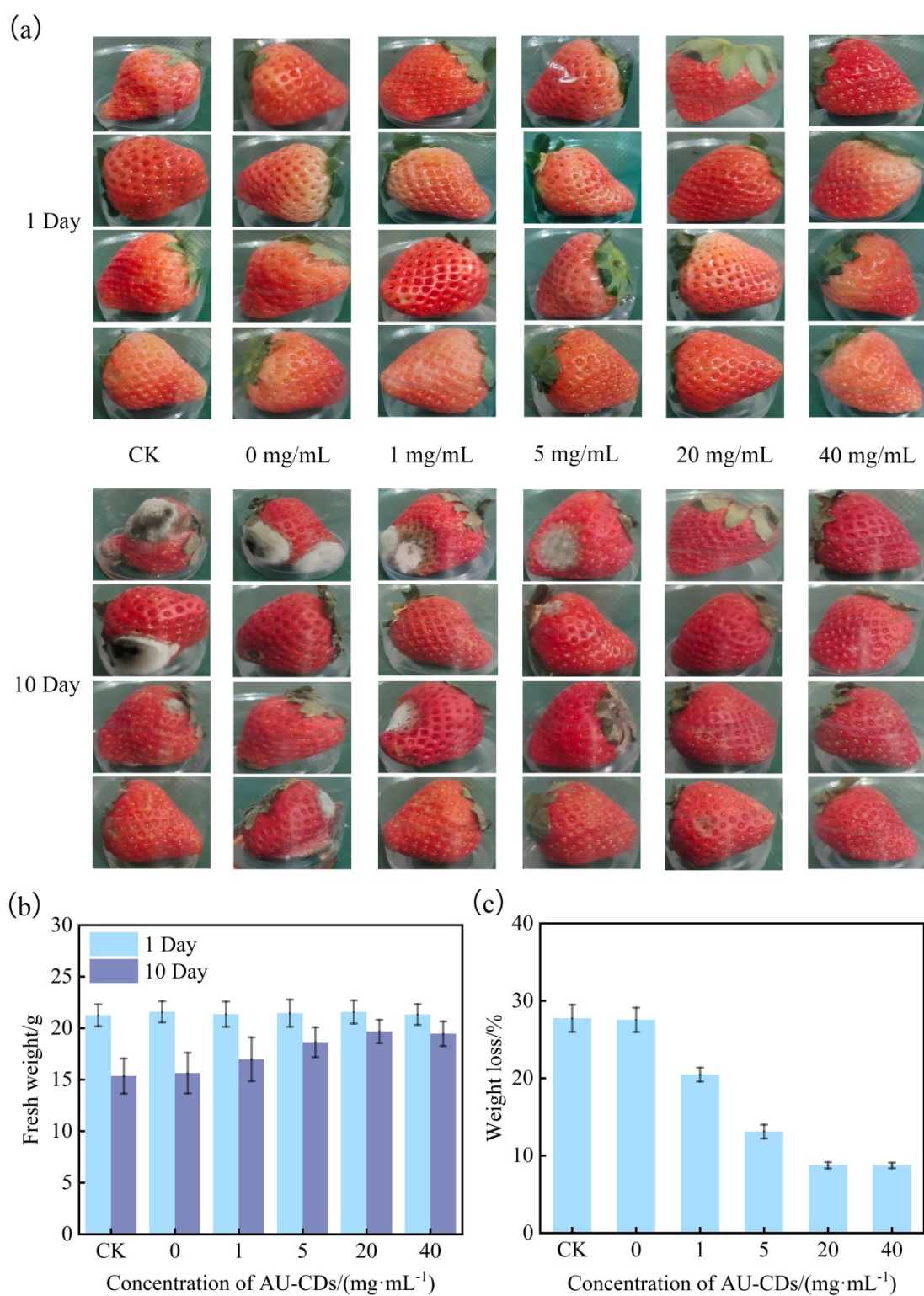


图8 CK组与不同浓度的AU-CDs(0、1、5、20和40 mg/mL)处理的草莓放置第1天和第10天的外观图片(a)、重量的变化(b)和失重率(c)

Fig.8 The appearance images(a), changes in weight(b) and weight loss rate(c) of CK and those treated with different concentrations of AU-CDs(0, 1, 5, 20, and 40 mg/mL) were recorded on days 1 and 10 of storage

草莓在储存过程中由于呼吸作用导致碳损失和水分损失,因此表现出失重的情况^[5]。图8(b)显示了不同浓度AU-CDs处理组(0、1、5、20和40 mg/

mL)的草莓在储藏1天和10天后的鲜重变化。数据显示,随着储藏时间延长,各组草莓鲜重均出现下降,其中CK组与AU-CDs浓度为0 mg/mL时,草莓

鲜重下降幅度最大,表明仅喷洒去离子水并不影响草莓失重。然而,相比之下,添加 AU-CDs 的各处理组草莓鲜重均显著高于 CK 组,说明 AU-CDs 能够有效减缓草莓在储藏过程中的质量损失。可能的原因是 AU-CDs 处理清除了草莓呼吸作用和微生物胁迫产生的过量 ROS 和 RNS,减缓了花青素和黄酮类物质的流失和细胞氧化过程^[38]。图 8(c) 进一步比较了储藏 10 天后各组的失重率。CK 组的失重率最高,达 27.75%;与之相近的是 AU-CDs 浓度为 0 mg/mL 的处理组,失重率为 27.55%。而添加 AU-CDs 的处理组(1、5、20 和 40 mg/mL)的失重率分别降低至 20.47%、13.11%、8.75% 和 6.10%。进一步证实 AU-CDs 具有降低草莓失重率的作用。

综上所述,AU-CDs 可有效延缓草莓储藏期间的鲜重下降,降低失重率,并明显抑制霉变发生,其中 40 mg/mL 处理组的保鲜效果最为突出。这说明 AU-CDs 在草莓采后保鲜中具有良好的应用潜力,可作为天然保鲜策略用于延长草莓等易腐水果的货架期并维持其采后品质。

3.6 AU-CDs 对灰霉菌的抑制作用研究

通过直接接触抑制实验,本研究系统探究了

在 40 mW/cm² 光照下 AU-CDs 对草莓腐败病原菌灰霉菌的浓度依赖性抑菌作用。实验结果显示,菌丝生长受 AU-CDs 浓度影响显著:对照组(浓度为 0 mg/mL)菌落直径最大,菌丝呈典型辐射状扩展;5 mg/mL 处理组菌落直径减小,菌丝边缘出现局部稀疏;而 20 mg/mL 与 40 mg/mL 处理组的菌落扩展抑制率均超过 99%,菌丝分支明显减少(图 8((a)~(b)))。上述实验结果表明 AU-CDs 产生的 ROS 很可能直接干扰菌丝顶端生长,具体作用机制可能是纳米尺寸的 AU-CDs 穿透灰霉菌的细胞壁并生成 ROS,过量 ROS 破坏了灰霉菌的细胞壁和细胞质膜的结构和功能特性,导致内容物泄漏和 DNA 复制中断从而死亡^[12]。上述结果证实光照下 AU-CDs 对灰霉菌具有显著抑菌活性,且抑菌效果随其浓度升高而增强。

结合前期细胞毒性实验结果(在 20 和 40 mg/mL 浓度下细胞存活率 > 90%,见表 S4),AU-CDs 在完全抑制灰霉菌生长的同时表现出较低的细胞毒性,这凸显了其作为一种绿色抑菌剂的应用潜力,尤其适用于草莓等易感灰霉病农产品的采后保鲜领域。

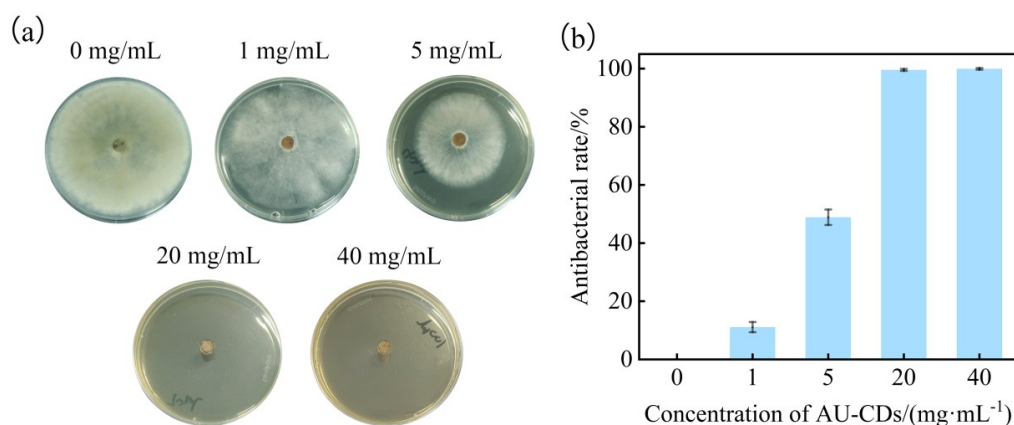


图9 不同浓度的 AU-CDs(0、1、5、20 和 40 mg/mL)处理灰霉菌生长情况图片(a)、抑制灰霉菌生长率(b)

Fig.9 AU-CDs at different concentrations(0, 1, 5, 20, and 40 mg/mL) were used to treat Botrytis cinerea: images of Botrytis cinerea growth(a), inhibition rate of Botrytis cinerea growth(b)

4 结 论

基于草莓易腐败的特性,本研究设计了一种具有光强依赖抗氧化与促氧化活性的 AU-CDs 材料,用于草莓保鲜。FT-IR 和 XPS 分析表明,AU-CDs 表面富含 -OH、-COOH、-C=O 和 -NH₂ 官能团,赋予其优异的抗氧化能力。在黑暗或弱光照条件下(光强 < 0.1 mW/cm²),AU-CDs 表现出类超氧化物歧化酶和类过氧化氢酶活性,能有效清除

O₂⁻、·OH、H₂O₂ 和 ONOO⁻,从而降低草莓储存过程中的 ROS 与 RNS 水平。在光照条件下(光强 ≥ 0.1 mW/cm²),AU-CDs 则表现出显著的光诱导氧化活性,可在激发态通过电子转移与空穴氧化过程催化产生 ROS 物质,如·O₂⁻、·OH 和 H₂O₂。上述特性为 AU-CDs 应用于草莓保鲜提供了理论依据。在草莓保鲜实验中,AU-CDs 能有效降低果实失重率并抑制霉变发生,其中 20 mg/mL 和 40 mg/

mL处理组的保鲜效果最为显著。这表明 AU-CDs 具有作为一种天然保鲜剂的潜力,有望用于延长草莓及其他易腐水果的贮藏期。此外,本研究进一步评估了 AU-CDs 对草莓常见腐败病原菌——灰霉菌的抑制作用。直接接触抑制实验表明,

AU-CDs 对灰霉菌具有明显抑制效果,且该效果随其浓度增加而增强。该结果进一步支持 AU-CDs 可作为绿色抑菌剂,用于草莓等易感染灰霉病农产品的采后保鲜。

参 考 文 献:

- [1] MAGWAZA L S, TEFAY S Z, MDITSHWA A, *et al.* Advancing fruit preservation: ecofriendly treatments for controlling fruit softening[J]. *Horticulturae*, 2024, 10(9): 904 doi: 10.3390/horticulturae10090904
- [2] WANG J J, YUAN Y N, LIU Y, *et al.* Application of chitosan in fruit preservation: A review[J]. *Food Chem. X*, 2024, 23: 101589. doi: 10.1016/j.fochx.2024.101589
- [3] CHANG L Y, XU L J, YANG Z W, *et al.* Antibacterial and antioxidative biogenic films for room-temperature strawberry preservation[J]. *Food Chem.*, 2023, 405(Pt B): 134893. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134893
- [4] HUANG Z Y, WU Z X, LUO Z K, *et al.* Development of temperature-sensitive and controlled-release PLA-based film for strawberry preservation[J]. *Food Packag. Shelf Life*, 2025, 50: 101561. doi: 10.1016/j.fpsl.2025.101561
- [5] GUO B Y, LIU G, YE W H, *et al.* Multifunctional carbon dots reinforced gelatin-based coating film for strawberry preservation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147: 13. doi: 10.1016/j.foodhyd.2023.109327
- [6] CHEN F Q, ZHOU Z Y, YANG N, *et al.* Carbon dots based cascading nanozymes mitigate phytotoxicity in lettuces under imidacloprid stress[J]. *Food Chem.*, 2025, 464: 15. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.141926
- [7] WANG B J, JIA X L, SUN H W, *et al.* Multifunctional carbon dots@PVA films with excellent antibacterial, antioxidant and full-band UV resistance properties for fruit preservation[J]. *Chem. Eng. J.*, 2025, 526: 170852. doi: 10.1016/j.cej.2025.170852
- [8] Kosolapova K D, Koroleva A V, Arefina I A, *et al.* Energy-level engineering of carbon dots through a post-synthetic treatment with acids and amines[J]. *Nanoscale*. 2023, 15(19): 8845-8853. doi: 10.1039/d3nr00377a
- [9] He L, Li Z, Gu M Q, *et al.* Intelligent Carbon Dots with Switchable Photo-Activated Oxidase-Mimicking Activity and pH Responsive Antioxidant Activity Adaptive to the Wound Microenvironment for Selective Antibacterial Therapy [J]. *Adv. Sci.*, 2024, 11(40): 13. doi: 10.1002/advs.202406681
- [10] SHI J Y, ZHANG Y, FANG X Y, *et al.* Photoswitchable Antioxidant and Prooxidant Activities of Mg-Doped Carbon Dot Nanozymes as Antibacterial and Anti-Inflammatory Agents[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2025, 17(18): 26467-26479. doi: 10.1021/acsami.5c05025
- [11] ZHAO J, WANG H H, GENG H Q, *et al.* Au/N-Doped Carbon Dot Nanozymes as Light-Controlled Anti- and Pro-Oxidants[J]. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2021, 4(7): 7253-7263. doi: 10.1021/acsnm.1c01215
- [12] RIAHI Z, RHIM J W, BAGHERI R, *et al.* Carboxymethyl cellulose-based functional film integrated with chitosan-based carbon quantum dots for active food packaging applications[J]. *Prog. Org. Coat.*, 2022, 166: 14. doi: 10.1016/j.porgcoat.2022.106794
- [13] ZHAO P, JIN B, ZHANG Q C, *et al.* Facile synthesis of quantum dots/TiO₂ photocatalyst with superior photocatalytic activity: the effect of carbon nitride quantum dots and N-doped carbon dots[J]. *Res. Chem. Intermed.*, 2021, 47(12): 5229-5247. doi: 10.1007/s11164-021-04595-4
- [14] LI S W, CHEN Z H, WANG M Y, *et al.* Ultrasmall Cu₂O@His Nanozymes with RONS Scavenging Capability for Anti-inflammatory Therapy[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2024, 16(3): 3116-3125. doi: 10.1021/acsami.3c15083
- [15] YANG W, LENG T C, MIAO W C, *et al.* Photo-Switchable Peroxidase/Catalase-Like Activity of Carbon Quantum Dots [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2024, 63(22): 11. doi: 10.1002/anie.202403581
- [16] KOU E F, LI W, LIN J J, *et al.* Self-assembled photosensitive carbon nanocrystals with broad-spectrum antibacterial bioactivity[J]. *J. Mater. Chem. A*, 2023, 11(6): 3060-3069. doi: 10.1039/d2ta08562c
- [17] SHARMA N, SHARMA A, LEE H J. The antioxidant properties of green carbon dots: a review[J]. *Environ. Chem. Lett.*, 2025, 23(4): 1061-1109. doi: 10.1007/s10311-025-01831-w

- [18] XU Y L, LIANG L L, LISAK G. Blue-Emissive Antioxidant Carbon Dots Enhance Drought Resistance of Pea (*Pisum sativum* L.)[J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2024, 16(30): 39090-39103. doi: 10.1021/acsami.4c07607
- [19] TAMMINA S K, RHIM J W. Carboxymethylcellulose/agar-based functional film incorporated with nitrogen-doped polyethylene glycol-derived carbon dots for active packaging applications[J]. *Chemosphere*, 2023, 313: 137627. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.137627
- [20] WANG S Q, CHU K J, ZHOU X P. Multifunctional red-luminescing carbon dots for pH sensing, antibacterial and antioxidant activities[J]. *J. Mol. Struct.*, 2026, 1352: 144504. doi: 10.1016/j.molstruc.2025.144504
- [21] CHEN K, ZHU Y Y, REHMAN M U, *et al.* Selenium-doped carbon quantum dots derived from chestnut shells with high antioxidant activity against cellular oxidative stress[J]. *Inorg. Chem. Commun.*, 2026, 185: 116034. doi: 10.1016/j.inoche.2025.116034
- [22] ENTRADAS T, WALDRON S, VOLK M. The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments[J]. *J. Photochem. Photobiol.*, B, 2020, 204: 11. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2020.111787
- [23] LIANG J R, LI W, CHEN J Y, *et al.* Carbon dots as an electron extractant for enhanced photocatalytic antibacterial activity of covalent organic frameworks[J]. *J. Mater. Chem. A*, 2022, 10(43): 23384-23394. doi: 10.1039/d2ta03978h
- [24] CHEN S H, GUAN S W, TAN J, *et al.* Electron-Deficient Effect Modulates Catalase-Like Activity of Iron-Nitrogen-Carbon Nanozymes for Inflammatory Wound Therapy[J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2024, 34(52): 12. doi: 10.1002/adfm.202411202
- [25] LI Y D, RU Y L, LIAO C F, *et al.* Carboxy-Like Structure Determines Radical Scavenging Activity of Carbon Dots for Rice Resistance to Salt Stress[J]. *Environ Sci-Nano*, 2025, 12: 5074-5087. doi: 10.1039/D5EN00605H
- [26] JI Z W, SHEARDY A, ZENG Z, *et al.* Tuning the Functional Groups on Carbon Nanodots and Antioxidant Studies[J]. *Molecules*, 2019, 24(1): 12. doi: 10.3390/molecules24010152
- [27] SHARMA N, DAS G S, YUN K. Green synthesis of multipurpose carbon quantum dots from red cabbage and estimation of their antioxidant potential and bio-labeling activity[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2020, 104(16): 7187-7200. doi: 10.1007/s00253-020-10726-5
- [28] GONG J W, LIU Q, CAI L L, *et al.* Multimechanism Collaborative Superior Antioxidant CDzymes To Alleviate Salt Stress-Induced Oxidative Damage in Plant Growth[J]. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2023, 11(10): 4237-4247. doi: 10.1021/acssuschemeng.2c07371
- [29] JIANG K Z, WANG J R, YANG W, *et al.* Hydroxyl Radical Scavenging by Aucubin: A Mechanistic Study[J]. *Antioxidants*, 2025, 14(11): 1342. doi: 10.3390/antiox14111342
- [30] JUNG H J, KANG S S, HYUN S K, *et al.* In Vitro Free Radical and ONOO⁻ Scavengers from *Sophora flavescens*[J]. *Arch. Pharmacol Res.*, 2005, 28(5): 534-540. doi: 10.1007/BF02977754
- [31] KONG B, YANG T, CHENG F, *et al.* Carbon dots as nanocatalytic medicine for anti-inflammation therapy[J]. *J. Colloid Interface Sci.*, 2022, 611: 545-553. doi: 10.1016/j.jcis.2021.12.107
- [32] CONG J, DUAN P, ZHONG F L, *et al.* Gas sensing properties of amperometric NH₃ sensors based on Sm₂Zr₂O₇ solid electrolyte and SrM₂O₄ (M = Sm, La, Gd, Y) sensing electrodes[J]. *Sens. Actuators, B*, 2020, 303: 10. doi: 10.1016/j.snb.2019.127220
- [33] LUO Y, LI J, LIU X M, *et al.* Dual Metal-Organic Framework Heterointerface[J]. *ACS Cent. Sci.*, 2019, 5(9): 1591-1601. doi: 10.1021/acscentsci.9b00639
- [34] XIONG J, LI X B, HUANG J T, *et al.* CN/rGO@BPQDs high-low junctions with stretching spatial charge separation ability for photocatalytic degradation and H₂O₂ production[J]. *Appl. Catal., B*, 2020, 266: 13. doi: 10.1016/j.apcatb.2020.118602
- [35] KOPPENOL W H, STANBURY D M, BOUNDS P L. Electrode potentials of partially reduced oxygen species, from dioxygen to water[J]. *Free Radicals Biol. Med.*, 2010, 49(3): 317-322. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.011
- [36] GUO Z L, NIU K K, LV Y G, *et al.* Carbon dot-based type I photosensitizers for photocatalytic oxidation reaction of arylboric acid and N-phenyl tetrahydroisoquinoline [J]. *Mol. Catal.*, 2024, 569: 114625. doi: 10.1016/j.mcat.2024.114625
- [37] AMIRI Z, BAKHSHI A, KHOSROSHAHI M S, *et al.* Carbon quantum dots for hydrogen peroxide production[J]. *Sustainable Mater. Technol.*, 2026, 47: e1852. doi: 10.1016/j.susmat.2026.e01852

- [38] YU T, WANG T, ZHANG R G, *et al.* Development of corn straw lignin-based cling films for enhanced preservation of strawberries[J]. *Food Packag. Shelf Life*, 2025, 49: 101529. doi: 10.1016/j.fpsl.2025.101529



陈嘉俊(1999-),男,广东人,硕士研究生,2022年于广东药科大学获得学士学位,主要从事碳点荧光材料的研究。
E-mail: 935877089@qq.com



李唯(1993-),女,江西人,博士,副教授,2020年于华南农业大学获得博士学位,主要从事无机纳米发光材料的研究。
E-mail: liwei@scau.edu.cn



雷炳富(1977-),男,广东茂名人,博士,教授,2007年于中国科学院长春光学精密机械与物理研究所获得博士学位,主要从事无机非金属材料、有机/无机杂化材料以及稀土功能材料的研究。
E-mail: tleibf@scau.edu.cn