



## 评述

## 碳量子点的生物毒性研究进展

郑广强<sup>1,2†</sup>, 吕小慧<sup>2,3†</sup>, 朱小山<sup>2\*</sup>, 姚琨<sup>1</sup>, 蔡中华<sup>2</sup>

1. 广东工业大学环境科学与工程学院, 广州 510006

2. 清华大学深圳研究生院, 深圳 518055

3. 哈尔滨工业大学深圳研究生院, 深圳 518055

†同等贡献

\*通讯作者, E-mail: zhu.xiaoshan@sz.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2017-03-05; 接受日期: 2017-06-19; 网络版发表日期: 2017-08-29

国家自然科学基金(编号: 41373089, 41573094)和深圳市科技计划基础研究项目(编号: JCYJ20150529164918736, JCYJ20160531195354516)资助

**摘要** 作为一类新型碳纳米材料, 碳量子点(CQDs)以其纳米尺寸效应、高水分散性、高荧光稳定性等优异特性及其低生产成本引起了科学界的广泛关注, 成为国内外化学、材料学及生物学等领域的研究热点. CQDs已被证实生物传感、生物成像、药物载体、光催化等众多研究方向具有优异的应用价值. 但是, 也正是因为CQDs的广阔应用前景, 尤其是在生物、医药及环境等领域的应用, 增强了对其潜在的生物毒性进行研究评估的必要性. 此外, 在生产、使用、废弃和回收过程中, CQDs将不可避免地进入自然环境中, 其高水分散性, 其对自然环境, 尤其是水环境的潜在生态影响需要得到重视. 目前针对CQDs的生物毒性研究主要涉及对细胞、细菌、水生生物(藻类和鱼类)及陆生生物(大鼠、小鼠)等的影响. 明确CQDs的生物毒性及其生态效应, 对于正确理解和评估其环境风险, 合理规划其使用和回收具有重要意义. 本文阐述了这一领域的相关研究成果, 并对其研究前景进行了分析和展望.

**关键词** 碳量子点, 细胞, 藻类, 斑马鱼, 大鼠, 小鼠, 生物毒性

## 1 引言

碳量子点(CQDs)最早发现于2004年, 由Xu等<sup>[1]</sup>采用电弧放电法制备出单层纳米管后, 经进一步分离纯化而得到. CQDs的粒径为纳米级别(通常为1~10 nm), 具有一系列优异的物理及化学性质, 如表面效应、量子尺寸效应、量子隧道效应、良好的水溶性、发光稳定性等. CQDs在生物成像、生物传感、药物载体及光催化等众多领域表现出良好的应用前景, 引起了人们的广泛关注, 使其研究得到了飞速发展<sup>[2-7]</sup>. 然而,

CQDs的广泛应用, 尤其是在生物医药等领域的应用加强了对其毒性进行评估的必要性. 此外, 与其他纳米材料相似, 在生产、贮存、运输、使用、处置及回收的整个周期中, CQDs也将不可避免地泄露到环境中, 造成一定的环境风险. 目前, 国内外已有一些研究关注于CQDs的毒性效应, 其研究对象涉及细胞、细菌、藻类、鱼类和鼠类等, 但得到的结果并不完全一致. 明确CQDs的生物毒性及其生态效应, 对于正确理解和评估其环境风险、合理规划其使用和回收具有重要意义, 故此本文对这一领域的研究进展进行了系

**引用格式:** 郑广强, 吕小慧, 朱小山, 姚琨, 蔡中华. 碳量子点的生物毒性研究进展. 中国科学: 化学, 2017, 47: 1170-1178  
Zheng G, Lv X, Zhu X, Yao K, Cai Z. Research progress in toxicity of carbon quantum dots. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 1170-1178, doi: 10.1360/N032017-00038

统性的论述.

## 2 CQDs的结构、性质及应用

CQDs是由极少数的分子或原子聚集而成的纳米团簇,多数呈现为一种单分散的类球形零维半导体晶体结构.与其他粒径较大、分子量通常达到几十万以上的量子点相比,CQDs粒径一般只有几纳米,分子量也通常在几千到几万之间.如此小的粒径及分子量使得CQDs很容易通过内吞作用进入细胞,是实施荧光标记、生物成像、药物载体等应用的理想材料<sup>[8-12]</sup>.根据前人的实验分析,CQDs主要由C、H、O、N 4种基本元素组成,但由于CQDs的制备方法多样、种类繁多、结构复杂,其化学组成及晶格特性均不尽相同.例如,Liu等<sup>[13]</sup>利用蜡烛灰为碳源所合成的CQDs,其化学组成为36.8% C、5.9% H、44.7% O、9.6% N,且表面富含多种含氧基团(C=O、C-O-C、-OH),C原子主要以sp<sup>2</sup>杂化结构存在;Hu等<sup>[14]</sup>利用激光法一步合成得到CQDs,其环半径平方比值为3:8:11:16:19,表明CQDs中的碳原子结构与金刚石相似,仅表现为sp<sup>3</sup>杂化碳,其衍射环分别对应于金刚石中的{111}、{311}、{400}及{331}晶面.由于含氧官能团的高亲水性,CQDs在水溶液中可以保持良好的分散性,其溶液稳定性可以保持数周甚至数月<sup>[15]</sup>.CQDs的带隙与半导体量子点相似,均在可见光范围内,具有宽而连续的激发光谱,能实现一元激发、多元发射的光致发光特性<sup>[16]</sup>.CQDs独特的能带结构及丰富的含氧官能团使其表现出优良的荧光性能,如发射波长可调、荧光稳定、无光闪烁等特性,从而在生物分子多组分检测、金属离子检测、发光材料以及药物载体等众多领域具有极大应用价值<sup>[2-6]</sup>.此外,由于其优异的上转换荧光及光致电荷转移特性,CQDs在制备高效复合光催化材料方面亦具有很好的应用前景<sup>[17-19]</sup>.然而正是由于以上独特性质及广泛应用,CQDs的生物安全性及环境泄露风险也要引起重视:CQDs的高水分散性大大提高了其与水生生物接触的概率,而极小的粒径使其容易进入生物体内及细胞内部,且其表面官能团的存在为后续各种反应的发生提供了活性位点,加强了CQDs与生物体作用过程中的风险不确定性.此外,与其他纳米材料类似,CQDs的大比表面积及高吸附能力使其易于吸附各类生物大分子、金属离子及有机污染物,从而加大了其单独生物效应及联合生物效应研究的复杂性.

## 3 CQDs的生物毒性

目前对CQDs的生物毒性研究已有所开展,但研究的生物种类仍比较有限.如表1所示,受试生物主要包括某些细胞、细菌以及水生生物斑马鱼和少数藻类、陆生生物大鼠及小鼠;且实验体系较为单一,尚缺乏CQDs进入真实自然环境后的生态毒理学研究.

### 3.1 CQDs对细胞/单细胞生物毒性效应

当前的研究表明,低浓度的CQDs溶液对人类细胞并无显著毒性,在某些情况下甚至可促进细胞生长.但是,当CQDs的浓度提高到一定水平时,其细胞毒性往往显著增长.例如,Ray等<sup>[20]</sup>将CQDs与人肝癌细胞(HepG2)共孵育24 h,通过四噻唑蓝(MTT)检测法与台盼蓝(trypan blue)化验法检测细胞的存活率,发现当CQDs浓度小于0.5 mg/mL时,细胞存活率高于90%;但当CQDs浓度提高到1.0 mg/mL时,细胞的存活率降至75%.Yang等<sup>[21]</sup>将PEG1500N修饰的CQDs与人乳腺癌细胞(MCF-7)共孵育24 h后同样发现,随着CQDs浓度的升高,细胞存活率出现显著下降.在CQDs浓度低于20 μg/mL的实验组中,MCF-7细胞存活率接近100%;但当浓度为200 μg/mL时,细胞存活率仅为40%<sup>[21]</sup>.此外,Arul等<sup>[22]</sup>研究了N掺杂CQDs对两种人细胞(人淋巴细胞L-929及MCF-7)的影响,发现对不同的细胞,CQDs的毒性不同.当浓度为50 μg/mL时,暴露24 h后L-929细胞存活率为90%而MCF-7细胞存活率为81%,表明CQDs对MCF-7具有较高的毒性,这与其在癌细胞中的受体介导靶向扩散机制有关<sup>[22]</sup>.另外,Chang等<sup>[23]</sup>将叶酸复合的Gd-掺杂CQDs与抗肿瘤药物阿霉素共同使用,结果与单独阿霉素(半有效浓度(EC<sub>50</sub>)为5 mg/mL)相比,表现出更高的癌细胞毒性(EC<sub>50</sub>=2.5 mg/mL).该研究结果显示,CQDs与其他生物大分子的联合生物效应值得深入探讨.

除人类细胞外,CQDs与其他哺乳动物细胞的相互作用亦已受到关注.Baker等<sup>[24]</sup>研究了CQDs对小鼠胚胎成纤维细胞的毒性效应.研究结果显示,CQDs在0.667~6.67 mg/mL浓度范围内对小鼠细胞的存活率未表现出负面影响.Xu等<sup>[25]</sup>研究了CQDs与小鼠单核巨噬细胞的相互作用,发现CQDs能够进入其细胞核内部,这可能是CQDs的尺寸(4 nm)小于小鼠细胞核孔径(约10 nm)的原因;即便如此,CQDs的浓度在0.1 mg/mL下,小鼠RAW264.7细胞的存活率仍有85%.

表1 碳量子点的生物效应研究

| 生物模型                                                                                                           | CQDs制备方法<br>及性质                                             | 研究结果                                                                                                                                                            | 文献   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 人类肝癌细胞<br>(HepG2)                                                                                              | 水热法, 平均粒径<br>为4.4 nm                                        | CQDs在高浓度(20 mg/mL)下无明显细胞毒性                                                                                                                                      | [35] |
| 人类肝癌细胞<br>(HepG2)                                                                                              | 燃烧法, 粒径为<br>2~6 nm                                          | CQDs浓度<0.5 mg/mL时, 细胞24 h存活率高于90%; CQDs浓度<br>>0.5 mg/mL时, 细胞存活率下降至75%                                                                                           | [20] |
| 人类乳腺癌细胞<br>(MCF-7)                                                                                             | 激光烧蚀法, 粒径<br>为4~5 nm                                        | CQDs浓度<20 µg/mL时, 细胞24 h存活率接近100%; CQDs浓度<br>>200 µg/mL时, 细胞存活率下降至40%                                                                                           | [21] |
| L-929 (淋巴母细胞)<br>及 MCF-7细胞                                                                                     | 水热法, N掺杂, 平<br>均粒径为2.5 nm                                   | N掺杂CQDs浓度为50 µL/mL时, 24 h后L-929细胞存活率为<br>90%, MCF-7细胞存活率为81%                                                                                                    | [22] |
| 人类癌细胞                                                                                                          | 模板法, PEG1500N、<br>PEI-PEG-PEI或四<br>臂-PEG改性, 粒径<br>为1.5~3 nm | 3种CQDs与癌细胞共孵育24 h后, 其毒性大小顺序为: PEG1500N修饰的<br>CQDs>PEI-PEG-PEI修饰的CQDs>四臂-PEG修饰的CQDs                                                                              | [36] |
| HeLa癌细胞                                                                                                        | 微波法, 叶酸复合<br>及Gd掺杂, 平均粒<br>径为4.0±0.7 nm                     | 叶酸复合的Gd-掺杂CQDs结合阿霉素后表现出比单独的阿霉素<br>(EC <sub>50</sub> =5 mg/mL)更高的癌细胞毒性(EC <sub>50</sub> =2.5 mg/mL)                                                              | [23] |
| 小鼠胚胎成纤维细胞                                                                                                      | 水热法, 粒径为<br>1~3 nm                                          | CQDs在0.667~6.67 mg/mL浓度范围内对小鼠细胞的存活率未表现出负面影响                                                                                                                     | [24] |
| 小鼠单核巨噬细胞                                                                                                       | 微波法, 粒径为<br>2~5.5 nm                                        | CQDs可以进入小鼠细胞的细胞核, 在0.1 mg/mL浓度下, 小鼠细胞存活率为85%                                                                                                                    | [25] |
| 大肠杆菌<br>( <i>E. coli</i> )                                                                                     | 酸氧化法, 粒径<br>为3~4 nm                                         | CQDs在低浓度(0~5 mg/L)下对大肠杆菌无明显损伤, 甚至表现出生长促进作用, 但<br>当CQDs浓度升高时, 大肠杆菌的生长遭受显著抑制, 其半抑制浓度为18.53 mg/L                                                                   | [26] |
| 酿酒酵母<br>( <i>S. cerevisiae</i> )                                                                               | 水热法, 粒径为<br>4~6 nm                                          | CQDs浓度低于27.5 mmol/L时无生长抑制作用; CQDs浓度高于66.6 mmol/L时抑<br>制率为11.9%, 远低于CdTe量子点的细胞毒性(100.2 µmol/L, 抑制率为61.9%)                                                        | [28] |
| 大肠杆菌( <i>E. coli</i> )、枯草杆菌( <i>B. subtilis</i> )、绿脓杆菌( <i>P. aeruginosa</i> )及金黄色<br>葡萄球菌( <i>S. aureus</i> ) | 碳纳米管氧化法,<br>石墨烯量子点, 平<br>均粒径为3 nm                           | 石墨烯量子点对大肠杆菌和枯草杆菌, 绿脓杆菌及金黄色葡萄球<br>菌的最小抑制浓度分别为256和512 µg/mL                                                                                                       | [27] |
| 铜绿微囊藻<br>( <i>M. aeruginosa</i> )                                                                              | 水热法, PEG2000改<br>性粒径<10 nm                                  | PEG2000-CQDs浓度小于50 mg/L, 轻微生长抑制作用; 浓度增至<br>500 mg/L后, 显著生长抑制作用                                                                                                  | [29] |
| 蛋白核小球藻( <i>C. pyrenoidosa</i> )                                                                                | 水热法, N/S/N、S掺<br>杂, 粒径<10 nm                                | 无掺杂CQDs, N掺杂CQDs及N、S共掺杂CQDs的96 h EC <sub>50</sub> 分<br>别为232.47、185.83和38.56 mg/L                                                                               | [30] |
| 斑马鱼( <i>Danio rerio</i> )<br>胚胎                                                                                | 水热法, 粒径为<br>1~3 nm                                          | CQDs多聚集于头部、卵黄囊、尾巴等部位。注射处理时, CQDs浓<br>度为1.5 mg/mL时, 胚胎存活率超过80%, 浓度为2.5 mg/mL时, 存活率<br>下降至55%; 浸泡处理时, CQDs浓度为1.5 mg/mL时, 胚胎存活率超<br>过80%, 浓度为2.5 mg/mL时, 存活率下降至60% | [31] |
| 斑马鱼( <i>Danio rerio</i> )<br>胚胎                                                                                | 酸解法, 粒径为<br>4~5 nm                                          | CQDs浓度为0.5 mg/mL时, 24-hpf及48-hpf的斑马鱼胚胎暴露48 h后均正常发育                                                                                                              | [32] |
| 雌性DBA/1小鼠                                                                                                      | 激光烧蚀法, 粒<br>径<10 nm                                         | 小鼠经尾静脉注射8或40 mg/kg剂量CQDs, 四周后血清生化指标无异<br>常改变, 且组织器官形态正常, 无明显病理性改变                                                                                               | [21] |
| 雌性BALB/C小鼠                                                                                                     | 酸氧化法, 粒径<br>为2~5 nm                                         | CQDs经静脉注射后主要累积于网状内皮系统——肝脏与脾脏中,<br>在其他的脏器中也有分布, 但可被排出体外, 20 mg/kg注射剂量下,<br>受试小鼠90 d内未表现出明显毒性效应                                                                   | [33] |
| BALB/C小鼠和<br>Wistar大鼠                                                                                          | 硝酸氧化法, 粒径<br>为1~3 nm                                        | 急性实验中, 大、小鼠均未出现明显中毒症状, 而在亚急性毒性实验(14 d)<br>中, 0.2 mg/kg注射剂量下, 雌性小鼠血清中甘油三酯、血清尿素和血糖等<br>水平与对照组相比均有显著降低(P<0.05), 但不存在剂量相关关系                                         | [34] |
| 小鼠                                                                                                             | 酸氧化法, PEG、<br>Pri或PEI改性, 粒<br>径为4~7 nm                      | 呈电中性的CDs-PEG在细胞内没有引起任何异常; 负电性的CDs-Pri可以刺激细<br>胞增殖, 导致氧化应激, 但并未进入细胞核; 正电性的CDs-PEI细胞毒性最高, 不<br>但进入细胞核内, 且浓度在100 mg/mL时能引起G0/G1期间细胞的显著变化                           | [37] |

细菌是一大类原始单细胞生物,也是自然界分布最广、个体数量最多的有机体.刘文娟等<sup>[26]</sup>通过微量热曲线法研究了CQDs对革兰氏阴性大肠杆菌(*Escherichia coli*)生长的影响.结果发现,类似CQDs对哺乳动物细胞的现象:即低浓度CQDs溶液(0~5 mg/L)对大肠杆菌无明显损伤,甚至表现出生长促进作用;但当CQDs浓度升高时,大肠杆菌的生长遭受显著抑制(半抑制浓度为18.53 mg/L).随后,Biswas等<sup>[27]</sup>以石墨烯量子点为研究对象,考察其对多种细菌(包括大肠杆菌、枯草杆菌(*Bacillus Subtilis*)、绿脓杆菌(*pseudomonas aeruginosa*)及金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))的毒性效应,发现QDs在256  $\mu\text{g/mL}$ 以上浓度时对大肠杆菌和枯草杆菌表现出抑制效应,在512  $\mu\text{g/mL}$ 以上浓度时才对绿脓杆菌及金黄色葡萄球菌表现出抑制效应.上述研究结果显示,CQDs的类型以及细菌的种类会影响其毒性表现.此外,黄淮青等<sup>[28]</sup>比较了CQDs与CdTe量子点对单细胞真菌(酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))的毒性.结果显示,一定浓度范围内(<27.5 mmol/L),CQDs的加入并不影响酿酒酵母的生长,其生物相容性较好;即使在高浓度(66.6 mmol/L)下也能保持较低的毒性(抑制率为11.9%),甚至远低于CdTe量子点的细胞毒性(100.2  $\mu\text{mol/L}$ ,抑制率为61.9%).

以上研究表明,CQDs无论对哺乳动物细胞还是单细胞细菌或真菌,均具有较高的生物相容性,只有当其暴露浓度升高到一定程度后才会表现出毒性;毒性的大小除了与CQDs的浓度有关外,还与受试生物的种类有关;但目前尚无关于CQDs细胞毒性机制的报道.有研究以Si-QD和CdSe-QD为对象,发现两种QDs溶液对人宫颈癌细胞系(HeLa)的毒性存在显著差异,相同浓度下Si-QD产生的毒性仅有CdSe-QD的1/10.进一步实验结果表明,Si-QD产生的乳酸脱氢酶(LDH)远少于CdSe-QD,而LDH是细胞膜损伤的一个重要指标,因此研究者指出,纳米材料内在化导致的细胞膜损伤是导致其细胞毒性的一个重要原因<sup>[38]</sup>.此外,随着纳米材料颗粒尺寸的减小,其丰富的表面活性位点在一定条件下可与氧气相互作用形成超氧自由基及其他活性氧(ROS)成分,而ROS及氧化压力的产生被认为是导致细胞毒性的一项重要因素.以上两种致毒机制为目前对于纳米材料生物毒理的普遍解释.Biswas等<sup>[27]</sup>发现CQDs暴露下细菌出现物理损伤以及明显的氧化应激行为,表明未来在考察CQDs的细胞毒性机

制时上述两种致毒机理不可忽略.

### 3.2 CQDs对藻类的毒性效应

藻类是水环境中最重要的初级生产者,对于整个生态系统结构与功能的稳定起着至关重要的作用.目前关于CQDs对藻类的毒性研究较少.Yan等<sup>[29]</sup>以聚乙二醇修饰的CQDs(PEG2000-CQDs)为研究对象,以铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)为生物模型,利用紫外分光光度法研究了铜绿微囊藻暴露于PEG2000-CQDs后的生长状况.从图1可以看出,低浓度(<50 mg/L)的PEG2000-CQDs对绿藻的生长具有轻微抑制作用,但并不显著.当PEG2000-CQDs浓度增至500 mg/L后,铜绿微囊藻的数量显著下降,尤其在48 h后处于锐减状态.当实验时间延长至72 h及更长时,浓度为100 mg/L的CQDs同样显示出显著的生长抑制作用.这些实验结果表明,PEG2000-CQDs在高浓度或低浓度但高暴露时长下对铜绿微囊藻具备显著生物毒性.

Xiao等<sup>[30]</sup>以3种CQDs(N、S共掺杂CQDs,N掺杂CQDs和无掺杂CQDs)及3种金属量子点(CdTe QDs、CdS QDs、CuInS<sub>2</sub>/ZnS QDs)为研究对象,以蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)为生物模型,对不同量子点对蛋白核小球藻平均生长速率的影响进行了评估及比较(图2).实验结果显示,不同CQDs的加入均会引起小球藻平均生长速率下降,且抑制率随量子点浓度的增加而提高,表现出剂量相关性.暴露96 h后,3种CQDs的EC<sub>50</sub>分别为38.56、185.83和232.47 mg/L,毒性顺序为:无掺杂的CQDs<N掺杂CQDs<N、S共掺杂CQDs,这一结果与此前其他研究者关于碳纳米管生物毒性的研究结论相似,说明碳纳米材料的化学组成对其毒

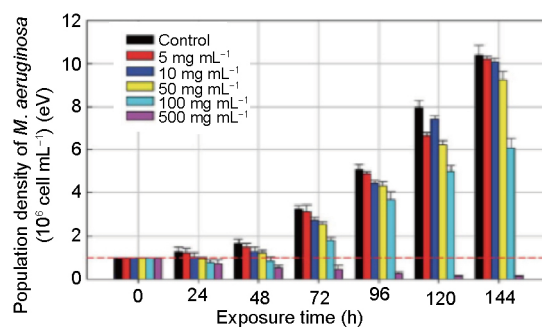


图1 不同PEG2000-CQDs浓度下铜绿微囊藻的生长曲线(网络版彩图)

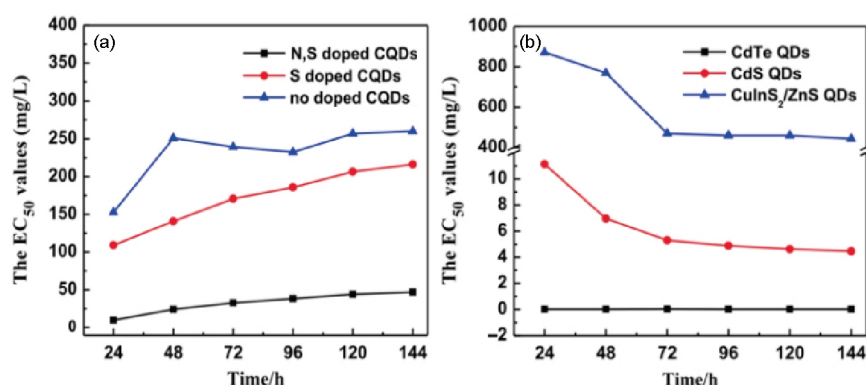


图2 (a) 3种碳量子点对小球藻生长的半有效抑制浓度; (b) 3种金属量子点对小球藻生长的半有效抑制浓度(网络版彩图)

性具有显著影响<sup>[39-41]</sup>。但3种CQDs的EC<sub>50</sub>值均远高于金属量子点(CuInS<sub>2</sub>/ZnS-QDs为0.015 mg/L; CdS-QDs为4.88 mg/L; CdTe-QDs为459.5 mg/L), 说明其毒性较金属量子点低。

CQDs对两种水生藻类的研究表明, 其对水生藻类的毒性较低, 半抑制浓度普遍高于100 mg/L, 但N、S共掺杂后的CQDs对蛋白核小球藻表现出较高的生长抑制效应<sup>[30]</sup>。这表明未来在考察CQDs的水生态风险时, 掺杂处理的CQDs应引起重视。进一步的研究发现, CQDs引起小球藻体内叶绿素及光合作用产物含量降低, 使藻细胞中丙二醛(MDA)含量增加, 还原型谷胱甘肽(GSH)含量下降, 超氧化物歧化酶(SOD)活性升高, 说明光合作用损伤及氧化压力升高可能是CQDs藻毒性的主要机制<sup>[30]</sup>。

### 3.3 CQDs对斑马鱼的毒性效应

目前关于CQDs对鱼类生物效应的研究主要采用斑马鱼(*Danio rerio*)为生物模型。Kang等<sup>[31]</sup>利用荧光显微技术研究发现, 乙二醇功能化的CQDs能够通过浸泡或注射进入并分散于斑马鱼受精卵或幼鱼体内(图3)。实验采用了2种不同的暴露途径: 显微注射和浸泡。结果显示, 对于显微注射实验组, CQDs浓度为1.5 mg/mL时, 受精后24 h (hour post-fertilization, hpf)的胚胎存活率高于80%, CQDs浓度为2.5 mg/mL时, 胚胎存活率则下降至55%; 对于浸泡实验组, 胚胎在低浓度(0.5~1.5 mg/mL)的CQDs溶液中, 24 hpf时存活率均高于80%, 当CQDs浓度增至2.5 mg/mL时其存活率下降至60%。由此可见, 暴露途径对CQDs的生物毒性影响不大, 而暴露浓度与斑马鱼胚胎存活率呈显著负相关关系。此外, 在斑马鱼幼体的荧光成像测试中, 发现

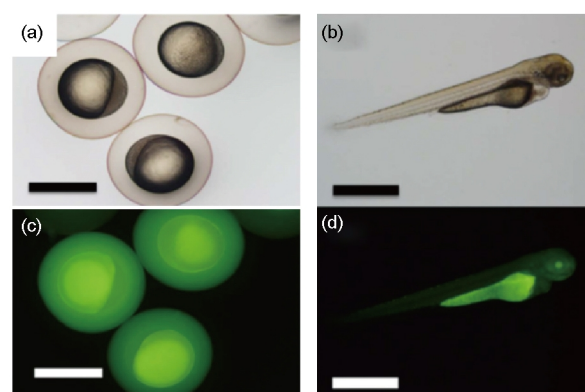


图3 浸泡于CQDs溶液的斑马鱼受精卵(0.5 hpf) (a)和斑马鱼幼鱼(72 hpf) (b)的明场显微镜图片; 浸泡于CQDs溶液的斑马鱼受精卵(0.5 hpf) (c)和斑马鱼幼鱼(72 hpf) (d)的荧光显微镜图片(网络版彩图)

CQDs进入幼鱼体内后, 初期多聚集于头部、卵黄囊及尾巴等部位, 显示出对不同生物组织的亲和性差异。但随着暴露时间延长, 幼鱼体内的CQDs被重新分布直至完全消失。邓帅等<sup>[32]</sup>同样通过荧光测定发现, CQDs可以富集于斑马鱼幼鱼的口、鳃、内脏等部位并进入其细胞质, 但很难进入细胞核, 且随着碳点暴露浓度的增加, 斑马鱼体内的碳点数量也随之增多, 但将受试斑马鱼转移到纯水中48 h后, CQDs也被完全排出体外。邓帅等<sup>[32]</sup>还发现, CQDs (2 mg/mL)对斑马鱼未导致明显的致死、致畸及孵化率下降等生物毒性。Lazim等<sup>[42]</sup>将24-hpf及48-hpf的斑马鱼胚胎暴露于CQDs (0.5 mg/mL)中48 h后也未发现任何生理异常。

当前研究表明, CQDs可以通过浸泡或注射等途径进入斑马鱼体内并在其体内分布、富集, 但将受试鱼类转移到清洁水体后能够较快地被鱼体排出, 并未

表现出显著的毒性效应, 仅在高浓度时(如2.5 mg/mL)才可能导致生物毒害的发生, 表明CQDs具有良好的生物相容性. 尽管如此, 由于仅有斑马鱼得到研究, 受试生物单一, 不能保证所得结果的普遍性, 未来还应继续考察CQDs对多种鱼类以及其他水生生物物种的毒性与生物相容性.

### 3.4 CQDs对大鼠、小鼠的毒性效应

为研究CQDs的生物毒性大小、毒性特征, Tao等<sup>[33]</sup>在利用多壁碳纳米管为原料制备的CQDs(Cdots-M)表面标记<sup>125</sup>I原子, 得到<sup>125</sup>I-Cdots-M. 进而研究了雌性BALB/c小鼠经静脉注射<sup>125</sup>I-Cdots-M后体内的量子点分布及代谢情况. 实验结果显示, <sup>125</sup>I-Cdots-M主要累积于网状内皮系统——肝脏与脾脏中, 在其他的脏器中也有分布. 小鼠在染毒后的不同时期内, <sup>125</sup>I-Cdots-M在脏器中的浓度也有所差异, 染毒5 h后浓度最高, 7 d后浓度普遍降低. 表明小鼠可以通过正常的新陈代谢途径将CQDs排出体外. 在20 mg/kg注射剂量下, 受试小鼠90 d未出现死亡、体重下降、血生化指标异常等毒性表现. 此外, 有研究者报道, 小鼠经静脉注射、皮下注射及或肌肉注射2.5 mg/kg剂量CQDs后, 1 h内CQDs主要聚集于肾脏, 24 h后, 经3种不同暴露途径进入小鼠体内的CQDs均被完全清除<sup>[43]</sup>, 这与Tao等<sup>[33]</sup>的研究结果一致. Mandal等<sup>[44]</sup>采用荧光(FL)成像及光声(PA)成像两种成像方式考察了P、N共掺杂CQDs(P, N-CQDs)经注射(1 mg/mL, 100  $\mu$ L)进入雄性BALB/c小鼠活体后的分布情况. 如图4所示, 注射后P, N-CQDs先均匀分布于小鼠体内, 然后通过血液循环富集在小鼠的肿瘤部位. 这一研究结论说明碳量子点在生物肿瘤成像领域具有优异应用表现.

Wang等<sup>[34]</sup>采用硝酸氧化法制备得到CQDs, 以BALB/C小鼠及Wistar大鼠为生物模型, 通过尾静脉注射对CQDs的急性和亚急性毒性进行了实验. 实验中采用3组CQDs注射剂量: 低剂量组(0.2 mg/kg)、中剂量组(2 mg/kg)和高剂量组(20 mg/kg). 对于BALB/C小鼠, 在急性毒性实验中, 雌性、雄性小鼠生理状态均良好, 行为正常, 与对照组相比未出现明显中毒症状, 表明实验剂量内的CQDs对BALB/C小鼠无明显急性毒性. 在亚急性毒性实验中, 在暴露于CQDs 14 d后, 高剂量组雌性小鼠的血清甘油三酯水平较之对照组有显著升高( $P \leq 0.01$ ), 而低剂量组雌性小鼠的血清尿素和血糖、高剂量组雌性小鼠的白蛋白以及各剂量组雄

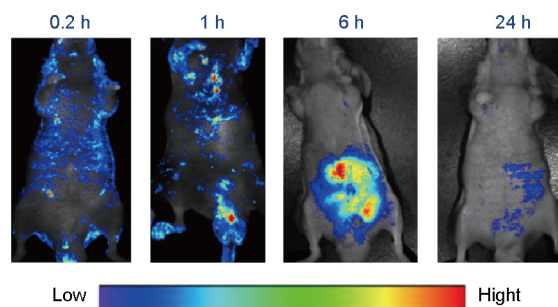


图4 P, N-CQDs经注射进入小鼠体内后不同时间的光声成像图片(网络版彩图)

性小鼠的甘油三酯水平较对照组均出现显著降低( $P \leq 0.05$ ), 但这些改变并不存在剂量相关关系, 且其致毒机理尚不明确, 仍需进一步的研究探索. 对于Wistar大鼠, 亚急性毒性实验中未发现明显中毒症状, 受试动物的体重、食物利用率均无明显变化, 绝大部分血液及血清生化指标参数没有显著性差异, 主要脏器的形态亦未观察到显著病理改变, 表明CQDs在受试剂量内对Wistar大鼠无明显毒性.

现有研究揭示, CQDs无论对大鼠还是小鼠都无明显急性毒性, 仅在长期暴露实验中对部分鼠类体内的代谢水平存在一定影响, 其内在机制目前仍不明确.

### 3.5 影响因素

与其他人工纳米材料相似, CQDs的生物毒性具有多种影响因素. 除不同受试生物的生理特性及培养环境差异之外, CQDs自身的物理化学特性, 包括暴露浓度、粒径大小、表面修饰基团及表面电荷等因素同样对其生物毒性具有显著影响.

#### 3.5.1 CQDs的暴露浓度

当前研究表明, 与其他碳纳米材料(氧化石墨烯、富勒烯、碳纳米管)类似<sup>[45-50]</sup>, CQDs的生物毒性多呈现出浓度依赖的特性, 这一特性表现于利用多种碳源, 包括碳纳米管<sup>[26]</sup>、蜡烛灰<sup>[20]</sup>等制备得到的CQDs以及经过表面改性<sup>[30,36]</sup>或掺杂<sup>[30]</sup>处理的CQDs的毒性研究中, 并几乎覆盖当前报道涉及的每一种生物类型, 包括细菌<sup>[26]</sup>、细胞<sup>[20]</sup>、藻类<sup>[29]</sup>、鱼类<sup>[31]</sup>等. 不同研究均指出, CQDs的毒性与其暴露浓度呈显著正相关关系, 其中对于大肠杆菌, CQDs在较低暴露浓度下即达到显著生长抑制作用, 其半抑制浓度为18.53 mg/L<sup>[26]</sup>. 对于MCF-7细胞, 当PEG1500N修饰的CQDs暴露浓度低

于20 mg/L时, 细胞24 h存活率接近100%; 但当CQDs浓度为200 mg/L时细胞存活率降至40%<sup>[21]</sup>. 其他一些研究也指出, CQDs在较高浓度时才会表现出一定的生物毒性. 例如, 当CQDs浓度小于500 mg/L时, HepG2细胞的24 h存活率高于90%, 但其浓度为1000 mg/L时, 细胞存活率低至75%<sup>[35]</sup>; 乙二醇功能化的CQDs浓度为1500 mg/L时, 24-hpf的斑马鱼胚胎存活率仍高于80%, 其浓度为2500 mg/L时胚胎存活率下降至55%<sup>[31]</sup>. 以上研究结果显示, 碳量子点的生物毒性普遍低于氧化石墨烯、富勒烯、碳纳米管等其他碳纳米材料, 这或与碳量子点的低分子量及小尺寸等材料特质高度相关. 根据经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD): 化学物质和混合物的人体健康和环境危险综合协调分类系统, 结合已有报道中的数据, 可对CQDs的生物毒性进行初步的生态安全评价: CQDs对大肠杆菌具有低毒性<sup>[26]</sup>, 对酵母菌、铜绿微囊藻、蛋白核小球藻、斑马鱼胚胎及幼鱼、大鼠、小鼠等受试生物均基本无毒(表1).

### 3.5.2 CQDs的改性及掺杂

在光催化等实际应用中, 为调控CQDs的物理及化学性质, 提高其量子产率并改善其发光性能, 通常会对CQDs进行表面改性或杂原子掺杂处理. 研究表明, 采用不同修饰剂钝化后所得CQDs的细胞毒性也不尽相同. Li等<sup>[36]</sup>对PEG1500N、PEI-PEG-PEI及四臂-PEG修饰的CQDs分别进行了细胞毒性研究. 结果表明, 在与细胞共孵育24 h后, 3种CQDs的毒性大小顺序为: PEG1500N修饰的CQDs>PEI-PEG-PEI修饰的CQDs>四臂-PEG修饰的CQDs. Xiao等<sup>[30]</sup>研究了3种碳量子点(N、S共掺杂CQDs、N掺杂CQDs、无掺杂CQDs)对蛋白核小球藻的细胞毒性, 结果发现, 其毒性大小顺序为: 无掺杂的CQDs<N掺杂CQDs<N、S共掺杂CQDs. 以上结果表明, CQDs的表面改性或掺杂也是影响其毒性大小的重要因素之一, 这与其他碳纳米材料, 如氧化石墨烯等的相关研究结果相一致<sup>[47,51]</sup>.

### 3.5.3 CQDs的表面电荷

研究发现, 表面携带正电荷的纳米材料的细胞毒性显著大于表面携带负电荷或中性电荷的纳米材料,

且材料表面携带的正电荷越多, 其毒性相对越强<sup>[52]</sup>. Havrdova等<sup>[37]</sup>对不同电性的CQDs对小鼠成纤维细胞的毒性进行了研究比较, 实验中选择3种不同的CQDs: 由于羧基存在而显示负电性的CQDs (CDs-Pri)、经聚乙二醇修饰后显中性价态的CQDs (CDs-PEG)及经PEI修饰后呈正电性的CQDs (CDs-PEI). 研究结果表明, 中电性的CDs-PEG在生物应用上具有最佳表现, 在细胞内没有引起任何异常; 负电性的CDs-Pri可以刺激细胞增殖, 导致氧化应激, 但并未进入细胞核; 正电性的CDs-PEI细胞毒性最高, 不但进入了细胞核内, 且浓度在100 mg/mL时引起了G0/G1期间细胞的显著变化.

## 4 结论及展望

CQDs具有优异的荧光特性及独特的理化性质, 容易进入细胞, 在生物成像、药物载体等众多生物医药领域具有很高的应用价值. 目前关于CQDs生物毒性的研究大多显示CQDs具有很好的生物相容性, 进入生物体后不会引起显著的病理性改变, 且能通过正常的代谢途径排出如斑马鱼、大鼠和小鼠等生物的体外. 与金属量子点相比, CQDs对生物的 $EC_{50}$ 更高, 显示出更好的生物安全性. 然而, 需要注意以下5点. (1) 截至目前, 碳量子点的生物毒性研究仍然十分有限. 已报道的受试生物种类较少, 且研究手段有限. (2) 高浓度下的CQDs还是会对细胞、细菌造成物理损伤、氧化压力, 对藻类造成生长抑制, 对斑马鱼胚胎导致存活率下降或对小鼠的生理活动及生化指标等带来一定的影响, 其内在的作用机制仍不清楚. (3) 在CQDs的实际应用中, 通常会对其进行表面改性或杂原子掺杂处理, 而这却会影响CQDs的生物毒性, 甚至使其毒性剧增. (4) CQDs与现有生物大分子或环境中已存在的污染物的联合效应难以预料. (5) 此外, CQDs具有良好的水分散性, 进入水环境后易随水流发生迁移, 然而目前仍无关于碳量子点进入自然水环境后的环境行为及对水生生物群落影响的报道. 综上所述, 后续研究应围绕(但并不局限于)以上5个方面, 开展大量、全面而深入的研究工作, 准确评估其对不同生态系统类型及不同生物对象的毒性水平, 明确其毒性影响因素及内在机制, 了解其环境行为及生态效应, 进而更为全面地规避其生物与生态风险.

**致谢** 特别感谢南开大学环境科学与工程学院的朱琳教授在本文修改过程中给予的指导.

## 参考文献

- 1 Xu X, Ray R, Gu Y, Ploehn HJ, Gearheart L, Raker K, Scrivens WA. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 12736–12737
- 2 Sun X, Lei Y. *Trends Anal Chem*, 2017, 89: 163–180
- 3 Ostadhossein F, Pan D. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, 9: e1436
- 4 Chiu SH, Gedda G, Girma WM, Chen JK, Ling YC, Ghule AV, Ou KL, Chang JY. *Acta Biomater*, 2016, 46: 151–164
- 5 Li S, Peng Z, Dallman J, Baker J, Othman AM, Blackwelder PL, Leblanc RM. *Colloids Surfs B-BioInterf*, 2016, 145: 251–256
- 6 Zhang JH, Niu A, Li J, Fu JW, Xu Q, Pei DS. *Sci Rep*, 2016, 6: 37860
- 7 胡月芳, 张亮亮, 林丽云, 李雪凤, 赵书林, 梁宏. 中国科学: 化学, 2017, 47: 258–266
- 8 Das P, Bose M, Ganguly S, Mondal S, Das AK, Banerjee S, Das NC. *Nanotechnology*, 2017, 28: 195501
- 9 Kang MS, Singh RK, Kim TH, Kim JH, Patel KD, Kim HW. *Acta Biomater*, 2017, 55: 466–480
- 10 Kim S, Choi Y, Park G, Won C, Park YJ, Lee Y, Kim BS, Min DH. *Nano Res*, 2017, 10: 503–519
- 11 Pan Y, Yang J, Fang Y, Zheng J, Song R, Yi C. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 92–101
- 12 Roy E, Patra S, Madhuri R, Sharma PK. *Chem Eng J*, 2017, 312: 144–157
- 13 Liu H, Ye T, Mao C. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 6473–6475
- 14 Hu SL, Niu KY, Sun J, Yang J, Zhao NQ, Du XW. *J Mater Chem*, 2009, 19: 484–488
- 15 Liu R, Wu D, Liu S, Koynov K, Knoll W, Li Q. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 4598–4601
- 16 Lim SY, Shen W, Gao Z. *Chem Soc Rev*, 2015, 44: 362–381
- 17 Ong WJ, Putri LK, Tan YC, Tan LL, Li N, Ng YH, Wen X, Chai SP. *Nano Res*, 2017, 10: 1673–1696
- 18 Park JH, Raza F, Jeon SJ, Yim DB, Kim HI, Kang TW, Kim JH. *J Mater Chem A*, 2016, 4: 14796–14803
- 19 Yu H, Shi R, Zhao Y, Waterhouse GIN, Wu LZ, Tung CH, Zhang T. *Adv Mater*, 2016, 28: 9454–9477
- 20 Ray SC, Saha A, Jana NR, Sarkar R. *J Phys Chem C*, 2009, 113: 18546–18551
- 21 Yang ST, Wang X, Wang H, Lu F, Luo PG, Cao L, Mezziani MJ, Liu JH, Liu Y, Chen M. *J Phys Chem C*, 2009, 113: 18110–18114
- 22 Arul V, Edison TNJI, Lee YR, Sethuraman MG. *J PhotoChem PhotoBiol B-Biol*, 2017, 168: 142–148
- 23 Yao YY, Gedda G, Girma WM, Yen CL, Ling YC, Chang JY. *ACS Appl Mater Interf*, 2017, 9: 13887–13899
- 24 Laber CH, Essner JB, Scott TA, Polo-Parada L, Baker GA. *Nano-Struct Nano-Objects*, 2016, 6: 52–58
- 25 Xu X, Zhang K, Zhao L, Li C, Bu W, Shen Y, Gu Z, Chang B, Zheng C, Lin C, Sun H, Yang B. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8: 32706–32716
- 26 刘文娟, 靳竞男, 马家恒, 姚俊. 化学与生物工程, 2015, 9: 26–30
- 27 Biswas A, Khandelwal P, Das R, Salunke G, Alam A, Ghorai S, Chattopadhyay S, Poddar P. *J Mater Chem B*, 2017, 5: 785–796
- 28 黄淮青, 曾萍, 韩宝福, 徐淑坤. 无机化学学报, 2012, 28: 13–19
- 29 Yan Z, Chen J, Xiao A, Shu J, Chen J. *RSC Adv*, 2015, 5: 106406–106412
- 30 Xiao A, Wang C, Chen J, Guo R, Yan Z, Chen J. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2016, 133: 211–217
- 31 Kang YF, Li YH, Fang YW, Xu Y, Wei XM, Yin XB. *Sci Rep*, 2015, 5: 11835
- 32 邓帅, 李雨珊, 段延芳, 李丽, 安利民, 郑敏, 李炳生, 吴琼, 孙再成. 发光学报, 2015, 36: 485–490
- 33 Tao H, Yang K, Ma Z, Wan J, Zhang Y, Kang Z, Liu Z. *Small*, 2012, 8: 281–290
- 34 Wang K, Gao Z, Gao G, Wo Y, Wang Y, Shen G, Cui D. *Nanoscale Res Lett*, 2013, 8: 122
- 35 Jiang C, Wu H, Song X, Ma X, Wang J, Tan M. *Talanta*, 2014, 127: 68–74
- 36 Li Q, Ohulchanskyy TY, Liu R, Koynov K, Wu D, Best A, Kumar R, Bonoiu A, Prasad PN. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 12062–12068
- 37 Havrdova M, Hola K, Skopalik J, Tomankova K, Petr M, Cepe K, Polakova K, Tucek J, Bourlinos AB, Zboril R. *Carbon*, 2016, 99: 238–248
- 38 Hanada S, Fujioka K, Hoshino A, Manabe N, Yamamoto K. *Proc SPIE*, 2009, 7189: 99–108
- 39 Pereira MM, Mouton L, Yéprémian C, Couté A, Lo J, Marconcini JM, Ladeira LO, Raposo NRB, Brandão HM, Brayner R. *J Nanobiotechnol*, 2014, 12: 15–27
- 40 Singh S, Vardharajula S, Tiwari P, Erdal Eroğlu P, Komal Vig P, Dennis V, Ali V. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 5361–5374
- 41 Jiang Y, Zhang H, Wang Y, Chen M, Ye S, Hou Z, Ren L. *PLoS One*, 2013, 8: e65756
- 42 Sonthanasamy RSA, Ahmad WYW, Fazry S, Hassan NI, Lazim AM. *Carbohydr Polym*, 2016, 137: 488–496
- 43 Huang X, Zhang F, Zhu L, Choi KY, Guo N, Guo J, Tackett K, Anilkumar P, Liu G, Quan Q, Choi HS, Niu G, Sun YP, Lee S, Chen X. *ACS Nano*, 2013, 7: 5684–5693
- 44 Parvin N, Mandal TK. *Microchim Acta*, 2017, 184: 1117–1125
- 45 Zhang M, Yu Q, Liang C, Liu Z, Zhang B, Li M. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2016, 132: 372–378
- 46 Hu C, Wang Q, Zhao H, Wang L, Guo S, Li X. *Chemosphere*, 2015, 128: 184–190

- 47 Mu L, Gao Y, Hu X. *Biomaterials*, 2015, 52: 301–311
- 48 Zhu S, Zhu B, Huang A, Hu Y, Wang G, Ling F. *J Hazard Mater*, 2016, 318: 650–662
- 49 Zhang L, Lei C, Chen J, Yang K, Zhu L, Lin D. *Carbon*, 2015, 83: 198–207
- 50 El-Nagar DM, Ahmed HM, Aldahmash BA, Ibrahim KE. *Nanosci Nanotechnol Lett*, 2016, 8: 1040–1046
- 51 Wang A, Pu K, Dong B, Liu Y, Zhang L, Zhang Z, Duan W, Zhu Y. *J Appl Toxicol*, 2013, 33: 1156–1164
- 52 Goodman CM, McCusker CD, Yilmaz T, Rotello VM. *Bioconjugate Chem*, 2004, 15: 897–900

## Research progress in toxicity of carbon quantum dots

Guangqiang Zheng<sup>1,2†</sup>, Xiaohui Lv<sup>2,3†</sup>, Xiaoshan Zhu<sup>2\*</sup>, Kun Yao<sup>1</sup>, Zhonghua Cai<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China

<sup>2</sup> Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China

<sup>3</sup> Harbin Institute of Technology Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China

†These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author (email: [zhu.xiaoshan@sz.tsinghua.edu.cn](mailto:zhu.xiaoshan@sz.tsinghua.edu.cn))

**Abstract:** As a new class of carbon nanomaterials, carbon quantum dots (CQDs) appeared to be highly promising in the fields of chemistry, biomedicine and material science due to their nano-specific properties, high dispersability and outstanding fluorescence stability. Various efficient approaches, including arc, pyrolysis, microwave, and template methods, have been developed for the synthesis of CQDs from low cost and abundant sources. Consequently, the applications of CQDs in biosensing, bioimaging, drug targeting, and photocatalysis have been facilitated. During the preparation, utilization, discarding, and recovery processes, CQDs will inevitably be released into the environments, which can enhance the hazards. Given the hydrophilic properties of CQDs, their possible effects on natural environments, especially on aquatic environments and living organisms, are worth being deeply investigated. This review discussed the toxicological bioassays of CQDs on a series of biological models including several cell lines and bacteria, aquatic organisms like algae and fish, as well terrestrial rats and mice in the last decade.

**Keywords:** carbon quantum dot, cell, algae, zebra fish, rat, mice, toxicity

**doi:** [10.1360/N032017-00038](https://doi.org/10.1360/N032017-00038)