

中華民國第 64 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高級中等學校組 化學科

第三名

050213

使用青梅果核廢料環保合成碳量子點探討對抗  
老年人牙周菌機制

學校名稱：臺中市立臺中女子高級中等學校

作者：  高二 呂英綺	指導老師：  蔡旺璋
-------------------	------------------

關鍵詞：碳量子點、自由基抗菌、表面修飾

## 摘要

本研究以生質廢料青梅果核為前驅物，經由環保合成與新型修飾方法製備碳量子點，並探討其抗菌潛力。考慮到安全性，本研究選擇食用酸為修飾材料，發現當青梅果核和蘋果酸 1:1 混合煅燒時，最能有效提升碳量子點產率、螢光強度與抗菌能力。但蘋果酸無法單獨經本實驗方法合成碳量子點，推測青梅果核為主要碳源，蘋果酸則提供表面官能基修飾。在抗菌實驗中，碳量子點對牙周病菌（牙齦卟啉單胞菌、具核酸桿菌）及常見病菌（大腸桿菌、綠膿桿菌）皆有良好抑制效果。經由電子顯微鏡及電子順磁共振儀驗證，本研究合成的碳量子點大小介於 1~10 奈米且能夠產生自由基，具備低風險抗菌潛力。

## 壹、前言

### 一、研究動機

台灣南投縣的梅子夢工廠以青梅相關農特產品吸引大批遊客到此觀光，但每年加工過程都會產生好幾噸的青梅果核。青梅果核質地堅硬無法在自然中迅速腐化，形成巨量的農業廢料。配合聯合國提出的永續發展指南 ESG（Environment, Social, Governance）和企業社會責任 CSR（Corporate Social Responsibility）等永續經營概念，近年梅子夢工廠和華楸生技公司合作研發，將青梅果核製成鈮墨梅應用在紡織原料。因應永續發展目標（Sustainable Development Goals, SDGs）的「13.氣候行動」和「12.責任消費及生產」，我們也想以青梅果核為碳源，開發其應用價值增進人民的「3.健康與福祉」，達到循環經濟。

2023 年的諾貝爾化學獎，Moungi Bawendi、Louis Brus 和 Aleksey Ekimov 因發現和合成量子點而獲獎。量子點在光電子產品、生物醫學和催化劑都有獨特且廣泛的價值。其中碳量子點（Carbon Quantum Dots, CQDs）具有良好的生物相容性、低毒性和卓越的光學性質（Pourmadadi et al., 2023）。CQDs 的性質和應用潛力受前驅物與合成方法影響，結構碳可為晶型或非晶型，修飾後表面可以有豐富的官能基。研究表示 CQDs 可藉由大小優勢穿透細胞膜或光動力療法殺菌，炬鉸生技公司利用多胺類合成 CQDs 製備抗菌眼藥水，對抗有多重抗藥性（Multidrug resistant, MRD）的結膜細菌（Jian et al., 2017）。CQDs 的殺菌機制可避免產生抗生素耐藥性（Antimicrobial resistant, AMR）的問題。

隨著人口老化，台灣有八成老年人罹患牙周疾病，全球總共有三十五億牙周病患者。牙周病是由口腔細菌感染引起，一但破壞到牙周韌帶和齒槽骨便會造成不可恢復的傷害，阻礙病患進食，影響老年人的營養攝取與後續併發症。面對牙周病，最好的解決辦法是平時的預防：抑制口腔壞菌生長。牙周病的主要病原菌有牙齦卟啉單胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）和核酸桿菌（*Fusobacterium nucleatum*），其中牙齦卟啉單胞菌具有多重抗藥性，同時抗生素耐藥性被世界衛生組織列為全球十大公共衛生威脅。不同於傳統抗生素治療，我希望製備天然的口腔抗菌材料。

配合 SDGs 「氣候行動」、「責任消費及生產」、「健康與福祉」等目標，我預期以青梅果核作為碳源，經環保無毒且可大量生產的方式合成新興奈米材料——碳量子點，應用在口腔衛生。

## 二、研究目的

- （一）、開發能將堅硬生質材料轉換成碳量子點的方法，並且有永續、大量製造的潛力。
- （二）、不同於過往使用有毒的金屬離子，選擇食用酸為修飾材料，在不增加合成步驟的情況下，提升碳量子點產率、螢光強度和抗菌能力。
- （三）、檢測碳量子點的抗菌能力，並探討其可能的抗菌機制。

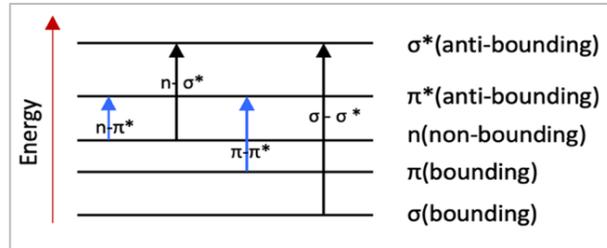
## 三、文獻回顧

- （一）、CQDs 的合成方法 (Jing et al., 2019; Palacio-Vergara et al., 2023; Yang et al., 2023)：

CQDs 的合成方式大致可分為兩類：由上而下（Top-Down）和由下而上（Bottom-Up）。由上而下的方法是指通過物理或化學方法切割出奈米尺度的 CQDs，包括激光銷蝕（Laser Ablatio）、電弧放電（Arc Discharge）、電化學合成（Electrochemical）、超聲法（Ultrasonic-Assisted）。由下而上的方法以碳化有機物或低聚合物合成 CQDs，包括微波法（Microwave）、氧化法（Oxidation）、水熱法（Hydrothermal）。其中超聲法和水熱法設備取得容易，適合處理堅硬農業廢料。近期流行以生質材料為前驅物，用水熱法合成 CQDs，其溫度在 180 度到 300 度之間，時長在 2 小時到 36 小時。但以「質地堅硬」的農廢料合成 CQDs，並且能被應用的案例較少。此外，根據 2023 年諾貝爾化學獎量子點的研究報告，確保製備過程的無毒性及進行表面修飾也是值得探討的層面。

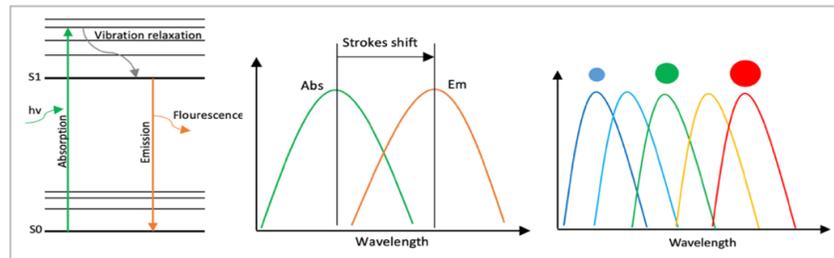
(二)、CQDs 的光學性質：

CQDs 中 C=C 鍵的  $\pi - \pi^*$  躍遷和 C=O 鍵的  $n - \pi^*$  躍遷分別對應在 200nm 附近的強吸收和 200~400nm 的弱吸收，此性質可以由紫外光譜驗證。



圖一、紫外光光譜原理；本圖由第一作者製作。

CQDs 有光致發光 (Photoluminescence, PL) 的特性，電子會吸收短波激發光到從 HOMO 躍遷到 LUMO 軌道，回到低能態時會放出波長較長的螢光。此外，CQDs 有量子限制效應 (Quantum Confinement Effect)：量子點尺寸愈小，能隙愈大，吸收波長愈小。



圖二、螢光光譜原理；本圖由第一作者製作。

(三)、CQDs 的抗菌機制 (Ghirardello et al., 2021)：

1. 光動力殺菌 (Photodynamic Therapy, PDT)：

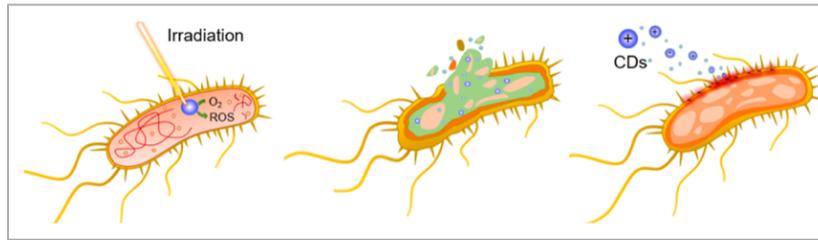
CQDs 照光後產生活性氧化物 (Reactive oxygen species, ROS)，包括氧離子 ( $O_2^-$ )、氫氧自由基 ( $\bullet OH$ )、過氧化氫 ( $H_2O_2$ )、單重態氧 ( $^1O_2$ )、次氯酸 ( $HOCl$ ) 等物質，進行氧化應激、破壞細菌基質的反應。此殺菌機制針對性較低，可避免抗生素抗藥性 (AMR) 的問題。

2. 破壞細胞膜 (Membrane Penetration)：

CQDs 藉由大小優勢 (1~10nm)，能直接穿透或附著細菌的細胞壁及細胞膜。

3. 靜電作用 (Electrostatic Interaction)：

CQDs 表面的官能基，可能帶有電荷，能干擾細菌細胞膜電位平衡，導致其細胞膜破裂而死亡。



圖三、由左到右依序為光動力殺菌、破壞細胞膜、靜電作用；取自參考文獻 (Ghirardello et al., 2021)。

(四)、牙周病主要病原菌 (Mewada et al., 2013)：

1. 牙齦卟啉單胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)

牙齦卟啉單胞菌是牙周病的主要病菌，會引起牙齦纖維細胞 (human gingival fibroblasts) 的免疫反應導致喪失組織，並且誘導細胞自噬。牙齦卟啉單胞菌和食道癌、心血管疾病、阿茲海默都有關聯，且具有藥物外排泵 (efflux pump) 可排出抗生素導致治療上的困難，但碳量子點的光動力抗菌機制，可對抗有多重抗藥性的牙齦卟啉單胞菌 (Bachrach et al., 2008)。抑制牙齦卟啉單胞菌 (*P. gingivalis*)，可以緩解牙周病症狀。

2. 具核酸桿菌 (*Fusobacterium nucleatum*)

具核酸桿菌是另一種常見的牙周病病菌，絲狀的外型使其容易和其他菌種聚集。此陰性菌除了會影起慢性或急性牙周炎，也和結直腸癌有關聯。抑制具核酸桿菌 (*F. nucleatum*)，可確保口腔和腸道的健康。

## 貳、研究設備及材料

### 一、研究設備：

- (一)、高溫鍛燒爐：Thermal Scientific Lindberg/Blue M TF55035A Tube Furnace
- (二)、超音波洗淨機：Ultrasonic Cleaner O-LEO-803
- (三)、離心機

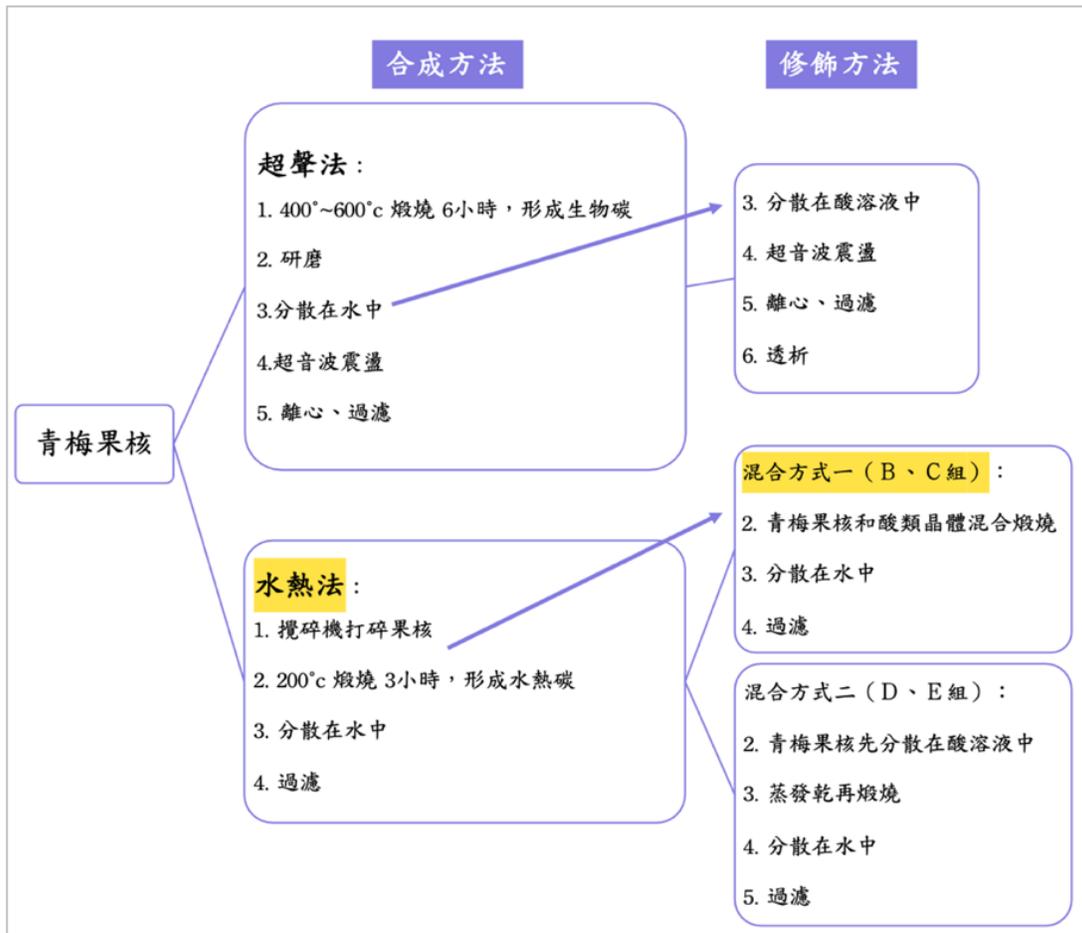
- (四)、實驗室粉碎機：RT-02 (桌上型)
- (五)、真空冷凍乾燥機：FDS-12 Freeze Dryer
- (六)、紫外光光譜儀：UV-VIS Double Beam Spectrophotometer HALO DB-20
- (七)、螢光光譜儀：Spectrofluorometer FP-6300
- (八)、時間解析螢光光譜儀：Time resolved photoluminescence spectrometer
- (九)、傅立葉轉換紅外線光譜儀：FTIR Nicole iS20
- (十)、穿透式電子顯微鏡：TEM (Transmission Electron Microscope)
- (十一)、全波長 ELISA 微量盤分光光度計：FlexA-200
- (十二)、電子順磁共振光譜儀：EPR (Electron Paramagnetic Resonance spectrometer)

## 二、原料及藥品：

- (一)、青梅果核：來自南投縣信義鄉梅子夢工廠
- (二)、蘋果酸 (Malic Acid)
- (三)、檸檬酸 (Citric Acid)
- (四)、DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- (五)、TSB (Tryptone Soy Agar) 胰蛋白酶大豆瓊脂
- (六)、LB (Lysogeny Broth)
- (七)、DMPO (3,4-dihydro-2,3-dimethyl-2H-pyrrole 1-oxide)
- (八)、TEMP (2,2,6,6-Tetramethylpiperdine-1-oxyl)

## 參、研究方法及過程

### 一、實驗流程圖



圖四、製備 CQDs 流程圖；本圖由第一作者製作。



圖五、CQDs 抗菌實驗；本圖由第一作者製作。

## 二、CQDs 合成方法

### (一)、超聲法 (Kumar et al., 2020)

1. 步驟一：青梅果核分別在 400°C、500°C、600°C 用高溫爐通氮氣煅燒 2 小時。
2. 步驟二：使用研鉢將碳化的青梅果核（生物碳）磨碎。
3. 步驟三：將 0.1g 的碳粉分散在 10 ml 的水中。
4. 步驟四：超音波震盪一小時。
5. 步驟五：以 7000 rpm 離心 30 分鐘，以 70 mm 濾紙過濾、再用 0.22 μm 濾膜過濾。

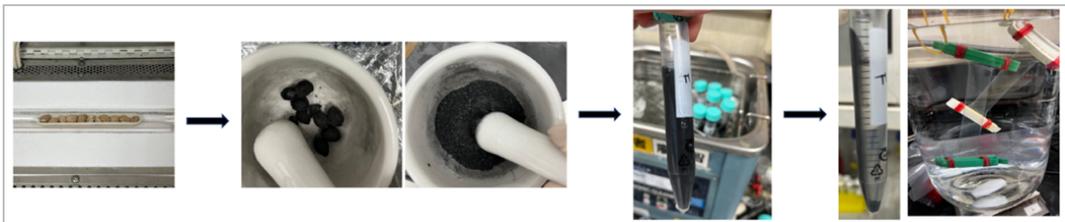
### (二)、水熱法 (A 組) (Jing et al., 2019; Zhang et al., 2022)

1. 步驟一：使用攪碎機打碎青梅果核。
2. 步驟二：青梅果核在 200°C 用高溫爐通氮氣煅燒 3 小時得水熱碳。
3. 步驟三：將 0.1g 的水熱碳（含碳量子點及雜質）分散到 10 ml 的水中。
4. 步驟四：用 0.22 μm 濾膜過濾。

## 三、CQDs 修飾方法

### (一)、超聲法

1. 步驟三：改成將 0.1g 的碳粉分散在 10 ml 1wt% 的酸中。
2. 步驟四：超音波震盪一小時。
3. 步驟五：以 7000 rpm 離心 30 分鐘，以 70 mm 濾紙過濾、再用 0.22 μm 濾膜過濾。
4. 步驟六：用 1kDa 透析袋透析 2~3 天。



圖六、超聲法修飾的流程圖（蘋果酸為例）；本圖由第一作者拍攝。

### (二)、水熱法 (Soni & Pamidimukkala, 2018)

1. 步驟二：改成青梅果核混合酸類在 200°C 用高溫爐通氮氣煅燒 3 小時。
  - (1) 混合方式一：青梅果核和檸檬酸以 1:1 混合直接煅燒（B 組）。
  - 青梅果核和蘋果酸以 1:1 混合直接煅燒（C 組）。

(2) 混合方式二：青梅果核溶於等重檸檬酸溶液中，蒸發乾後煨燒（D 組）。

青梅果核溶於等重蘋果酸溶液中，蒸發乾後煨燒（E 組）。

2. 步驟三：將 0.1g 的水熱碳（含碳量子點及雜質）分散到 10 ml 的水中。

3. 步驟四：用 0.22  $\mu\text{m}$  濾膜過濾。



圖七、水熱法修飾的流程圖（蘋果酸為例），上面為混合方式一，下面為混合方式二）；

本圖由第一作者拍攝。

#### 四、分析 CQDs 的性質

**研究方法**：將 A 組（未修飾）、B 組（檸檬酸修飾）、C 組別（蘋果酸修飾）1g 的水熱碳分散於 100 ml 的水中後凍乾取得 CQDs。後續配成 500 ppm 之溶液測試光學性質及尺寸。

- （一）、溶液顏色與產量
- （二）、UV 吸收光譜
- （三）、螢光光譜與實際拍攝
- （四）、電子顯微鏡（TEM）
- （五）、IR 紅外線光譜

#### 五、CQDs 的抗菌測試

**假設**：CQDs 具有抗菌能力，其中以修飾組別效果較好。

**研究方法**：A、B、C 三組的 CQDs 同濃度，以及 C 組 CQDs 在三個濃度，分別對四種細菌進行抑菌圈測試 (Liang et al., 2020)。

(一)、抑菌圈 (Zone of Inhibition) 測試：

1. 將 8 mm 的紙錠泡在待測溶液 30 分鐘。(溶液在無菌下過濾 0.22  $\mu\text{m}$  濾膜)
2. 取 100  $\mu\text{l}$  大約  $10^9$  cfu/ml 的菌液，滴入培養皿。

(1) 培養液：

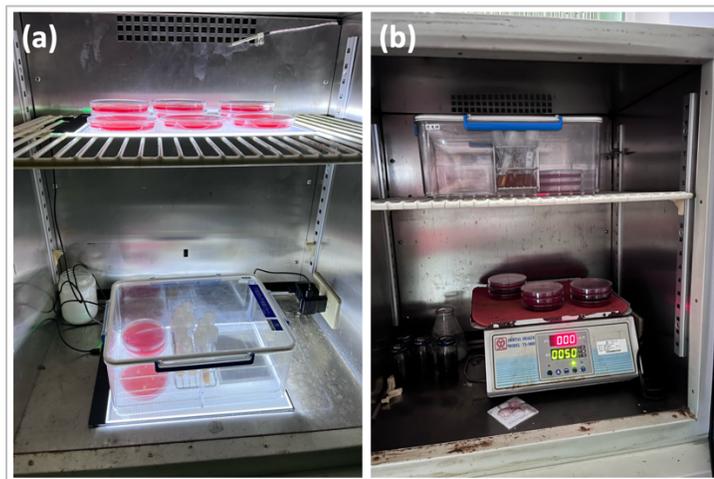
牙齦卟啉單胞菌、具核酸桿菌、綠膿桿菌皆用 TSB；大腸桿菌用 LB。

(2) OD 值 (600 nm) 和菌數：

- a. 牙齦卟啉單胞菌 (*P. gingivalis*) OD 值 0.6 對應  $10^{10}$  cfu/ml。
  - b. 具核酸桿菌 (*F. nucleatum*) OD 值 0.2 對應  $10^8$  cfu/ml。
  - c. 大腸桿菌 (*E. Coli*) OD 值 0.3 對應  $5 \times 10^7$  cfu/ml。
  - d. 綠膿桿菌 (*P. aeruginosa*) OD 值 0.01 對應  $5 \times 10^5$  cfu/ml。
3. 用菌珠將菌液均勻塗抹在培養皿，放進培養箱培養至陰性組長滿。
    - (1) 無氧環境：牙齦卟啉單胞菌和具核酸桿菌
    - (2) 有氧環境：大腸桿菌和綠膿桿菌
  4. 觀察和測量抑菌圈大小 (2~3 次實驗平均)。

(二)、照光控制變因：

1. 以大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 測試，分別在可見光照下和無光環境生長。
2. 分別加入 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm 的碳量子點溶液。
3. 用濁度計測試菌的濃度。



圖八、(a) 照光下抗菌；(b) 無光下抗菌；本圖由第一作者拍攝。

### (三)、細菌種類：

4. 牙齦卟啉單胞菌 (Porphyromonas gingivalis)：牙周病病菌
5. 具核梭桿菌 (Fusobacterium nucleatum)：牙周病病菌
6. 大腸桿菌 (Escherichia coli)：常見病菌
7. 綠膿桿菌 (Pseudomonas aeruginosa)：常見病菌

### (四)、測試組別：

1. A、B、C 三組的 CQDs，凍乾後配成 500 ppm 溶液，對四種菌的抑制效果。
  - (1) A 組：青梅果核合成 CQDs，配成 500 ppm 的溶液。
  - (2) B 組：青梅果核以檸檬酸修飾合成 CQDs，配成 500 ppm 的溶液。
  - (3) C 組：青梅果核以蘋果酸修飾合成 CQDs，配成 500 ppm 的溶液
2. C 組的 CQDs 在 500 ppm, C1 組 250 ppm, C2 組 100 ppm，對四種菌的抑制效果。
3. 陰性組菌盤長滿。(每種菌的左下圖)
4. 抑菌圈直徑大小，正比抗菌能力。(每種菌的右下圖)

## 六、CQDs 產生自由基的能力

**假設**：CQDs 會產生自由基和離子，進行氧化反應殺菌。

**研究方法一**：將 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 溶於乙醇，配成 5  $\mu\text{g/ml}$  的紫色溶液，1 ml DPPH 溶液加入 1 ml C 組 CQDs 溶液，測試 CQDs 的氧化能力 (Chunduri et al., 2016)。

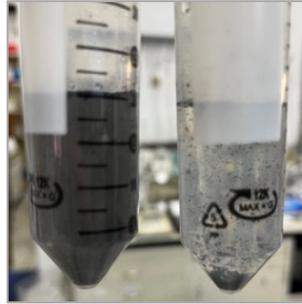
**研究方法二**：用電子順磁共振技術，檢測 C 組 CQDs 是否產生自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}^{\cdot-}$ ,  $^1\text{O}_2$ ) (Yang et al., 2022)。

- (一)、DPPH 和不同濃度 CQDs 溶液的反應結果
- (二)、CQDs 產生  $\cdot\text{OH}$  的圖譜
- (三)、CQDs 產生  $\text{O}^{\cdot-}$  的圖譜
- (四)、CQDs 產生  $^1\text{O}_2$  的圖譜

## 肆、研究結果與討論

## 一、CQDs 的製備方法

### (一)、選擇水熱法勝過超聲法



圖九、同一實驗條件於不同批次震盪後的分散性；本圖由第一作者拍攝。

結果：研究發現水熱法的穩定性勝過超聲法。

討論：起初，本實驗選擇了常見的碳量子點合成方式：超聲法。

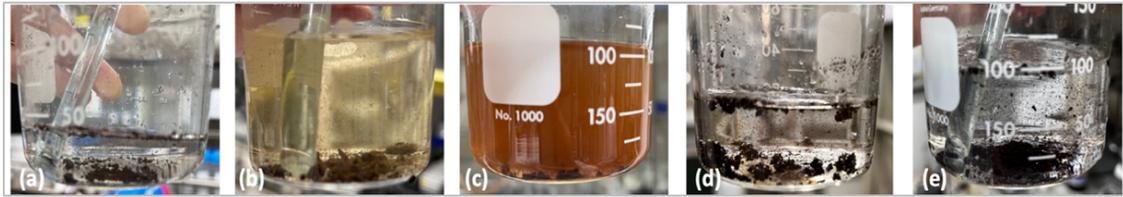
但超聲法的缺點一：超音波震盪後（步驟四），碳粉的分散情形不穩定。如圖六，同一反應條件下碳粉有時均勻分散在水中，有時凝聚沈澱在下方。推測是超音波造成的水壓可以擊碎碳粉，也能使較小的碳粒凝聚。根據黃怡澄「超音波輻射力對液體中微粒聚集的影響研究」，在頻率 1 MHz，2.25 MHz，5 MHz 震盪後，收集的凝聚微粒重量變化率皆超過 10%，因此些微的頻率變化就會影響到最終碳粉的分布效果，不是一個合適的生產途徑。

超聲法的缺點二：顆粒大小分佈廣，高溫徹底破壞表面，純化過程複雜。煅燒前未將青梅果核磨碎，造成內部煅燒不完全，但表面已經過 400 °C~600 °C 的高溫鍛燒，徹底碳化。碳化顆粒大小不均，在水溶性差的同時，需要進行多次離心和過濾（步驟五）。此外，修飾方法是將碳粉分散在酸溶液中後震盪，因此想要將溶液凍乾取得 CQDs 前，需花 2~3 天透析掉酸類分子（步驟六）。

反觀，水熱法步驟簡單、反應條件溫和，符合永續理念。本實驗以堅硬生質材料為前驅物，選擇低溫（200 °C）和短時長（3 小時），仍可有效合成 CQDs。推測輕微碳化，較不容易破壞表面的官能基，維持良好水溶性。水熱法的製備步驟有大量生產的潛力：青梅果核煅燒完取得水熱碳，將其分散在水中以取得棕色溶液，經過濾、凍乾後即可得 CQDs。

## 二、分析 CQDs 的性質

(一)、水熱法煅燒後，水熱碳的水溶情況

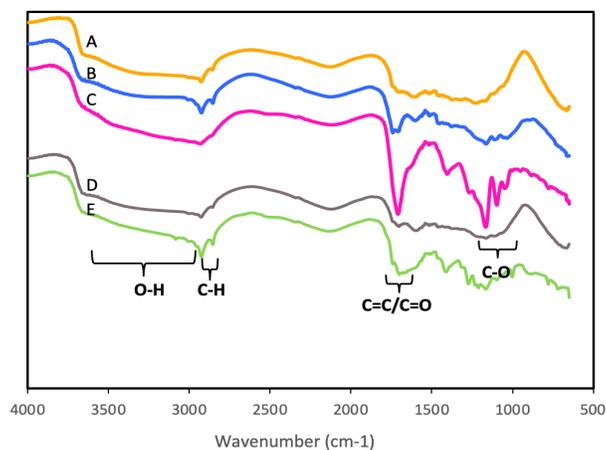


圖十、(a) A 組：未修飾，(b) B 組：檸檬酸修飾、混合方式一，(c) C 組：蘋果酸修飾、混合方式一，(d) D 組：檸檬酸修飾、混合方式二，(e) E 組：蘋果酸修飾、混合方式二；本圖由第一作者拍攝。

**結果**：經混合方式一所得到的水熱碳，水溶性最佳，其溶液顏色最偏向棕色。

**討論**：如圖七，CQDs 的溶液多呈棕色，其中 B、C 組（混合方式一：青梅果核和酸類晶體直接混合煅燒）溶液顏色較深，推測 B、C 組中的 CQDs 含量也較高；相反 D、E 組（混合方式二：青梅果核溶於酸溶液，蒸發乾後再煅燒）溶液顏色與未修飾的 A 組差不多，因此混合方式二不恰當。推測蒸發後再煅燒，已過度碳化青梅果核或酸分子，兩者較難有效結合。過度碳化破壞了 CQDs 表面，因此水溶性很差。

(二)、對應水熱碳的 IR 紅外線光譜

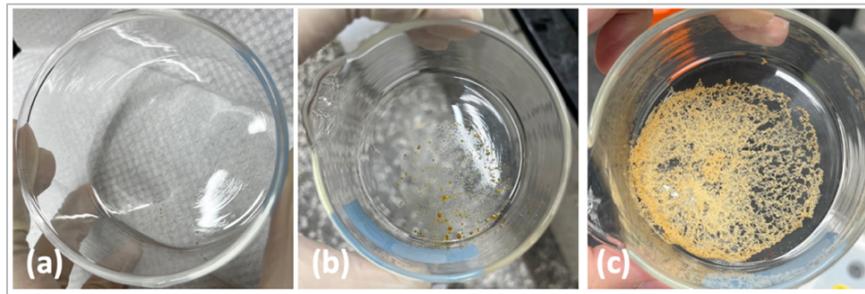


圖十一、A、B、C、D、E 五組水熱碳的 IR 紅外線光譜；本圖由第一作者製作。

**結果**：經混合方式一且用蘋果修飾，所得水熱碳的紅外線吸收波峰最強。

**討論**：如圖八，B、C 組（混合方式一）的官能基比 D、E 組（混合方式二）的官能基明顯，而 C、E 組（蘋果酸修飾）的官能基也比 B、D 組（檸檬酸修飾）的官能基明顯。整體來說 C 組（蘋果酸修飾且經混合方式一）修飾效果最佳，在 1700 nm (C=O) 和 1160 nm (C-O) 相較於其他組有更強吸收，具有較豐富的官能基。混合方式一既沒有增加水熱法的合成步驟，又能有效提升 CQDs 產量（溶液顏色變深）。

### （三）、CQDs 合成產率

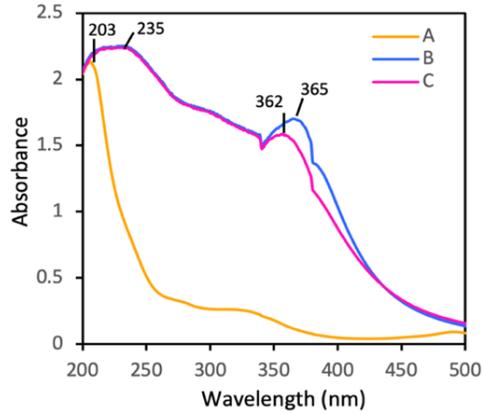


圖十二、(a) A 組、(b) B 組、(c) C 組溶液凍乾後的樣子；本圖由第一作者拍攝。

**結果**：碳量子點經蘋果酸修飾後產率最高。

**討論**：在上述圖七中，水熱碳分散在水中時 C 組（蘋果酸修飾）的顏色比 B 組（檸檬酸修飾）深，因此在圖九中，凍乾後的 CQDs 以 C 組 50 mg 最高，B 組 10 mg 次之，A 組（未修飾）2~3 mg 最少。採用蘋果酸和檸檬酸修飾有效提高了 CQDs 的產率，推測是酸類官能基成功接在 CQDs 的表面，增加其水溶性。因此 CQDs 的水溶性越佳也意味著凍乾後產率會越高。

### （四）、UV 吸收光譜 (Deng et al., 2021)

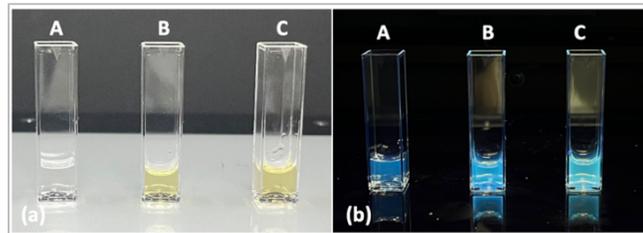


圖十三、A 組、B 組、C 組的 UV 吸收光譜；本圖由第一作者製作。

**結果**：碳量子點的紫外光譜皆可對應 C=C 的吸收，修飾的碳量子點可對應 C=O 吸收。

**討論**：如圖十，CQDs 的三組溶液（未修飾、檸檬酸修飾、蘋果酸修飾）的 UV 吸收光譜在 200 nm 附近皆有一個吸收波峰，可以對應 CQDs 中 C=C 鍵的  $\pi - \pi^*$  躍遷。使用有機食用酸（蘋果酸和檸檬酸）修飾的 CQDs 在 365 nm 也有一個吸收波峰，可對應到 C=O 鍵的  $n - \pi^*$  躍遷。由修飾組別（B、C 組）在 200 nm 附近的吸收波長變寬，並且多出 365 nm 的吸收波長，推測 B、C 組 CQDs 的結構較複雜，修飾後含有較豐富的氧原子和官能基。

#### （五）實際螢光拍攝效果



圖十四、A 組、B 組、C 組 (a)在日光下；(b)在 365 nm 激發光下的情況；

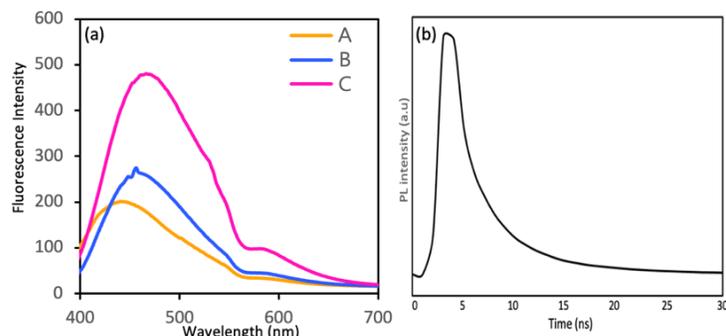
本圖由第一作者拍攝。

**結果**：紫外光激發下，碳量子點皆可發出藍色螢光。

**討論**：如圖十一，實際拍攝中，CQDs 的三組溶液（未修飾、檸檬酸修飾、蘋果酸修飾）在 365 nm 的 UV 照光下皆可發出藍色螢光，並以 C 組 CQDs 的螢光最強。在日光燈下，A

組呈淺粉色，B、C 組則呈棕色溶液。推測因三種 CQDs 的表面官能基、電荷、量子大小不同，電子與空穴的運動不同，進而影響吸收和發射波長。

#### (六)、螢光光譜

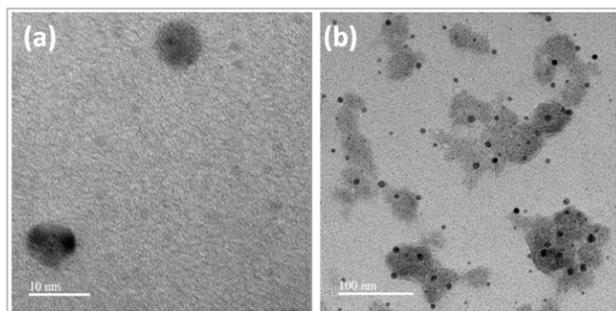


圖十五、(a) A 組、B 組、C 組的螢光光譜；(b) C 組在 405 nm 激發波長下的發光壽命；  
本圖由第一作者製作。

**結果**：以蘋果酸修飾的碳量子點，螢光強度最強，螢光壽命在 3~4 奈秒。

**討論**：如圖十二 (a)，螢光光譜中以 365 nm 為激發光（選擇 UV 吸收光譜中有出現的吸收波峰），組別 A、B、C 的 CQDs 溶液螢光波長分別在 430 nm, 462 nm, 474 nm，可見螢光波峰較吸收波峰紅移，符合 CQDs 的光致發光效應。根據量子限制效應，分別用檸檬酸和蘋果酸修飾的 B、C 組別，螢光波峰較偏向紅光，推測其 CQDs 的尺寸可能也較大。而螢光強度中，B 組（檸檬酸修飾）的螢光強度增加為 A 組（未修飾）之 1.4 倍，C 組（蘋果酸修飾）的螢光強度增加為 A 組（未修飾）的 2.6 倍。兩者皆增強了 CQDs 的螢光特性，更有潛力在後期應用展現出良好效果。如圖十二 (b)，C 組 CQDs 溶液的螢光持續 3~4 奈秒，在時間解析成像有應用潛力 (LeCroy et al., 2017)。

#### (七) 電子顯微鏡 (TEM)



圖十六、(a) CQDs 對照 10 nm 尺寸；(b) CQDs 對照 100 nm 尺寸；本圖由第一作者在專業人員指導下拍攝。

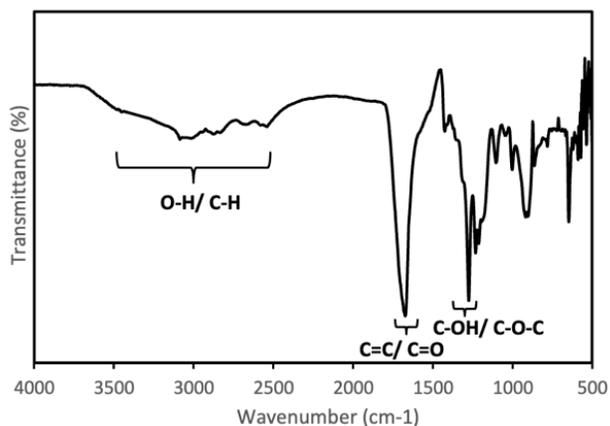
**結果：**電子顯微鏡下，碳量子點尺寸小於 10 奈米。

**討論：**如圖十三 (a) 觀察到 CQDs 的尺寸在 1~10 奈米，可以展現出量子點獨特的光學特性。由圖十三 (b) 可見碳量子點含量豐富，而尺寸分佈較廣，對應到吸收波峰寬、光譜較複雜，但同時也因尺寸多樣性有更多潛力。

### 三、探討 C 組蘋果酸修飾 CQDs 的效果

(一)、C 組 CQDs 的 IR 紅外線光譜 (Ma et al., 2019)

C 組 CQDs 的紅外光譜中 3000 nm 附近的寬吸收可對應到 O-H 和 C-H 鍵結，波長 1706 nm 的強吸收可對應 C=C 和 C=O 鍵結，波長 1275 nm 的吸收波峰則對應 C-OH 和 C-O-C 鍵結。

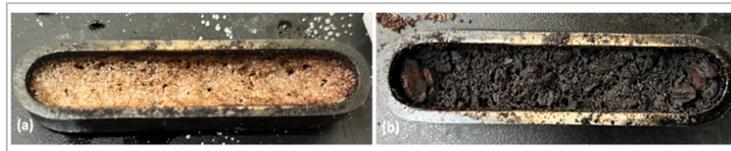


圖十七、C 組 CQDs 的 IR 紅外線光譜；本圖由第一作者製作。

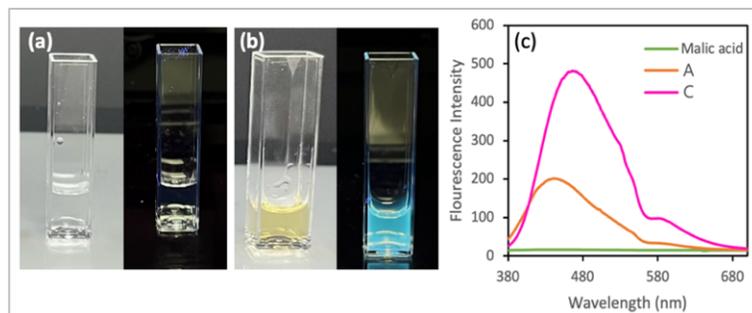
**結果**：蘋果酸修飾的碳量子點，表面官能基與蘋果酸類似。

**討論**：如圖十四，C 組 CQDs 的紅外光譜中 3000 nm 的寬吸收（對應到 O-H 和 C-H 鍵結），可解釋其良好的水溶性。其 1706 nm 的強吸收，對應 C=C 和 C=O 鍵結、1275 nm 的吸收波峰，對應 C-OH 和 C-O-C 鍵結，符合 CQDs 的常見官能基。同時，蘋果酸在 1700 nm 也有吸收波峰（對應 C=O 鍵結）、在 1270 nm 附近也有多個吸收波峰。由此可知，本實驗中 C 組 CQDs 的紅外光譜可以看到酸類常有的官能基，推測蘋果酸對其表面確實有修飾的功能。

## （二）、蘋果酸煨燒後的碳化效果及螢光



圖十八、(a) 單純蘋果酸煨燒完；(b) 青梅果核加蘋果酸煨燒完；本圖由第一作者拍攝。



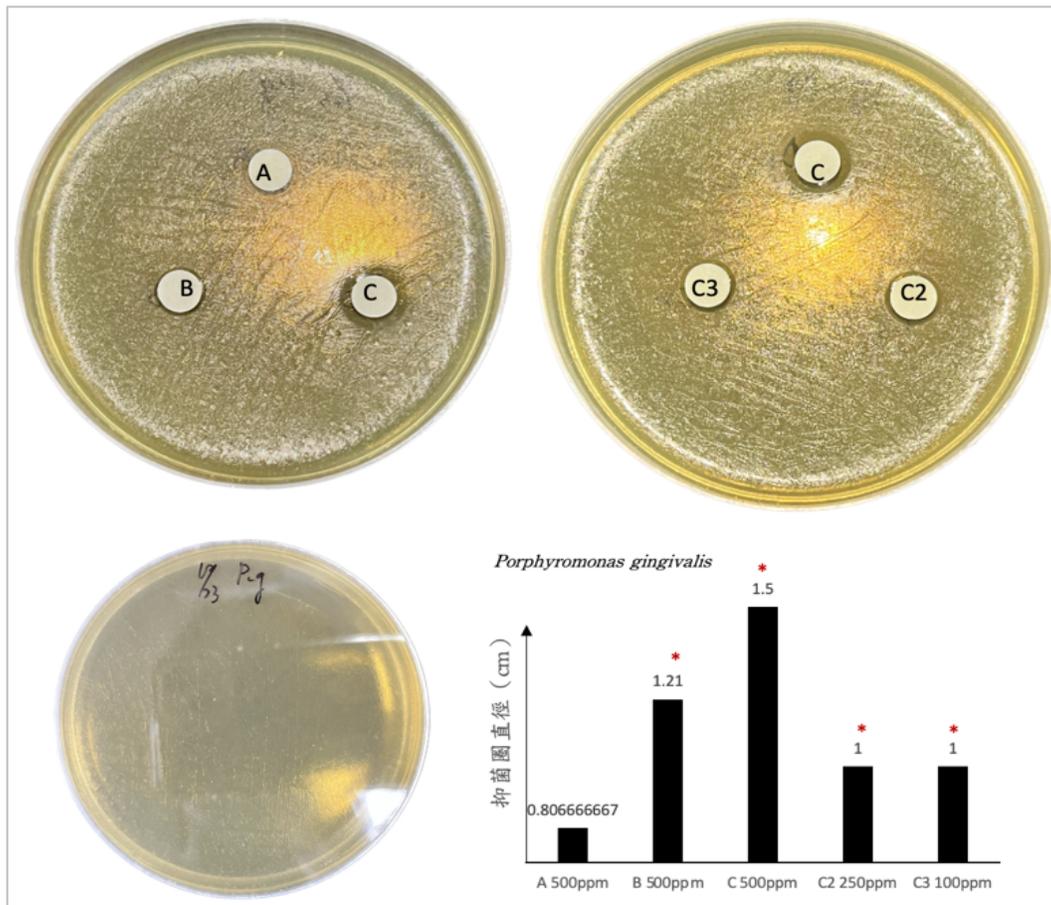
圖十九、(a) 蘋果酸在日光/UV 照光下；(b) C 組在日光/UV 照光下；(c) A 組（未修飾）、C 組（蘋果酸修飾）、Malic Acid（蘋果酸）的螢光光譜；本圖由第一作者拍攝製作。

**結果**：主要碳源為青梅果核，蘋果酸為修飾作用，無法單獨經本實驗方法合成碳量子點，但可以提升碳量子點螢光強度。

**討論**：如圖十五，煨燒完的蘋果酸碳化程度不夠。如圖十六，由 365 nm 激發光的拍攝和螢光光譜，確認以蘋果酸為前驅物得到的溶液，沒有展現 CQDs 特有的螢光效應。蘋果酸可能需要更高溫度、更久時長、更大壓力，才能合成 CQDs。但經過本實驗的方法，卻能很有效的修飾青梅果核，合成 CQDs，提高其產率和螢光強度（對比未修飾的 A 組）。

#### 四、CQDs 的抗菌結果

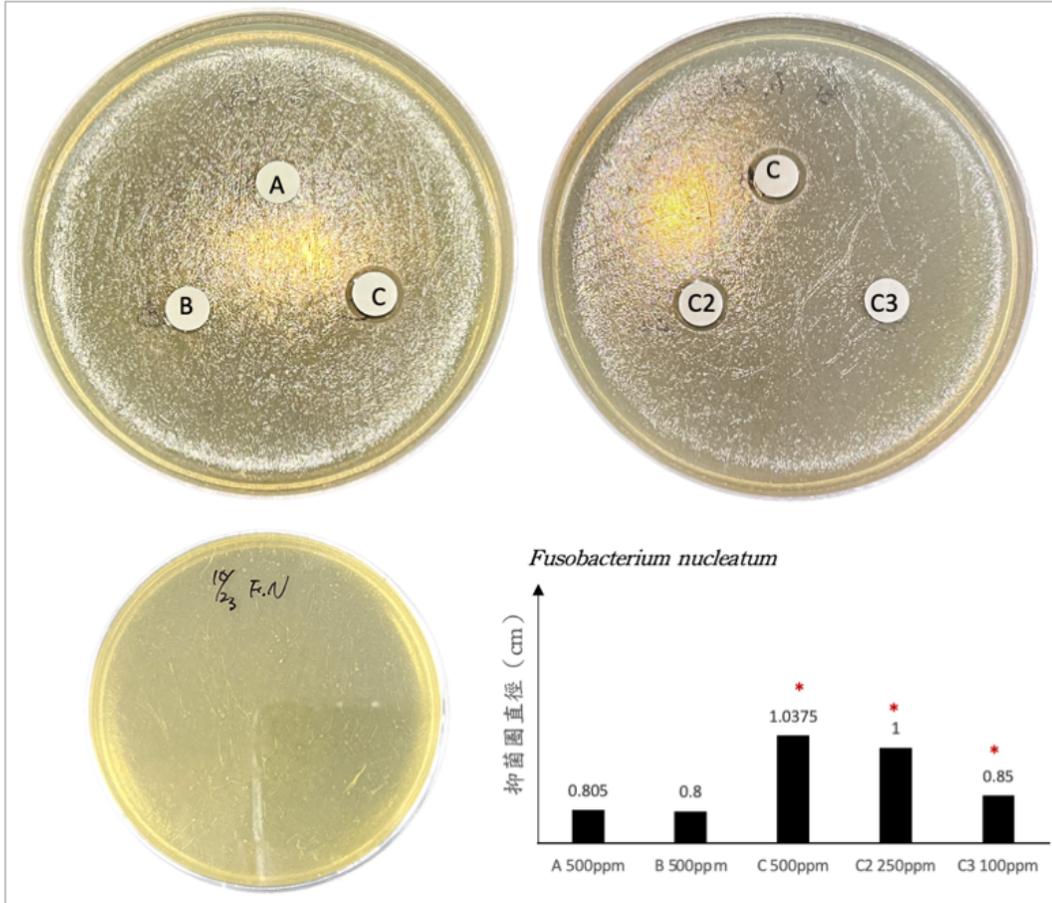
##### (一)、牙齦卟啉單胞菌 (Porphyromonas gingivalis )



圖二十、A、B、C 三組同濃度 (左上)，C 組三種濃度 (右上)，陰性對照組 (左下)，抑菌圈大小 (右下)；本圖由第一作者拍攝製作。

**結果**：B、C 組在 500 ppm 別對牙齦卟啉單胞菌都有抑制效果，其中 C 組在 100 ppm 仍對牙齦卟啉單胞菌有抑制效果，並且抑制圈從 250 ppm 到 100 ppm 沒有變小的趨勢。

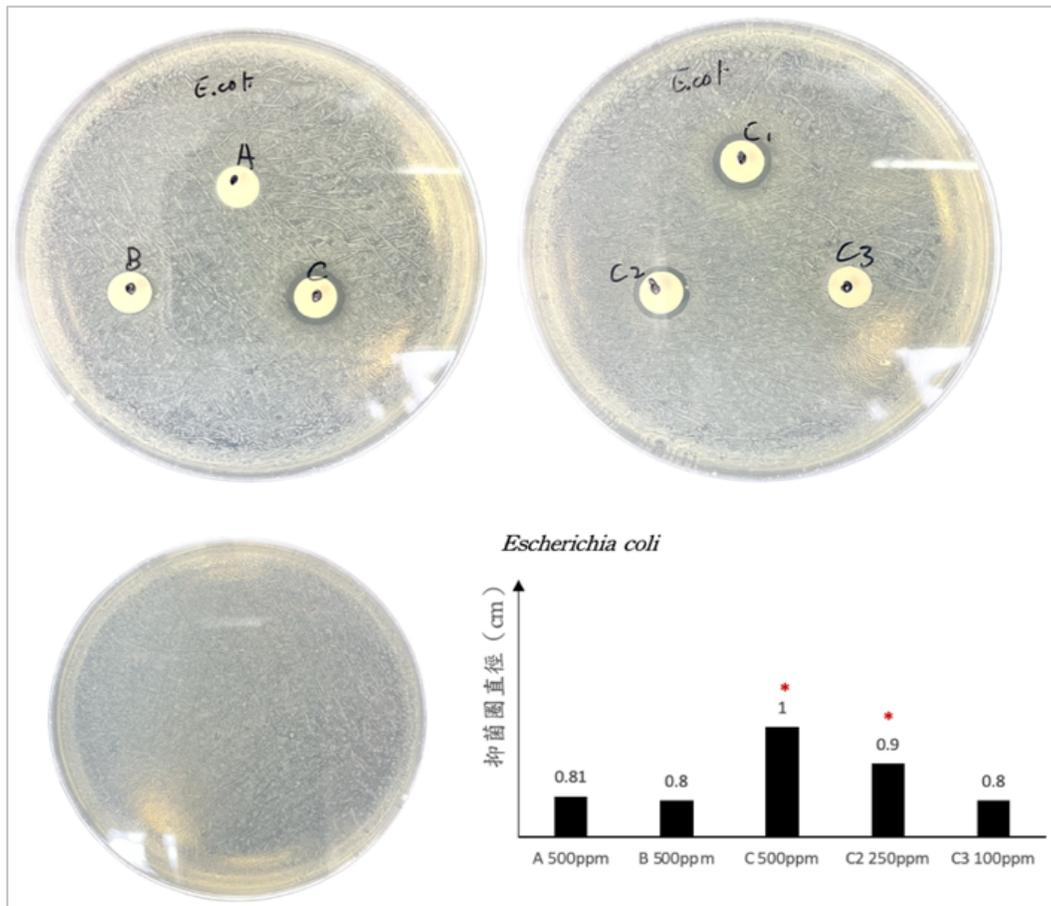
##### (二)、具核酸桿菌 (Fusobacterium nucleatum )



圖二一、A、B、C 三組同濃度（左上），C 組三種濃度（右上），陰性對照組（左下），抑菌圈大小（右下）；本圖由第一作者拍攝製作。

**結果：**只有 C 組對具核酸桿菌有抑制效果，從 500 ppm 到 100 ppm 有劑量依賴性，抗菌效果因濃度下降而減弱。

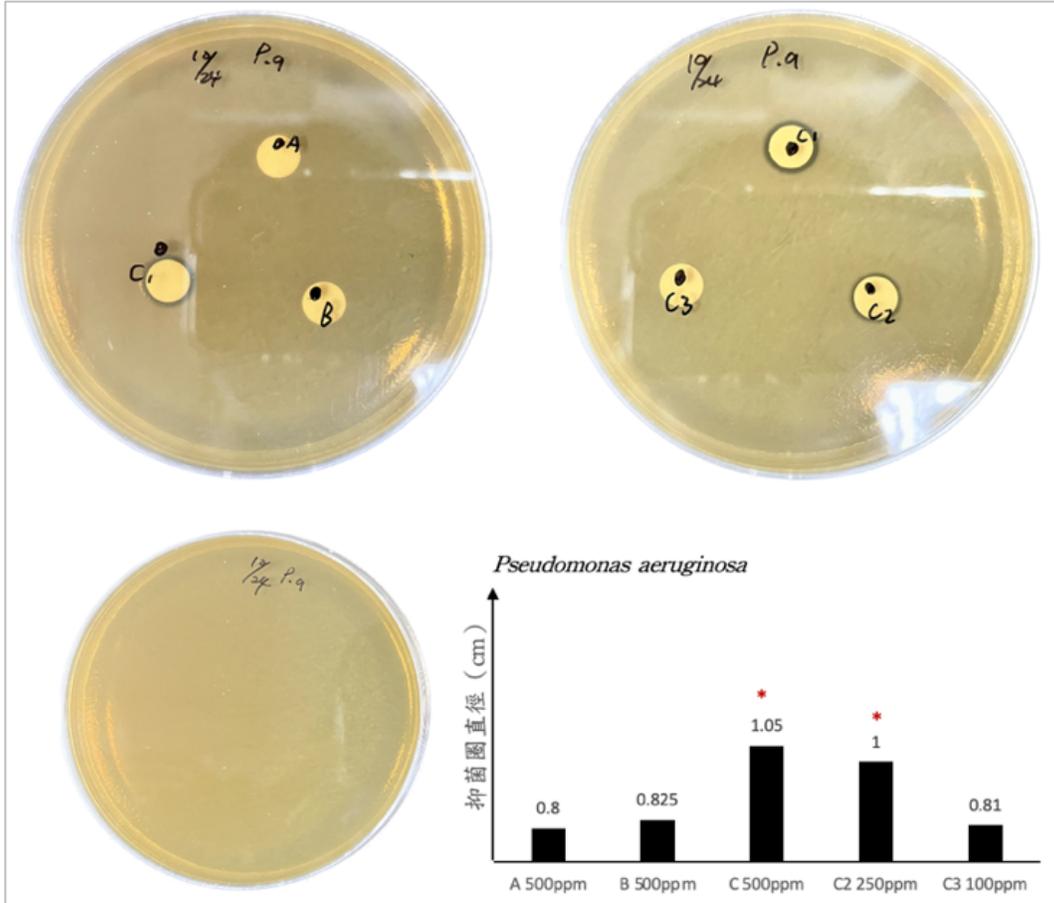
（三）、大腸桿菌（*Escherichia coli*）



圖二二、A、B、C 三組同濃度（左上），C 組三種濃度（右上），陰性對照組（左下），抑菌圈大小（右下）；本圖由第一作者拍攝製作。

**結果：**C 組對大腸桿菌的抑制效果較顯著，在 250 ppm 仍有明顯抑制圈，但在 100 ppm 就沒有出現明顯抑制圈。

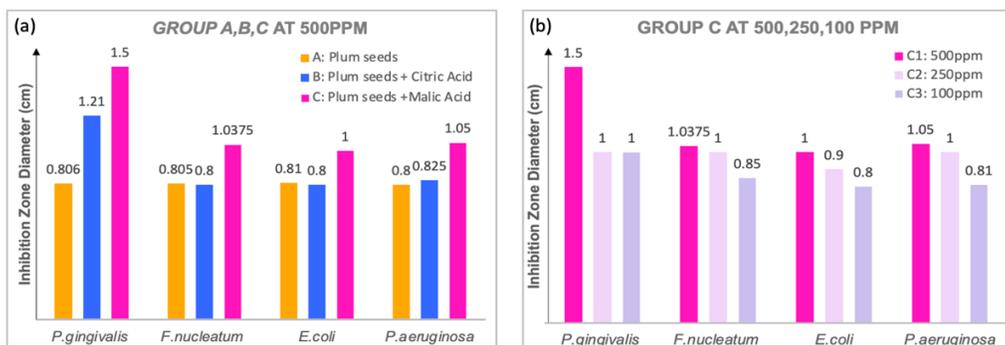
#### （四）、綠膿桿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）



圖二三、A、B、C 三組同濃度（左上），C 組三種濃度（右上），陰性對照組（左下），抑菌圈大小（右下）；本圖由第一作者拍攝製作。

**結果：**B 組出現過較小的抑菌圈，C 組抑制綠膿桿菌的能力最強。C 組在 250 ppm 仍有明顯抑制效果，但 100 ppm 時抑制效果較弱。

### （五）、結果整理



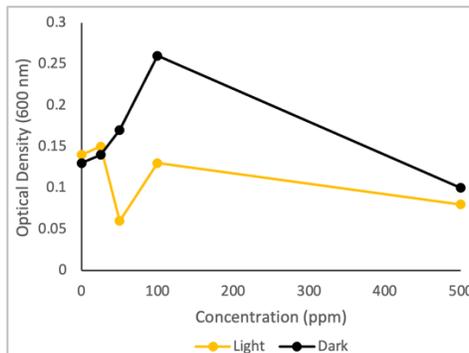
圖二四、(a) A、B、C 三組 CQDs 溶液在 500 ppm 的抗菌效果；

(b) C 組 CQDs 溶液在 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm 的抗菌效果；本圖由第一作者製作。

**討論：**A 組（未修飾）、B 組（檸檬酸修飾）、C 組（蘋果酸修飾）的 CQDs 溶液在 500 ppm，對牙齦卟啉單胞菌（*P.gingivalis*）的抑制效果最顯著，此外 B 組與 C 組的 CQDs 也可以有效抑制綠膿桿菌（*P.aeruginose*）。但針對另一種牙周病主要病菌—具核酸桿菌（*F.nucleatum*）以及常見病菌—大腸桿菌（*E.coli*）只有 C 組（蘋果酸修飾）出現明顯抑菌圈。推測 C 組突出的抗菌能力，與其表面官能基的完整性以及能產生最強螢光有關係。

取抗菌效果最好的 C 組（蘋果酸修飾）再降低濃度做實驗。發現其對牙齦卟啉單胞菌（*P.gingivalis*）、具核酸桿菌（*F.nucleatum*）、大腸桿菌（*E.coli*）、綠膿桿菌（*P.aeruginose*）都有劑量依賴性：CQDs 的抑制效果隨濃度下降而減弱，證明 CQDs 溶液有殺菌效果。CQDs 對於牙周病常見菌，在 100 ppm 仍有明顯抑制效果，CQDs 對於大腸桿菌和綠膿桿菌的最小抑制濃度則在 250 ppm-100 ppm 之間。

#### （六）、照光控制變因



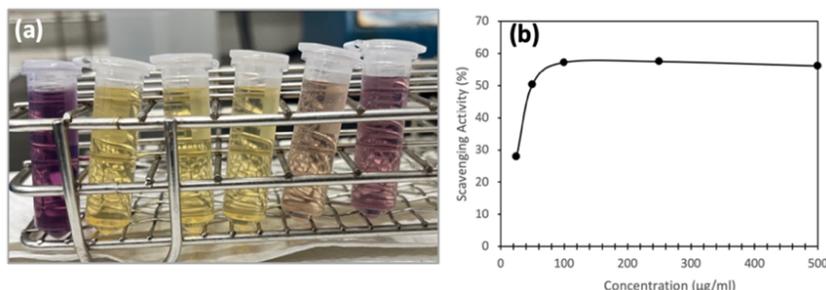
圖二五、碳量子點溶液在照光下與黑暗中對大腸桿菌的抑制效果；本圖由第一作者製作。

**結果：**碳量子點在照光下對大腸桿菌抑制效果較佳。

**討論：**碳量子點擁有獨特的光學性質，在光激發下可能產生活性氧殺菌，因此抗菌效果較好。OD 值正比細菌濃度，由圖二五可推測碳量子點藉由光動力殺菌，為低風險抗菌機制。

## 五、CQDs 的抗菌原理

### (一)、DPPH 和不同濃度 CQDs 溶液的反應結果



圖二六、(a) DPPH 和不同濃度 CQDs 溶液的反映情況；(b) C 組 CQDs 的抗氧化能力；本圖由第一作者拍攝製作。

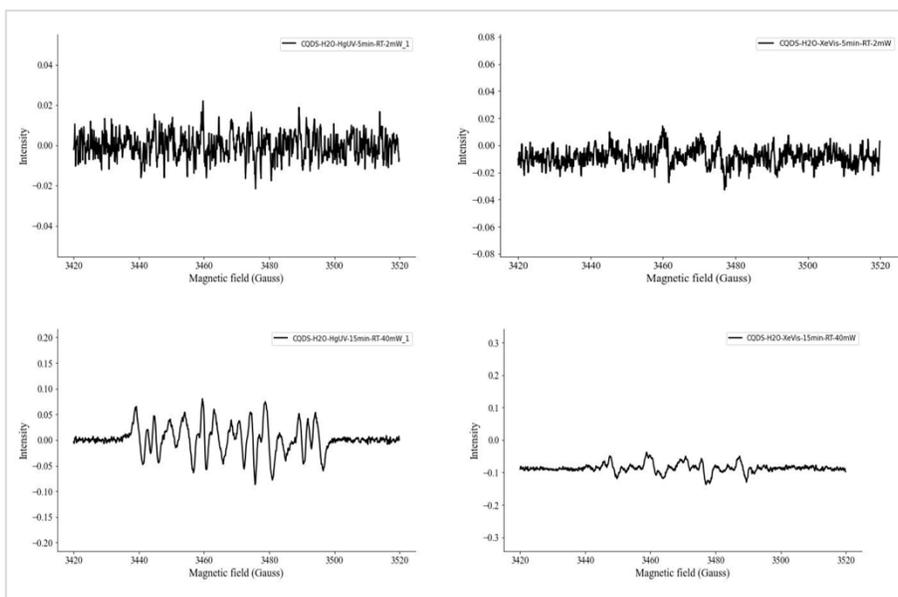
**結果**：碳量子點能夠產生自由基，100 ppm 時效果佳。

**討論**：圖二二 (a)，由左到右依序為陰性對照組（DPPH 和乙醇溶劑）、500 ppm、250 ppm、100 ppm、50 ppm、25 ppm 的 CQDs 溶液加入 5 ppm 的 DPPH 溶液。DPPH 被氧化後會由紫色變黃色。由圖二二可得知 CQDs 產生自由基的能力，從 25 ppm 到 100 ppm 有明顯提升。100 ppm 時能將 DPPH 完全由紫色溶液氧化成黃色溶液。在 50 ppm 則氧化成淡粉色溶液，25 ppm 時氧化成淺紫色。

圖二二 (b)，DPPH 清除自由基的能力（Scavenging Activity）可由（測試樣本吸光值-陰性對照組吸光值）/ 陰性對照組吸光值（517 nm）乘以 100% 計算，同時也代表 CQDs 的抗氧化能力 (Chunduri et al., 2016)。CQDs 在 100 ppm 時清除自由基的能力便來到 60%。

### (二)、CQDs 產生 $\cdot\text{OH}$ 的圖譜

C 組 CQDs 溶液在 DMPO (3,4-dihydro-2,3-dimethyl-2H-pyrrole 1-oxide) 的水溶劑，分別在紫外光照下（2mW）五分鐘後（左上圖）；可見光下（2mW）五分鐘後（右上圖）；紫外光下經十五分鐘後瞬間由 2mW 轉換成 40mW（左下圖）；可見光下經十五分鐘後瞬間由 2mW 轉換成 40mW（右下圖）。



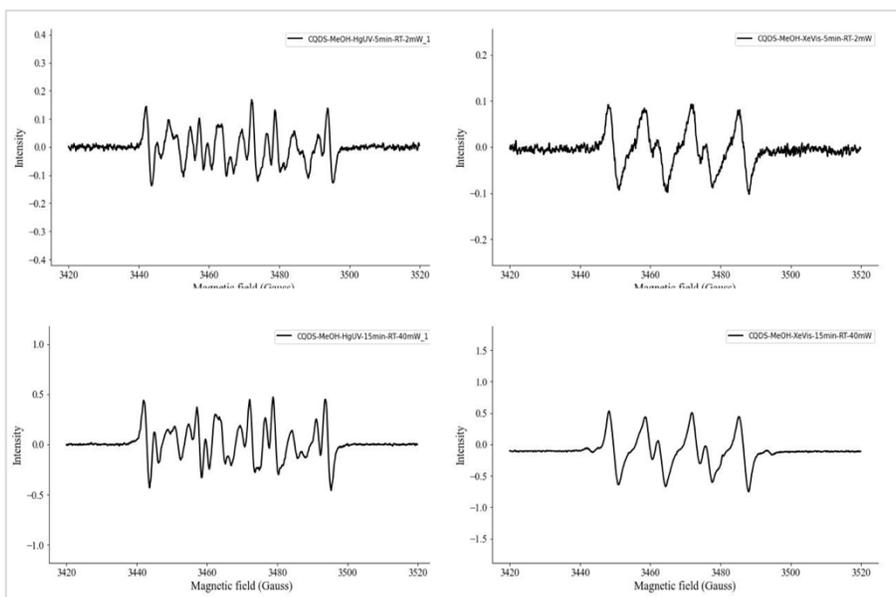
圖二七、CQDs 產生  $\cdot\text{OH}$  的圖譜；本圖由第一作者在專業人員協助下製作。

**結果**：CQDs 可能產生  $\cdot\text{OH}$ 。

**討論**：如圖二三，C 組 CQDs 有隨著時間訊號變的清晰，但沒有出現  $\cdot\text{OH}$  常見的四個波峰（強度 1:2:2:1）。CQDs 的  $\cdot\text{OH}$  圖譜較雜亂，並且也有點類似  $\text{H}_2\text{O}_2$  的圖譜（強度也是 1:2:2:1），推測可能是樣品產生了  $\text{H}_2\text{O}_2$  等物質，造成  $\cdot\text{OH}$  四個波峰不明顯。

### （三）、CQDs 產生 $\text{O}_2$ 的圖譜

C 組 CQDs 溶液在 DMPO (3,4-dihydro-2,3-dimethyl-2H-pyrrole 1-oxide) 的 MeOH 溶劑，分別在紫外光照下 (2mW) 五分鐘後 (左上圖)；可見光下 (2mW) 五分鐘後 (右上圖)；紫外光下經十五分鐘後瞬間由 2mW 轉換成 40mW (左下圖)；可見光下十五分鐘後瞬間由 2mW 轉換成 40mW (右下圖)。



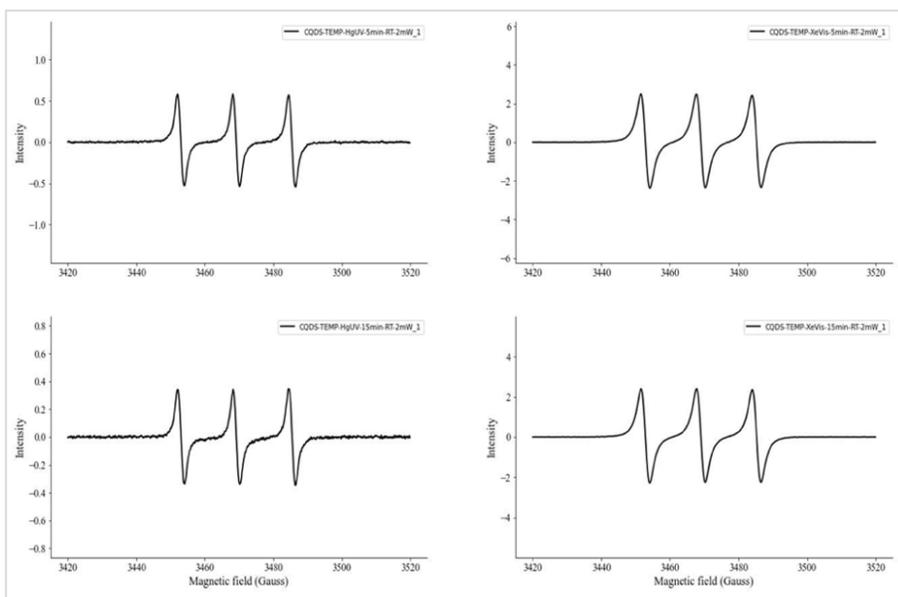
圖二八、CQDs 產生  $O_2^-$  的圖譜；本圖由第一作者在專業人員協助下製作。

**結果：** CQDs 有產生  $O_2^-$ 。

**討論：** 如圖二四，經五分鐘 C 組 CQDs 便出現清晰訊號，在可見光下有  $O_2^-$  標誌性的六個波峰（強度 1,2,4,6 位置較 3,5 位置強），紫外光照下的圖譜則較雜亂。CQDs 在可見光下的  $O_2^-$  圖譜訊號清晰，可確認 CQDs 產生了  $O_2^-$  自由基。紫外光照下訊號則較雜亂，推測紫外光能量較大，可能使 CQDs 表面產生其他化學反應。

#### （四）、CQDs 產生 $^1O_2$ 的圖譜

C 組 CQDs 溶液在 TEMP (2,2,6,6-Tetramethylpiperdine-1-oxyl) 的 MeOH 溶劑，分別在紫外光照下 (2mW) 五分鐘後 (左上圖)；可見光下 (2mW) 五分鐘後 (右上圖)；紫外光下 (2mW) 十五分鐘 (左下圖)；可見光下 (2mW) 十五分鐘 (右下圖)。

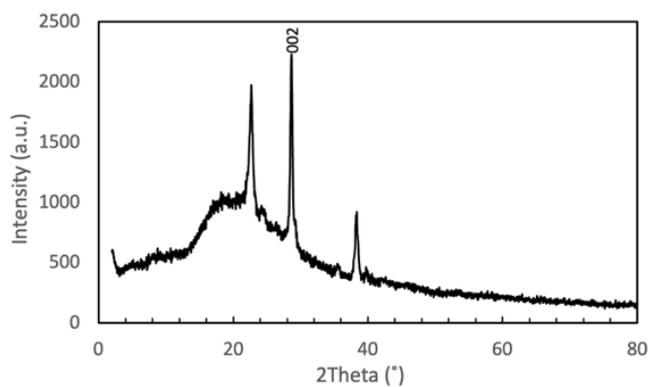


圖二九、CQDs 產生  $^1\text{O}_2$  的圖譜；本圖由第一作者在專業人員協助下製作。

**結果**：CQDs 有產生  $^1\text{O}_2$ 。

**討論**：如圖二五，經五分鐘 C 組 CQDs 便出現清晰訊號，在可見光和紫外光下出現  $^1\text{O}_2$  標誌性的三波峰（強度 1:1:1）。CQDs 在可見光和紫外光下，圖譜在短時間內便出現清晰的  $^1\text{O}_2$  訊號，可見 CQDs 產生  $^1\text{O}_2$  的能力很強。

（附錄一）、CQDs 的 X 射線繞射光譜



圖三十、C 組 CQDs 的 X 射線繞射光譜；本圖由第一作者在專業人員協助下製作。

**結果**：本實驗合成的碳量子點為晶型結構。

**討論**：由圖二十六，可得知 CQDs 為晶體型態，相較於非晶型更有潛力統一和應用。參考多層石墨烯的 X 射線繞射光譜，CQDs 最明顯在 38° 的波峰可能為 002 波峰 (Li et al., 2011)。參考石墨量子點，在 002 波峰之前出現的可能是 001 波峰 (Tohamy et al., 2023)。參考碳量子點，在 38° 的波峰可能是 101 波峰 (Mewada et al., 2013)。

## 未來加強空間：

可以調控青梅果核和不同比例的酸類混合、降低煅燒時長，以加強其修飾效果，使碳量子點能夠在更低的濃度抗菌。

## 伍、結論及應用

### 一、將青梅果核轉換成碳量子點的最佳方法

- (一)、合成方法「水熱法」因步驟簡單且較穩定，勝過「超聲法」。
- (二)、反應條件在相較低溫 (200°C) 及短時長 (3 小時)，符合永續與經濟效應。
- (三)、此合成方法也可適用於其他堅硬生質材料，增加碳量子點前驅物的多樣性，不再局限於有機溶液或易腐爛的果皮。

### 二、蘋果酸的修飾作用

- (一)、修飾後使碳量子點產量從 2~3mg 提升至 50mg，螢光強度增為 2.6 倍。
- (二)、修飾後的碳量子點抑菌能力最佳，對於四種病菌都出現最大的抑菌圈。
- (三)、蘋果酸無法單獨合成碳量子點，但能使其表面出現相關官能基，提升其水溶性。

### 三、碳量子點的抗菌潛力與應用

- (一)、**抗菌效果**：碳量子點在 100ppm 時，即可抑制牙周病主要病菌 (牙齦卟啉單胞菌和具核梭桿菌)。在 100ppm~250ppm 時，可抑制常見病菌 (大腸桿菌、綠膿桿菌)。
- (二)、**抗菌機制**：由 DPPH 和電子順磁共振光譜證實碳量子點能產生  $^1\text{O}_2$  及  $\text{O}_2$  等自由基殺菌，並且在照光下對細菌抑制效果較佳，推測其可藉由光動力殺菌，為低風險抗菌機制。

(三)、**未來應用**：碳量子點具有良好的水溶性，可應用於漱口水或牙膏，取代目前漱口水的刺激性成分一氯己定（CHX）(Hidalgo & Dominguez, 2001)，如此漱口水溶劑便可以由酒精改成水。此外也可以含在牙膏，或其他抗菌材料裡。

## 六、參考文獻

1. Bachrach, G., Altman, H., Kolenbrander, P. E., Chalmers, N. I., Gabai-Gutner, M., Mor, A., Friedman, M., & Steinberg, D. (2008). Resistance of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 to direct killing by antimicrobial peptides is protease independent. *Antimicrob Agents Chemother*, 52(2), 638-642. <https://doi.org/10.1128/AAC.01271-07>
2. Chunduri, L. A. A., Kurdekar, A., Patnaik, S., Dev, B. V., Rattan, T. M., & Kamisetti, V. (2016). Carbon Quantum Dots from Coconut Husk: Evaluation for Antioxidant and Cytotoxic Activity. *Materials Focus*, 5(1), 55-61. <https://doi.org/10.1166/mat.2016.1289>
3. Deng, Y., Chen, M., Chen, G., Zou, W., Zhao, Y., Zhang, H., & Zhao, Q. (2021). Visible-Ultraviolet Upconversion Carbon Quantum Dots for Enhancement of the Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide. *ACS Omega*, 6(6), 4247-4254. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05182>
4. Ghirardello, M., Ramos-Soriano, J., & Galan, M. C. (2021). Carbon Dots as an Emergent Class of Antimicrobial Agents. *Nanomaterials (Basel)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/nano11081877>
5. Hidalgo, E., & Dominguez, C. (2001). Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. *Toxicology in Vitro*, 15(4), 271-276. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(01\)00020-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0887-2333(01)00020-0)
6. Jian, H. J., Wu, R. S., Lin, T. Y., Li, Y. J., Lin, H. J., Harroun, S. G., Lai, J. Y., & Huang, C. C. (2017). Super-Cationic Carbon Quantum Dots Synthesized from Spermidine as an Eye Drop Formulation for Topical Treatment of Bacterial Keratitis. *ACS Nano*, 11(7), 6703-6716. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b01023>
7. Jing, S., Zhao, Y., Sun, R.-C., Zhong, L., & Peng, X. (2019). Facile and High-Yield Synthesis of Carbon Quantum Dots from Biomass-Derived Carbons at Mild Condition. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(8), 7833-7843. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00027>
8. Kumar, R., Kumar, V. B., & Gedanken, A. (2020). Sonochemical synthesis of carbon dots, mechanism, effect of parameters, and catalytic, energy, biomedical and tissue engineering applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105009. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105009>
9. LeCroy, G. E., Fernando, K. A. S., Bunker, C. E., Wang, P., Tomlinson, N., & Sun, Y.-P. (2017). Steady-state and time-resolved fluorescence studies on interactions of carbon “quantum” dots with nitrotoluenes. *Inorganica Chimica Acta*, 468, 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.05.058>

10. Li, N., Wang, Z., & Shi, Z. (2011). Synthesis of Graphenes with Arc-Discharge Method. In *Physics and Applications of Graphene - Experiments*. <https://doi.org/10.5772/14961>
11. Liang, G., Shi, H., Qi, Y., Li, J., Jing, A., Liu, Q., Feng, W., Li, G., & Gao, S. (2020). Specific Anti-biofilm Activity of Carbon Quantum Dots by Destroying *P. gingivalis* Biofilm Related Genes. *Int J Nanomedicine*, 15, 5473-5489. <https://doi.org/10.2147/IJN.S253416>
12. Ma, X., Li, S., Hessel, V., Lin, L., Meskers, S., & Gallucci, F. (2019). Synthesis of luminescent carbon quantum dots by microplasma process. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 140, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.04.017>
13. Mewada, A., Pandey, S., Shinde, S., Mishra, N., Oza, G., Thakur, M., Sharon, M., & Sharon, M. (2013). Green synthesis of biocompatible carbon dots using aqueous extract of *Trapa bispinosa* peel. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 33(5), 2914-2917. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.03.018>
14. Palacio-Vergara, M., Álvarez-Gómez, M., Gallego, J., & López, D. (2023). Biomass solvothermal treatment methodologies to obtain carbon quantum dots: A systematic review. *Talanta Open*, 8. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2023.100244>
15. Pourmadadi, M., Rahmani, E., Rajabzadeh-Khosroshahi, M., Samadi, A., Behzadmehr, R., Rahdar, A., & Ferreira, L. F. R. (2023). Properties and application of carbon quantum dots (CQDs) in biosensors for disease detection: A comprehensive review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 80. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104156>
16. Soni, H., & Pamidimukkala, P. S. (2018). Green synthesis of N, S co-doped carbon quantum dots from triflic acid treated palm shell waste and their application in nitrophenol sensing. *Materials Research Bulletin*, 108, 250-254. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2018.08.033>
17. Tohamy, H. S., El-Sakhawy, M., & Kamel, S. (2023). Microwave-assisted synthesis of amphoteric fluorescence carbon quantum dots and their chromium adsorption from aqueous solution. *Sci Rep*, 13(1), 11306. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37894-4>
18. Yang, H.-L., Bai, L.-F., Geng, Z.-R., Chen, H., Xu, L.-T., Xie, Y.-C., Wang, D.-J., Gu, H.-W., & Wang, X.-M. (2023). Carbon quantum dots: Preparation, optical properties, and biomedical applications. *Materials Today Advances*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2023.100376>
19. Yang, Y., Xu, X., Zhang, S., Wang, G., Yang, Z., Cheng, Z., Xian, J., Li, T., Pu, Y., Zhou, W., & Xiang, G. (2022). Two novel and efficient plant composites for the degradation of oxytetracycline: nanoscale ferrous sulphide supported on rape straw waste. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(42), 63545-63559. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20063-x>
20. Zhang, J., Xia, A., Zhu, X., Huang, Y., Zhu, X., & Liao, Q. (2022). Co-production of carbon quantum dots and biofuels via hydrothermal conversion of biomass. *Fuel Processing Technology*, 232. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2022.107276>

## 【評語】 050213

此一研究工作以生質廢料青梅果核為前驅物，經由環保合成與新型修飾方法製備碳量子點，並探討其抗菌潛力。在抗菌實驗中，碳量子點對牙周病菌（牙齦卟啉單胞菌、具核酸桿菌）及常見病菌（大腸桿菌、綠膿桿菌）皆有良好的抑制效果。報告的優點是為嘗試的每個實驗都引用了參考文獻。這包括梅核不同碳化方法和每種鑑定方法。

以下幾點建議：1) 在數據呈現上，除了放入圖片以外，應要加以說明，解釋數據為什麼符合、或是不符合預期。做了很多實驗，在執行上也執行不錯，但是，似乎對於『為何要進行這樣的實驗』以及『為何這實驗可以給我們答案』不是很清楚。2) P24-P26 頁的圖譜相關說明略顯簡略。3) 圖二五、碳量子點溶液在照光下與黑暗中對大腸桿菌的抑制效果，與圖片內容光強度 vs ppm 似乎無關。需再確認。

3) 缺乏真的暗房對照組。

## 作品簡報

# 使用青梅果核廢料環保合成碳量子點

## 探討對抗老年人牙周菌機制



# 摘要

本研究以生質廢料青梅果核為前驅物，經由環保合成與新型修飾方法製備碳量子點，並探討其抗菌潛力。考慮到安全性，本研究選擇食用酸為修飾材料，發現當青梅果核和蘋果酸1:1混合煅燒時，最能有效提升碳量子點產率、螢光強度與抗菌能力。但蘋果酸無法單獨經本實驗方法合成碳量子點，推測青梅果核為主要碳源，蘋果酸則提供表面官能基修飾。

在抗菌實驗中，碳量子點對牙周病菌（牙齦卟啉單胞菌、具核梭桿菌）及常見病菌（大腸桿菌、綠膿桿菌）皆有良好抑制效果。經由電子顯微鏡及電子順磁共振儀驗證，本研究合成的碳量子點大小介於1~10奈米且能夠產生自由基，具備低風險抗菌潛力。

## 壹、研究動機



● 南投縣信義鄉的梅子夢工廠，每年生產大量梅子產品，但梅子果核質地堅硬、無法自然腐化，形成巨量農業廢料。



● 堅硬生質廢料尚未有可大量生產、環保的方法合成碳量子點。過往研究的修飾材料多採用強酸、強鹼或有毒的金屬離子，並不符合永續企業理念。



● 人口老化使全球超過19%的成年人患有牙周病。碳量子點良好的水溶性及抗菌能力有對抗牙周病的潛力。

## 貳、研究目的

1. 開發能由堅硬生質材料合成碳量子點的方法，並且有永續、大量製造的潛力。
2. 選擇食用酸修飾，在不增加合成步驟的情況下，提升碳量子點產率、螢光強度和抗菌能力。
3. 檢測碳量子點的抗菌能力，並探討其可能的抗菌機制。

## 參、研究方法

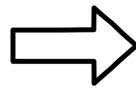
### 合成方法

#### 水熱法：

- 步驟一：打碎梅子果核
- 步驟二：煅燒200度三小時
- 步驟三：將水熱碳分散在水中
- 步驟四：用 0.22  $\mu\text{m}$  濾膜過濾
- 步驟五：凍乾取得碳量子點



(此流程圖由作者拍攝)



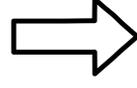
A組：未修飾

### 修飾方法

#### 方法一：梅子和酸類粉末1:1 混合後煅燒



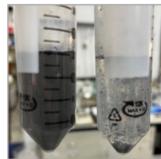
(以上流程圖由作者拍攝)



B組：檸檬酸

C組：蘋果酸

#### 超聲法：



碳粉震盪後分散情形不穩定  
(此圖由作者拍攝)

(此流程圖由作者拍攝)

#### 修飾方法二：梅子和酸溶液混合，蒸發後煅燒



D組：檸檬酸

E組：蘋果酸

## 肆、結果與討論

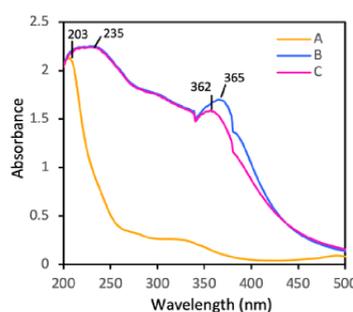
### 產率



圖一、碳量子點產量 由作者拍攝

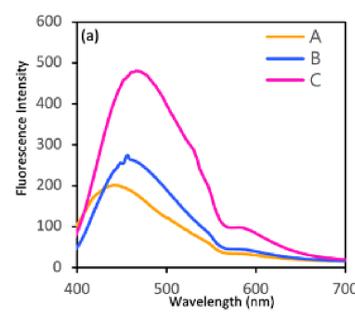
未修飾碳量子點產量 2~3 mg；檸檬酸修飾產量 10mg；蘋果酸修飾產量則是 50mg。推測修飾後使碳量子點的表面官能基更豐富，水溶性提升。碳量子點的溶液越偏向棕色，凍乾後的產率越高。

### UV光譜



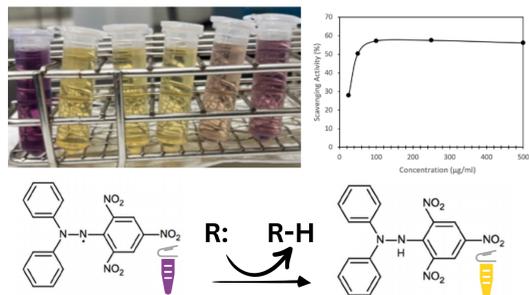
圖二、碳量子點紫外吸收光譜和螢光光譜 由作者測量製作

### 螢光光譜



碳量子點在200 nm皆有吸收波峰 (C=C 的 $\pi$ - $\pi^*$ 躍遷)；修飾碳量子點在 365 nm 有吸收波峰 (C=O 的 $n$ - $\pi^*$ 躍遷)。在365 nm 的激發光下，碳量子點螢光波峰分別紅移到 430 nm, 462 nm, 474 nm, C組強度為A組的2.6 倍。

## DPPH檢測自由基



**圖十二、碳量子點加DPPH測OD值** (圖由作者製作拍攝) 使用DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 檢測碳量子點產生自由基的能力，其在100 ppm時仍有抗氧化力。

### 羥自由基：

碳量子點和DMPO的水溶液在可見光和紫外光照射下，訊號有隨著時間變清晰，但沒有出現羥自由基常見的四個波峰（強度1:2:2:1）。其圖譜較雜亂，並且類似過氧化氫的圖譜（強度1:2:2:1），推測可能是樣品產生了過氧化氫等物質，造成羥自由基四個波峰不明顯。

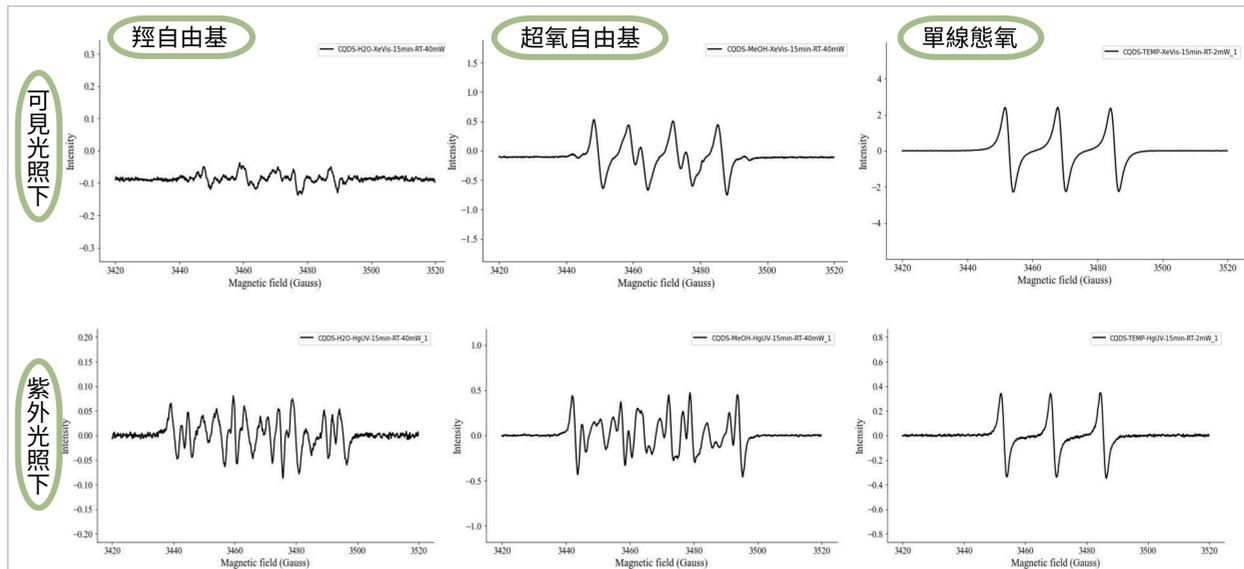
### 超氧自由基：

碳量子點和DMPO的MeOH溶液在可見光下訊號比紫外光下清晰，出現超氧自由基標誌性的六個波峰（強度1,2,4,6位置較3,5位置強）。推測碳量子點產生超氧自由基，但紫外光能量較大可能發生其他化學反應。

### 單線態氧：

碳量子點和TEMP的MeOH溶液在可見光和紫外光下皆產生單線態氧標誌性的三波峰（強度1:1:1），其訊號出現的速度也最快。推測碳量子點產生單線態氧的能力顯著。

## EPR 檢測自由基



**圖十三、C組碳量子點的電子順磁共振光譜** 圖由作者製作

## 伍、結論與應用

### 一、將青梅果核轉換成碳量子點的最佳方法

- 合成方法「水熱法」因步驟簡單且較穩定，勝過「超聲法」。
- 反應條件在相較低溫（200°C）及短時長（3小時），符合永續與經濟效應。
- 此方法也適用於其他堅硬生質材料，增加碳量子點前驅物的多樣性，不再局限於有機溶液或易腐爛的果皮。

### 二、蘋果酸的修飾作用

- 修飾後使碳量子點產量從2~3mg提升至50mg，螢光強度增為2.6倍。
- 修飾後的碳量子點抑菌能力最佳，對於四種病菌都出現最大的抑菌圈。
- 蘋果酸無法單獨合成碳量子點，但能使其表面出現相關官能基，提升其水溶性。

### 三、碳量子點的抗菌潛力

- 碳量子點低風險的殺菌機制以及對菌種的低針對性，有機會廣泛應用在抗菌材料。
- 碳量子點在100ppm時，可抑制牙周病主要病菌（牙齦卟啉單胞菌和具核酸桿菌）。在100ppm~250ppm時，對於常見病菌（大腸桿菌、綠膿桿菌）也有抑制效果。
- 碳量子點對於革蘭氏陰性菌（大腸桿菌、綠膿桿菌）、革蘭氏陽性菌（金黃色葡萄球菌）、牙周病菌（牙齦卟啉單胞菌）在照光下抑制效果都比非照光下強，推測其抗菌機制與光動力有關。
- 由DPPH和電子順磁共振光譜證實，碳量子點可產生單線態氧及超氧自由基殺菌，且不局限於紫外光激發。

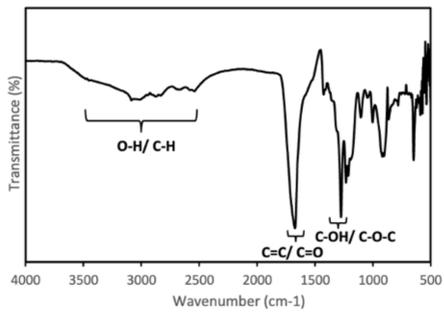
## 陸、未來展望

- 碳量子點具有良好的水溶性且低毒性，可應用於漱口水或牙膏，取代目前漱口水的刺激性成分一氯己定（CHX），如此漱口水溶劑便可以由酒精改成水。
- 青梅果核和蘋果酸，可經由不同比例、時長、溫度找出修飾效果更好的合成條件。修飾材料也可以選擇無毒的氨基酸，可能對於抗菌效果會更佳。

## 柒、參考資料

1. Pourmadadi, M., Rahmani, E., Rajabzadeh-Khosroshahi, M., Samadi, A., Behzadmehr, R., Rahdar, A., & Ferreira, L. F. R. (2023). Properties and application of carbon quantum dots (CQDs) in biosensors for disease detection: A comprehensive review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 80.
2. Jian, H. J., Wu, R. S., Lin, T. Y., Li, Y. J., Lin, H. J., Harroun, S. G., Lai, J. Y., & Huang, C. C. (2017). Super-Cationic Carbon Quantum Dots Synthesized from Spermidine as an Eye Drop Formulation for Topical Treatment of Bacterial Keratitis. *ACS Nano*, 11(7), 6703-6716.
3. Zhang, J., Xia, A., Zhu, X., Huang, Y., Zhu, X., & Liao, Q. (2022). Co-production of carbon quantum dots and biofuels via hydrothermal conversion of biomass. *Fuel Processing Technology*, 232.

### C組碳量子點 IR紅外光譜

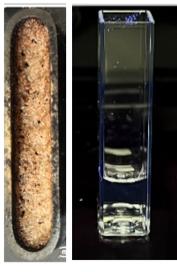
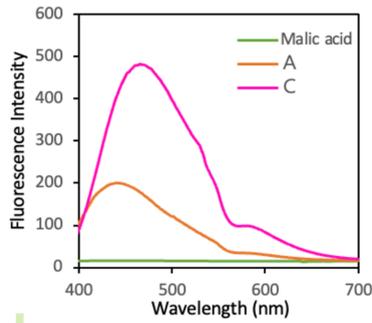


(此圖由作者測量製作)

圖三、碳量子點紅外光譜

碳量子點經蘋果酸修飾後在1706 nm (C=C和C=O)和1275 nm的吸收波峰 (C-OH和C-O-C), 皆可對應蘋果酸的常見官能基, 推測蘋果酸修飾成功。

### 蘋果酸經此實驗方法

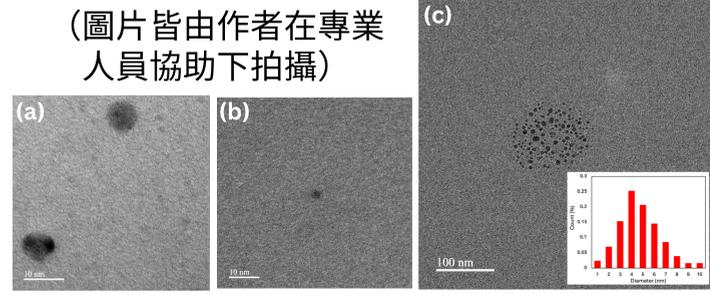


(此圖由作者製作拍攝)

圖四、蘋果酸螢光光譜、效果和煨燒後產物

蘋果酸單獨經 200 度三小時煨燒後, 產物顏色較淺, 溶水後無法產生碳量子點的螢光效應。推測蘋果酸並非主要碳源, 只可修飾碳量子點。

### 碳量子點尺寸 (TEM)

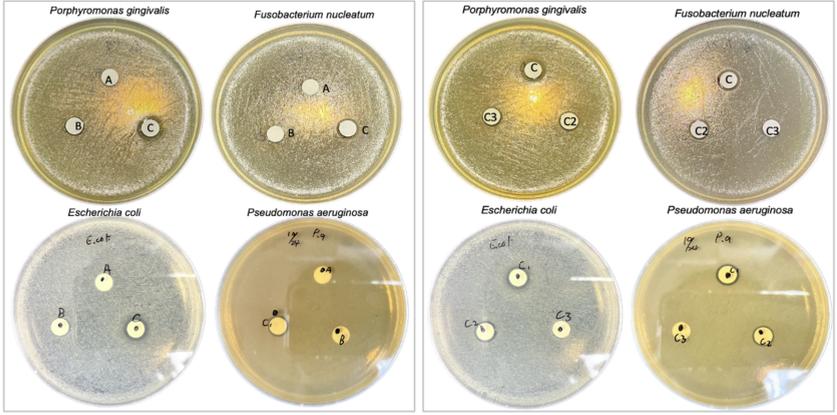
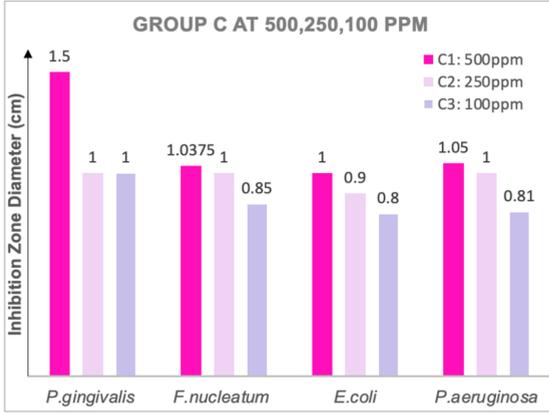
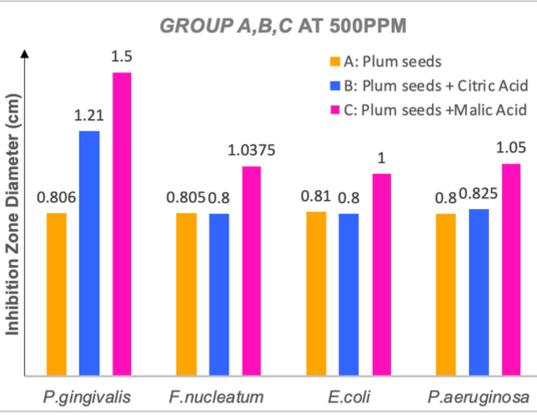


(圖片皆由作者在專業人員協助下拍攝)

圖五、電子顯微鏡下的碳量子點

(a)、(b)分別為 A 組和 C 組的碳量子點, 尺寸在 1~10 nm, (c)為 C 組碳量子點中聚集的情況, 大小分析後平均為 5.2 奈米。尺寸的統一性尚有加強空間。

### 碳量子點抗菌能力 (用抑制圈找最小抑制濃度)



圖六、碳量子點抗菌效果總整理 圖片由作者製作拍攝

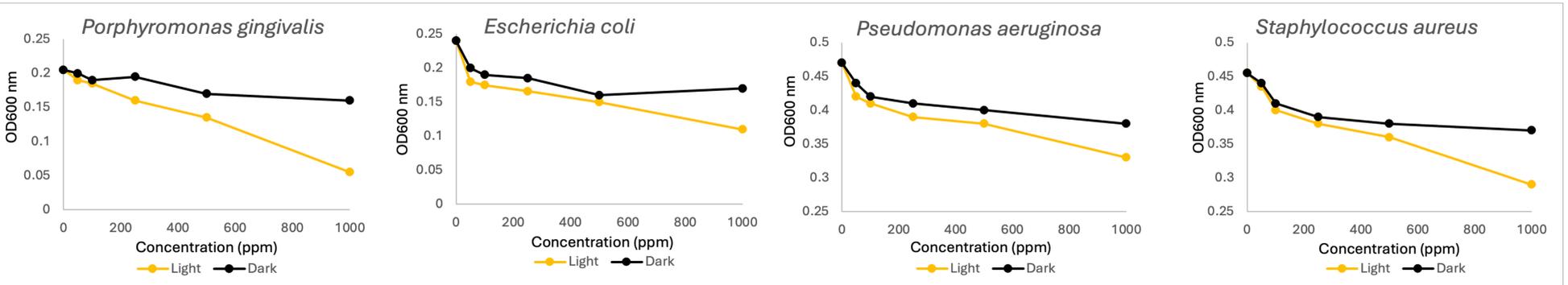
### 碳量子點抗菌效果:

三組碳量子點溶液在500 ppm, 對牙齦卟啉單胞菌 (*P.gingivalis*) 的抑制效果顯著, B組(檸檬酸修飾)與C組(蘋果酸修飾)對綠膿桿菌 (*P.aeruginosa*) 亦有抑制效果。但對具核酸桿菌 (*F.nucleatum*) 和大腸桿菌 (*E.coli*) 只有C組出現明顯抑菌圈。推測C組顯著的抗菌能力, 與其表面官能基的完整性以及能產生最強螢光有關係。

### C組劑量依賴性:

C組碳量子點在 100 ppm 可抑制牙齦卟啉單胞菌和具核酸桿菌。在250~100 ppm可抑制大腸桿菌和綠膿桿菌。

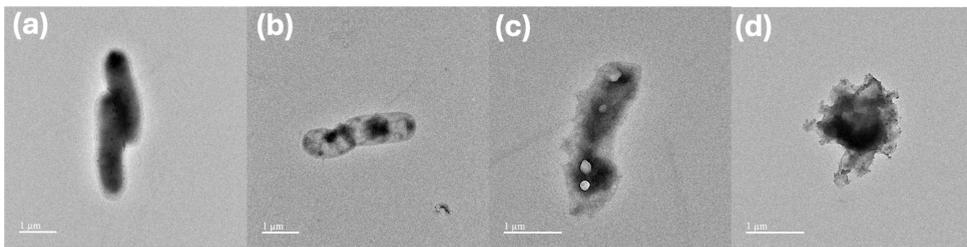
### 碳量子點抗菌能力 (用抑制圈找最小抑制濃度)



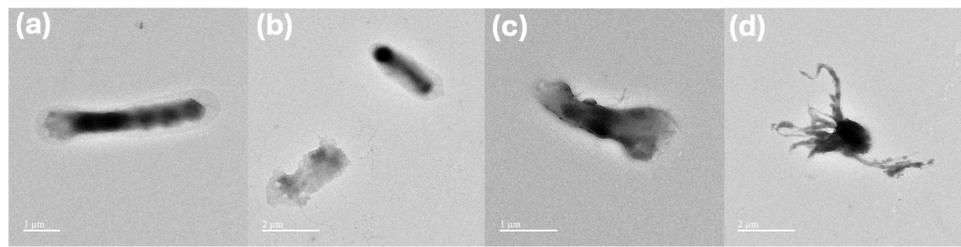
圖七、碳量子點在照光/ 不照光下的抗菌效果總整理 圖片由作者製作

C組碳量子點在照日光燈下對牙齦卟啉單胞菌 (*P.gingivalis*)、大腸桿菌 (*E.coli*)、綠膿桿菌 (*P.aeruginosa*)、金黃色葡萄球菌 (*S.aureus*) 皆比非照光下的抑制效果佳, 可見碳量子點可能是藉由光動力殺菌機制。

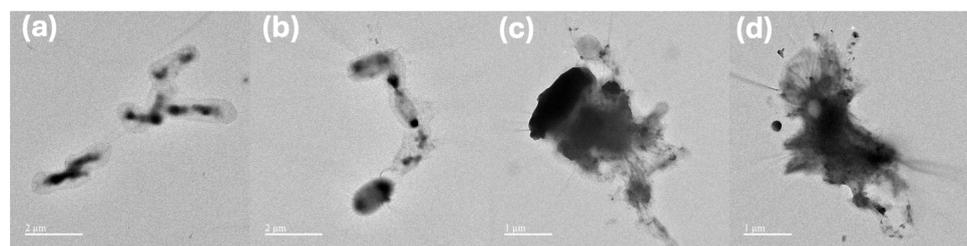
### 碳量子點抗菌能力 (電子顯微鏡下細菌破裂情況)



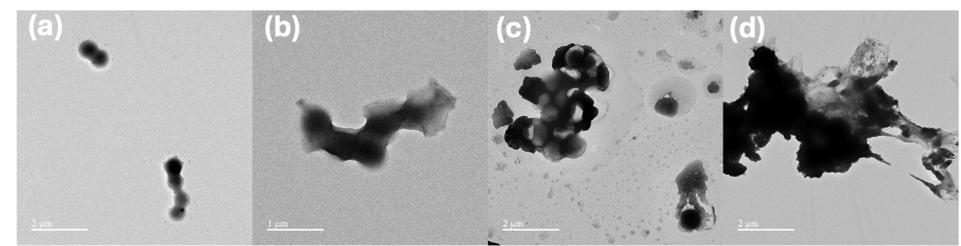
圖八、牙齦卟啉單胞菌 (*P.gingivalis*) 由作者在專業協助下拍攝



圖九、大腸桿菌 (*E.coli*) 由作者在專業協助下拍攝



圖十、綠膿桿菌 (*P.aeruginosa*) 由作者在專業協助下拍攝



圖十一、金黃色葡萄球菌 (*S.aureus*) 由作者在專業協助下拍攝

每張圖片 (a)為完整細菌、(b)為未照光下被破壞的細菌、(c)(d)皆為照光下被破壞的細菌。在電子顯微鏡下, 照光組別被破壞的細菌較多, 且整體情況也比較嚴重。可見碳量子點確實能破壞細菌的細胞膜、細胞壁, 並且在光照環境下殺菌效果更佳。