

Cu-ZIF-8 金属有机框架纳米材料的合成及抗菌性能

李京燕,熊楠,樊一凡,林泓域*,高锦豪

(厦门大学化学化工学院,表界面化学全国重点实验室,福建 厦门 361005)

摘要: [目的] 金属有机框架(MOFs)材料是一种新兴的可生物降解材料,在抗菌方面显示出了巨大的应用潜力.但大部分 MOFs 抗菌作用机制单一,抗菌效果较差,发展多种机制协同抗菌的 MOFs 有望显著提升其抗菌效果.[方法] 在室温条件下通过“一锅法”制备对模拟光照和微酸环境具有双重响应的铜-沸石咪唑酯骨架-8(Cu-ZIF-8)纳米颗粒,并研究其抗菌性能.[结果] 电子自旋共振(ESR)图谱结果表明,Cu-ZIF-8 在黑暗条件下即可产生活性氧物种(ROS),而光照条件可以显著促进 ROS 的产生.上调的 ROS 水平会引起细菌内部一系列的氧化应激反应,产生抗菌作用.此外,Cu-ZIF-8 纳米颗粒可以在细菌感染的微酸环境中缓慢地释放具有抗菌能力的 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} ,实现协同抗菌的目的.体外抗菌实验结果表明,在光照条件下,Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)具有良好的抗菌活性,其最低抑菌质量浓度分别为 31.25 和 300.0 $\mu\text{g/mL}$.经过 Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的纺织布对金黄色葡萄球菌具有显著的抑制效果.[结论] 以上结果表明,Cu-ZIF-8 纳米颗粒在抗菌生物材料领域具有良好的应用潜力,同时也为未来高效抗菌材料的开发提供了新的研究思路.

关键词: 沸石咪唑酯骨架-8(ZIF-8);双重响应;抗菌活性;活性氧物种

中图分类号:TB34

文献标志码:A

文章编号:0438-0479(2025)05-0809-09

Synthesis and antibacterial properties of Cu-ZIF-8 metal organic framework nanomaterials

LI Jingyan, XIONG Nan, FAN Yifan, LIN Hongyu*, GAO Jinhao

(State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surfaces, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: [Objective] Bacterial infections pose a critical threat to global public health. Metal-organic frameworks (MOFs), a novel class of porous biodegradable materials, have attracted considerable attention in the field of antibacterial research. They offer several advantages, including low production costs, high design flexibility, structural diversity, simple preparation processes, water solubility, and long-term stability. These properties position MOFs as an attractive solution for pioneering advancements in antibacterial treatments, providing a sustainable alternative to traditional antibiotic therapies and addressing the urgent challenge of antibiotic resistance. However, MOFs often rely solely on a single mechanism of action, which can significantly limit their antibacterial efficacy. To enhance their therapeutic potential, it is essential to develop MOFs with synergistic mechanisms. [Methods] In this study, we applied encapsulation and coordination techniques to introduce additional functionalities to zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) MOFs, which are ideal candidate of antibacterial agents due to their good affordability, mild synthesis conditions, ease of functionalization, and potential antimicrobial activities. Our team successfully synthesized Cu-ZIF-8 nanoparticles utilizing a straightforward, one-pot method conducted at room temperature. These nanoparticles were characterized by a series of analytical

收稿日期:2024-04-24 录用日期:2024-06-11

基金项目:国家自然科学基金(22077107);福建省自然科学基金(2023J06002)

*通信作者:hylin007@xmu.edu.cn

引文格式:李京燕,熊楠,樊一凡,等. Cu-ZIF-8 金属有机框架纳米材料的合成及抗菌性能[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2025, 64(5):809-817.

Citation: LI J Y, XIONG N, FAN Y F, et al. Synthesis and antibacterial properties of Cu-ZIF-8 metal organic framework nanomaterials[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2025, 64(5):809-817. (in Chinese)



methods including transmission electron microscopy (TEM), energy dispersive spectroscopy (EDS), X-ray diffraction (XRD), and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). Their responsiveness to acidosis and light was assessed using TEM and electron spin resonance (ESR) spectroscopy, and their minimum inhibitory mass concentration (MIC) and minimum bactericidal mass concentration (MBC) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were evaluated with serial dilution assays. Their antibacterial mechanism was further investigated with confocal laser scanning microscopy (CLSM). Finally, these nanoparticles were used to prepare antibacterial textile fabrics and the efficacy of these fabrics against *S. aureus* was studied. [Results] ESR spectroscopy analysis revealed that Cu-ZIF-8 nanoparticles were capable of generating reactive oxygen species (ROS) even under dark conditions, with production substantially enhanced upon exposure to sunlight. This elevated ROS level initiated oxidative stress, leading to notable antibacterial effects. Additionally, Cu-ZIF-8 nanoparticles released antibacterial Zn^{2+} and Cu^{2+} in mildly acidic environments, enhancing their bactericidal effectiveness through synergistic mechanisms. *In vitro* testing demonstrated that these nanoparticles exhibited potent antibacterial activity against both *S. aureus* and *E. coli*, with MICs of 31, 25 and 300, 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ under light condition, respectively. Notably, textiles treated with Cu-ZIF-8 nanoparticles showed significant antibacterial efficacy against *S. aureus*, highlighting their practical applications. These results confirm the dual functionality of Cu-ZIF-8 nanoparticles and their promise as antibacterial biomaterials with significant potential in medical and environmental applications. The enhanced antibacterial activity under light conditions introduces new possibilities for designing novel antibacterial materials that leverage both natural and artificial light sources, offering effective, light-responsive solutions to combat microbial infections. [Conclusion] Cu-ZIF-8 nanoparticles were successfully synthesized using a straightforward one-pot method at room temperature, demonstrating their substantial antibacterial efficacy. These nanoparticles not only exhibited significant inhibitory effects on different bacterial strains but also provided key data and theoretical insights to support the further development of efficient antibacterial materials. This work represents a meaningful advance in antibacterial research. Moving forward, future studies will focus on evaluating antibacterial effects of these nanoparticles under diverse environmental conditions and optimizing their practical applications across different domains.

Keywords: zeolitic imidazolate framework (ZIF-8); dual-responsive; antibacterial activity; reactive oxygen species

金属有机框架(MOFs)材料是由金属中心(如金属离子或团簇)与有机配体通过配位键组成的一维、二维或三维结构的多孔材料^[1]. MOFs 相对于其他纳米材料的最大优势在于其具有较高的可设计性、较大的比表面积及可调节的功能金属离子、有机配体和多孔结构^[2-4]. 相较于传统抗菌剂, MOFs 在抗菌领域展现出多方面的优势: 1) MOFs 可以通过螯合作用整合多种杀菌金属离子(如 Fe^{3+} 、 Ag^+ 、 Zn^{2+} 和 Cu^{2+}) 以及一些有机抗菌剂或天然抗菌剂, 形成的复合材料能在特定刺激(如 pH 值降低或激光照射)下持续释放有效成分^[5]; 2) 以光催化分子作为有机配体的 MOFs 能够在光照条件下产生活性氧物种(ROS), 显著提升其光催化抗菌效率^[6]; 3) MOFs 的金属节点由于其螯合作用展现出较低的极性, 从而增强其亲脂性, 有助于 MOFs 更有效地穿透细菌细胞膜, 发挥杀菌作用^[7]; 4) MOFs 的高孔隙性和大比表面积使其能够封装其他抗菌物质, 通过在其表面附着活性基团进行化学修饰, 可进一步发展成为高效的抗菌复合材料^[8]. 这些特性使 MOFs 在抗菌领域表现出独特的优势.

在诸多 MOFs 中, 沸石咪唑酯骨架-8(ZIF-8) 因对细菌感染具有较好的酸响应能力、可释放抗菌金属离子及良好的生物相容性, 在抗菌领域得到较为广泛的应用^[9-11]. 在微酸性环境中, ZIF-8 纳米颗粒能够有效

释放 Zn^{2+} . Zn^{2+} 具有高亲和力, 通过静电相互作用吸附在带负电的细菌细胞壁表面, 并改变细菌细胞膜的通透性从而进入细菌细胞内部, 抑制细菌酶的活性, 最终导致细菌死亡^[12]. 然而, ZIF-8 材料自身的抗菌活性比较有限, 在一定程度上限制了其在抗菌领域的进一步推广应用^[13]. Cu^{2+} 的抗菌能力早已被发现并广泛应用. 近年来的研究表明, Cu^{2+} 的抗菌能力来源于其可以诱导细菌中的 ROS 上调^[14]. 如何将 Cu^{2+} 的抗菌能力与 MOFs 结合起来发展新型抗菌材料引起了不少研究者的关注^[15]. 目前, 大部分 MOFs 的作用机制单一, 抑菌效果较差, 因此发展多种机制协同抗菌的 MOFs 有望显著提升其抗菌效果.

本研究通过在 ZIF-8 合成过程中添加 Cu^{2+} , 合成了 Cu-ZIF-8 纳米颗粒, 采用透射电子显微镜(TEM)、X 射线衍射(XRD)和 X 射线光电子能谱(XPS)等对其进行表征, 并进一步研究其抗菌性能.

1 实验部分

1.1 实验试剂

六水合硝酸锌 [$Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$]、五水合硫酸铜 ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)、甲醇均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司. 2-甲基咪唑 (2MIM, 分析纯) 和

3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB,纯度99%)购自上海毕得医药科技有限公司,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI,5 mg/mL),碘化丙啶(PI,5 mg/mL),2,7-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA,10 mmol/L)购自Sigma-Aldrich有限公司,5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO,纯度97%)购自Alfa化学试剂有限公司(中国上海),LB(Luria-Bertani)肉汤和LB营养琼脂购自北京索莱宝科技有限公司,磷酸盐缓冲溶液(PBS,pH 7.2)购自山东思科捷生物技术有限公司。

1.2 实验仪器

JEOL的JEM-1400 TEM和Rigaku Ultima IV粉末XRD仪,HITACHI的S-4800扫描电子显微镜(SEM),FEI的Tecnai F30高分辨TEM,Thermo Fisher Scientific的XPS仪和MultiSkan FC酶标仪,Leica的TCS SP8激光共聚焦显微镜(CLSM),河南爱博特科技有限公司的ZNCL-S智能恒温磁力搅拌器,奥豪斯仪器有限公司的AR124CN电子分析天平,湖南湘仪仪器有限公司的TG 16-NS台式高速离心机,Branson的2510E-DTH超声波清洗仪,ELGA Lab Water的PURELAB flex纯水仪,智城的摇床,苏州净化设备有限公司的SW-CJ-2FD双人单面净化工作台。

1.3 纳米颗粒的制备

1.3.1 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的制备

将1.6279 g $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 和0.06958 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 混合物溶于240 mL甲醇中,超声20 min获得澄清的Cu/Zn储备溶液[$n(Cu) : n(Zn) = 1 : 20$,总金属离子浓度保持24 mmol/L,其余投料方式参见支撑材料(<https://jxmu.xmu.edu.cn/Upload/html/20250508.html>)表S1]。在室温条件下,分别取20 mL上述溶液缓慢倒入20 mL 1 mmol/L 2MIM的甲醇溶液中,并在磁力搅拌下反应4 h,得到蓝色溶液。通过离心收集产物,使用甲醇洗涤3次后,在真空条件下干燥得到纯净的不同Cu含量的Cu-ZIF-8纳米颗粒。

1.3.2 ZIF-8 纳米颗粒的制备

分别将1.71354 mg $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 和9.852 g 2MIM溶于240 mL甲醇中,并超声20 min获得澄清溶液。在室温条件下,取20 mL $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 的甲醇溶液缓慢倒入20 mL 1 mmol/L 2MIM的甲醇溶液中,并在磁力搅拌下反应4 h,得到白色溶液。通过离心收集产物,使用甲醇洗涤3次后,在真空条件下干燥得到纯净的ZIF-8纳米颗粒。

1.4 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的响应性能测试

以DMPO为自旋捕获剂,采用电子顺磁共振(ESR)波谱技术检测体系中产生的超氧负离子($\cdot O_2^-$)^[16]。分别将Cu-ZIF-8和ZIF-8纳米颗粒重悬于2 mL甲醇中,分成两组:一组置于模拟太阳光下(3 W/cm²)光照45 min,另一组置于黑暗处45 min。随后,迅速加入DMPO自旋捕获剂,在室温条件下测试其ESR波谱。分别将Cu-ZIF-8和ZIF-8纳米颗粒重悬于pH 6.5的Tris-HCl缓冲液中,孵育0,1,2和3 h,并进行TEM表征,测试其酸性响应性能。

1.5 细菌培养方法

使用革兰氏阴性菌中的大肠杆菌(*Escherichia coli*)和革兰氏阳性菌中的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)进行抗菌性能测试。两种细菌培养方式相同:将细菌接种于20 mL LB肉汤中,并在37 °C下以180 r/min振荡孵育,通过酶标仪测定其在600 nm的吸光度(A_{600}),把细菌培养至对数生长期(培养至 $A_{600} = 0.6$),调整菌液浓度为 2×10^6 CFU/mL(CFU为菌落形成单位),以供进一步使用。

1.6 最低抑菌质量浓度(MIC)和最低杀菌质量浓度(MBC)的测定

MIC是指在体外培养细菌18~24 h后能抑制培养基中病原菌生长的最低药物浓度,是体现药物抗菌活性的一个重要指标^[17]。Cu-ZIF-8和ZIF-8纳米颗粒对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的MIC采用常规的微量肉汤稀释法来测定。

Cu-ZIF-8溶液的配制:将2 mg Cu-ZIF-8纳米颗粒分散于1 mL灭菌水中,超声振荡10 min,配制成质量浓度为2 mg/mL的Cu-ZIF-8溶液。

Cu-ZIF-8溶液的梯度稀释:在96孔板中,每孔加入150 μ L LB液体培养基,往第1列各孔中加入150 μ L 2 mg/mL的Cu-ZIF-8溶液,混匀后分别取150 μ L至第2列,吹打混匀后吸取150 μ L至第3列,以此类推,连续稀释至第7列,最后一列不进行任何处理,得到质量浓度分别为1 000,500.0,250.0,125.0,62.50,31.25,15.62 μ g/mL的Cu-ZIF-8溶液。

菌液与Cu-ZIF-8溶液混合:在上述96孔板中,每孔加入150 μ L 2×10^6 CFU/mL的金黄色葡萄球菌菌液,吹打混匀后,形成质量浓度依次为500.0,250.0,125.0,62.50,31.25,15.62,7.812 μ g/mL的Cu-ZIF-8混合溶液。LB液体培养基不进行任何处理为空白对照组,加菌液不加Cu-ZIF-8溶液的为阴性对照组,加菌液和ZIF-8溶液的为对照分子组。处理完成后,将

96 孔板在 37 °C 下孵育 20 min; 为了避免光照产生的热量杀死细菌, 将光照组的 96 孔板放在冰盒上, 在模拟太阳光激发器下光照, 而黑暗组用锡纸包住, 45 min 后将两组 96 孔板置于 37 °C 培养箱中孵育 22 h.

对于大肠杆菌菌液和 Cu-ZIF-8、ZIF-8 纳米颗粒的混合溶液, 采用相同的处理方法, 相应纳米颗粒的最终质量浓度为 800.0, 700.0, 600.0, 500.0, 400.0, 300.0, 200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

MIC 的确定: 观察培养 22 h 后的 96 孔板, 通过目测检查, 确定首列呈现澄清状态的最小质量浓度即为纳米颗粒的 MIC. 此外, 通过酶标仪测试其 A_{600} , 当 $A_{600} < 0.1$ 时, 则认为是无菌生长, 从而确定纳米颗粒的 MIC.

MBC 的确定: 根据 MIC 测试结果, 依次从样品质量浓度大于或等于 MIC 的 96 孔板中吸取 50 μL 的细菌悬液, 然后稀释 10^4 倍, 将阴性对照组的细菌悬液稀释 10^8 倍. 将含纳米颗粒的细菌悬液滴加到平板上, 然后以 10 倍梯度稀释 4 次, 每次取 10 μL 滴加到平板上. 稀释后的阴性对照也进行 10 倍梯度稀释 4 次, 涂板. 置于 37 °C 培养箱中培养 20 h, 观察培养皿上细菌菌落的生长情况, 在培养皿里菌落数少于 5 个或无菌落生长的质量浓度即为纳米颗粒的 MBC.

1.7 细菌的活/死染色

用 DAPI 和 PI 染色来评价 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌效果^[18]. 将培养 18 h 的细菌进行活化处理, 加入一定量的纳米颗粒后分别在光照和黑暗条件下共孵育 45 min. 孵育结束后, 通过离心去除上清, 并用 PBS 洗涤 2 次. 随后加入 DAPI 和 PI 荧光探针, 并在 37 °C 下继续孵育 30 min 后, 用 PBS 清洗 3 次, 以充分去除未进入细菌细胞内的 DAPI 和 PI 荧光探针. 将沉淀物用 PBS 重悬, 并转移到含玻璃底的 3.5 cm 细胞共聚焦专用培养皿里, 通过 CLSM 进行观察, 使用 Leica TCS-SP8 采集图像.

1.8 ROS 的检测

利用荧光探针 DCFH-DA 检测 ROS^[19]. 分别将 2×10^6 CFU/mL 的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌液与 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DCFH-DA 溶液混合均匀, 用 PBS 清洗 3 次, 以充分去除未进入细菌细胞内的 DCFH-DA 探针; 然后分别加入 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 溶液, 分别在光照和暗处孵育 45 min, 离心后将沉淀物用 PBS 清洗 2 次后重悬, 转移到含玻璃底的 3.5 cm 细胞共聚焦专用培养皿中. 通过 CLSM 进行观察, 使用 Leica TCS-SP8 采集图像. 参考文献[20]的方法利用 TMB 检测 ROS.

1.9 抗菌纺织布的制备及抗菌性检测

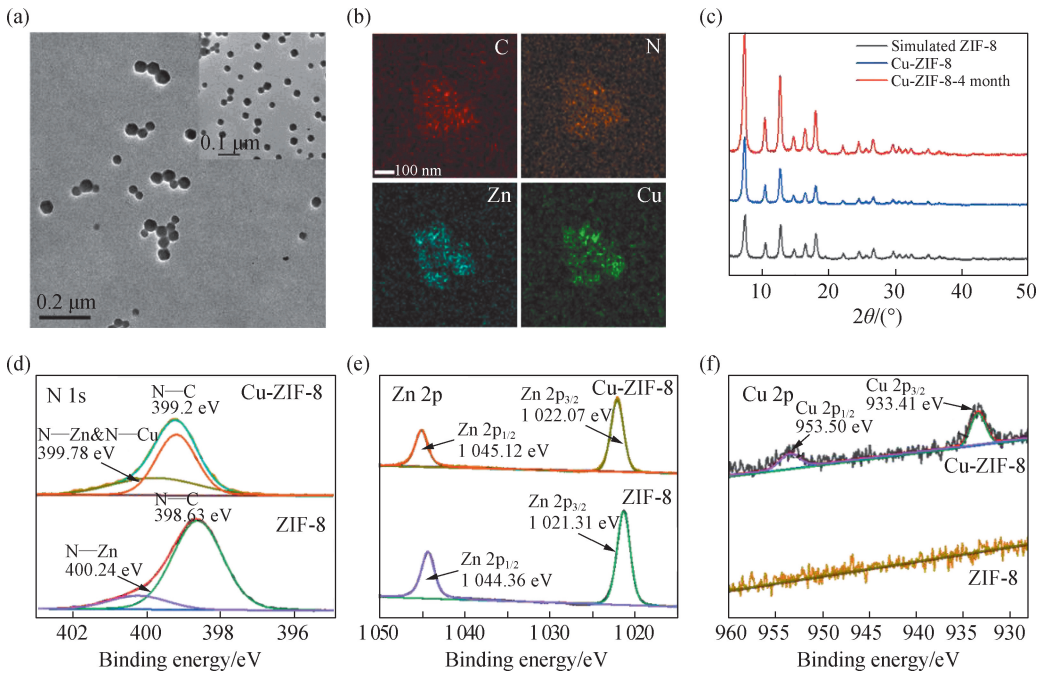
将自制的纺织物(5 cm \times 5 cm)经过高温灭菌后, 分别放入含有 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 溶液的烧杯中, 浸泡 2 h 后, 将纺织物置于 60 °C 烘箱里进行干燥, 待完全干燥后即可得到抗菌纺织布. 利用 SEM 进行表征. 取部分抗菌纺织布进行 5 次超声清洗, 在烘箱里干燥后作为对照样品.

将上述制备好的抗菌纺织布置于超净工作台里, 紫外光照射 1 h, 以确保纺织布为无菌状态. 接着将抗菌纺织布浸泡在 2×10^6 CFU/mL 金黄色葡萄球菌溶液里 10 min, 然后将纺织布平放在平板上, 经光照或者暗处孵育 45 min 后, 再于 37 °C 培养箱中培养 20 h. 将经过上述处理的纺织布浸泡在 5 mL LB 肉汤中 10 min, 然后将培养基稀释 10^5 倍, 取 100 μL 进行涂板处理, 再将平板置于 37 °C 培养 20 h, 观察菌落生长情况, 以此来评估纺织布的杀菌效果.

2 结果与讨论

2.1 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的表征

如图 1 所示, 合成的产物颗粒为近球形结构[图 1(a)], 其平均粒径约 25 nm; EDS 元素分布表明 Cu 与 Zn 元素均匀地分布在合成的纳米颗粒中[图 1(b)]; XRD 分析表明其晶体结构与 ZIF-8 相近[图 1(c)], XPS 表明产物纳米颗粒中存在着 Zn 与 Cu 元素[图 1(d)~(f)]. 对 XPS 谱图的进一步分析显示, N 能谱区在 399.78 eV 的峰对应于 N—Zn 或 N—Cu 的结合能, Zn 能谱区在 1 022.07 和 1 045.12 eV 处的 2 个峰分别对应于 Zn 2p_{3/2} 和 Zn 2p_{1/2} 的特征结合能. Cu 能谱区在 933.41 和 953.50 eV 的 2 个峰分别对应于 Cu 2p_{3/2} 和 Cu 2p_{1/2} 的特征结合能. 这些结果都证明 Cu 元素以取代 Zn 元素的方式嵌入产物纳米颗粒, 证明成功合成了 Cu-ZIF-8 纳米颗粒. 在室温下放置 4 个月, Cu-ZIF-8 纳米颗粒的 TEM 照片[图 1(a)插图]和 XRD 谱图[图 1(c)]均无明显变化, 证明 Cu-ZIF-8 纳米颗粒具有良好的稳定性. 保持金属离子总量不变, 通过改变 Cu/Zn 的投料比(物质的量之比)制备了一系列 Cu-ZIF-8 纳米颗粒. 电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)和 XRD 分析结果显示, 随着 Cu/Zn 投料比的增加, 合成的 Cu-ZIF-8 纳米颗粒中 Cu 含量仅略微上升, 且其结构和抗菌性能均无显著差异(支撑材料表 S1 和图 S1). 综合考虑, 最终选择 Cu/Zn 投料比为 1 : 20 制备的 2-Cu-ZIF-8(下文简称 Cu-ZIF-8)纳米颗粒进行抗菌性能研究.



(a)中插图为室温放置 4 个月后的 Cu-ZIF-8 纳米颗粒(Cu-ZIF-8-4 month)的 TEM 图。

图 1 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的 TEM 图(a)、能量色散(EDS)元素分布图(b)和 XRD 谱图(c),及 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的 N 1s(d)、Zn 2p(e)和 Cu 2p(f)的 XPS 局域谱

Fig. 1 TEM image (a), EDS element mapping images (b), and XRD patterns (c) of Cu-ZIF-8 nanoparticles; XPS localized spectra of N 1s (d), Zn 2p (e), and Cu 2p (f) of Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles

2.2 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的响应性能分析

从图 2(a)可以清楚看到 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒均能对微酸条件产生响应,释放出 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和有机配体,直至整个 MOF 完全崩塌。这与文献[21]报道的结果一致。ICP-OES 结果进一步显示:在微酸性条件下 Cu-ZIF-8 纳米颗粒能明显释放 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} (pH 6.5 时 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 的释放量分别为 8.2% 和 64%, pH 5.5 时 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 的释放量分别为 15% 和

79%),并随着酸性的增强释放量增加,而在中性和弱碱性条件下则不会释放 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} (释放量几乎为 0)。如图 2(b)所示:ZIF-8 纳米颗粒溶液在模拟太阳光照或者黑暗条件下均未观察到典型的 $DMPO-O_2^-$ 加合物的 6 个特征峰;而 Cu-ZIF-8 纳米颗粒溶液在模拟太阳光照或者黑暗条件下均显示出 $DMPO-O_2^-$ 加合物的 6 个特征峰,表明溶液中产生了数量显著的 ROS。这一现象可归因于 $3d^9$ 电子构型的 Cu^{2+} 可以有效促进电子

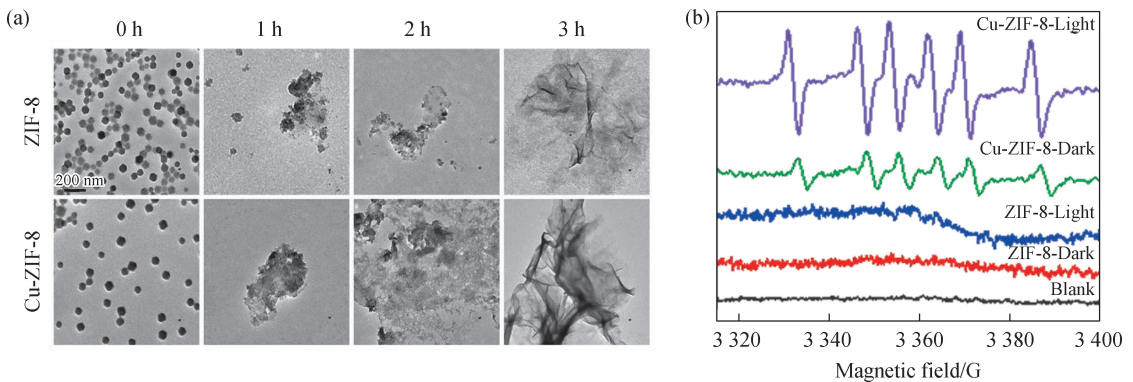


图 2 经过 Tris-HCl 缓冲溶液(pH 6.5)孵育不同时间的 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒的 TEM 图(a),黑暗处理和模拟太阳光照处理(45 min)下含有 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒的 DMPO 溶液的 ESR 谱图(b)

Fig. 2 TEM images of Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles incubated in Tris-HCl buffer (pH 6.5) for different durations (a), ESR spectra of DMPO solutions containing Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles with dark treatment and simulated sunlight treatment (45 min) (b)

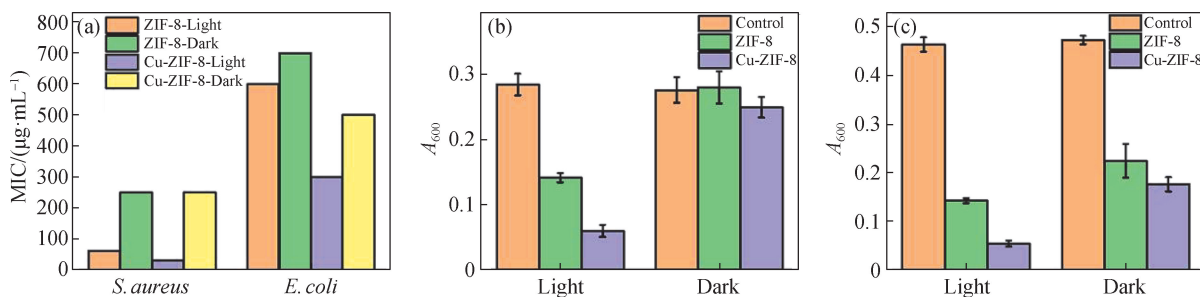
转移从而产生数量显著的 ROS. 且在模拟太阳光照条件下其特征峰强度是黑暗条件下的 10 倍, 说明模拟太阳光能更有效地促进 Cu-ZIF-8 纳米颗粒产生 $\cdot O_2^-$. 进一步使用 TMB 溶液来检测体系中产生的 ROS(支撑材料图 S2). 结果表明在模拟太阳光照条件下 Cu-ZIF-8 纳米颗粒能显著促进 ROS 的产生. 这些 ROS 能够引起细菌细胞的氧化应激反应, 从而实现良好地抗菌效果.

2.3 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的 MIC 和 MBC

MIC 测试实验结果[图 3(a)]显示: 在模拟光照和黑暗条件下, Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 31.25 和 250.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 而 ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 62.50 和 250.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Cu-ZIF-8 纳米颗粒对大肠杆菌的 MIC 分别为 300.0 和 500.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 而 ZIF-8 纳米颗粒对

大肠杆菌的 MIC 分别为 600.0 和 700.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 这些结果表明, 模拟光照条件能够有效提高 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌能力. 与大肠杆菌相比, Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌具有更好的抑菌作用. 与 ZIF-8 纳米颗粒相比, 无论是在模拟光照还是黑暗条件下, Cu-ZIF-8 纳米颗粒都表现出较强的抑菌能力.

为了进一步确定 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抑菌效果, 测定在不同条件下含有相应 MIC 纳米颗粒的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌液在孵育后的 A_{600} . 如图 3(b) 和(c)所示, 与其他组别相比, 在模拟光照条件下 Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的细菌的 A_{600} 最低, 进一步证明在模拟光照条件下 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对细菌生长有良好的抑制作用.



(a)Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒在不同条件下对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC; (b)和(c)分别为在不同培养条件下金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌液的 A_{600} . 菌液起始 $A_{600}=0.051$, 光照或黑暗处理 45 min, 孵育 22 h.

图 3 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒的抗菌性能

Fig. 3 Antibacterial capacities of Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles

通过实验进一步确定两种纳米颗粒在不同条件下的 MBC. 如图 4 所示: 在模拟光照和黑暗条件下, Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌的 MBC 分别为 31.25 和 250.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对大肠杆菌的 MBC 分别为 500.0 和 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 而 ZIF-8 纳米颗粒对于金黄色葡萄球菌的 MBC 分别为 62.50 和 500.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对大肠杆菌的 MBC 分别为 500.0 和 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 由此可见, Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌的杀菌效能明显高于 ZIF-8 纳米颗粒, 其 MBC 仅为 ZIF-8 的一半, 杀菌效率提高了 1 倍. 而 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒对大肠杆菌的 MBC 相同, 表明两者对大肠杆菌的杀菌能力相当.

另外, 实验结果显示 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MBC 差别较大, 这主要是因为金黄色葡萄球菌和大肠杆菌分属革兰氏阳性菌和阴性菌, 两者结构差异较大. 金黄色葡萄球菌的质膜外是由较厚的肽聚糖和薄的包膜层组成, 而大肠杆菌

的质膜外结构较复杂, 由包膜、脂多糖、外膜和肽聚糖构成^[22]. Cu-ZIF-8 纳米颗粒的杀菌机制是通过与细菌肽聚糖上的羧基结合, 在微酸环境下释放出 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} , 破坏细菌细胞膜的通透性^[23]. 进入细菌内部的金属离子可以与蛋白质结合, 扰乱细菌的正常生理活动, 从而导致细菌的死亡. 然而, 大肠杆菌的结构特征极大地减少了 Cu-ZIF-8 与肽聚糖上羧基的接触概率, 降低了其对细菌的杀伤能力. 因此, Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MBC 差别较大.

2.4 活/死染色验证 Cu-ZIF-8 纳米颗粒杀菌效果

为了进一步验证 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的杀菌效果, 采用 PI 染色来标记细胞膜损伤的死亡细菌, 并用 DAPI 对所有细菌群(存活和死亡)进行染色. 由于金黄色葡萄球菌具有较厚的细胞壁(20~80 nm), PI 无法穿透其细胞壁和细胞膜进入细菌内部与 DNA 和 RNA

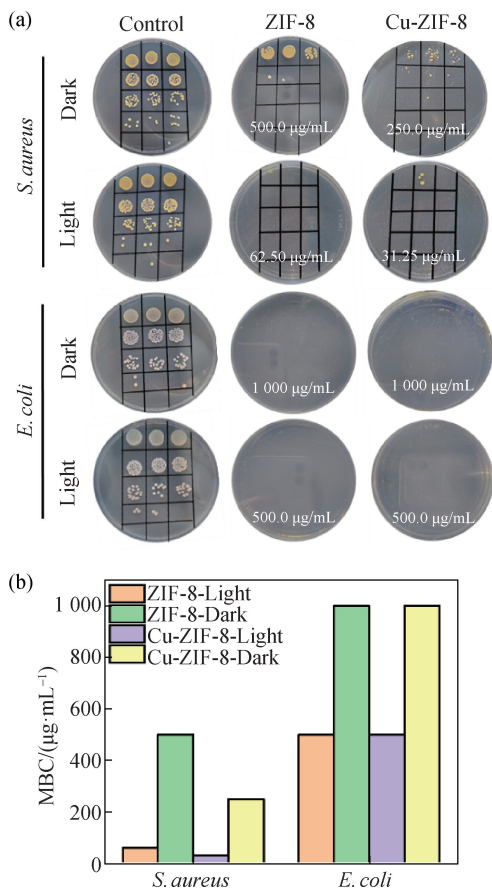


图 4 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒处理的细菌悬液在琼脂板上铺展的照片(a), Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒在不同条件下对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MBC(b)
Fig. 4 Photographs of bacterial colonies spreading on agar plates for bacterial suspensions treated with Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles (a), MBC of Cu-ZIF-8 and ZIF-8 nanoparticles against *S. aureus* and *E. coli* under different conditions (b)

结合, 在 CLSM 下无法观察到红色荧光, 这限制了 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对金黄色葡萄球菌损伤程度的测定. 因此, 主要利用该方法研究 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对大肠杆菌的杀菌效果. 从图 5 可以看出, 对照组和黑暗条件处理的 CLSM 图片显示出微弱的红色荧光, 证明部分大肠杆菌在经过 Cu-ZIF-8 和 ZIF-8 纳米颗粒处理后死亡. 经过模拟太阳光照射处理后, Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理组红色荧光强度显著增强, 而 ZIF-8 纳米颗粒处理组的红色荧光强度仅略有增强, 证明在模拟光照条件下 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对细菌细胞膜具有严重损伤能力, 进一步凸显了其抗菌能力.

2.5 Cu-ZIF-8 纳米颗粒对 ROS 水平的影响

为了进一步探究 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌机制, 评估了经纳米颗粒处理后细菌内部的 ROS 水平. 目前, 最常用于检测细菌内部 ROS 的方法是使用 DCFH-DA 荧光探针. DCFH-DA 探针本身是没有荧光的, 在进入细菌后可被酯酶水解生成二氯二氢荧光素 (DCFH). 由于 DCFH 不能透过细胞膜, 一旦生成将滞留在细菌内部. 细菌内的 ROS 可以氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的二氯荧光素 (DCF). 由于绿色荧光强度与细菌内 ROS 的水平成正比, 所以可以通过 CLSM 来观察纳米颗粒入细菌导致的 ROS 水平变化^[22].

从图 6 可以看出, 对于只加入 DCFH-DA 荧光探针而未加入纳米颗粒处理的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌, 在显微镜下观察不到任何绿色荧光信号. 而经 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的细菌, 其绿色荧光强度与对照组相比明显增强, 表明它们都可以刺激细菌产生 ROS. 尤其是在光照条件下, 经 Cu-ZIF-8 纳米

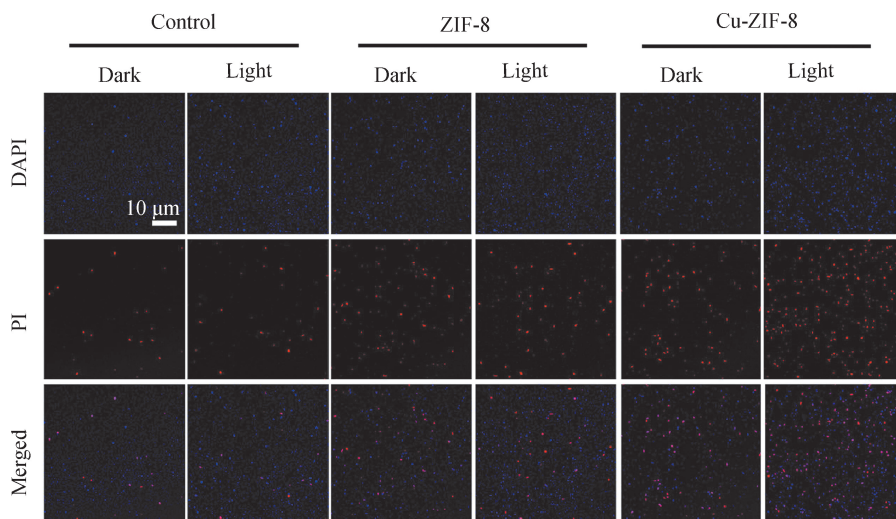
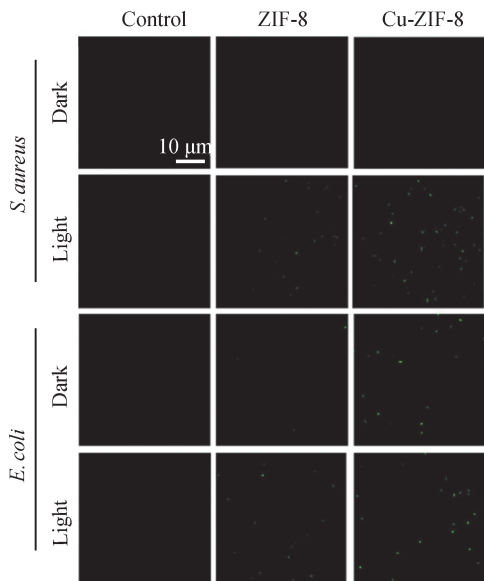


图 5 经过 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒及 DAPI/PI 共染色处理的大肠杆菌的荧光图像
Fig. 5 Fluorescence images of *E. coli* treated with ZIF-8 and Cu-ZIF-8 nanoparticles and DAPI/PI co-staining

颗粒处理细菌的绿色荧光强度远高于对照组和 ZIF-8 纳米颗粒处理细菌的绿色荧光强度. 这一现象表明光照可以显著促进 Cu-ZIF-8 纳米颗粒产生 ROS(主要是 $\cdot O_2^-$). 这些 ROS 会引起细菌内部一系列的氧化应激反应, 造成损伤作用, 从而提高 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌能力.



激发光波长和发射光波长分别为 552 和 580 nm.

图 6 细菌经过 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒及 ROS 探针 DCFH-DA 处理后的 CLSM 图像

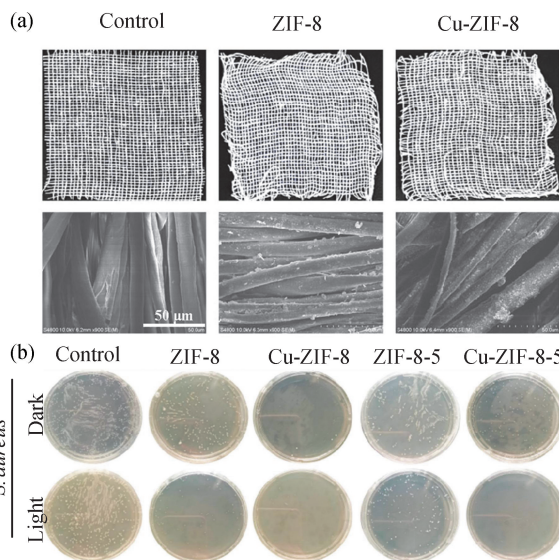
Fig. 6 CLSM images of the bacteria treated with ZIF-8 and Cu-ZIF-8 nanoparticles and DCFH-DA as a probe for ROS

2.6 抗菌纺织布的杀菌性能分析

为了探索 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌应用, 制备了基于 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌纺织布并进行 SEM 表征. 从图 7(a) 可以看出, 与对照组相比, ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒可以很好地吸附在纺织布表面. 进一步评估这些抗菌纺织布对金黄色葡萄球菌的杀伤能力. 如图 7(b) 所示, 与未经处理的纺织布(对照组)和经 ZIF-8 纳米颗粒处理的纺织布相比, Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的纺织布上金黄色葡萄球菌的菌落数明显减少. 值得注意的是, 即使是经过 5 次超声清洗的 Cu-ZIF-8 处理纺织布, 在光照条件下仍展现出良好的抗菌能力.

3 结论

本研究在室温条件下采用“一锅法”成功制备的 Cu-ZIF-8 纳米颗粒具有良好的抗菌能力. Cu-ZIF-8 纳



Control: 未处理纺织布; ZIF-8 和 Cu-ZIF-8: 经 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的纺织布; ZIF-8-5 和 Cu-ZIF-8-5: 经 ZIF-8 和 Cu-ZIF-8 纳米颗粒处理的纺织布, 并经过 5 次超声清洗.

图 7 纺织布的光学影像照片及其对应的 SEM 图(a); 不同纺织布浸出液涂板的金黄色葡萄球菌的菌落照片(b)

Fig. 7 Optical image photos of textile fabrics and their corresponding SEM images (a), photos of *S. aureus* colonies coated with different textile fabric extracts (b)

米颗粒在光照条件下能产生以 $\cdot O_2^-$ 为主的 ROS, 对细菌造成明显损伤; 同时, 在细菌生长的微酸条件下, Cu-ZIF-8 能缓慢地释放出 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} , 实现协同抗菌; 基于 Cu-ZIF-8 纳米颗粒的抗菌纺织布显示出显著的抑菌效果. 这表明 Cu-ZIF-8 纳米颗粒在抗菌生物材料领域具有良好的应用潜力, 同时也为未来高效抗菌材料的开发提供了新的研究思路.

参考文献:

[1] UMEMURA A, DIRING S, FURUKAWA S, et al. Morphology design of porous coordination polymer crystals by coordination modulation[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(39): 15506-15513.

[2] WEI N, TANG Y X, LI Y, et al. Metal-organic framework-derived hollow octadecahedron nanocages for supercapacitors and wearable self-powered tactile stress sensor [J]. Applied Surface Science, 2022, 599: 153822.

[3] TENG W S Y, ZHANG Z J, WANG Y K, et al. Iodine immobilized metal-organic framework for NIR-triggered antibacterial therapy on orthopedic implants[J]. Small, 2021, 17(35): 2102315.

[4] YANG H, LI J, HU S, et al. Fe-doped zeolitic imidazolate

- framework-8 as superior adsorbent for enhanced ciprofloxacin removal from aqueous solution[J]. *Applied Surface Science*, 2022, 586: 152687.
- [5] ZHANG Y, SUN P P, ZHANG L, et al. Silver-infused porphyrinic metal-organic framework: surface-adaptive, on-demand nanoplatforam for synergistic bacteria killing and wound disinfection[J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(11): 1808594.
- [6] ROJAS S, HORCAJADA P. Metal-organic frameworks for the removal of emerging organic contaminants in water[J]. *Chemical Reviews*, 2020, 120(16): 8378-8415.
- [7] HUXFORD R C, DELLA ROCCA J, LIN W B. Metal-organic frameworks as potential drug carriers[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2010, 14(2): 262-268.
- [8] LIANG S, WU X L, XIONG J, et al. Metal-organic frameworks as novel matrices for efficient enzyme immobilization: an update review[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2020, 406: 213149.
- [9] HUI S H, LIU Q Q, HAN Y D, et al. ICG@ZIF-8/PDA/Ag composites as chemo-photothermal antibacterial agents for efficient sterilization and enhanced wound disinfection[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(48): 9961-9970.
- [10] MALEKI A, SHAHBAZI M A, ALINEZHAD V, et al. The progress and prospect of zeolitic imidazolate frameworks in cancer therapy, antibacterial activity, and biomineralization[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 9(12): 2000248.
- [11] HUANG X C, LIN Y Y, ZHANG J P, et al. Ligand-directed strategy for zeolite-type metal-organic frameworks: zinc (II) imidazolates with unusual zeolitic topologies[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, 45(10): 1557-1559.
- [12] ZHANG W, ZHOU Y N, FAN Y T, et al. Metal-organic-framework-based hydrogen-release platform for multieffective helicobacter pylori targeting therapy and intestinal flora protective capabilities [J]. *Advanced Materials*, 2022, 34(2): 2105738.
- [13] YANG X Y, CHAI H H, GUO L L, et al. *In situ* preparation of porous metal-organic frameworks ZIF-8@Ag on poly-ether-ether-ketone with synergistic antibacterial activity[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 205: 111920.
- [14] SUN S W, YANG Z H, CAO J, et al. Copper-doped ZIF-8 with high adsorption performance for removal of tetracycline from aqueous solution[J]. *Journal of Solid State Chemistry*, 2020, 285: 121219.
- [15] STERN B R, SOLIOZ M, KREWSKI D, et al. Copper and human health: biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health: Part B*, 2007, 10(3): 157-222.
- [16] LI P, LI J Z, FENG X, et al. Metal-organic frameworks with photocatalytic bactericidal activity for integrated air cleaning[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2177.
- [17] PALZA H, DELGADO K, CUROTTO N. Synthesis of copper nanostructures on silica-based particles for antimicrobial organic coatings[J]. *Applied Surface Science*, 2015, 357: 86-90.
- [18] LIANG M J, ZHANG M Y, YU S S, et al. Silver-laden black phosphorus nanosheets for an efficient *in vivo* antimicrobial application [J]. *Small*, 2020, 16(13): 1905938.
- [19] WU X F, YANG M Y, KIM J S, et al. Reactivity differences enable ROS for selective ablation of bacteria [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(17): e202200808.
- [20] ZHANG X, YANG Q, LANG Y H, et al. Rationale of 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine as the chromogenic substrate in colorimetric analysis[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(18): 12400-12406.
- [21] LIANG W L, CHENG J L, ZHANG J D, et al. pH-responsive on-demand alkaloids release from core-shell ZnO@ZIF-8 nanosphere for synergistic control of bacterial wilt disease[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(2): 2762-2773.
- [22] BANAHENE N, KAVUNJA H W, SWARTS B M. Chemical reporters for bacterial glycans: development and applications[J]. *Chemical Reviews*, 2022, 122(3): 3336-3413.
- [23] WU Y M, WU W T, ZHAO W J, et al. Revealing the antibacterial mechanism of copper surfaces with controllable microstructures[J]. *Surface and Coatings Technology*, 2020, 395: 125911.

(责任编辑: 曾礼娜)