

微波原位法制备碳点/壳聚糖荧光复合物及其应用研究*

王霞¹ 吴文承¹ 袁俊超² 吴晓蕾¹ 吴雪妍¹ 熊燕飞² 王艺峰^{1**}

(武汉理工大学¹ 材料科学与工程学院高分子材料与工程系² 理学院生命科学与技术系 武汉 430070)

摘要 选择壳聚糖水溶液作为唯一反应物,利用简单方便的微波原位法制备碳点/壳聚糖荧光复合物,该复合物无需经过产物分离提纯等步骤就能够直接进行后续应用.测试结果表明,碳点/壳聚糖复合物溶液呈黄棕色,透明均一,在365 nm紫外光下显示出明显的蓝色荧光.此外,碳点/壳聚糖复合物中的碳点分散良好,尺寸比较均一.重要的是,该碳点/壳聚糖复合物具有新的综合性能特点,即不仅被赋予了碳点的多色荧光性能,而且还保留了壳聚糖的成膜性能和pH刺激响应性能,可以十分方便地直接进行多种应用,包括利用该复合物制备荧光复合膜和复合球,以及采用电沉积方法制备具有特定形状的荧光涂层,还可以直接应用于细胞成像.因此,这种微波原位法制备的碳点/壳聚糖复合物在荧光材料、荧光涂层、生物成像和生物标记等领域具有潜在的应用价值.

关键词 碳点,壳聚糖,原位法,荧光材料

碳点是一种新型的荧光碳纳米材料,由于其具有生物相容性、无毒性、多色荧光性和荧光稳定性等优良的性能,以及在生物标记、生物成像、药物载体和荧光探针等领域的良好应用前景,已经引起了越来越多研究者的兴趣^[1].近年来,一些研究者开展了碳点制备方法的研究,例如电弧放电方法、热分解法、电化学法和微波法等均有文献报道^[2].其中,微波法由于具有操作方便、设备简单、合成高效等优点,越来越受到研究者的关注^[3].同时,制备碳点的碳源也不断被研究和开发,其中天然材料(例如树叶、橙汁和明胶等)由于具有可再生和环境友好等性能特点,被越来越多地应用于制备碳点^[4-6].

壳聚糖是由甲壳素经过脱乙酰作用得到的天然高分子氨基多糖,具有无毒性、生物相容性、生物可降解性和抗菌性等性能^[7,8].此外,壳聚糖具有良好的成膜性能,能通过流延等方法成膜,使其广泛应用于传感器等领域^[9].另外,壳聚糖可以用于制备微球,并应用于药物控制释放等领域^[10];值得一提的是,壳聚糖还具备pH刺激响应性,即在低pH时可溶解,高pH时变得不溶;并且这种溶解-不溶转变发生在pH为6至7之间,十分有利于其在生物领域的应用^[11];基于壳聚糖

的这种pH刺激响应性,可以利用壳聚糖在导电材料表面进行电沉积构建涂层、以及构建生物传感器等^[12,13].

值得注意的是,壳聚糖还可以用作制备碳点的碳源.Xiao等报道了以壳聚糖溶液为碳源,采用微波辅助法制备了具有强荧光稳定性的碳点^[14].Yang等也报道了以壳聚糖溶液为碳源,采用水热法制备了具有较高荧光量子产率的碳纳米粒子^[15].另一方面,也有少量关于碳点与壳聚糖复合物方面的研究,例如Tan等将碳点与壳聚糖进行共混,利用壳聚糖作为碳点的表面钝化剂,可以提高碳点的荧光量子产率^[16].Huang等将碳点与壳聚糖共混,制备了碳点/壳聚糖复合膜,并将其用作检测多巴胺的传感器^[17].综上所述,虽然有少数研究者开展了以壳聚糖作为碳源制备碳点的研究,但是他们没有注意到碳点与壳聚糖的复合物,以及这种复合物所具备的特殊的综合性能和后续的应用潜力.同时,有少量文献报道的碳点/壳聚糖复合物方面的研究,均采用先制备碳点,然后将碳点与壳聚糖共混的方法得到碳点/壳聚糖复合物.因此,采用简单方便的原位方法制备碳点/壳聚糖复合物,并且该复合物可直接进行后续应用的研究值得我们开展进一步的探索.

* 2015-07-22 收稿,2015-08-28 修稿;中央高校基本科研业务费专项资金(项目号 WUT: 2015-zy-008)、国家级大学生创新创业训练计划项目(项目号 20151049701009)、湖北省自然科学基金(基金号 2014CFB256)和 ESI 学科水平提升计划项目(项目号 WUT: 2015)资助.

** 通讯联系人,E-mail:yifengwang@whut.edu.cn

本工作探索以壳聚糖水溶液作为反应物,利用微波原位法制备碳点/壳聚糖荧光复合物,该复合物不需要进行复杂的产物分离提纯步骤就能够直接进行后续的应用.这种方法不仅具有操作简单方便、设备简单、合成高效等优点;此外该方法还具有不使用有机溶剂、后处理过程简单、绿色环保等优点.重要的是,所制备的碳点/壳聚糖复合物具有新的综合性能特点,即不仅被赋予了碳点的荧光性能,而且还保留了壳聚糖的成膜性能和 pH 刺激响应性能.因此,这种采用微波原位法制备的碳点/壳聚糖复合物在荧光材料、荧光涂层、生物成像等领域具有潜在的应用价值.

1 实验部分

1.1 实验试剂

壳聚糖(脱乙酰度 90%)、牛肉膏、蛋白胨、 H_2O_2 、HCl、NaCl 和 NaOH 购于国药集团化学试剂有限公司,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)购于中国典型培养物保藏中心,其它化学试剂均为国产分析纯.

1.2 制备碳点/壳聚糖荧光复合物

经过大量的制备条件(例如反应物浓度,反应时间等)对比实验,采用如下合适实验条件制备碳点/壳聚糖荧光复合物:首先将壳聚糖粉末加入适量蒸馏水中,搅拌分散,滴加 1.0 mol/L HCl 溶液至壳聚糖完全溶解,再滴加 1.0 mol/L NaOH 将其 pH 值调节至 5.3,配制质量体积浓度为 3% 的壳聚糖水溶液.取适量壳聚糖溶液置于微波炉(700 W, Midea EG7KCW3-NA, China)中微波处理 15 min,冷却至室温后取出得到碳点/壳聚糖复合物.加入适量蒸馏水,充分搅拌后以 1.0×10^4 r/min 的速度离心 10 min,制备得到碳点/壳聚糖复合物溶液.

1.3 利用碳点/壳聚糖复合物制备荧光复合膜

采用流延法制备碳点/壳聚糖荧光复合膜,将塑料皿先后分别用无水乙醇和蒸馏水超声清洗 5 min,然后取碳点/壳聚糖复合物溶液倒入塑料皿中,超声 5 min 后,置于 40 °C 恒温干燥箱中充分干燥,得到碳点/壳聚糖荧光复合膜.

1.4 利用碳点/壳聚糖复合物制备荧光复合球

采用滴加法制备碳点/壳聚糖荧光复合球,用滴管取碳点/壳聚糖复合物溶液滴加入 1.0 mol/L NaOH 溶液中,静置 5 min 后,碳点/壳聚糖复合物液滴变成稳定的小球,再将小球用蒸馏水反复清

洗后得到碳点/壳聚糖复合球,并在 365 nm 紫外灯下观察其荧光.

1.5 采用电沉积方法制备碳点/壳聚糖荧光涂层

在碳点/壳聚糖复合物溶液中按 0.3% 的体积比加入质量浓度为 30% 的 H_2O_2 ,得到电沉积液;再采用铂片作阳极,不同导电基材(例如石墨电极,316L 不锈钢片和钛片)作阴极,将阳极与阴极浸入碳点/壳聚糖复合物溶液中,采用可编程电源(II6123, TW)施加 $4.0 A/m^2$ 的电流,电沉积结束后关闭电源,取下阴极并用蒸馏水反复清洗,室温下干燥,并在 365 nm 紫外灯下观察荧光涂层.

1.6 体外细胞成像

将牛肉膏、蛋白胨和 NaCl 按质量体积比浓度 0.5%、1.0% 和 0.5% 的比例加入蒸馏水中,搅拌溶解后,121 °C 高温蒸汽灭菌 30 min,得到液体培养基,再将金黄色葡萄球菌接种到培养基中,在 37 °C 和 100 r/min 的恒温摇床中培养 3 h,然后将黄色葡萄球菌与碳点/壳聚糖复合物溶液按体积比 1:1 混合,并在上述恒温摇床中继续培养 1 h,再将培养后的金黄色葡萄球菌固定在载玻片上,用荧光显微镜进行观察.

1.7 表征

取适量碳点/壳聚糖复合物溶液以及壳聚糖溶液置于 40 °C 的烘箱中干燥形成薄膜,将薄膜裁剪制成样品后采用 X 射线衍射仪(XRD, RU-200B/D/MAX-RB RU-200B, JP)对样品进行分析.将碳点/壳聚糖复合物溶液超声 20 min,再采用铜网制样,干燥后利用高分辨透射电镜(HRTEM, JEM-2100F STEM/EDS, JP)进行观察.将碳点/壳聚糖复合物溶液用蒸馏水稀释 20 倍,取适量于石英比色皿,采用紫外可见分光光度计(UV-2550, SHIMADZU, JP)进行样品的紫外-可见吸收光谱分析,紫外可见分光光度计的狭缝宽度为 2 nm.采用荧光分光光度计(RF-5301PC, SHIMADZU, JP)对样品的荧光发射光谱进行分析.采用荧光显微镜(Olympus IX71, JP)对所制备的碳点/壳聚糖复合膜,以及用碳点/壳聚糖复合物标记后的金黄色葡萄球菌进行观测,放大倍数为 40 倍.

2 结果与讨论

2.1 碳点/壳聚糖荧光复合物的制备

首先以壳聚糖水溶液作为反应物,利用微波原位法制备碳点/壳聚糖荧光复合物.通过一系列的制备条件的对比实验研究,筛选合适的碳点/壳

聚糖复合物的制备条件(包括反应物浓度、反应时间等),使得复合体系中不仅具有新制备的碳点而被赋予碳点的性能,而且还可以保留壳聚糖的一些原有性能特别是成膜性能和 pH 刺激响应性能,从而得到具有新的综合性能特点的碳点/壳聚糖复合物. 关于采用微波法制备碳点的机理, Hou 等研究了利用多种有机物(例如碳水化合物、氨基酸)等作为碳源,采用微波法制备了碳点,他们指出反应物溶液经微波处理后水分蒸发,发生碳源分子的碳化,导致碳点的核的形成;随着微波处理时间的延长,微波产物颜色逐渐变深,说明发生的碳化程度加深^[18]. 此外, Wang 等也提出在微波处理碳水化合物制备碳点的过程中,碳源分子发生了碳化^[19].

选择合适的实验条件(反应物为质量体积比

浓度 3% 的壳聚糖水溶液,以及微波反应时间为 15 min)制备碳点/壳聚糖复合物. 在微波处理过程中,首先观察到壳聚糖溶液的水分逐渐蒸发,并发生碳化. 如图 1(a)和 1(b)所示,微波产物在可见光下部分区域呈黄棕色,这些黄棕色区域在 365 nm 紫外光下显示出明显的蓝色荧光;而微波产物中未变成黄棕色的部分在 365 nm 紫外光下未显示出明显的荧光. 此外,与未进行反应的壳聚糖溶液(图 1(c))相比,碳点/壳聚糖复合物溶液(图 1(d))也呈现黄棕色. 以上结果表明,在微波处理过程中壳聚糖发生了碳化,并且对碳点的形成起到了关键作用. 此外, Tan 等证明了壳聚糖可以用作碳点的表面钝化剂^[16],因此在制备碳点的过程中,未反应的壳聚糖可以直接充当碳点的表面钝化剂,而无需额外添加表面钝化剂.

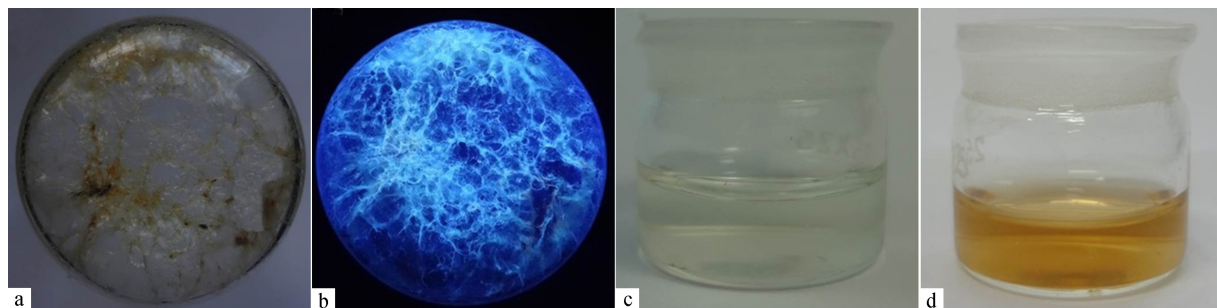


Fig. 1 Photographs of microwave products under visible light (a) and under 365 nm UV light (b); unreacted chitosan solution under visible light (c), and solution of microwave products under visible light (d)

图 2(a)为该碳点/壳聚糖复合物溶液在 365 nm 紫外光下的照片,可以看出碳点/壳聚糖复合物溶液在 365 nm 紫外光下呈现明显的蓝色荧光. 进一步对所制备的碳点/壳聚糖复合物溶液进行透射电镜观察(如图 2(b)),可以发现复合物溶液中的碳点分散良好,尺寸比较均一,平均粒径在 7.0 nm 左右. 图 2(c)为碳点/壳聚糖复合物的 XRD 分析结果,与 Yang 等采用水热碳化壳聚糖的方法制备的碳纳米颗粒 XRD 谱图对比^[15],可以发现碳点/壳聚糖复合物的 XRD 谱图在 $2\theta = 23^\circ$ 左右出现一个宽的衍射峰,显示出碳点/壳聚糖复合物的非晶碳相^[15,20]. 此外,碳点/壳聚糖复合物在 $2\theta = 10^\circ$ 左右出现的衍射峰,表明该复合物中既具备新生成的碳点、又含有未反应的壳聚糖.

由图 3(a)的紫外-可见吸收光谱可以发现,与纯壳聚糖溶液的吸收光谱相比,碳点/壳聚糖复合物溶液在 250 ~ 440 nm 之间出现了明显的宽吸

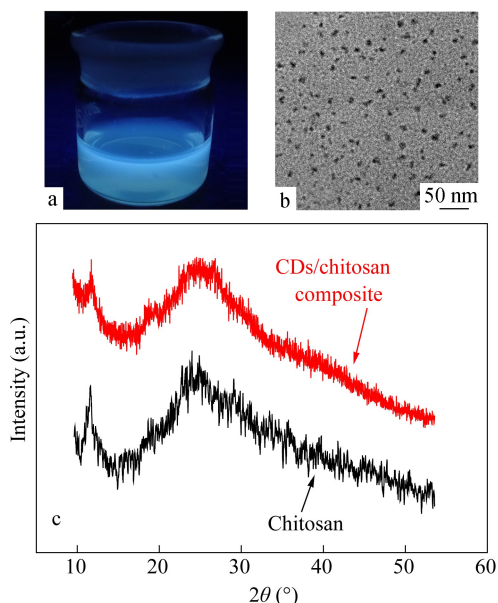


Fig. 2 (a) Photograph of carbon dots/chitosan composite under 365 nm UV light; (b) TEM image of carbon dots/chitosan composite; (c) XRD patterns of carbon dots/chitosan composite and chitosan

收峰;此外,从图 3(b)碳点/壳聚糖复合物溶液的荧光发射光谱可以发现,当激发光由 300 nm 逐渐变化到 440 nm 时,发射光相应从 420 nm 逐渐变化到 500 nm,即发射光的波长随激发光波长的变化而变化,说明碳点/壳聚糖复合物溶液具有多色荧光性;这些结果与 Yang 等制备的荧光碳纳米粒子所具有的宽的紫外-可见吸收峰以及荧光性能

比较一致^[15].此外,相关文献指出了由于所制备的碳点颗粒的尺寸不同,表面缺陷也不同,导致了不同碳点颗粒的荧光特性不同,从而使它们具有发射光的波长随激发光波长的变化而变化的性能^[21,22].因此,上述透射电镜和光谱分析结果均表明,以壳聚糖水溶液作为反应物,利用微波原位法制备得到了碳点/壳聚糖荧光复合物.

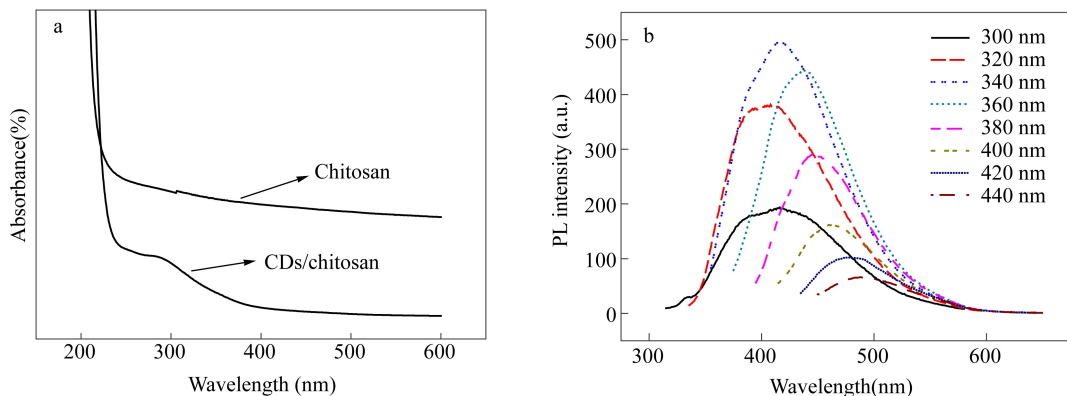


Fig. 3 UV-Vis absorption spectra of carbon dots/chitosan composite and control chitosan (a), and photoluminescence spectra of carbon dots/chitosan composite at different excitation wavelengths (b)

2.2 碳点/壳聚糖复合物用于制备荧光膜和荧光球

上述微波原位法制备的碳点/壳聚糖荧光复合物,不经过一系列后期的产物分离提纯步骤直接采用流延法制备了碳点/壳聚糖复合膜.如图4(a)所示,碳点/壳聚糖复合膜表面平整无气泡,与对比纯壳聚糖膜相比,碳点/壳聚糖复合膜的颜色明显变深,呈现浅棕色.为进一步观察碳点/壳聚糖复合膜的荧光性能,将碳点/壳聚糖复合膜裁剪成细条状

后用荧光显微镜观察,结果如图4(b)所示,当分别采用紫外光、蓝光及绿光对碳点/壳聚糖复合膜照射时,复合膜分别呈现出明显的蓝色荧光、绿色荧光和红色荧光.因此,以上结果证明了碳点/壳聚糖复合物不仅保留了壳聚糖良好的成膜性能,而且同时被赋予了碳点的多色荧光性能,因此这种碳点/壳聚糖荧光复合物将在生物荧光膜材料、光学膜材料领域具有潜在的应用前景.

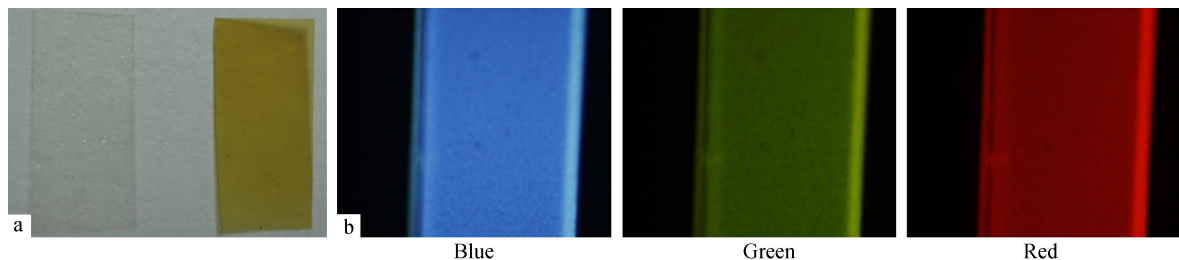


Fig. 4 Photographs of carbon dots/chitosan composite film and control chitosan film under visible light (a), and fluorescence microscopy images of carbon dots/chitosan composite film under the excitation of UV light (left), blue light (middle) and green light (right) (b)

直接利用上述微波原位法制备的碳点/壳聚糖荧光复合物,采用简单的滴加法制备了碳点/壳聚糖复合球.图5(a)为采用滴加法制备碳点/壳聚糖复合球的过程示意图,当碳点/壳聚糖复合物溶液液滴滴加入碱性 NaOH 溶液中,由于壳聚糖

的 pH 刺激响应性能,溶解状态下的壳聚糖分子链中质子化的氨基发生去质子化,使得复合物溶液中的壳聚糖变为不溶而形成稳定的凝胶状固体小球.从图5(b)中小球在可见光下的照片可以看出,碳点/壳聚糖复合球表面平整光滑,形状规

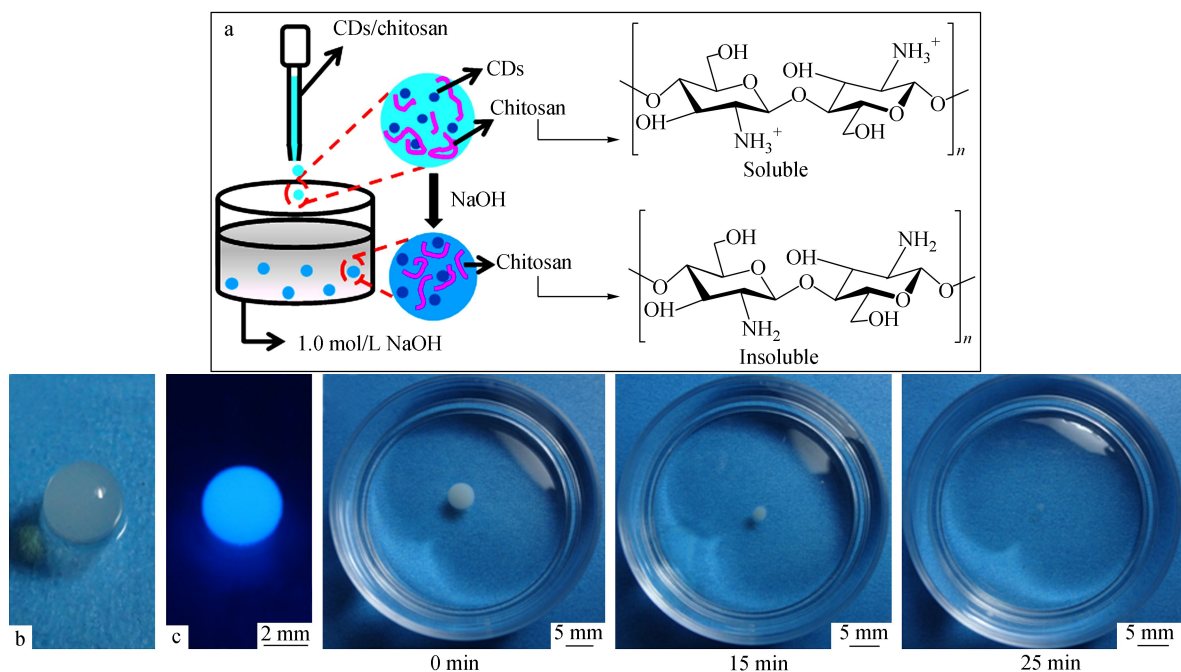


Fig. 5 Schematic of the preparation of carbon dots/chitosan composite beads (a); Images of carbon dots/chitosan composite bead under visible light (left) and 365 nm UV light (right) (b); Photographs of carbon dots/chitosan composite bead immersed in 0.1 mol/L HAc for different times (c)

则,直径在 3 mm 左右;该碳点/壳聚糖复合球在 365 nm 紫外光下显示出明显的蓝色荧光. 如图 5(c) 所示,将碳点/壳聚糖复合球浸泡在 0.1 mol/L HAc 中,随着浸泡时间延长,小球的直径逐渐减小,浸泡 25 min 后小球完全溶解. 以上结果表明,碳点/壳聚糖复合物不仅被赋予了碳点的荧光性能,而且还保留了壳聚糖的 pH 刺激响应性能;一方面,复合物溶液中的壳聚糖在碱性溶液中发生溶解-不溶转变从而形成复合球;另一方面,该复合球又能够在酸性溶液中实现不溶-溶解的可逆转变从而溶解. 此外,本工作利用简单方便的微波原位法制备碳点/壳聚糖荧光复合物,该方法具有不使用有机溶剂、后处理简单、绿色环保等优点;而且壳聚糖是天然高分子氨基多糖,具有无毒性、生物相容性等性能. 因此,这种由碳点/壳聚糖复合物溶液所制备的荧光复合球在药物载体、药物控制释放、给药系统、疾病诊断等生物医用领域具有潜在的应用价值.

2.3 电沉积方法制备碳点/壳聚糖荧光涂层

我们采用电沉积技术制备了碳点/壳聚糖复合物的荧光涂层. 在电沉积过程中,将阳极(铂片)与阴极(导电基材)浸入碳点/壳聚糖复合物溶液中,通电后阴极发生电化学反应从而导致阴极表面的 pH 值升高产生 pH 梯度,靠近阴极附近

的壳聚糖分子能够对高 pH 环境刺激产生响应而发生溶解-不溶转变,因而在阴极表面电沉积形成沉积层^[11]. 值得一提的是,在壳聚糖电沉积过程中阴极电化学反应产生的 H₂ 会使沉积层出现大量气泡,从而严重影响沉积层的平整性及力学性能. 在电沉积液中加入 H₂O₂, 利用其在阴极的还原作用,使阴极附近既能产生 pH 梯度,又能避免 H₂ 产生,从而可以获得外观平整无气泡的壳聚糖沉积层^[23,24]. 如图 6 所示,该碳点/壳聚糖复合物溶液能够直接应用于电沉积,在不同导电基材(石墨电极、316L 不锈钢片和钛片)表面构建电沉积涂层,该涂层在 365 nm 紫外光下显示出明显的蓝色荧光. 此外,利用碳点/壳聚糖复合物溶液的电沉积也能够不同导电基材表面方便地构建具有特定形状的荧光涂层;如图 6(b) 所示,将 316L 不锈钢板裁剪成特定形状后,再进行电沉积得到碳点/壳聚糖荧光涂层;如图 6(c) 所示,将绝缘胶带作为保护层贴在钛片表面,然后进行碳点/壳聚糖复合物溶液的电沉积,也可以得到具有特定形状的碳点/壳聚糖荧光涂层. 以上结果进一步表明,碳点/壳聚糖复合物不仅被赋予了碳点的荧光性能,而且还保留了壳聚糖的 pH 刺激响应性能从而能够进行电沉积,因此这种碳点/壳聚糖复合物可以潜在应用于构建表面涂层材料等方面.

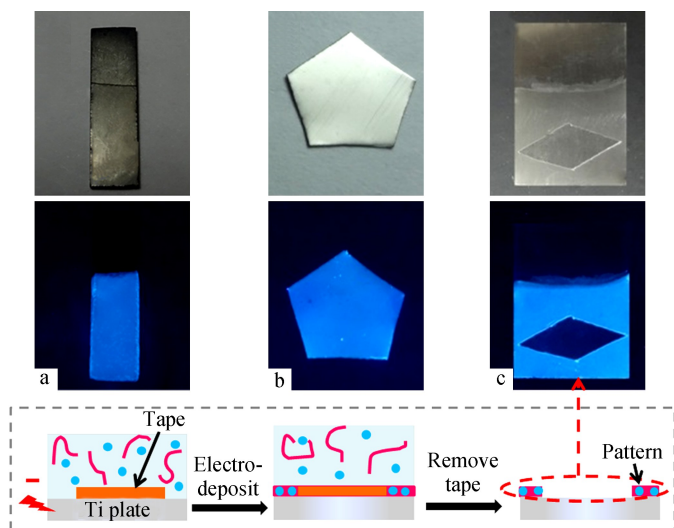


Fig. 6 Photographs of electrodeposited carbon dots/chitosan composite coatings under visible light (top) and 365 nm UV light (bottom) on graphite electrode (a), 316L stainless steel plate (b) and Ti plate (c)

2.4 细胞成像试验

值得一提的是,上述碳点/壳聚糖复合物的制备过程由于只采用了壳聚糖水溶液作为反应物,而壳聚糖具有良好的生物相容性和生物可降解性,因此非常有利于所制备的碳点/壳聚糖复合物在生物医用领域的应用,本工作采用碳点/壳聚糖复合物溶液进行了金黄色葡萄球菌的成像测试.图7(a)为在碳点/壳聚糖复合物溶液中培养1 h后的金黄色葡萄球菌样品在荧光显微镜下的明场图像,可以发现金黄色葡萄球菌近似呈球形.由图7(b)、7(c)和7(d)可以看出,与碳点/壳聚糖复合物溶液共培养的金黄色葡萄球菌在紫外光激发

时显示出明显的蓝色荧光,在蓝光激发时显示出绿色荧光,在绿光激发时显示出红色荧光.这些结果表明,碳点/壳聚糖复合物能够直接应用于金黄色葡萄球菌的成像.碳点/壳聚糖复合物的多色荧光性能将为其在生物成像和生物标记领域提供更广泛的应用前景.此外,由于该碳点/壳聚糖复合物是由具有良好生物相容性和无毒性的天然高分子壳聚糖作为唯一的反应物制备得到,并且反应过程和后处理过程中都未加入有机溶剂等其它物质,因而十分有利于其在生物成像和生物标记等生物医学领域的进一步应用.

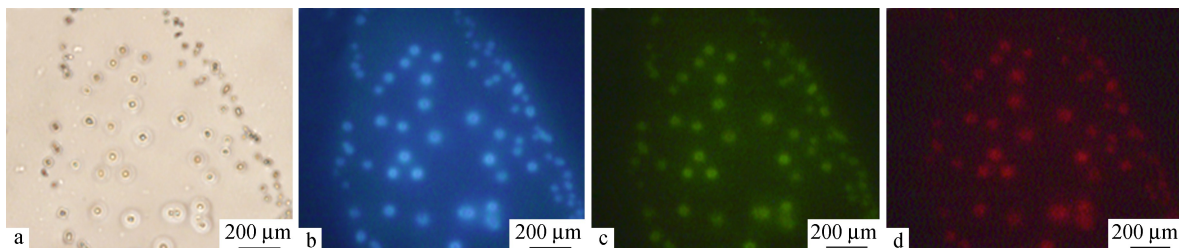


Fig. 7 Fluorescence microscopy images of *Staphylococcus aureus* incubated with carbon dots/chitosan composite and observed under bright field (a), and under the excitation of UV light (b), blue light (c) and green light (d)

3 结论

以壳聚糖水溶液作为反应物,利用微波原位法制备出碳点/壳聚糖荧光复合物,该复合物不需要经过产物分离提纯等步骤就能够直接进行进一步的应用.该碳点/壳聚糖复合物中的碳点分散良

好,尺寸比较均一;该碳点/壳聚糖复合物不仅被赋予了碳点的荧光性能,而且还保留了壳聚糖的成膜性能和 pH 刺激响应性能.基于这些新的综合性能特点,该碳点/壳聚糖复合物可以方便的直接应用于制备碳点/壳聚糖荧光复合膜及荧光复合球、荧光涂层、以及应用于生物成像领域.

REFERENCES

- 1 Li H T, Kang Z H, Liu Y, Lee S T. *J Mater Chem*, 2012, 22(46): 24230 ~ 24253
- 2 Baker S N, Baker G A. *Angew Chem, Int Ed*, 2010, 49(38): 6726 ~ 6744
- 3 Zhu H, Wang X L, Li Y L, Wang Z J, Yang F, Yang X R. *Chem Comm*, 2009, (34): 5118 ~ 5120
- 4 Zhu L L, Yin Y J, Wang C F, Chen S. *J Mater Chem C*, 2013, 1(32): 4925 ~ 4932
- 5 Sahu S, Behera B, Maiti T K, Mohapatra S. *Chem Comm*, 2012, 48(70): 8835 ~ 8837
- 6 Liang Q H, Ma W J, Shi Y, Li Z, Yang X M. *Carbon*, 2013, 60: 421 ~ 428
- 7 Gong Ming(宫铭), Shi Yujing(石玉静), Wu Bohua(吴伯华), Xiong Shanxin(熊善新), Gong Yongkuan(宫永宽). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2013, (8): 956 ~ 961
- 8 Li Kun(李昆), Sun Ting(孙婷), Sun Yuan(孙媛), Yang Bohan(杨伯涵), Meng Xinlei(孟新蕾), Li Yapeng(李亚鹏), Wang Jingyuan(王静媛). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2012, (2): 180 ~ 186
- 9 Shan C S, Yang H F, Han D X, Zhang Q X, Ivaska A, Niu L. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25(5): 1070 ~ 1074
- 10 Lee J E, Kim K E, Kwon I C, Ahn H J, Lee S H, Cho H, Kim H J, Seong S C, Lee M C. *Biomaterials*, 2004, 25(18): 4163 ~ 4173
- 11 Liu Y, Kim E, Ghodssi R, Rubloff G W, Culver J N, Bentley W E, Payne G F. *Biofabrication*, 2010, 2(2): 022002
- 12 Wang Y F, Geng Z H, Guo M M, Chen Y J, Guo X C, Wang X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(17): 15510 ~ 15515
- 13 Wang Y F, Liu Y, Cheng Y, Kim E, Rubloff G W, Bentley W E, Payne G F. *Adv Mater*, 2011, 23(48): 5817 ~ 5821
- 14 Xiao D L, Yuan D H, He H, Lu J R. *Luminescence*, 2013, 28(4): 612 ~ 615
- 15 Yang Y H, Cui J H, Zheng M T, Hu C F, Tan S Z, Xiao Y, Yang Q, Liu Y L. *Chem Commun*, 2012, 48(3): 380 ~ 382
- 16 Tan M Q, Zhang L X, Tang R, Song X J, Li Y M, Wu H, Wang Y F, Lv G J, Liu W F, Ma X J. *Talanta*, 2013, 115: 950 ~ 956
- 17 Huang Q T, Hu S R, Zhang H Q, Chen J H, He Y S, Li F M, Weng W, Ni J C, Bao X X, Lin Y. *Analyst*, 2013, 138(18): 5417 ~ 5423
- 18 Hou J, Yan J, Zhao Q, Li Y, Ding H, Ding L. *Nanoscale*, 2013, 5: 9558 ~ 9561
- 19 Wang X H, Qu K G, Xu B L, Ren J S, Qu X G. *J Mater Chem*, 2011, 21: 2445 ~ 2450
- 20 Zhou L, He B Z, Huang J C. *Chem Commun*, 2013, 49: 8078 ~ 8080
- 21 Hola K, Zhang Y, Wang Y, Giannelis E P, Zboril R, Rogach A L. *Nano Today*, 2014, 9: 590 ~ 603
- 22 Zheng X T, Ananthanarayanan A, Luo K Q, Chen P. *Small*, 2015, 11(14): 1620 ~ 1636
- 23 Wang Y F, Guo X C, Pan R H, Han D, Chen T, Geng Z H, Xiong Y F, Chen Y J. *Mater Sci Eng C*, 2015, 53: 222 ~ 228
- 24 Wei X Q, Payne G F, Shi X W, Du Y. *Soft Matter*, 2013, 9: 2131 ~ 2135

***In situ* Construction of Fluorescent Carbon Dots/Chitosan Composites with Straightforward Applications**

Xia Wang¹, Wen-cheng Wu¹, Jun-chao Yuan², Xiao-lei Wu¹, Xue-yan Wu¹,
Yan-fei Xiong², Yi-feng Wang^{1*}

(¹ Department of Polymer Materials and Engineering, School of Materials Science and Engineering,

² Department of Biological Science and Technology, School of Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070)

Abstract On the basis of microwave treatment of chitosan solution, a convenient *in situ* method is established to form fluorescent carbon dots/chitosan composites which can be directly used in subsequent applications. This method has many benefits including prompt operation, simple equipment, simplified post-treatment, “green” process and low cost, and it allows a convenient way to gain carbon dots/chitosan nanocomposites that can be directly used for wide applications. The analysis results indicate that the carbon dots/chitosan composite solution is transparent and homogeneous. In addition, the carbon dots/chitosan composite solution displays brown color under visible light, while presents clear blue fluorescence under 365 nm UV light. Transmission electron microscopy test exhibits that carbon dots disperse well in the carbon dots/chitosan composite, and the average size of carbon dots is about 7.0 nm. Specially, the obtained carbon dots/chitosan composite not only has attractive properties (*e. g.*, multicolor fluorescence) that belong to carbon dots, but also retains the favorable properties (*e. g.*, pH-responsive properties) of chitosan. Based on these combined properties, it is convenient to employ the carbon dots/chitosan composite to construct fluorescent films by casting method, to prepare fluorescent beads by a convenient dropping procedure, as well as to generate fluorescent coatings on electrodes by electrodeposition technique. Furthermore, the carbon dots/chitosan composite can be directly applied to cell imaging. Thus, this carbon dots/chitosan composite constructed by *in situ* method has potential applications in fluorescent materials, electrodeposited coatings, drug carriers, bioimaging and biolabeling.

Keywords Carbon dots, Chitosan, *In situ* method, Fluorescent material

* Corresponding author; Yi-feng Wang, E-mail: yifengwang@whut.edu.cn