

一步法合成特异性 pH 响应碳量子点及其发光机理研究

高 东^{1,2}, 张煜亮³, 孙 静², 范宏筠¹

(1. 四川轻化工大学 生物工程学院, 自贡 643000; 2. 四川大学 生物材料工程研究中心, 成都 610041; 3. 成都盛讯科技有限公司, 成都 610061)

摘 要: 本研究利用溶剂热反应, 以柠檬酸为碳源, 甲酰胺和水为混合溶剂, 一步合成氮掺杂碳量子点。研究表明, 所制备的氮掺杂碳量子点具有良好的水溶性和明亮的蓝光发射, 以及典型的依赖于激发光的荧光发射特性。特别的是, 该碳量子点显示出不同于普通碳量子点的、独特的 pH 响应行为, 除了具有传统的荧光强度随着 pH 变化的响应行为外, 还表现出在碱性条件下, 产生新的不依赖于激发光的红光发射的性能。通过系统研究碳量子点在不同碱性环境和不同羟基含量溶液中的荧光特性, 结合拉曼光谱、红外、XPS 等表征, 分析其化学组成与表面态分子, 探讨了其发光机制, 证实这种特异性 pH 响应行为是由于在强碱性环境中含有的大量氢氧根结合在碳量子点表面, 从而改变碳量子点的表面状态, 形成新的稳定的发光中心。最后, 通过细胞毒性实验及细胞成像分析表明, 所获得的碳量子点具有低细胞毒性, 并可作为荧光探针应用于细胞成像, 显示其在生物成像领域的潜在应用价值。

关 键 词: 碳量子点; 特异性 pH 响应; 红光发射; 发光机理; 细胞标记

中图分类号: TQ174 文献标识码: A

One-step Synthesis of Specific pH-responsive Carbon Quantum Dots and Their Luminescence Mechanism

GAO Dong^{1,2}, ZHANG Yu-Liang³, SUN Jing², FAN Hong-Jun¹

(1. School of Biological Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China; 2. National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Chengdu Shengxun Technologies Co., Ltd, Chengdu 610061, China)

Abstract: Nitrogen-doped carbon quantum dots (CDs) were synthesized *via* a facile one-step solvothermal reaction using citric acid, formamide and water. Subsequent characterizations indicate that the nitrogen-doped CDs are featured by good water solubility, bright blue emission and typical excitation-dependent emission. However, unlike from conventional pH response of most CDs, the as-prepared CDs possess unique pH response. Apart from that fluorescence intensity varies with the pH value, the prepared CDs can generate excitation-independent red emission in alkaline conditions. Through scientific research towards fluorescent property of prepared CDs in different alkaline environments as well as solution with different hydroxyl content, combined with chemical composition and surface states based on Raman spectrum, FT-IR and XPS, the fluorescent mechanism of the unique pH response are attributed to a large number of hydroxyl groups in strong alkaline environment bonded to the surface of CDs, thus changing the surface states of CDs, further forming a new stable luminescence center. Finally, cytotoxicity tests and cell imaging experiments showed that the prepared CDs have low cytotoxicity, and can be used as fluorescent probe for cell imaging, indicating

收稿日期: 2019-02-24; 收到修改稿日期: 2019-03-28

基金项目: 四川大学泸州市人民政府战略合作项目(2018CDLZ-06)

Sichuan University Luzhou Municipal People's Government Strategic Cooperation Project (2018CDLZ-06)

作者简介: 高 东(1995-), 男, 硕士研究生. E-mail: 2595719430@qq.com

通讯作者: 范宏筠, 副教授. E-mail: hjfan@suse.edu.cn

their potential application in the field of biological imaging.

Key words: carbon quantum dots; specific pH-response; red emission; luminescence mechanism; cell labeling

碳量子点作为一类新兴的荧光纳米材料,引起了人们的广泛关注和兴趣。由于其优异的荧光性能(如可调荧光、光学稳定性)^[1-4],低细胞毒性^[5],良好的生物相容性和溶解性(水相和有机相)^[6-8],易于制备和表面改性等特点^[9],碳量子点在生物成像、荧光传感、光催化和光电装置等领域展现出诱人的应用潜力^[7,10]。

碳量子点的荧光特性与其表面状态息息相关,因此,绝大多数碳量子点都表现出依赖 pH 的荧光特性,具体表现为碳量子点的荧光强度随 pH 值的变化而变化^[11],这一特性通常归因于碳量子点表面的质子化和去质子化效应^[12]。除荧光强度外,碳量子点的发射峰位置也会随着 pH 的变化而改变^[12],但这一类变化通常体现为碳量子点固有发射峰的轻微移动,到目前为止,尚未见到碳量子点能在不同 pH 环境下产生新发射峰的报道,尤其是由 pH 变化引起的红光发射。因此,迫切需要对这类独特的 pH 响应行为及其机理进行深入研究。

本研究设计了以柠檬酸为碳源,甲酰胺和水为混合溶剂的溶剂热反应体系,可以简单地一步合成氮掺杂荧光碳量子点,且所得到的碳量子点具有独特的 pH 响应性,在强碱性溶液中,会产生新的不依赖于激发光的红光发射,类似的红色荧光也出现在富含羟基的醇类溶剂中。

1 实验方法

1.1 材料和试剂

柠檬酸(AR, 99.99%)、甲酰胺(AR, 98%)、乙醇(AR, $\geq 99.7\%$)、盐酸(AR, $\geq 98\%$)及氢氧化钠(AR, $\geq 98\%$)购自成都科龙化学试剂厂。3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐(MTT) (SIGMA)用于碳量子点细胞毒性测试。所用去离子水均为超纯水(18.2 Ω)。

1.2 碳量子点的制备

碳量子点的制备过程如下:首先,将 1.5 g 柠檬酸溶解在甲酰胺(30 mL)和水(20 mL)的混合溶液中;然后,将所得的均匀透明溶液转移到 100 mL 聚四氟乙烯反应釜中,在 180 $^{\circ}\text{C}$ 的温度下反应 5 h;待反应釜自然冷却至室温后,将反应所得暗红色溶液离心(1000 r/min),收集沉淀;用丙酮清洗数次以除去反应残留物及小分子物质;然后,用 0.22 μm 的

滤膜过滤;最后,将所得溶液冻干。

1.3 仪器与表征

荧光分光光度计(F-7000, HITACHI)和紫外分光光度计(LS-650, Perkin-Elmer)用于表征碳量子点的光学性质;透射电子显微镜(FEI Tecnai F20)用于表征大小和形貌;傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet 6700)和 X 射线光电子能谱(Kratos Axis Ultra DLD)用于表征表面基团和元素组成;X 射线衍射(Dandong Fangyuan DX-1000)用于表征碳量子点的结构;拉曼光谱(LabRAM HR)用于表征杂化程度。

1.4 细胞毒性及成像实验

细胞毒性实验:MTT 法检测碳量子点的细胞毒性。将 MG63(人体骨肉瘤细胞)以每孔 10^5 个细胞接种于 24 孔板,将培养板置于细胞培养箱中(37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)培养 24 h,然后加入不同浓度(10、20、50、100 $\mu\text{g/mL}$)的碳量子点继续培养 24 和 72 h,把无碳量子点组设为对照组。培养 1 和 3 d 后,细胞进一步用 0.5 mg/mL MTT 培养 4 h,然后,移除加入的溶液,加入二甲亚砜(DMSO)溶解,摇床振荡 10 min。最后,酶标仪测定细胞溶液在波长 490 nm 处的吸光度,记录并处理实验结果。

细胞成像实验:将 MG-63 细胞以每孔 10^5 个细胞接种于 24 孔板,将培养板置于细胞培养箱中(37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)培育 24 h。将 100 $\mu\text{g/mL}$ 的碳量子点溶液通过一层 0.22 μm 的滤膜,然后加入到孔板中。混合物培养 12 h 后,去除 DMFM 培养基,接着用 PBS 清洗三次以除去剩余的碳量子点,最后用荧光显微镜(Laika, DMI8)采集图像。

2 结果与讨论

2.1 形貌与结构表征

图 1(a~b)为样品的 TEM 和 HRTEM 照片,由图可知,所制备的碳量子点近似于球形,尺寸比较均匀,对其粒径进行统计分析,发现其尺寸主要分布在 4~5 nm 之间(图 1(a)插图)。高分辨率 TEM 表明,所制备的碳量子点呈现出明显的晶格化特点,晶面间距经测量约为 0.21 nm,与石墨类材料的[100]晶面对应^[13],这表明所制备的碳量子点具有类似石墨的结构。进一步对碳量子点进行 XRD 和拉曼光谱表征,以便深入地了解其结构。在 XRD 图谱中,衍射角 26° 的位置出现了一个较窄的特征峰(图 1(c)),

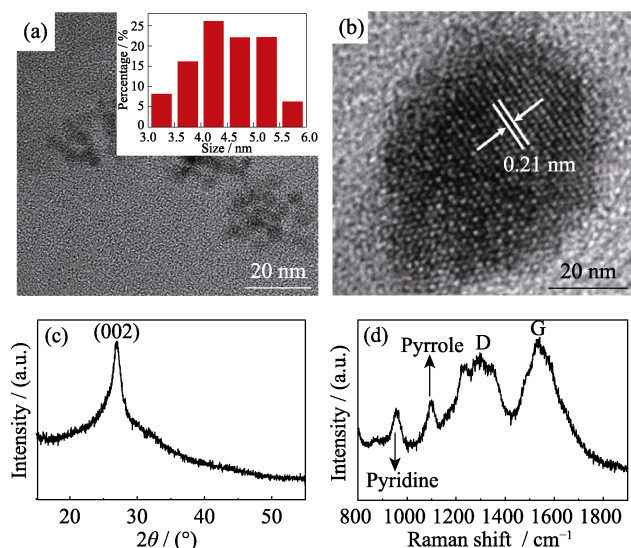


图 1 碳量子点的 TEM 照片(插图为粒径分布图)(a)、HRTEM 照片(b)、XRD 图谱(c)和拉曼光谱图(d)
Fig. 1 TEM image (a), HRTEM image (b), XRD pattern (c), and Raman spectrum (d) of the prepared CDs with inset in (a) showing diameter distribution

对应于石墨结构的(002)晶面^[14], 这表明所制备的碳量子点具有较高的石墨化程度, 这与 HRTEM 照片的结果一致。拉曼光谱显示在 ~ 1300 和 1530 cm^{-1} 处出现了明显的特征峰(图 1(d)), 分别对应于表示无序碳结构(sp^3)的 D 峰和有序碳结构(sp^2)的 G 峰^[15]。此外, 在 1100 和 963 cm^{-1} 处也出现了明显的特征峰, 分别对应于吡咯环和吡啶环结构^[16]。

随后, 用 FT-IR 和 XPS 对所制备的碳量子点的结构和表面基团进行了表征。FT-IR 谱图如图 2(a)所示: 1641 、 1597 和 1347 cm^{-1} 处的吸收峰分别为 $\text{C}=\text{N}/\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{C}$ 和 $\text{C}-\text{N}$ 的伸缩振动峰, 这表明所制备的碳量子点具有芳香结构, 1196 和 1096 cm^{-1} 处的吸收峰是 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的不对称和对称伸缩振动峰; $3000\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 为 $\text{N}-\text{H}$ 和 $\text{O}-\text{H}$ 的伸缩振动峰, 表明所制备的碳量子点具有丰富的表面基团, 如氨基、羟基等。图 2(b~c)分别为碳量子点的 XPS 高分辨 $\text{C}1\text{s}$ 、 $\text{N}1\text{s}$ 和 $\text{O}1\text{s}$ 图谱, 由图可知, $\text{C}1\text{s}$ 经拟合后可分裂为 4 个峰, 峰位分别为 284.4 、 285.2 、 287.1 和 288.8 eV , 分别对应四种含碳结构: $\text{C}=\text{C}$ 、 $\text{C}-\text{N}$ 、 $\text{C}-\text{O}$ 和 $\text{C}=\text{N}/\text{C}=\text{O}$ 。 $\text{N}1\text{s}$ 可分裂为三个峰, 分别为吡啶型氮化物(399.1 eV)、氨基氮(399.6 eV)和吡咯型氮化物(401.3 eV), 这一结果与拉曼光谱一致。 $\text{O}1\text{s}$ 分裂为两个峰, 分别对应 $\text{C}=\text{O}$ (530.7 eV)和 $\text{C}-\text{O}$ (532.4 eV), 上述结果与 FT-IR 的表征一致, 表明该碳量子点含有丰富的含氮及含氧基团。

2.2 光学性质研究

图 3(a)为所得碳量子点的紫外吸收光谱, 如图所示, 在 $250\sim 300\text{ nm}$ 出现了一个窄的吸收, 这主要归因于碳量子点的 sp^2 区域的 $\pi-\pi^*$ 跃迁^[17]; 此外, 在 360 nm 处出现了一个较宽的吸收峰, 这是由于碳量子点的表面态捕获激发态的能量产生的, 这一吸收峰通常会产生蓝色荧光^[18]。所制备的碳量子点具

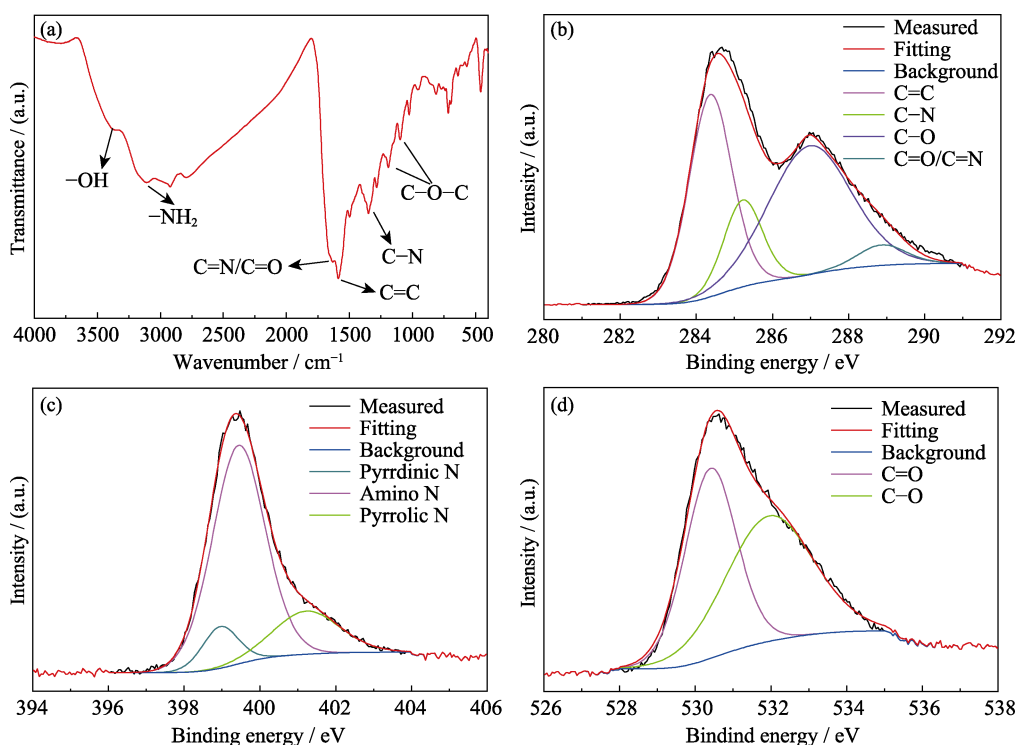


图 2 (a)碳量子点的 FT-IR 谱图及高分辨 XPS 能谱图; (b) $\text{C}1\text{s}$; (c) $\text{N}1\text{s}$; (d) $\text{O}1\text{s}$

Fig. 2 (a) FT-IR spectrum of prepared CDs, high-resolution XPS spectra of $\text{C}1\text{s}$ (b), $\text{N}1\text{s}$ (c) and $\text{O}1\text{s}$ (d) of prepared CDs

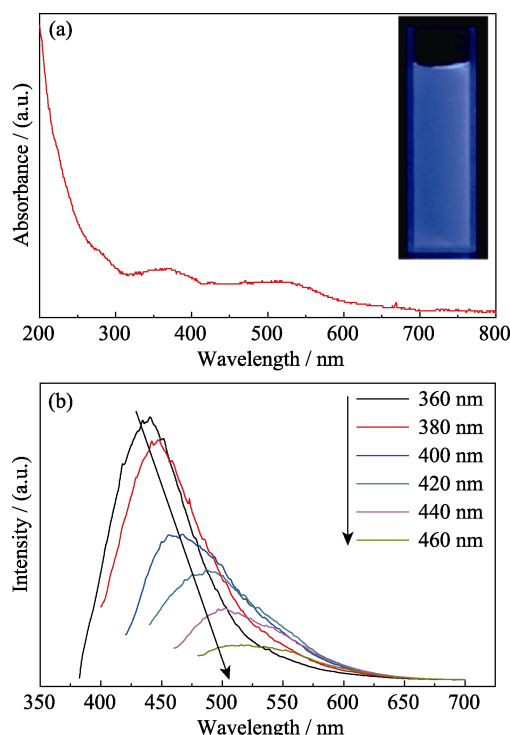


图 3 紫外吸收光谱(插图为碳量子点在紫外光下的光学照片) (a) 和不同波长激发下的荧光光谱(b)
Fig. 3 UV-Vis absorption spectrum of prepared CDs with insets showing optical images of prepared CDs under UV lamp (365 nm) (a) and fluorescent spectra under various excitation wavelengths (b)

有良好的水溶性, 其溶液在紫外灯照射下发出明亮的蓝色荧光, 与其发射波长一致(图 3(a))。图 3(b)是碳量子点在不同激发波长下的荧光光谱, 碳量子点的最佳激发波长为 360 nm, 与其吸收峰位置一致, 其对应的发射峰为 448 nm。此外, 所制备的碳量子点表现出了典型的依赖于激发波长的特征, 即发射波长随着激发波长的增大而红移, 且伴随着荧光强度的降低, 这与文献报道相符^[11,19-21]。

2.3 羟基诱导的碳量子点的特异性 pH 响应行为与机理探讨

图 4(a~g)为所制备的碳量子点在不同 pH 条件下的荧光光谱。由图可知, 当 pH 值从 1 增大到 9 时, 碳量子点的荧光图谱基本相同, 但其荧光强度在 pH 从 3 增至 9 时呈线性减弱(图 4(h)), 但幅度较小, 在紫外灯下光强并没有明显减弱(图 4(i))。但当 pH 增至 11 和 13 后, 除了在蓝绿光区域依赖于激发光的发射以外, 碳量子点在红光区域出现了一个新的发射峰, 该发射峰随着激发波长的增大有轻微的红移, 从 600 nm 红移至 610 nm, 且这个新的发射峰的强度会随着 pH 的增大而增强, 这一变化直观地体现在紫外灯的照射下, 碳量子点溶液的颜色从蓝色变成了粉红色(图 4(i))。

在不同的 pH 条件下, 可以看到碳量子点位于蓝绿光区域的发射峰基本相同, 而在较强的碱性条件下, 碳量子点却产生了独特的 pH 响应, 即在红光区域产生了新的发射峰。通常, 蓝绿光区域的发射峰是碳量子点固有的, 主要来自于其表面状态, 因而具有依赖于激发的荧光特征^[4,22]; 而在较强碱性条件下产生的红光发射不具有依赖激发的荧光发射, 应来自于碱中的氢氧根。由之前的表征可知, 该碳量子点表面富含含氮和含氧基团, 因此, 碱中含有的大量氢氧根通过氢键的方式结合在碳量子点表面^[23-24], 形成新的、稳定的发光中心。值得注意的是, 并不是在所有碱性溶液中都会产生新的红光发射, 比如在 pH 等于 9 时, 就没有产生(图 4(e)), 这很可能是由于在较弱的碱性溶液中, 氢氧根的数量不够导致的。

为了证明这一猜想, 本研究中将碳量子点分散在富含羟基的两种常见的醇类溶剂甲醇和乙醇中, 其荧光图谱如图 5(a,b)所示。由图可知, 碳量子点在两种醇类溶剂中的荧光图谱与其在较强碱性溶液中的荧光图谱(图 4(f,g))基本相同, 在红光区域都出现了基本不依赖激发的发射峰, 且位置相近, 这一结果初步证明在较强碱性溶液中碳量子点新出现的发射峰来源于碱中的氢氧根。而在较弱的碱性溶液中并没有出现新的红光发射是因为在该条件下溶液中的氢氧根数量不够。

为了进一步证明这一假设, 将甲醇和水按不同的比例进行混合来改变混合溶液中羟基的含量, 结果如图 6 所示。按甲醇的含量设的三个比例(体积比), 分别为 75%甲醇溶液、50%甲醇溶液和 25%甲醇溶液。由图可知, 当甲醇的含量超过 50%时(图 6(a,b)), 碳量子点的荧光图谱中均出现了新的红光发射峰, 但是, 当混合溶剂中甲醇的含量降到 25%时, 碳量子点的荧光图谱中没有出现新的发射峰, 这可以直观地从荧光照片中看出, 如图 6(d)所示, 在紫外灯的照射下, 较高甲醇含量的溶液发射的是粉红色荧光, 且甲醇含量越高, 荧光强度越高; 而 25%甲醇溶液发出的是蓝色荧光。这一结果表明, 溶液中羟基含量的多少直接决定了红光区域的发射是否会产生, 羟基的含量需要达到一定水平才能让碳量子点表面形成新的发光中心从而产生新的红光发射。同时这一结果也证明了碱性强弱与红光发射之间的联系。

2.4 碳量子点的应用

为探究所获得的碳量子点可能的生物应用, 本研究首先检测了其细胞毒性, 如图 7(a)所示, 细胞随培养时间延长正常增殖, 碳量子点的存在并未显著

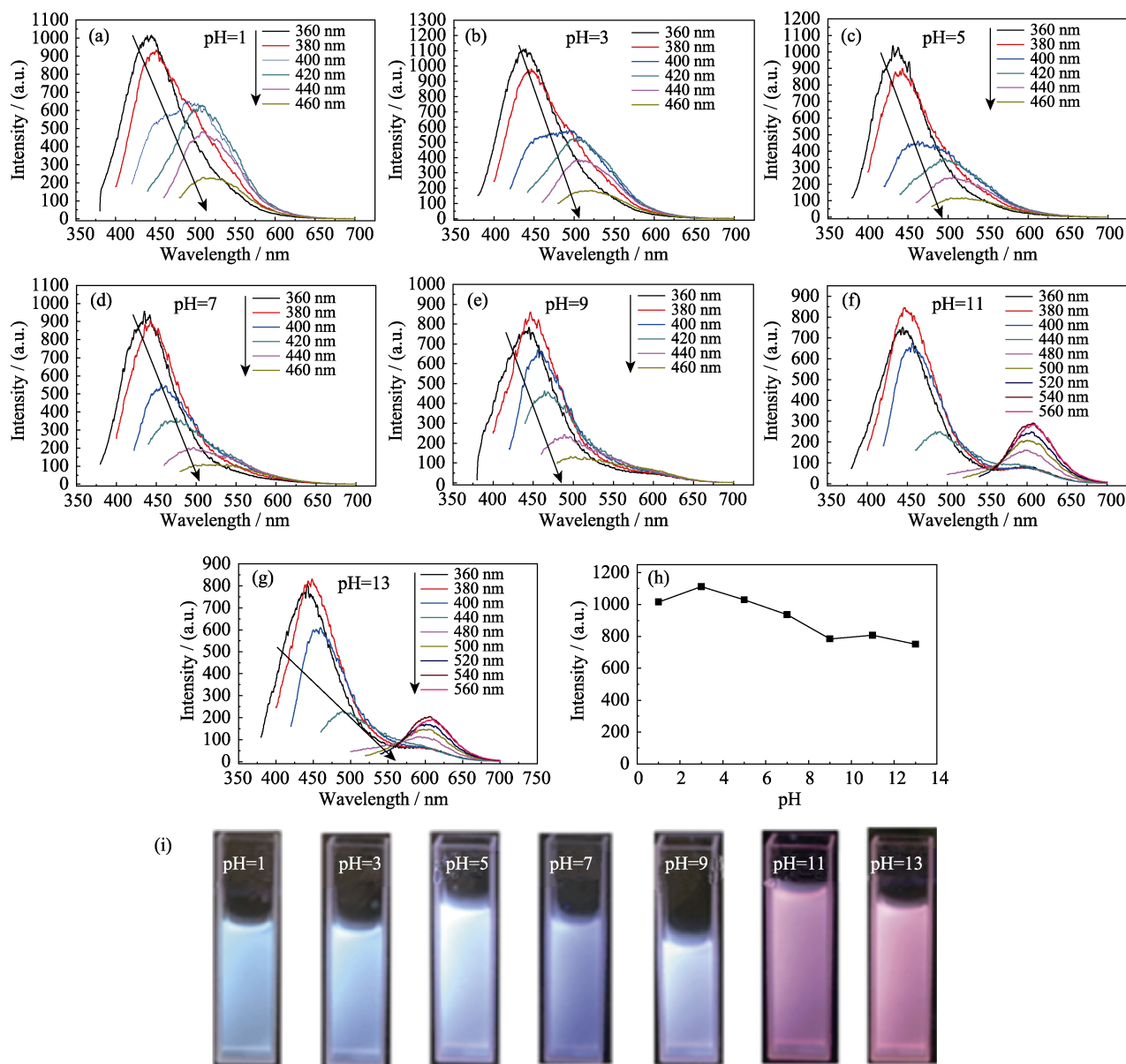


图 4 不同 pH 条件下碳量子点的荧光光谱(a~g)、pH 值与碳量子点荧光强度的关系(EX=360 nm)(h)和不同 pH 值的碳量子点溶液在紫外灯下的荧光照片(i)

Fig. 4 Fluorescent spectra of as-prepared CDs with different pH values under various excitation wavelengths (a-g), fluorescent intensity at different pH under excitation of 360 nm (h) and optical images of prepared CDs with different pH under UV lamp (365 nm) (i)

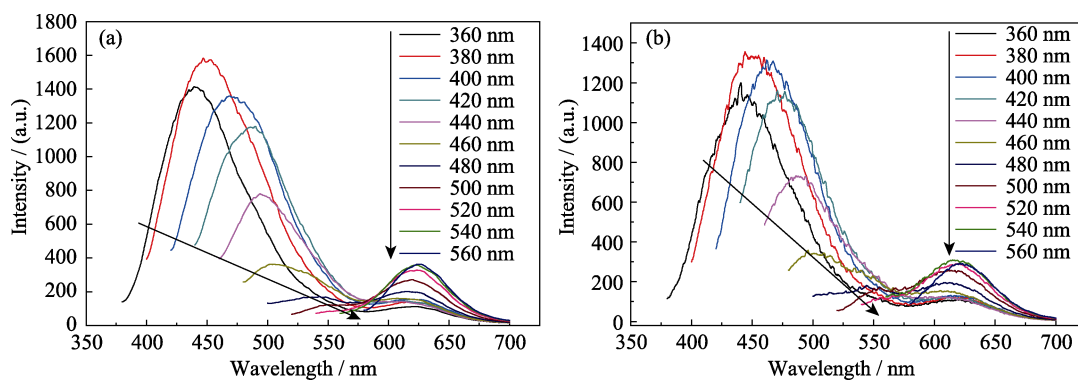


图 5 所制备的碳量子点在甲醇中的荧光光谱(a)和所制备的碳量子点在乙醇中的荧光光谱(b)

Fig. 5 Fluorescent spectra of prepared CDs in methanol (a) and ethanol (b) under various excitation wavelengths

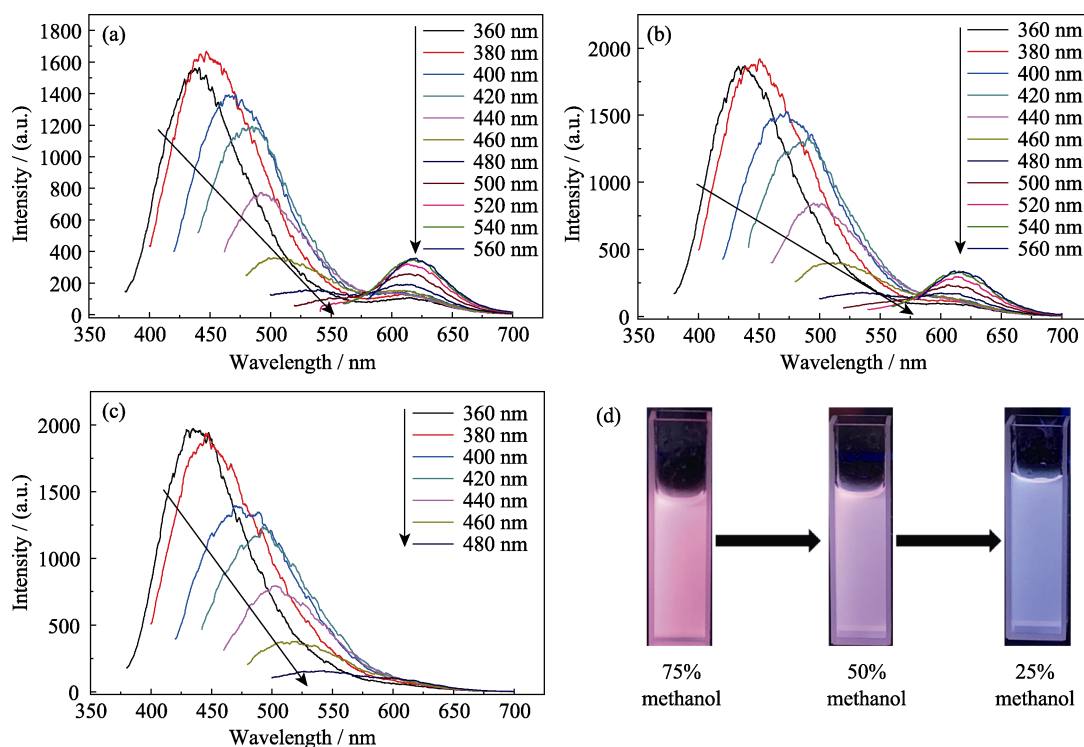


图 6 碳量子点在不同比例甲醇和水混合溶液中的荧光图谱

Fig. 6 Fluorescent spectra of prepared CDs in the mixed solution of methanol and water at methanol concentration of 75% (a), 50% (b) and 25% (c) under various excitation wavelengths, and their optical images under UV lamp excitation (365 nm) (d)

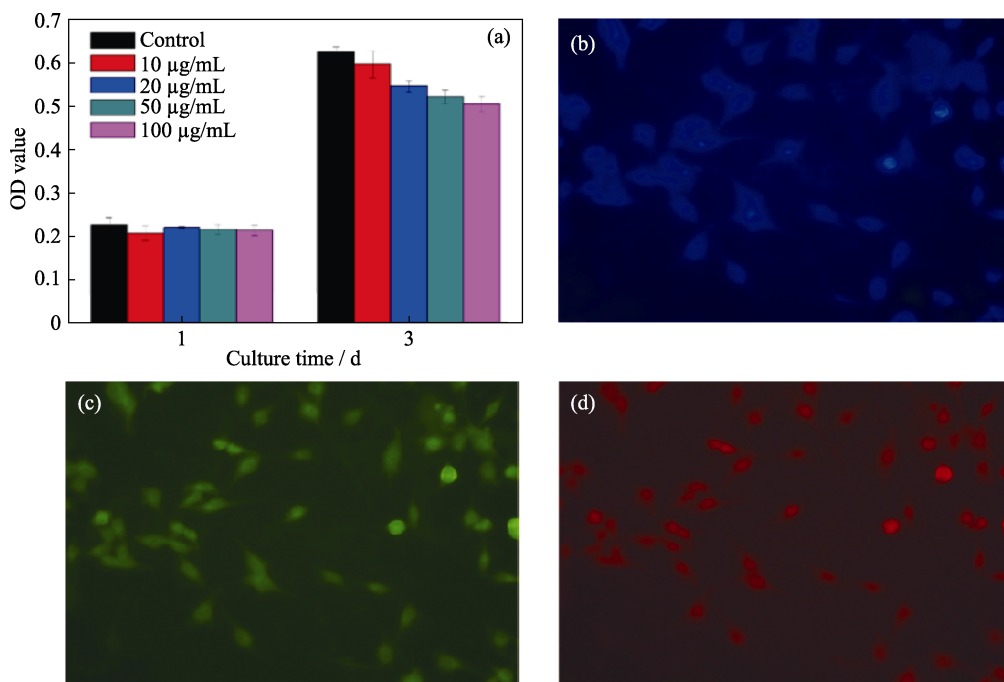


图 7 碳量子点对 MG-63 细胞活性没有显著影响(a), 所标记的 MG-63 细胞在紫外(b)、蓝光(c)和绿光(d)照射下的荧光照片

Fig. 7 Cell viability (a) and fluorescence images of MG-63 cells excited by UV (b), blue (c), and green light (d)

降低细胞的增殖, 表明所制备的碳量子点具有较低的细胞毒性。从将碳量子点与 MG-63 细胞共培养的荧光显微镜照片可以看出, 碳量子点可被 MG-63 细

胞摄取并分布在细胞质中, 细胞在 405、488 和 543 nm 激发下分别发出蓝光、绿光和红光。这一结果表明该碳量子点可用于细胞标记, 显示出在生物

成像领域的潜在应用价值。

3 结论

本研究采用柠檬酸为碳源, 甲酰胺和水为混合溶剂, 通过溶剂热的方式合成了氮掺杂的碳量子点。该碳量子点具有良好的水溶性且在水中具有明亮的蓝光发射, 同时细胞毒性低, 因此可以作为荧光探针应用于细胞成像领域。此外, 该碳量子点还具有独特的 pH 响应, 即在较强碱性溶液中, 碳量子点会产生新的不依赖于激发的红光发射峰, 在紫外灯的照射下, 其溶液也从明亮的蓝色变成粉红色, 但值得注意的是, 随着碱性的逐渐减弱, 红光发射会消失。经实验证明, 同样的红光发射也出现在富含羟基的醇类溶剂中, 且随着醇类溶剂含量的逐渐减少, 产生的红光发射同样会消失。这些结果表明, 碳量子点新产生的红光发射来自氢氧根或羟基, 氢氧根或羟基可以通过氢键与碳量子点表面的含氮及含氧基团结合, 形成新的、稳定的发光中心。

参考文献:

- [1] ZHU S, MENG Q, WANG L, *et al.* Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, **52(14)**: 3953–3957.
- [2] JIANG K, SUN S, ZHANG L, *et al.* Red, green, and blue luminescence by carbon dots: full-color emission tuning and multicolor cellular imaging. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, **54(18)**: 5360–5363.
- [3] JIN S H, KIM D H, JUN G H. Tuning the photoluminescence of graphene quantum dots through the charge transfer effect of functional groups. *ACS Nano*, 2013, **7**: 1239.
- [4] GAO D, LIU X L, JIANG D L, *et al.* Exploring of multicolor emissive carbon dots with novel double emission. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **277**: 373–380.
- [5] CHEN Y, WU Y, WENG B, *et al.* Facile synthesis of nitrogen and sulfur co-doped carbon dots and application for Fe(III) ions detection and cell imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, **223**: 689–696.
- [6] DING H, WEI J S, ZHONG N, *et al.* Highly efficient red-emitting carbon dots with gram-scale yield for bioimaging. *Langmuir*, 2017, **33(44)**: 12635–12642.
- [7] KO H Y, CHNAG Y W, PARAMASIVAM G, *et al.* In vivo imaging of tumour bearing near-infrared fluorescence-emitting carbon nanodots derived from tire soot. *Chem. Commun.*, 2013, **49(87)**: 10290–10292.
- [8] WANG W, LI Y, CHENG L, *et al.* Water-soluble and phosphorus-containing carbon dots with strong green fluorescence for cell labeling. *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2(1)**: 46–48.
- [9] ZHAO Q L, ZHANG Z L, HUANG B H, *et al.* Facile preparation of low cytotoxicity fluorescent carbon nanocrystals by electrooxidation of graphite. *Chem. Commun.*, 2008, **44(41)**: 5116–5118.
- [10] MOON B J, OH Y, SHIN D H, *et al.* Facile and purification-free synthesis of nitrogenated amphiphilic graphitic carbon dots. *Chemistry of Materials*, 2016, **28(5)**: 1481–1488.
- [11] NIE H, LI M, LI Q, *et al.* Carbon dots with continuously tunable full-color emission and their application in ratiometric pH sensing. *Chemistry of Materials*, 2014, **26(10)**: 3104–3112.
- [12] PAN D, ZHANG J, LI Z, *et al.* Observation of pH-, solvent-, spin-, and excitation-dependent blue photoluminescence from carbon nanoparticles. *Chem. Commun.*, 2010, **46(21)**: 3681–3683.
- [13] GE J, JIA Q, LIU W, *et al.* Red-emissive carbon dots for fluorescent, photoacoustic, and thermal theranostics in living mice. *Adv. Mater.*, 2015, **27(28)**: 4169–4177.
- [14] PENG H, LI Y, JIANG C, *et al.* Tuning the properties of luminescent nitrogen-doped carbon dots by reaction precursors. *Carbon*, 2016, **10**: 386–394.
- [15] MIAO X, QU D, YANG D X, *et al.* Synthesis of carbon dots with multiple color emission by controlled graphitization and surface functionalization. *Adv. Mater.*, 2018, **30**: 1704740.
- [16] SUN S, ZHANG L, JIANG K, *et al.* Toward high-efficient red emissive carbon dots: facile preparation, unique properties, and applications as multifunctional theranostic agents. *Chemistry of Materials*, 2016, **28(23)**: 8659–8668.
- [17] DING H, YU S B, WEI J S, *et al.* Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism. *ACS Nano*, 2016, **10(1)**: 484–491.
- [18] DONG Y, PANG H, YANG H B, *et al.* Carbon-based dots co-doped with nitrogen and sulfur for high quantum yield and excitation-independent emission. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, **52(30)**: 7800–7804.
- [19] WANG L, LI B, XU F, *et al.* Visual in vivo degradation of injectable hydrogel by real-time and non-invasive tracking using carbon nanodots as fluorescent indicator. *Biomaterials*, 2017, **145**: 192–206.
- [20] LIANG Q, MA W, SHI Y, *et al.* Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications. *Carbon*, 2013, **60**: 421–428.
- [21] GAO D, ZHAO H, CHEN X, *et al.* Recent advance in red-emissive carbon dots and their photoluminescent mechanisms. *Materials Today Chemistry*, 2018, **9**: 103–113.
- [22] HSU P C, CHANG H T, *et al.* Synthesis of high-quality carbon nanodots from hydrophilic compounds: role of functional groups. *Chem. Commun.*, 2012, **48(33)**: 3984–3986.
- [23] ZHANG T, ZHU J, ZHAI Y, *et al.* A novel mechanism for red emission carbon dots: hydrogen bond dominated molecular states emission. *Nanoscale*, 2017, **9(35)**: 13042–13051.
- [24] WANG H, SUN C, CHEN X, *et al.* Excitation wavelength independent visible color emission of carbon dots. *Nanoscale*, 2017, **9(5)**: 1909–1915.