

УДК 54.057:53.05

ГИДРОТЕРМАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Eg}$ И МОДИФИКАЦИЯ ИХ ПОВЕРХНОСТИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РОЛИ БИОСЕНСОРОВ

© 2023 г. Е. О. Митюшкин¹, *, Д. К. Жарков¹, А. В. Леонтьев¹,
Л. А. Нуртдинова¹, А. Г. Шмелев¹, В. Г. Никифоров¹

¹Казанский физико-технический институт имени Е.К. Завойского – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Федеральный исследовательский центр
“Казанский научный центр Российской академии наук”, Казань, Россия

*E-mail: m.ItyushckIn@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.07.2023 г.

После доработки 14.08.2023 г.

Принята к публикации 28.08.2023 г.

Методом гидротермального синтеза были получены апконверсионные наночастицы $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Eg}$. Замена олеатной оболочки на молекулы L-цистеина позволила придать поверхности апконверсионной наночастицы гидрофильный характер без существенных изменений их фотофизических свойств. Уменьшение интенсивности люминесценции модифицированных апконверсионных наночастиц не наблюдалось в течение месяцев.

DOI: 10.31857/S0367676523702976, EDN: QTWTTQ

ВВЕДЕНИЕ

Апконверсионные наночастицы (АНЧ), легированные редкоземельными ионами, привлекательны для создания на их основе новых оптических материалов благодаря высокой эффективности преобразования нескольких низкоэнергетических фотонов в один высокоэнергетический [1, 2]. Широкие возможности по применению АНЧ открываются в биологическом направлении, например, в таких задачах как биовизуализация [3, 4], биосенсорика [5, 6], доставка лекарств и генов [7, 8], фотодинамическая терапия [9, 10] и тераностика [11, 12]. Среди множества предложенных АНЧ фторидные кристаллы являются наиболее популярными, поскольку сочетают яркую апконверсионную люминесценцию и превосходную физико-химическую стабильность [13]. В свою очередь, среди фторидных кристаллов матрица NaYF_4 – одна из самых распространенных благодаря низкой энергии фоонов $\sim 350 \text{ см}^{-1}$, минимизирующих энергетические потери на безызлучательную релаксацию ионов лантаноидов, находящихся в промежуточных возбужденных состояниях [14, 15].

Как известно, кристалл NaYF_4 имеет две кристаллографические фазы: кубическую (α -) и гексагональную (β -), переход в которые зависит от условий и метода синтеза [16]. Как правило, предпочтение отдается гексагональной фазе $\beta\text{-NaYF}_4$, обеспечивающей намного больший квантовый

выход апконверсионной люминесценции по сравнению с $\alpha\text{-NaYF}_4$ [17].

Следует отметить, что для применения АНЧ в биологических приложениях помимо узких эмиссионных пиков, значительных антистоксовых сдвигов, больших времен жизни возбужденных состояний и высокой химической стойкости наносенсоры также должны иметь гидрофильный характер поверхности. Данная задача решается путем модификации поверхности АНЧ с помощью стратегий обмена, окисления или ковалентного связывания лигандов, послойной сборки, а также метода силанизации [18]. Кроме того, поверхностная модификация в ряде случаев может значительно улучшить люминесцентные свойства АНЧ.

В работе нами использован простой гидротермальный метод для синтеза апконверсионных наностержней $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Eg}$ размерами $60\text{--}80 \text{ нм} \times 1.2\text{--}1.5 \text{ мкм}$ с последующей заменой олеатной оболочки на молекулы L-цистеина ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$), которые обеспечивают гидрофильные свойства. Отметим также, что выбор аминокислоты L-цистеин обусловлен тем, что в своей структуре она имеет активные функциональные группы $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ и $-\text{SH}$, позволяющие впоследствии присоединять к ней различные биомолекулы для дальнейшего применения АНЧ в задачах биологического характера [19].

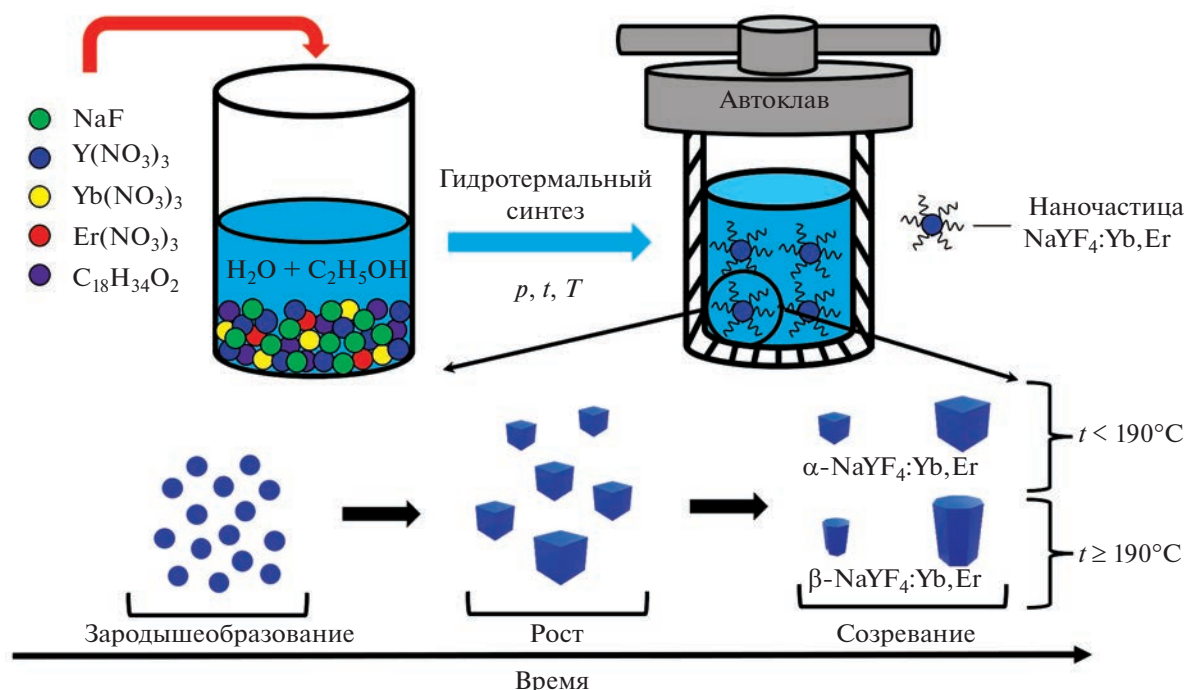


Рис. 1. Схематическая иллюстрация гидротермального синтеза АНЧ $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$.

МЕХАНИЗМ РОСТА НАНОЧАСТИЦ $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ В ГИДРОТЕРМАЛЬНОМ СИНТЕЗЕ

Гидротермальный синтез АНЧ осуществляется в автоклаве, где поддерживаются высокие значения температуры и давления (рис. 1) [20]. Компонентами реакционной смеси являются растворитель, поверхностно-активное вещество (ПАВ) с функциональными группами и прекурсоры выращиваемых кристаллов. В нашем случае в качестве ПАВ была выбрана олеиновая кислота (ОК), источником редкоземельных элементов были их нитраты, а источником натрия и фтора служила соль NaF . Сначала олеат-анионы, введенные в реакционную систему, образуют комплексы с редкоземельными ионами Re^{3+} (где $\text{Re}^{3+} = \text{Y}^{3+}, \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$) за счет сильного координационного взаимодействия. В то же время NaF диссоциирует в водном растворе на ионы Na^+ и F^- . В гидротермальных условиях при повышенном давлении и температуре связь между олеиновой кислотой и редкоземельным ионом медленно разрушается, в результате чего в водный раствор постепенно высвобождаются ионы Re^{3+} . Ионы Na^+ и F^- вступают в реакцию с Re^{3+} , образуя небольшие ядра на стадии зародышеобразования или нуклеации. Затем наступает стадия роста, во время которой эти ядра агрегируют и превращаются в наночастицы $\alpha\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ с формой, близкой к сферической [21]. В процессе роста олеиновая кисло-

та, выступающая в качестве стабилизирующего агента, прикрепляется к поверхности растущих кристаллов алкильными цепями наружу, что обеспечивает контроль роста частиц и предотвращает их агрегацию [22]. Известно, что наночастицы $\alpha\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ в гидротермальных условиях при температуре ($\sim 190^\circ\text{C}$) и давлении (~ 1 ГПа) переходят в гексагональную фазу $\beta\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ в процессе растворения-ренуклеации, суть которого состоит в том, что растворяющиеся наночастицы $\alpha\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ становятся источником для роста более термодинамически устойчивых кристаллов $\beta\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ [23]. Поскольку все стадии синтеза распределены во времени, контроль их продолжительности позволяет получать АНЧ с необходимыми размером и формой.

Стоит отметить, что прекурсоры оказывают двойное действие на эволюцию размеров и формы наночастиц $\beta\text{-NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ [24]. Например, вариация исходных молярных соотношений $\text{F}^-/\text{Re}^{3+}$ и $\text{ОК}/\text{Re}^{3+}$ изменяет морфологию АНЧ от сферической и кубической до шестиугольных пластин, стержней и нитей [25].

СИНТЕЗ И МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ

Синтез АНЧ $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ был проведен в соответствии со следующей процедурой [26]. 1.2 г NaOH был растворен в деионизованной воде объ-

емом 2 мл. При интенсивном перемешивании были добавлены 8 мл этанола и 20 мл олеиновой кислоты. Смесь перемешивалась в течение 20 мин до получения прозрачной гомогенной системы. Затем к раствору при интенсивном перемешивании было добавлено 0.8 ммоль $Y(NO_3)_3$, 0.18 ммоль $Yb(NO_3)_3$ и 0.02 ммоль $Er(NO_3)_3$ (общее количество $Re(NO_3)_3$ — 1.0 ммоль). После чего было добавлено 8 мл водного раствора NaF с концентрацией 1.0 М. Получившийся раствор перемешивался еще 30 мин. Далее смесь была помещена в 50 мл автоклав из нержавеющей стали с тефлоновым покрытием и выдержана при 190°C в течение 24 ч. Система охлаждалась до комнатной температуры естественным путем. Далее смесь разделялась центрифугированием при 6000 об./мин и несколько раз промывалась этанолом и деионизированной водой для удаления олеиновой кислоты и других остатков. После сушки на воздухе при 60°C в течение 12 ч наночастицы были растворены в неполярном циклогексане с образованием гомогенной коллоидной суспензии. Для получения хорошо диспергированной суспензии наночастиц в циклогексане раствор подвергали ультразвуковой обработке.

Для того чтобы сообщить синтезированным наночастицам гидрофильные свойства и улучшить их биосовместимость, поверхность АНЧ была модифицирована L-цистеином. Процедура модификации поверхности АНЧ путем замены олеатной оболочки на молекулы L-цистеина состояла из следующих этапов.

Сначала АНЧ были высушены на воздухе, а затем были диспергированы в хлороформе. Отдельно был приготовлен водный раствор L-цистеина с концентрацией 0.2 моль/л. После растворения L-цистеина pH раствора был доведен до 10 добавлением 0.5 М водного раствора КОН. Раствор L-цистеина был добавлен к дисперсии АНЧ в хлороформе. Получившаяся двухфазная система была нагрета до 90°C при интенсивном перемешивании. Процесс завершился по мере выкипания хлороформа, после чего произошел переход АНЧ в водный слой. На дне колбы образовался осадок из олеиновой кислоты. Для очистки полученной системы был добавлен этанол в соотношении 1 : 1 до помутнения раствора и растворения олеиновой кислоты. Далее смесь была разделена центрифугированием при 6000 об./мин в течение 7 мин. Полученный осадок был редиспергирован в дистиллированной воде. Олеиновая кислота осталась в водно-спиртовом растворе.

ЭКСПЕРИМЕНТ

Размер и морфологию поверхности синтезированных АНЧ исследовали с помощью СЭМ EVO 50 XVP (Carl Zeiss) с системой зондового

микроанализа “INCA Energy-350”. Коллоидный раствор АНЧ наносился на подложку из высоколегированного проводящего кремния, высушивался под тягой при комнатной температуре, после чего порошок АНЧ изучался в камере микроскопа.

Инфракрасную спектроскопию с преобразованием Фурье (Фурье-ИКС) олеиновой кислоты, L-цистеина и АНЧ, покрытых разными лигандами, проводили с помощью спектрометра FT-801 методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Фурье-ИК спектры были получены с длиной шага 4 см^{-1} в диапазоне от 400 до 4000 см^{-1} . Образец наносили на поверхность кристалла НПВО, после чего регистрировали Фурье-ИК спектр.

Спектры излучения и кинетики затухания апконверсионной люминесценции АНЧ получены с использованием модульного спектрофлуориметра HORIBA FL-QM-8075-22-C с возбуждением диодным лазером на длине волны 980 нм и регистрацией с помощью ФЭУ R13456 (Hamamatsu) с мультищелочным катодом. Для регистрации спектров апконверсионной люминесценции по одной капле суспензии АНЧ наносилось на две пластины покровного стекла. После того, как растворитель испарялся, пластины склеивались между собой и помещены в камеру спектрофлуориметра. Для измерения кинетики затухания люминесценции помимо порошков АНЧ, нанесенных на покровное стекло, также использовались нанодисперсии АНЧ с циклогексаном и водой в качестве дисперсионной среды для гидрофобных и гидрофильных АНЧ, соответственно.

ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ

На рис. 2 представлены изображения СЭМ наночастиц $NaYF_4:Yb,Er$ до и после поверхностной модификации. Анализ размеров сотни АНЧ показывает, что длина и ширина НЧ находятся в диапазонах 0.5–1.5 мкм и 40–83 нм, соответственно. Большинство частиц имеют длину и ширину, равную 1.4 мкм и 70 нм. Стоит отметить, что модификация поверхности не привела к изменению линейных размеров АНЧ.

На рис. 3 представлены фурье-ИК спектры АНЧ, покрытые олеиновой кислотой, и АНЧ после модификации поверхности L-цистеином. Фурье-ИК спектры поглощения АНЧ, стабилизированных комплексами олеатов, имеют типичную для этих соединений форму. Полосы 2853 и 2925 см^{-1} соответствуют валентным симметричным и асимметричным колебаниям CH_2 -группы олеатного фрагмента (рис. 3a). Присутствие олеат-аниона в составе синтезированных АНЧ подтверждается наличием в спектре колебаний карбоксилатной группы $-COO^-$. Асимметричные и симметричные валентные колебания —

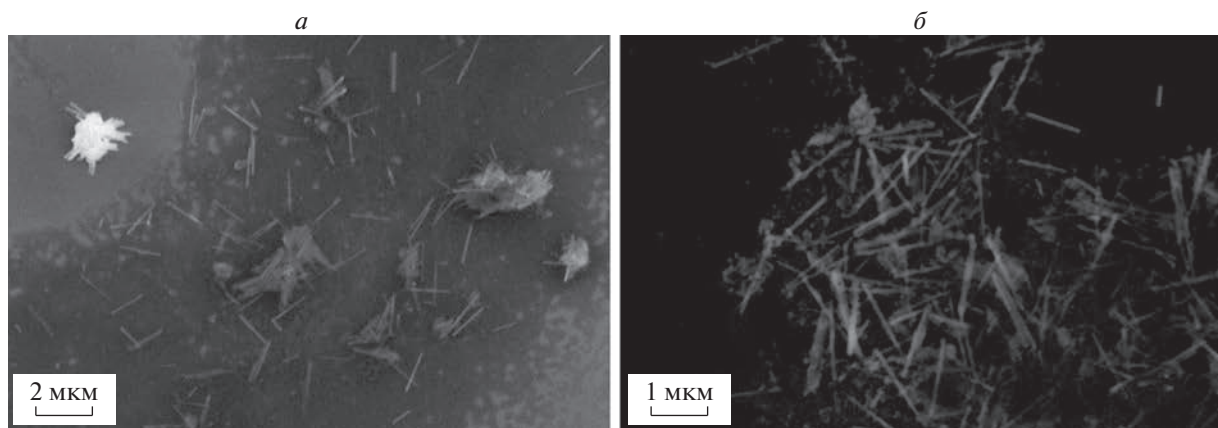


Рис. 2. Изображение СЭМ наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ с олеатной оболочкой (до модификации) (а) и L-цистеином на поверхности (после модификации) (б).

COO^- при 1560 и 1410 см^{-1} в фурье-ИК спектре смещены в сторону меньших волновых чисел по сравнению, например, с олеатом натрия (1565 и 1450 см^{-1}) из-за высокого положительного заряда ионов Y^{3+} [27]. Пик 1710 см^{-1} относится к валентным колебаниям карбонильной группы C=O олеиновой кислоты, что указывает на остаточное количество олеиновой кислоты в полученном образце АНЧ.

Исходя из сравнительного анализа фурье-ИК спектров видно, что после модификации поверхности интенсивные высокочастотные полосы олеатной оболочки с максимумами 2853 , 2925 и 1710 см^{-1} исчезли, а в широкой области $500\text{--}1700\text{ см}^{-1}$ произошла реструктуризация, характерная для спектра поглощения молекул L-цистеина. Таким образом, результаты фурье-ИК спектроскопии подтверждают успешную модификацию АНЧ L-цистеином.

Под воздействием непрерывного лазерного излучения на длине волны 980 нм мощностью 661 мВт спектры эмиссии порошков наночастиц состояли из четырех отдельных полос излучения при 522 , 542 , 655 и 842 нм , относящимся к переходам $^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$, $^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$, $^4\text{F}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ и $^4\text{I}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ ионов Er^{3+} , соответственно (рис. 4). Нормированные спектры апконверсионной люминесценции для АНЧ, покрытых олеиновой кислотой и L-цистеином, представлены на рис. 5. Хотя спектральные характеристики люминесценции АНЧ с олеатной оболочкой и молекулами L-цистеина довольно близки, следует отметить, что АНЧ с L-цистеином обладают меньшей относительной амплитудой зеленых полос ($520\text{--}570\text{ нм}$), что, вероятно, следует отнести к поверхностным эффектам в результате модификации. Важно добавить, что покрытые L-цистеином АНЧ сохраняют видимую глазом яркую люминесценцию на протяжении нескольких месяцев, что по

меньшей мере указывает на отсутствие полного затухания люминесценции за этот период.

Было проведено исследование влияния поверхностных тушителей люминесценции на АНЧ с олеатной оболочкой и L-цистеином в разных средах на основе данных сравнительного анализа кинетики затухания люминесценции эмиссии ионов эрбия Er^{3+} . Полученные экспериментальные кривые затухания люминесценции были аппроксимированы функциями вида:

$$I(t) = I_1 + I_0 \exp(-t/T), \quad (1)$$

где $I(t)$ – регистрируемая интенсивность апконверсионной люминесценции на выбранной длине волны; I_1 – аппаратная константа, I_0 – предэкспоненциальный фактор, τ – время жизни

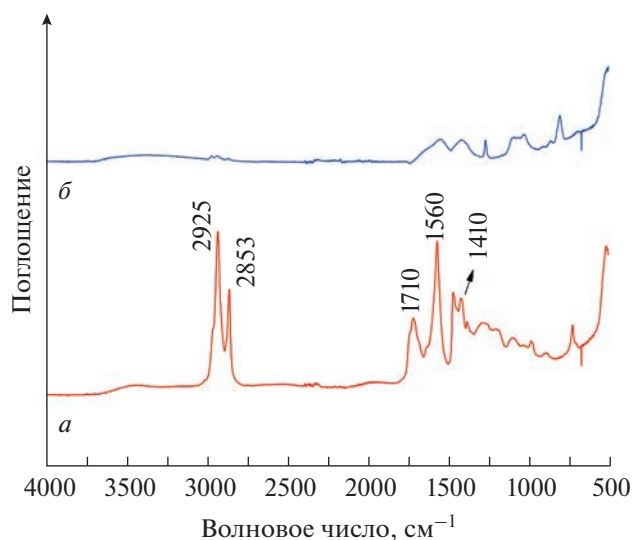


Рис. 3. Фурье-ИК спектр порошков наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ с олеатной оболочкой (до модификации) (а) и L-цистеином на поверхности (после модификации) (б).

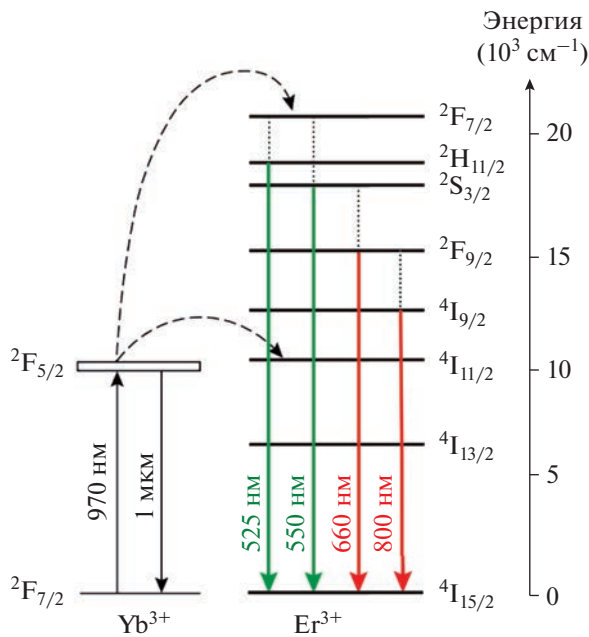


Рис. 4. Диаграмма энергетических уровней и процессы переноса энергии в АНЧ. Сплошные стрелки показывают излучательные переходы, пунктирные стрелки и линии – перенос энергии и безызлучательные переходы.

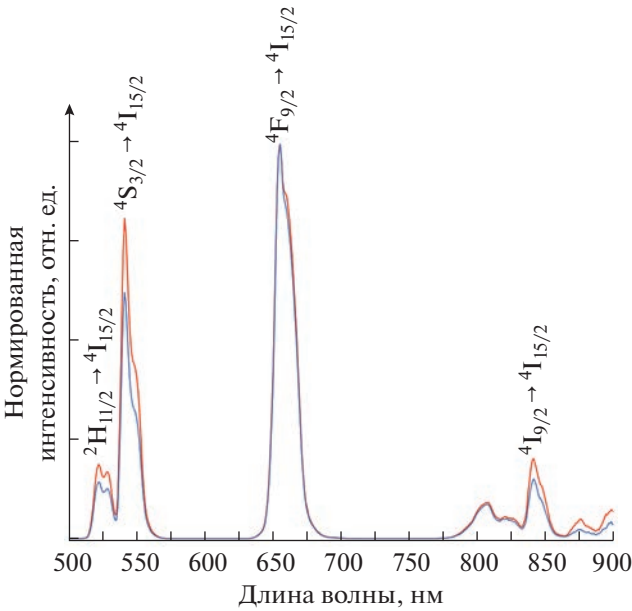


Рис. 5. Спектры апконверсионной люминесценции порошков АНЧ NaYF₄:Yb,Er. Красная линия – АНЧ с олеатной оболочкой (до модификации), голубая линия – АНЧ с L-цистеином на поверхности (после модификации).

возбужденного состояния. Параметры аппроксимирующих кривых для состояний $^2H_{11/2}$, $^4S_{3/2}$, $^4F_{9/2}$ и $^4I_{9/2}$ ионов эрбия представлены в табл. 1.

Видно, что поверхностная модификация АНЧ не привела к существенным изменениям времен затухания люминесценции на длинах волн 522, 542, 655 и 840 нм. Эти данные вместе с результатами, представленными на рис. 5, показывают, что поверхностная модификация не оказала существенного влияния на люминесцентные свойства АНЧ с точки зрения их возможного использования в биологических задачах. Вместе с тем следует отметить, что время затухания люминес-

ценции является чувствительным параметром к различного рода поверхностным эффектам. По всей видимости, именно такие процессы ответственны за небольшие вариации величин времен затухания в табл. 1 в зависимости от типа оболочки и характера окружающей среды. Данное обстоятельство представляет самостоятельный спектроскопический интерес, требующий дополнительного изучения за рамками данной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлены результаты гидротермального синтеза наночастиц NaYF₄:Yb,Er со стержневой

Таблица 1. Параметры кинетики затухания апконверсионной люминесценции АНЧ на основе кривой (*I*)

Длина волны, нм	Порошок		Раствор	
	Олеиновая кислота	L-цистеин	Олеиновая кислота	L-цистеин
			Циклогексан	Вода
	τ, мс	τ, мс	τ, мс	τ, мс
522	0.1626 ± 0.0004	0.1934 ± 0.0008	0.1913 ± 0.0009	0.1542 ± 0.0004
542	0.1706 ± 0.0005	0.1691 ± 0.0004	0.1732 ± 0.0005	0.1491 ± 0.0003
655	0.447 ± 0.001	0.526 ± 0.001	0.438 ± 0.001	0.471 ± 0.001
840	0.1711 ± 0.0006	0.1642 ± 0.0005	0.1891 ± 0.0009	0.1490 ± 0.0005

формой и успешно проведенной модификации их поверхности L-цистеином. Сравнительный анализ фурье-ИК спектров подтвердил отсутствие признаков олеатной оболочки после модификации поверхности и появление интенсивных полос поглощения L-цистеина. Данные люминесцентной спектроскопии демонстрируют апконверсионную природу возбуждения эмиссии ионов Er^{3+} . Сравнительный анализ времен затухания кинетик люминесценции показал отсутствие негативных влияний поверхностных тушителей люминесценции АНЧ с L-цистеином в водной среде после. Главным результатом работы является то, что АНЧ с L-цистеином способны ярко люминесцировать без существенных изменений в течение нескольких месяцев.

Спектроскопические исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-42-10012, <https://rscf.ru/project/23-42-10012/>). Низкотемпературные измерения выполнены в рамках темы государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shen J., Zhao L., Han G. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2013. V. 65. P. 744.
2. Gu Z., Yan L., Tian G. et al. // Adv. Mater. 2013. V. 25. P. 3758.
3. Rosal B., Jaque D. // Meth. Appl. Fluoresc. 2019. V. 7. No. 2. Art. No. 022001.
4. Li H., Tan M., Wang X. et al. // J. Amer. Chem. Soc. 2020. V. 142. P. 2023.
5. Jiang W., Yi J., Li X. et al. // Biosensors. 2022. V. 12. P. 1036.
6. Arai M.S., de Camargo A.S.S. // Nanoscale Adv. 2021. V. 3. No. 18. P. 5135.
7. Lee G., Park Y.I. // Nanomaterials. 2018. V. 8. P. 511.
8. Zhang L., Jin D., Stenze M.H. // Biomacromolecules. 2021. V. 22. No. 8. P. 3168.
9. Li H., Liu J., Wang Y. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. Art. No. 996264.
10. Shi Z., Zhang K., Zada S. et al. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2020. V. 12. No. 11. P. 12600.
11. Han Y., An Y., Jia G. et al. // Nanoscale. 2018. V. 10. P. 6511.
12. Rafique R., Kailasa S.K., Park T.J. // TrAC. Trends Analyt. Chem. 2020. V. 120. P. 115646.
13. Zou W.Q., Visser C., Maduro J.A. et al. // Nature Photonics. 2012. V. 6. P. 560.
14. Heer S., Kömpe K., Güdel H.U., Haase M. // Adv. Mater. 2004. V. 16. P. 2102.
15. Жарков Д.К., Шмелев А.Г., Леонтьев А.В. и др. // Изв. РАН. Сер физ. 2020. Т. 84. № 3. С. 317; Zharkov D.K., Shmelev A.G., Leontyev A.V. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2020. V. 84. No. 3. P. 241.
16. Tu D., Liu Y., Zhu H. et al. // Angew. Chem. Int. Ed. 2013. V. 125. P. 1166.
17. Krämer K.W., Biner D., Frei G. et al. // Chem. Mater. 2004. V. 16. P. 1244.
18. Gao C., Zheng P., Liu Q. et al. // Nanomaterials. 2021. V. 11. P. 2474.
19. Wei Z., Sun L., Liu J. et al. // Biomaterials. 2014. V. 35. P. 387.
20. Rabenau A. // Angew. Chem. Int. Ed. 1985. V. 24. P. 1026.
21. Sun C., Schäferling M., Resch-Genger U. et al. // Chem. Nano Mater. 2021. V. 7. P. 174.
22. Shang Y., Hao S., Liu J. et al. // Nanomaterials. 2015. V. 5. P. 218.
23. Ding M., Chen D., Yin S. et al. // Sci. Reports. 2015. V. 5. P. 12745.
24. Li C., Lin J. // J. Mater. Chem. 2010. V. 20. P. 6831.
25. Zeng S., Ren G., Xu C. et al. // Cryst. Eng. Comm. 2011. V. 13. P. 1384.
26. Ren G., Zeng S., Hao J. // J. Phys. Chem. C. 2011. V. 115. P. 20141.
27. Wen X., Yang J., He B. et al. // Current Appl. Phys. 2008. V. 8. P. 535.

Hydrothermal synthesis of upconversion nanoparticles $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ and their functionalization for use as biosensors

E. O. Mityushkin^a, *, D. K. Zharkov^a, A. V. Leontyev^a, L. A. Nurtdinova^a,
A. G. Shmelev^a, V. G. Nikiforov^a

^aZavoisky Physical-Technical Institute, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences",
Kazan, 420029 Russia

*e-mail: mityushckin@yandex.ru

Using hydrothermal synthesis $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ upconversion nanoparticles in the form of rods were obtained. To give the nanoparticles hydrophilic properties, their surface was modified by replacing the oleate shell with L-cysteine molecules without significant changes in their photophysical properties. Visible fading of the luminescence brightness of the modified upconversion nanoparticles wasn't observed for months.

Keywords: upconversion particles, hydrothermal synthesis, hydrophilic property, ligand exchange, oleic acid, L-cysteine