

УДК 535.37:53.086

ИМПРИНТИНГ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДАМИ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ МИКРОСКОПИИ

© 2024 г. А. П. Чукланов¹, *, А. С. Морозова¹, Е. О. Митюшкин¹, Л. А. Нуртдинова¹,
А. В. Леонтьев¹, В. Г. Никифоров¹, Н. И. Нургазизов¹

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: achuklanov@kfti.knc.ru

Поступила в редакцию 15.07.2024

После доработки 19.08.2024

Принята к публикации 30.08.2024

Проанализирована возможность использования апконверсионных фторидных наночастиц NaYF_4 , допированных ионами Yb^{3+} и Er^{3+} , в качестве упорядоченных неинвазивных скрытых меток. Синтезированные апконверсионные фторидные наночастицы осаждали из суспензии на поверхность подложки с метками, используемыми в качестве крупномасштабных маркеров, а затем при помощи сканирующего зондового микроскопа небольшие конгломераты апконверсионных наночастиц переносили на макроскопически значимые расстояния и контролируемо осаждали на чистую поверхность, осуществляя тем самым импринтинг нанообъектов. Процесс переноса и осаждения контролировали при помощи конвенционального оптического микроскопа. В оптическом конфокальном микроскопе были зарегистрированы люминесцентные сигналы от упорядоченно расположенных меток.

Ключевые слова: апконверсионные наночастицы, сканирующая зондовая микроскопия, люминесценция, импринтинг, конфокальная микроскопия

DOI: 10.31857/S0367676524120183, **EDN:** EVIBTZ

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы, обладающие апконверсионной люминесценцией (когда, в отличие от обычной, даунконверсионной люминесценции, накачка производится квантами света меньших энергий, чем люминесцентный отклик), имеют перспективное применение [1–3] в биологии, микроэлектронике и других областях. Одно из возможных интересных применений подобного рода уникальных объектов — использование их в качестве меток, которые позволяют проверить подлинность какого-либо объекта или документа. Учитывая размеры апконверсионных наночастиц (АНЧ), они могут быть практически незаметны и сложно обнаружимы на поверхности объекта, подлинность которого необходимо зафиксировать. В качестве параметра, определяющего подлинность, может выступать форма спектра люминесценции АНЧ, высвечиваемой под действием апконверсионной лазерной накачки, зависимость спектра, от внешних параметров (например, от температуры) и расположение излучающих наночастиц в определенном порядке на поверхности. Порядок может быть как достаточно простым, например, точка в определенном углу объекта, последовательность из нескольких точек в виде

линии, треугольника, квадрата и т. п., так и достаточно сложным, повторяющим, например, печать организации, удостоверяющей подлинность.

Одной из уникальных возможностей сканирующего зондового микроскопа (СЗМ) является возможность манипулирования отдельными микро- и нанообъектами (вплоть до атомов) с очень высокой точностью, которая в отдельных случаях может достигать атомарного масштаба. Это открывает широкие перспективы по созданию микро- и наноструктур в заранее заданной области поверхности.

В данной работе с использованием атомно-силового микроскопа исследована возможность создания из фторидных наночастиц NaYF_4 , допированных ионами Yb^{3+} , Er^{3+} , $(\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er})$ структур заранее определенной формы на поверхности. Такие структуры могут выступать в роли скрытой уникальной метки, подлинность которой можно подтвердить методами оптической спектроскопии.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb}$ (18 %), Er (2 %) были синтезированы гидротермальным методом [4].

Сначала 1.2 г NaOH растворяли в деионизированной воде объемом 2 мл. При интенсивном перемешивании были добавлены 8 мл этанола и 20 мл олеиновой кислоты. Смесь перемешивали в течение 20 мин до получения прозрачной гомогенной системы. Затем к раствору при интенсивном перемешивании добавляли 0.8 ммоль $Y(NO_3)_3$, 0.18 ммоль $Y(NO_3)_3$ 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 моль. Получившийся раствор перемешивали еще 30 мин. Далее смесь помещали в 50 мл автоклав из нержавеющей стали с тефлоновым покрытием и выдерживали при 190 °C в течение 24 ч. Систему охлаждали до комнатной температуры естественным путем. Смесь разделяли центрифугированием при 6000 об./мин и несколько раз промывали этанолом и бидистиллированной деионизированной водой для удаления олеиновой кислоты и других остатков. После сушки на воздухе при 60 °C в течение 12 ч наночастицы растворяли в дистиллированной воде и подвергали ультразвуковой обработке для образования гомогенной коллоидной суспензии.

В качестве подложки использовали предметное стекло размером 20×8×0.4 мм³. Подложки имели несимметричную форму для простоты определения рабочей поверхности. На их поверхности была сформирована система меток из нескольких перпендикулярных пересекающихся царапин (рис. 1). Метки позволяли идентифицировать область, в которой проводили манипуляции с АНЧ, и гарантированно находить одну и ту же область поверхности при исследованиях разными методами.

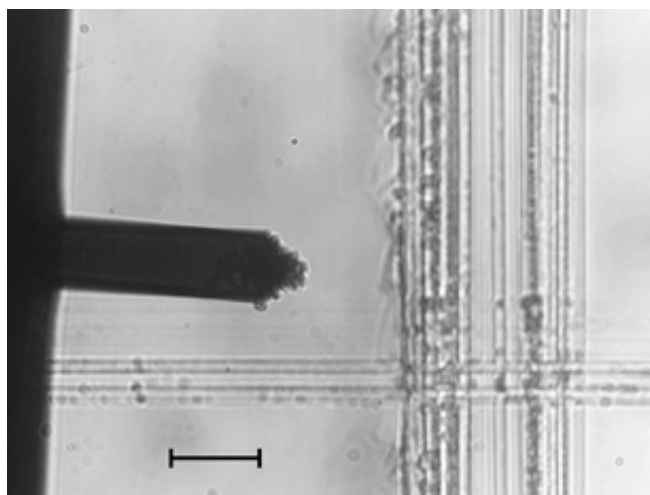


Рис. 1. Оптическое изображение АСМ-балки с зондом после процесса сканирования в контактном режиме. Балка с зондом покрыта агломератами наночастиц. Вид снизу вверх, подсветка сверху. Размер масштабного отрезка 45 мкм.

После нанесения меток-царапин подложки очищали от механических и органических загрязнений в ацетоне ЧДА в ультразвуковой ванне в течение 10 мин и в растворе «пиранья» (смесь H_2O_2 и H_2SO_4 в соотношении 3:7) в течение 20 мин, а после промывали дистиллированной водой 3 раза и высушивали. Каплю перемешанного в ультразвуковой ванне коллоидного водного раствора АНЧ объемом порядка 5 мкл наносили на поверхность подложки в область пересечения меток-царапин и высушивали.

ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

СЗМ Solver Bio (NT—MDT, Россия), работающий в режиме атомно-силового микроскопа (АСМ), оборудованный оптическим инвертированным микроскопом Биолам П2—1 использовали для манипуляций с АНЧ, определения их формы, размеров и контролируемого осаждения АНЧ на чистую поверхность. Метки-царапины подложки и балка зонда АСМ хорошо визуализировались в работающий на просвет оптический микроскоп. Точность позиционирования АСМ зонда над нужной областью составляла около 5 мкм. Это позволяло легко выбирать, и в дальнейшем повторно находить одну и ту же область поверхности образца в случае цикла исследований, предполагающего перенос изучаемых объектов в разные установки. Сканирование поверхности в СЗМ Solver Bio реализовано за счет перемещения зонда, сканирующая головка располагается сверху образца. Максимальное латеральное поле сканирования СЗМ составляет около 100×100 мкм², максимально возможное перемещение зонда по вертикали около 7 мкм.

Измерения и манипуляции с АНЧ проводили в воздушной атмосфере при комнатной температуре и влажности. Использовали стандартные кремниевые кантилеверы NSG-01 (НТ—МДТ, Россия), с силовой постоянной около 5 Н/м, (диапазон возможных значений, заявленный производителем: 1.45—15.1 Н/м), резонансной частотой около 150 кГц (диапазон возможных значений, заявленный производителем: 87—230 кГц). Выбор зондов АСМ был обусловлен их универсальностью: в контактном режиме работы они создают достаточное для перемещения АНЧ давление на поверхность, а в полуконтактном — используются для визуализации формы и размера АНЧ, не меняя их расположения. Таким образом одним и тем же зондом АСМ, без смены юстировки, можно осуществлять полный цикл манипуляции и контроля АНЧ.

В оптическом конфокальном микроскопе (ОКМ) для возбуждения сигнала использовался диодный лазер с длиной волны 980 нм. Фокусировка лазерного луча на объект и сбор излучения с объекта осуществлялся с помощью 40× объектива.

Объекты на поверхности подложки сканировали лазерным лучом с системой позиционирования на основе гальванометрического сканера. В результате детектирования формировался массив данных, представляющий собой зависимость интенсивности люминесценции от координат фокального пятна.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью оптического микроскопа визуально идентифицировали область образца с пересечением меток и оценивали степень заполнения участка АНЧ. За основу был взят алгоритм манипуляции, разработанный для очистки участка поверхности с АНЧ с изолированием в высохшей капле раствора выбранного объекта или группы объектов [5, 6]. Зонд АСМ подвели к поверхности в полуконтактном режиме (когда зонд испытывает вынужденные колебания на резонансной частоте балки, и обратная связь работает по изменению амплитуды колебаний), поверхность сканировали и проверяли на наличие в этой области АНЧ, затем сканировали поверхность большой площади (порядка 90×90 мкм). Во время сканирования контролировали перемещения зонда и поведение пленки с АНЧ в области зонда с помощью оптического микроскопа. Как правило, на этом этапе не удавалось получать качественные АСМ изображения поверхности, наблюдали большое количество характерных полос, совпадающих с направлением сканирования (т. н. «брейков»), которые, по всей видимости, возникают из-за большого перепада высот и взаимодействия зонда с вязкими остатками раствора. Далее АСМ переводили в контактный режим (когда зонд не испытывает вынужденных колебаний, обратная связь работает по отклонению балки кантилевера от положения равновесия). Сила давления зонда на поверхность возрастала и по примерным оценкам составляла 50–100 нН для зондов марки NSG 01. В этом режиме запускали процесс сканирования достаточно большой области (квадрат с размером стороны 80–90 мкм). В оптический микроскоп при этом наблюдали утончение пленки в месте сканирования. Можно предположить, что происходило «соскребание» остатков раствора, содержащего АНЧ, с поверхности подложки. Часть вытесненной пленки и АНЧ выдавливались к краю поля сканирования, другая часть прилипала к балке и зонду, что наблюдалось визуально в оптический микроскоп (рис. 1).

Одной из особенностей реализации процесса сканирования в линейке СЗМ Solver является алгоритм остановки сканирования: зонд АСМ автоматически перемещается в центр сканируемой области, поэтому часть собранных зондом АНЧ могут вернуться на поверхность, если зонд будет перемещаться в контакте по уже расчищенной поверхности. Для того, чтобы сохранить прилипшие

АНЧ на зонде, непосредственно в процессе сканирования выключали обратную связь, а зонд, не прерывая сканирование, отходил от поверхности на расстояние несколько микрометров, и только после этого сканирование останавливали вручную. Далее зонд АСМ отводили от поверхности на большее расстояние при помощи механической системы подвода-отвода. Таким образом, в распоряжении оператора появлялся АСМ зонд, покрытый наночастицами, которые можно было перенести и осадить в любое другое место. Количество переносимых АНЧ можно было контролировать, варьируя площадь просканированной области с высушенным раствором. Чем больше была площадь сканирования, тем большее количество наночастиц оказывалось на поверхности АСМ зонда.

Для осаждения агломерата АНЧ был выбран участок той же самой подложки в области пересечения меток (для проведения нескольких циклов осаждения АНЧ и последующего исследования в ОКМ) на расстоянии 10–15 мм от края высохшей капли коллоидного раствора АНЧ, т. е. в этом месте гарантировано отсутствовали АНЧ.

Была создана тестовая метка, представляющая собой квадрат со стороной около 0.04 мм, в вершинах которого были осаждены агломераты АНЧ. Подробно процесс формирования квадрата представлен на рис. 2. На чистом участке поверхности (рис. 2а) был размещен первый агломерат наночастиц (рис. 2б). Для этого АСМ зонд с наночастицами, набранными по описанной выше методике, был приведен в контакт с поверхностью. Далее прибор переводили в полуконтактный режим (т. е. зонд начинал совершать вынужденные колебания), и выполняли перестройку частоты возбуждающего генератора от 0.05 до 2 МГц. Собственная частота колебаний зонда составляла около 0.15 МГц, на возбуждающем генераторе устанавливали максимальное напряжение (2 В). Во время перестройки по частоте амплитуда колебаний зонда резко возрастала в области резонанса (0.15 МГц), за счет этого агломерат АНЧ оставался на поверхности подложки («стряхивался» с зонда) в нужном месте. Далее зонд АСМ отводили от поверхности и перемещали в область с осажденными АНЧ для последующего набора агломерата. На втором и третьем шаге (рис. 2в, 2г) время сканирования было сокращено в два раза по сравнению с первым разом. Это визуально уменьшило размер осаждаемого агломерата примерно в два раза. На четвертом шаге время сканирования уменьшили еще в два раза и осажденный агломерат стал еще меньше (рис. 2е).

Апконверсионный люминесцентный отклик метки детектировали с оптического конфокального микроскопа. Вначале сканировали отраженное от поверхности излучение для определения

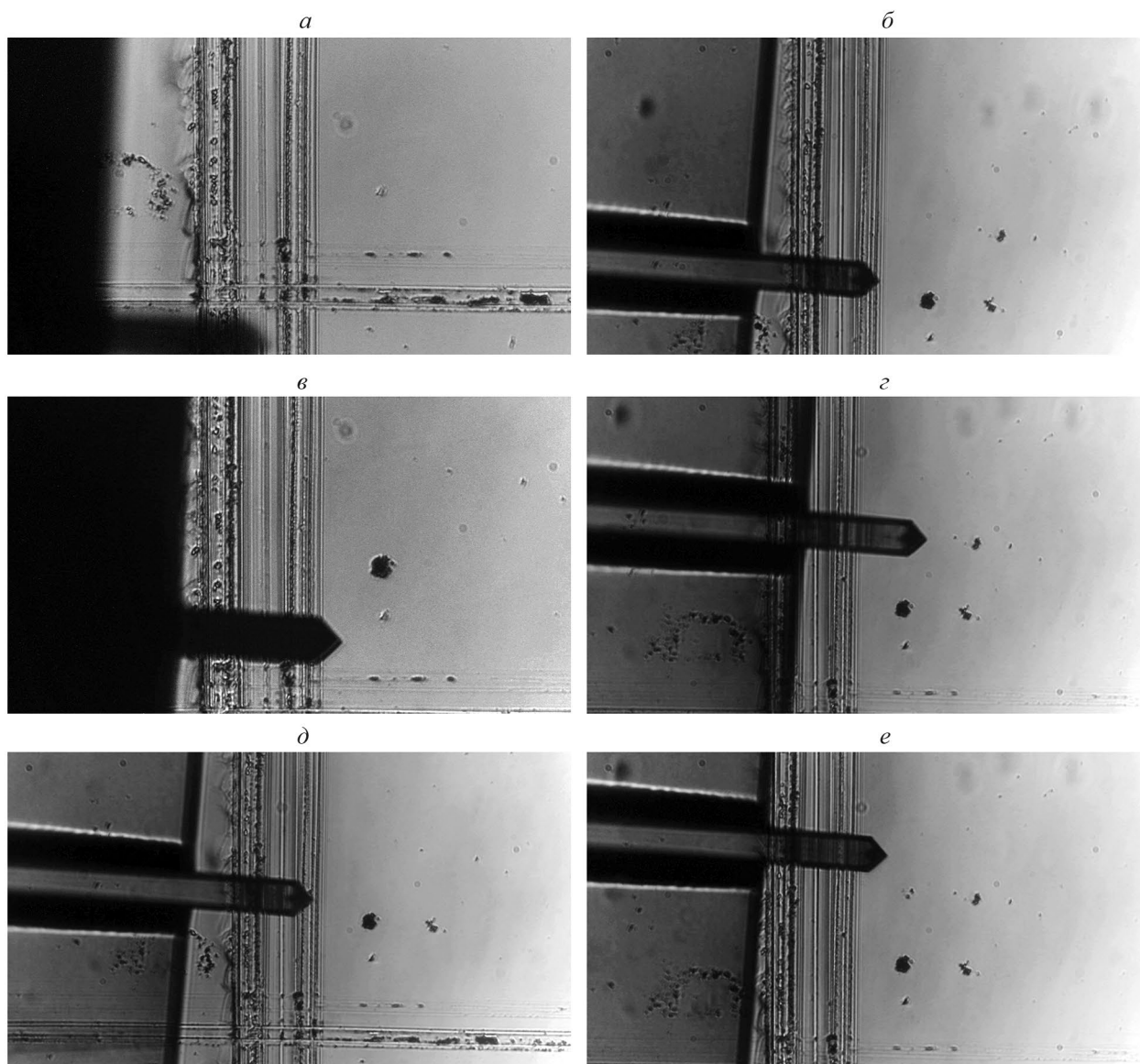


Рис. 2. Последовательность изображений, полученная при помощи оптического микроскопа, входящего в состав СЗМ Solver Bio, и иллюстрирующая этапы создания метки в виде агломерата из АНЧ, расположенных по углам квадрата. Область без частиц (а), область с одним агломератом (б), область с двумя агломератами (в), область с тремя агломератами (г), АСМ зонд находится в позиции для осаждения четвертого агломерата (д), четыре агломерата с частицами размещены по углам квадрата (е). Вид снизу вверх. Подсветка сверху и сбоку. Размер масштабного отрезка 45 мкм.

координат меток-царапин на поверхности подложки, что обеспечивало позиционирование с микронной точностью (см. рис. 3а). Затем перед детектором был установлен светофильтр, отсекающий излучение на длине волны лазера 980 нм. Это позволило получить сигнал апконверсионной люминесценции от наночастиц и определить их координаты (см. рис. 3б). На данном изображении хорошо видна сформированная метка апконверсионного излучения в углах квадрата. Следует отметить, что интенсивность люминесцентного

сигнала пропорциональна количеству материала, используемого для создания метки. Верификация апконверсионного излучения происходила следующим способом. Известно, что наночастицы поглощают лазерное излучение на длине волны 980 нм, и излучают в видимом диапазоне. Спектр их излучения представлен на рис. 3в. Он состоит из узких эмиссионных линий ионов эрбия Er^{3+} : полосы в областях 525, 550 и 660 нм соответствуют излучательным переходам $^2\text{H}_{11/2} - ^4\text{I}_{15/2}$, $^4\text{S}_{3/2} - ^4\text{I}_{15/2}$ и $^4\text{I}_{9/2} - ^4\text{I}_{15/2}$ [7].

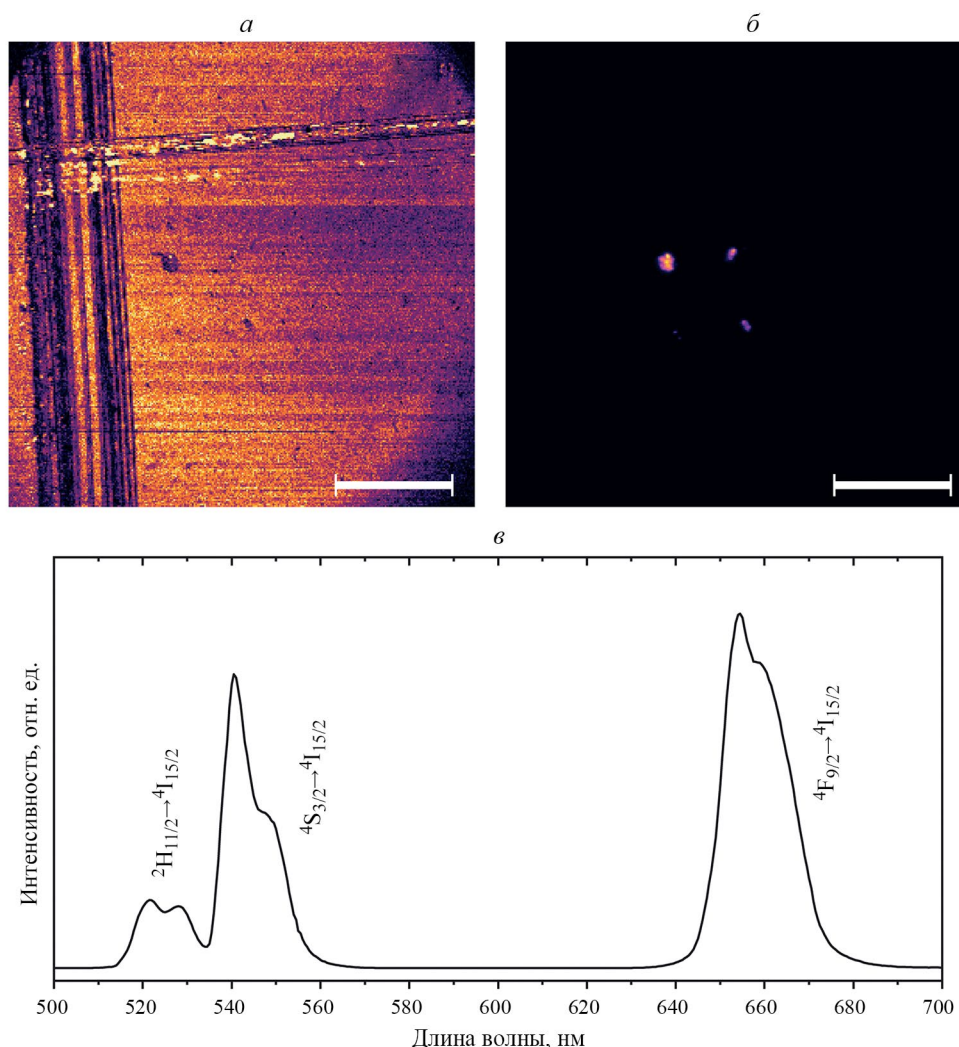


Рис. 3. Изображение, полученное с помощью конфокального микроскопа: отраженное от поверхности лазерное излучение (а); апконверсионная люминесценция наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ (б), длина масштабного отрезка 25 мкм. Спектры апконверсионной люминесценции при облучении наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ лазером на длине волны 980 нм (в).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, продемонстрировано, что с использованием сканирующего зондового микроскопа можно контролируемо осаждать небольшие группы и агломераты АНЧ (по нашим оценкам от нескольких единиц, до нескольких десятков в одной группе) на макроскопически чистые участки поверхности подложки, на которых предварительно не осаждали АНЧ из раствора. Показано, что агломераты можно осаждать по линиям простых геометрических фигур, например квадратов. При помощи оптического конфокального микроскопа установлено, что области апконверсионной люминесценции однозначно соответствуют скоплениям наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ и таким образом метка является функциональной.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-29-00516).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zaldo C.* // In: Lanthanide-based multifunctional materials. Elsevier, 2018. P. 335.
2. *Huang J., Yan L., Liu S., Tao L., Zhou B.* // Mater. Horiz. 2022. V. 9. P. 1167.
3. *Шмелев А.Г., Никифоров В.Г., Жарков Д.К. и др.* // Изв. РАН. Сер. физ. 2020. Т. 84. № 12. С. 1696; *Shmelev A.G., Nikiforov V.G., Zharkov D.D. et al.* // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2020 V. 84. No. 12. P. 1439.

4. Ren G., Zeng S., Hao J. // J. Phys. Chem. C. 2011. V. 115. No. 41. P. 20141.
5. Чукланов А.П., Морозова А.С., Нургализов Н.И. и др. // ЖТФ. 2023. Т. 93. № 7. С. 1019; Chuklanov A.P., Morozova A.S., Nurgalizov N.I. et al. // Techn. Phys. 2023. V. 68. No. 7. P. 950.
6. Zharkov D.K., Leontyev A.V., Shmelev A.G. et al. // Micromachines. 2023. V. 14. Art. No. 1075.
7. Нукифоров В.Г. // Изв. РАН. Сер. физ. 2021. Т. 85. № 12. С. 1734; Nikiforov V.G. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2021. V. 85. No. 12. P. 1383.

An imprinting of upconversion nanoparticles by using scanning probe microscopy methods

A. P. Chuklanov^{1, *}, A. S. Morozova¹, Ye. O. Mityushkin¹, L. A. Nurtdinova¹, A. V. Leontyev¹,
V. G. Nikiforov¹, N. I. Nurgagizov¹

¹Zavoisky Physical-Technical Institute, Federal Research Center "Kazan Scientific Center
of the Russian Academy of Sciences", Kazan, 420029 Russia

*e-mail: achuklanov@kfti.knc.ru

We studied the possibility of using upconversion fluoride nanoparticles NaYF₄ doped with Yb³⁺ and Er³⁺ ions as ordered non-invasive hidden labels. The synthesized upconversion fluoride nanoparticles were first deposited from suspension onto the surface of the substrate with labels used as large-scale markers, and then, using a scanning probe microscope, small conglomerates of upconversion nanoparticles were transferred over macroscopically significant distances and controlled deposited onto a clean surface, thereby imprinting nanoobjects. The process of transfer and deposition was monitored using a conventional optical microscope. Luminescent signals from orderly located labels were recorded in an optical confocal microscope.

Keywords: upconversion nanoparticles, scanning probe microscopy, luminescence, imprinting, confocal microscopy.