

文章编号: 1000-7032(2023)11-2041-16

多光子成像用上转换纳米粒子的单颗粒研究与应用进展

李雅珍¹, 王喜龙², 田跃², 吴建红¹, 田彦婷¹, 田碧凝^{2*}

(1. 太原理工大学 物理学院, 山西 太原 030024;

2. 太原理工大学材料科学与工程学院 新型碳材料研究所, 山西 太原 030024)

摘要: 多光子成像具有零背景下可见光信号输出的优势, 但传统多光子探针激发阈值高、光稳定性差的问题使其在生物应用中受到限制。基于稀土上转换的无机纳米粒子可在相对较低的激发光功率密度下实现稳定的上转换发光, 因而成为一种重要的多光子探针。随着成像技术的进步, 对上转换纳米粒子的研究正在从聚集体形式向单颗粒水平发展。单颗粒研究上转换发光不仅有利于排除环境因素的干扰, 并且呈现出一系列与聚集体研究不尽一致的理论成果。由于单颗粒研究平台更加接近于探针生物成像的工作环境, 因此在这一水平下对上转换纳米粒子进行材料优化与物理机制分析更贴近实际应用。本文从多光子发光机制与材料出发, 重点围绕着单颗粒水平上转换纳米粒子近年来的研究成果与应用进展进行了综述, 最后对其未来的研究方向进行了展望。

关键词: 多光子探针; 上转换纳米粒子; 单颗粒成像; 生物应用

中图分类号: O482.31

文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20230126

Current Research and Application Development of Single Upconverting Nanoparticles as Multiphoton Probes

LI Yazhen¹, WANG Xilong², TIAN Yue², WU Jianhong¹, TIAN Yanting¹, TIAN Bining^{2*}

(1. College of Physics, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China;

2. Institute of New Carbon Materials, College of Materials Science and Engineering,

Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

* Corresponding Author, E-mail: tianbining@tyut.edu.cn

Abstract: Multiphoton imaging is an advanced imaging technique for its visible signal output with zero background. However, the required high pump threshold and poor photostability of traditional multiphoton probes hinder their biological applications. Rare earth doped upconverting nanoparticles become an important type of multiphoton probe because of the featured lower excitation density and better stability. Due to the development of imaging techniques, the study of ensemble upconverting nanoparticles is transiting toward singles. The study of single upconverting nanoparticles not only eliminates the interference of environmental factors, but also provides a bench of different theoretical conclusions against ensemble studies. Single particle imaging platform is more comparable with the practical biological imaging platform, thus designing more efficient upconverting nanoparticles and understanding physical mechanism at single particle level are readily for practical applications. Here, based on the multiphoton luminescent mechanism and materials, recent research achievements and application progress of single upconverting nanoparticles are reviewed. Finally, the future development and applications of single upconverting nanoparticles are prospected.

Key words: multiphoton probe; upconverting nanoparticles; single-particle imaging; biological application

收稿日期: 2023-05-12; 修订日期: 2023-05-27

基金项目: 国家自然科学基金(62075152, 12004274)

Supported by National Natural Science Foundation of China(62075152, 12004274)

1 引 言

光学成像是生物活体研究中无可替代的关键技术,旨在实现并提高从分子水平到宏观生物体的生命过程时空可视化^[1-3]。1990年,Denk等首次报道了双光子激光扫描显微镜及其在活细胞成像中的应用^[4],这一工作标志着多光子成像技术的问世。多光子成像基于探针吸收多个光子后可发射出一个具有更高能量光子的特点,能够有效避免传统生物成像中自发荧光引起的信噪比较差的问题,同时由于激发波长能量较低、波长较长,表现出更加优异的深层组织成像能力^[5]。问世三十年来,多光子成像技术得到迅速发展并在生物医学研究中崭露头角,但受多光子过程物理机制的限制,其发光效率低并且激发域值高,不仅增加了成像难度和生物安全性隐患,还对成像激发源提出了苛刻的要求^[6-7]。

稀土掺杂的上转换纳米粒子(Upconversion nanoparticles, UCNPs)作为一类新兴的多光子探针,近年来吸引了大量研究人员的关注^[8-10]。由于稀土离子具有亚稳态中间能级,相较于传统有机多光子荧光团,上转换纳米粒子可以在激发光功率密度更为温和的连续激光泵浦下实现多光子成像^[11-12]。并且由于无机纳米粒子理化性质更加稳定,上转换纳米粒子在多光子成像过程中表现出无光闪烁、光漂白的优异特性^[13-14]。随着制备工艺的发展,具有良好均一性的小尺寸UCNPs可被批量制备;通过壳层包覆、掺杂调控、表面修饰等方法,UCNPs的上转换效率近年来得到了大幅提升,同时生物特异性识别与标记等功能也取得了重要进展^[15-16]。

传统成像技术以大量荧光探针标记为基础,收集的是发光信号的集合信息,很难实现如药物

分子递送、神经递质传递等细胞、亚细胞甚至分子水平的精细生命过程探测,因此单分子标记与示踪技术亟待发展。标记技术的发展离不开成像探针的不断优化,然而新型探针的设计受技术局限最终落脚在聚集体性能表征层面。2009年,Wu等首次实现了对单个上转换纳米粒子的多光子成像,揭开了在单颗粒水平下研究与优化UCNPs成像性能的序幕^[13]。2017年,Liu等通过受激发射损耗实现了单个UCNP的超分辨成像,具有划时代意义^[17]。先进成像技术与探针的发展相辅相成,正在朝着更高分辨率与灵敏度的方向发展。

基于目前UCNPs在设计及成像应用方面的研究进展,本文将从多光子发光机制、多光子探针、UCNPs的优势与问题出发,着重对近年来UCNPs在单颗粒水平下的研究与应用进展进行综述,最后对单颗粒UCNPs未来发展前景提出展望。

2 多光子发光机制

多光子发光又称反斯托克斯发光,指长波长泵浦光子在光学材料中转换为短波长发射光子的非线性过程^[18]。按照光子能量转换物理机制,多光子发光可以分为双光子吸收(Two-photon absorption, TPA)、二次谐波(Second-harmonic generation, SHG)和上转换(Upconversion, UC)^[19],如图1。TPA不依赖真实的中间能级,借助寿命在飞秒量级的虚能级连续吸收两个光子产生反斯托克斯发射。SHG又称倍频,基于超活性瑞利散射而非光子跃迁,通过二阶非线性光学材料将具有两个相同频率的光子合并成一个频率为其二倍的光子^[20]。TPA和SHG存在固有的局限性,即依赖能够产生高激发光功率密度($10^6\sim 10^9\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$)的昂贵脉冲激光器作泵浦源^[15],在应用中存在生物组织光损伤隐患。

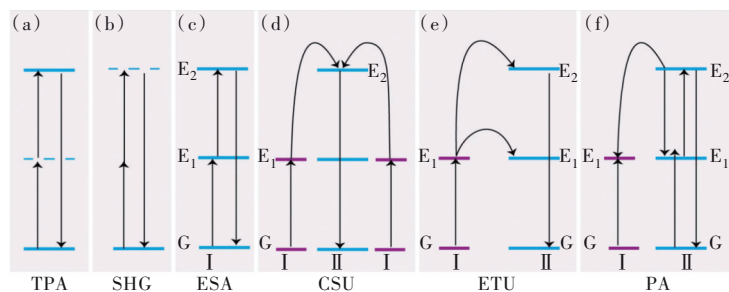


图 1 多光子发光机制

Fig.1 Multi-photon luminescence mechanism

上转换过程借助稀土离子的亚稳态中间能级连续吸收两个或多个较低能量的泵浦光子实现高能级布居,继而发射出一个具有较高能量的光子^[21]。相对 TPA 和 SHG,稀土上转换对激发光功率密度的要求较低,可在低能量密度的连续激光器上实现多光子过程^[12]。常见的稀土上转换过程包括激发态吸收(Excited state absorption, ESA)、合作敏化上转换(Cooperative sensitization upconversion, CSU)、能量传递上转换(Energy transfer upconversion, ETU)和光子雪崩(Photo avalanche, PA)等。以双光子过程为例,ESA 过程中位于基态的稀土离子 4f 电子首先吸收一个光子跃迁至亚稳态中间能级,吸收第二个光子后该电子继续向更高能级跃迁,实现上转换。CSU 过程中两个处于激发态能级的离子将能量传递给另一个 4f 电子处于基态的稀土离子,使之直接跃迁至高能量发生能级。ETU 过程一般依靠敏化剂离子吸收低能量光子,再通过能量传递依次使激活剂离子的基态电子跃迁至中间态和高激发态能级,从而释放高能量光子^[22]。PA 过程首先基于 ESA 使高能级被布居,由于交叉弛豫的作用,激发态和基态能级上的两个电子同时落在中间能级,再吸收两个光子后,高能级上得到两个电子的布居,继而通过交叉弛豫形成四个电子布居的中间能级……这种类似“雪崩”的过程即为光子雪崩上转换。

3 多光子探针

3.1 有机荧光团

氧杂蒽、苯并吡喃、氟硼二吡咯等具有大 π 共轭结构的荧光染料是常见的有机多光子荧光团^[23-24],其光致多光子发光机制以双光子吸收为主,即位于基态的电子借助虚能级连续吸收两个光子跃迁至最低未占据分子轨道(Lowest unoccupied molecular orbital, LUMO),继而辐射跃迁至最高占据分子轨道(Highest occupied molecular orbital, HOMO)^[25]。基于有机荧光团的多光子过程主要受其吸收截面 δ 决定,而 δ 主要取决于有机分子结构。在给定的光学频率 ω 下, δ 与材料在受激感应电场中的电极化强度三阶极化率的虚部 $\text{Im}[\gamma(\omega)]$ 成正比^[26]:

$$\delta(\omega) \propto \text{Im}[\gamma(\omega)], \quad (1)$$

目前报道的有机多光子荧光团包括电子供体-受体(D-A)、供体- π 桥-受体(D- π -A)和供体- π 桥-受

体- π 桥-供体(D- π -A- π -D)型偶极、四极、八极分子等^[27-28]。 δ 的大小主要受 D、A 基团推、拉电子诱发的分子极性决定,因此通过调控骨架共轭性、侧链取代等增强分子内偶极矩的方式可以在一定范围内增大其吸收截面,进而提高光子转换效率。此外,通过引入刚性共轭环可提高有机荧光团的光稳定性。

有机荧光团尺寸小,通过引入水溶性基团可获得良好的水溶性,是一类重要的生物多光子探针。然而,受能隙定律决定,在能够提高分子吸收截面的复杂大 π 共轭结构中,内转换和隙间窜越速率常数随着能隙的减小而增加,因此高亮度和高信噪比的有机荧光团的开发依然面临很大的挑战。

3.2 半导体量子点

量子点是指三维空间尺度小于激子二倍波尔半径的类原子小点。可实现多光子发光的无机半导体量子点有 CdSe^[29]、CdZnSe^[30]、MoS₂^[31]、PbS^[32] 和 Ag₂S^[33] 等,有机半导体量子点即有机半导体大分子或聚合物折叠而成的尺寸达纳米以上的小点,如 Qtracker、Beida、Texas Red、SR101 以及石墨烯量子点等^[34-35]。无论无机还是有机量子点,其多光子吸收截面普遍高于有机荧光团 2~3 个数量级,并且发光效率及稳定性均优于有机荧光团,因此获得了非线性光学领域的广泛关注^[30-31,36]。

在量子点中,由于量子限域效应,电子能量直接依赖于电子波函数的空间限制程度。随着量子点尺寸减小,电子波函数态密度降低以产生离散能级,其能隙随着晶体尺寸的减小而增加^[37-38],因此利用这一特点可以对量子点的能隙进行连续调制,从而有效控制其吸收与发射等光学特性。量子限域效应的一个重要结果是载流子间库仑相互作用的增强,继而导致激子通过俄歇复合快速衰变,因此双激子和高阶激子的量子产率通常很低^[39]。

3.3 稀土上转换纳米粒子

作为一类特殊的稀土发光材料,上转换纳米粒子的研究在近十年得到了快速发展。相较于传统有机荧光团和半导体量子点,上转换纳米粒子作为生物多光子探针具有两大优势:一是上转换纳米粒子的理化性质尤其是发光性质稳定,无光闪烁、光漂白;二是稀土上转换过程得益于亚稳态中间能级的辅助,其多光子激发域较有机荧光团

和半导体量子点可降低三个数量级,不仅成像效率高,同时生物光损伤风险能够被有效降低。因此,稀土掺杂的上转换纳米粒子在多光子成像及相关生物医学研究领域显现出较大优越性^[40-41]。

3.3.1 稀土离子的电子跃迁

稀土元素种类丰富,包含钪、钇及 15 个镧系元素,在化合物中常见价态为+3。稀土离子具有 5d 外层全充满、4f 内层半充满的特殊电子结构。处于 4f 基态的电子在光激励下可跃迁至 4f 激发态或 4f^{N-1}5d 组态。4f→5d 跃迁是电偶极允许跃迁,其振子强度较大。而 f→f 电偶极跃迁宇称相同导致矩阵元为零,为禁戒跃迁;当晶体结构中存在反宇称成分时,在一定程度上能够使 4f 跃迁被允许,但总体来讲 f→f 跃迁效率较低^[42-44]。对于 5d 外壳层,由于易受晶体场环境影响,其位置与材料导带底近似,因此 d→f 辐射跃迁一般为宽带发射。而 f→f 辐射跃迁由于 4f 能级是分离的,因而表现出锐线发射特征。4f 壳层轨道量子数(*l*)为 3,对应 -3, -2, -1, 0, 1, 2, 3 这 7 个磁量子数(*m_l*),最大可容纳电子数为 14,根据排布规则,4f 电子层具有非常丰富的能级结构。受晶体场等作用,这些能级在实际中还会发生劈裂。由此,稀土离子 f→f 跃迁通道数量非常可观^[44]。

3.3.2 上转换发光中心、敏化剂与基质

虽然稀土离子种类丰富、f→f 跃迁通道众多,但能级结构能够满足光子上转换需求的并不多:在具有能级差近似梯子状能级结构的同时能级差需要足够大以减小无辐射弛豫的发生。常见的上转换发光中心有铒(Er³⁺)、铥(Tm³⁺)离子;同时镱(Yb³⁺)、钕(Nd³⁺)等稀土离子因在与发光中心相应吸收位置具有更大的吸收截面,常用作上转换过程的敏化剂^[45],其电子结构如图 2。

稀土发光材料的基质众多,如无机盐、氧化物、氟化物等,其中氟化物由于具有较低的声子能量而被认为是更加合适的上转换基质^[46-47]。用于上转换的氟化物基质包括 NaYF₄、NaGdF₄、LiYF₄、LaF₃、KLu₂F₇ 等^[12-14,48-53]。稀土离子非辐射弛豫跃迁速率与基质材料声子能量的关系如公式(2)^[42]所示:

$$K_{nr} \propto \exp\left(-\beta \frac{\Delta E}{\hbar_{\max}}\right), \quad (2)$$

β 为基质相关常数, ΔE 为发光中心的能级差, \hbar_{\max} 为基质的声子能量。可见基质的声子能量越小,非辐射弛豫速率越低。自 NaYF₄:Yb³⁺, Er³⁺ 被报道

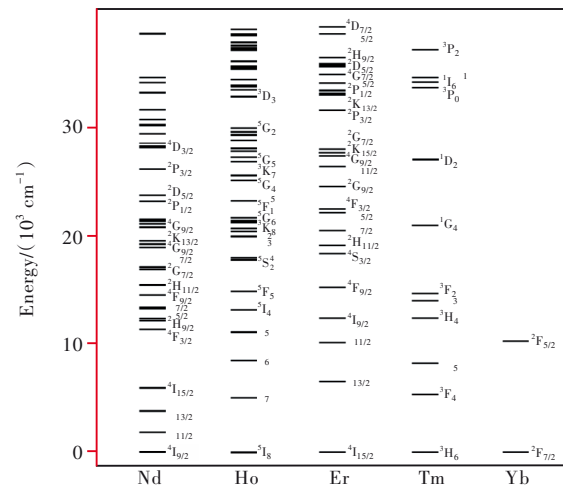


图 2 三价钕、铥、铒、铥、镱离子能级图。

Fig.2 Energy level diagram of Nd³⁺, Ho³⁺, Er³⁺, Tm³⁺ and Yb³⁺ ions.

以来,NaYF₄因其声子能量相对较低(约 400 cm⁻¹)的特性被认为是最优的上转换基质^[47,54]。其中以六方相(β 相)NaYF₄为基质的 UCNPs,由于稀土占据晶格格位的对称度较低,其上转换发光效率比立方相(α 相)高约一个数量级^[54-55]。

3.3.3 UCNPs 优化设计

在生物光学成像中,探针密度、激发光能量密度与组织代谢、损伤之间存在着平衡关系。提高探针发光的量子效率是实现探针密度、激发光能量密度降低的根本。以 UCNPs 聚集体为研究对象的前期工作总结出大量通过材料优化设计实现上转换增强的宝贵经验,如晶体场调控、壳层包覆、掺杂浓度优化、局域等离子体场增强等均可有效提高 UCNPs 的上转换效率^[56]。

4 UCNPs 的单颗粒研究

4.1 单颗粒光学性质测量的优势与基本操作

绝大多数对 UCNPs 的研究是在粒子的聚集体上展开的,通常以粉末、纳米粒子的悬浮液或旋涂的薄膜等为研究对象,利用荧光光谱仪对其测试。在光学性质的测量过程中,聚集体的表征存在一定程度的误差^[57]。如量子效率的表征中,粉末压片或膜表面粗糙程度的差异、悬浮液中粒子绝对浓度的差异等都是造成测量误差的因素。同时,聚集体中粒子之间存在着可能的能量传递,尤其是在薄膜和压片中,粒子之间间距落在 Dexter 或 Förster 能量传递发生的范围内,这些能量传递进一步为光学性质的测量增加了不确定性^[58]。与纳米粒子聚集体光学性质的表征不同,单颗粒表

征是以高度分散的单个纳米粒子为测量对象, 不存在纳米粒子之间的相互作用。到目前为止, 单颗粒水平下对 UCNP 的研究揭示出许多不同于聚集体纳米粒子的特殊光物理特性, 详见 4.2 节。

单颗粒光学表征通常以搭载有纳米步进压电位移台的激光扫描共聚焦显微系统为平台, 激发源为与 UCNP 吸收相对应的激光器, 探测器为单光子计数器。如图 3 所示^[59]。

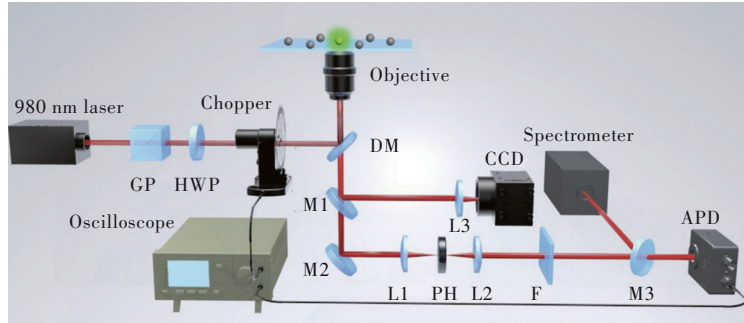


图 3 单颗粒上转换成像与测试平台示意图^[59]

Fig.3 Single UCNP imaging and characterization platform^[59]

测量时, 首先以薄涂的 UCNP 聚集体样本对焦, 再以单颗粒标准卡片校准光路, 最后对测试样品进行微区扫描得到单颗粒分散样图。定位单颗粒后即可利用单光子计数器、光谱仪、时间相关单光子计数器等对上转换稳定性、激发光功率密度依赖特性曲线、光谱线型以及特定能级的荧光寿命等进行测量^[60]。以氮化硅支持膜为衬底的单颗粒样品, 通过分散图样定位可实现与透射电子显微镜的结合。电子显微技术的单颗粒表征可以提供粒子尺寸、核壳结构、晶体结构、元素分布等信息。通过光学与电镜相结合的方式, 既能够研究单个粒子结构与发光特性的内在关系, 也能够对不同粒子之间的特异性进行全面分析。需要指出的是, 由于聚集体测试是以大量的纳米粒子为对象, 因此在较低的激发光功率密度下 ($0.1 \sim 100 \text{ W/cm}^2$) 即可捕获上转换发射信号; 而对于单个纳米粒子, 在目前探测器光子捕获灵敏度的条件下, 一般需要 $>100 \text{ W/cm}^2$ 的激发光功率密度。当然, 单颗粒 UCNP 成像的激发阈直接取决于粒子的尺寸, 这是因为在掺杂浓度不变时, 稀土离子的数量与粒径的立方成正比, 而成像的激发阈会随着稀土离子数量的减少而升高。在生物应用中, 尺寸过大的纳米粒子应用范围受限, 因此开发蛋白质尺寸 ($4 \sim 35 \text{ nm}$)^[61-62] 的 UCNP 成像探针是未来研究的重点。

4.2 单颗粒水平下 UCNP 的光学性质

单颗粒表征技术作为一种重要的纳米材料光学性质表征方法, 由于测试平台较为复杂、操作难度较大, 其研究进展远远落后于聚集体表征, 遗留

下诸多研究盲区。2013 年, Zhao 等报道了激发光功率密度在 $>10^6 \text{ W/cm}^2$ 范围内, Tm^{3+} 掺杂浓度 8% 的粒子发射强度超过掺杂浓度 0.2%~4% 的样品^[63]; 2014 年, Gargas 等展示了以 $3 \times 10^5 \text{ W/cm}^2$ 激发光功率密度为分界点, 单个 Er^{3+} 掺杂浓度 20% 的 UCNP 的发射强度反超 2% 的 UCNP 的现象^[64]。这些研究成果向传统激发光功率密度 $<100 \text{ W/cm}^2$ 范围内聚集体研究形成的浓度猝灭、激发光功率密度饱和等结论发起了挑战。近年来单颗粒水平下研究 UCNP 的工作日益增多, 总结如表 1。

表 1 单颗粒研究的 UCNP 汇总

Tab.1 UCNP studied as singles

基质	掺杂离子	优点	缺点
$\beta\text{-NaYF}_4$	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[13,64-79]}; \text{Er}^{3+[80]}$	高化学稳定性和光稳定性; 大的反斯托克位移	荧光量子产率低; 信号收集时间长; 高激发光功率密度
	$\text{Er}^{3+}, \text{Pr}^{3+[81]}$		
	$\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+[63,82-85]}$		
	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Gd}^{3+[12,86]}$		
	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Lu}^{3+[87-88]}$		
	$\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}, \text{Gd}^{3+[89]}$		
$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Mn}^{3+[90]}$			
$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Ho}^{3+}, \text{Tm}^{3+[91]}$			
$\alpha\text{-NaYF}_4$	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[70]}$		
$\alpha\text{-NaGdF}_4$	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[14]}$		
KLu_2F_7	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[53]}$		
LiYF_4	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[92]}$		
$\text{KGd}_3\text{F}_{10}$	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[93]}$		
BaYF_5	$\text{Ln}^{[94]}$		
NaYbF_4	$\text{Er}^{3+[95]}$		
SrF_2	$\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+[96]}$		

4.2.1 单颗粒上转换的稳定性

2009年, Wu等首次对单个UCNPs分别进行了4 000 s和1 s内的光子监测,首次报道了UCNPs无光漂白、无光闪烁的稳定多光子发光特点(图4(a)^[13])。随后, Park等充分证明了UCNPs($\text{NaGaF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$)充当单分子探针的稳定性^[14]: 41 nm的单个立方 $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 纳米颗粒在激光

泵浦长达4 h后, 上转换发射强度依然没有降低, 如图4(b)。并且, 上转换发射的出色光稳定性与镧系元素离子的类型和纳米粒子尺寸无关, 图4(c)直径<10 nm的 Er^{3+} 掺杂的UCNPs^[69]和图4(d)直径40 nm的 Tm^{3+} 掺杂的UCNPs^[82]上转换发射的稳定性同样优越。这种优越的光稳定性使得UCNPs成为一种理想的多光子示踪探针。

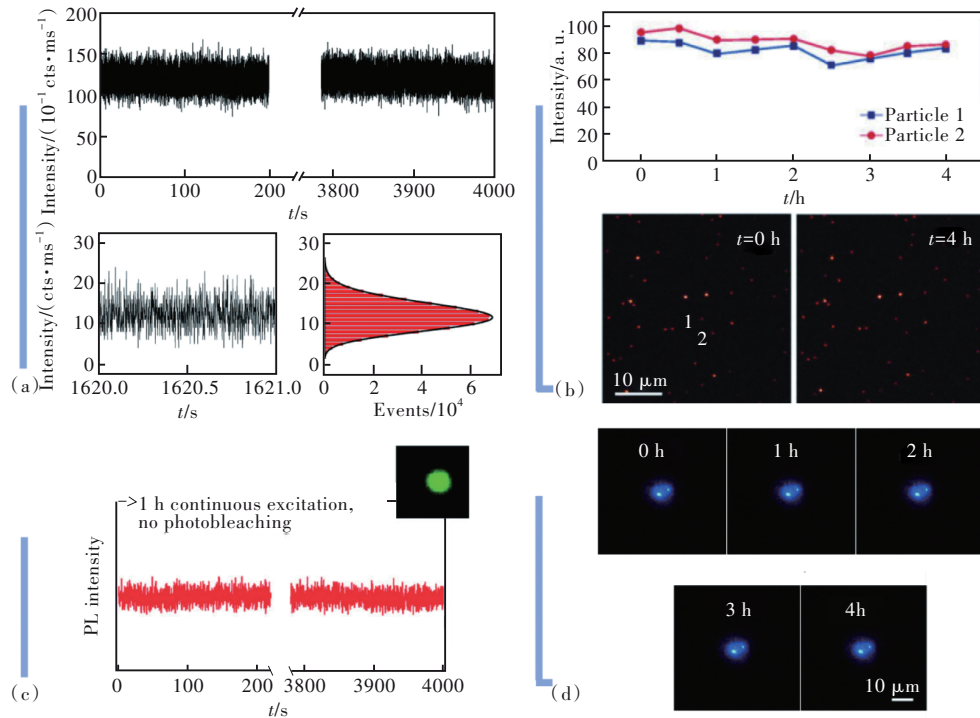


图4 (a)单个 $\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 共掺的UCNPs在980 nm连续激光激发1 h以上的发射强度时间轨迹(上图)及其1 s内放大的时间轨迹和发射强度直方图(下图)^[13]; (b)单个 $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 纳米粒子在连续激光激发4 h的上转换时间轨迹及像^[14]; (c)9 nm核壳UCNPs在连续激光激发下的上转换发射时间轨迹^[69]; (d)40 nm $\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 共掺的UCNPs在连续激光激发4 h的像^[82]。

Fig.4 (a)Top: temporal trajectory of single $\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ codoped UCNPs emission under continuous 980 nm irradiation for more than 1 h. Bottom: an amplified time trajectory within 1 s and the corresponding emission intensity histogram^[13]. (b)Temporal trajectory and images of single $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ UCNPs upconversion emission under continuous excitation for 4 h^[14]. (c)Upconversion emission temporal trajectory of 9 nm core-shell UCNPs irradiated by continuous laser^[69]. (d)Upconversion images of 40 nm $\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ codoped UCNPs irradiated by continuous laser for 4 h^[82].

4.2.2 单颗粒上转换的依赖性

Schietinger等在关于UCNPs单颗粒发光的尺寸依赖性的研究中表明, 单个UCNPs的发光强度和其尺寸明显相关, 且纳米粒子的大小对绿色和红色发射分支比(GRR)影响显著^[65], 如图5(a)所示。

Zhao等首次报道了高激发光功率密度下高激活剂掺杂浓度能够实现上转换增强, 见图5(b)^[63]。Gargas等在单个UCNPs的研究中首先揭示了粒子之间的各向异性, 即对于一组尺寸

相同的纳米粒子, 其绿光上转换精细光谱表现出不同的跃迁强度分支比, 这可能是稀土离子掺杂、表面缺陷等原因导致的, 如图5(c)。此外, 随着粒子尺寸的减小, UCNPs发射能级(如 $^4\text{S}_{3/2}$)的寿命也相应变短; 有趣的是, 激发光密度对发射寿命的影响也随着粒子尺寸的减小而减小。这是因为在上转换过程中, 被激发到激发态上的电子在不同尺寸的粒子中, 由于激活剂离子的绝对数量不同而导致的能量传递、再吸收和无辐射弛豫等过程的相对速率不同^[64]。

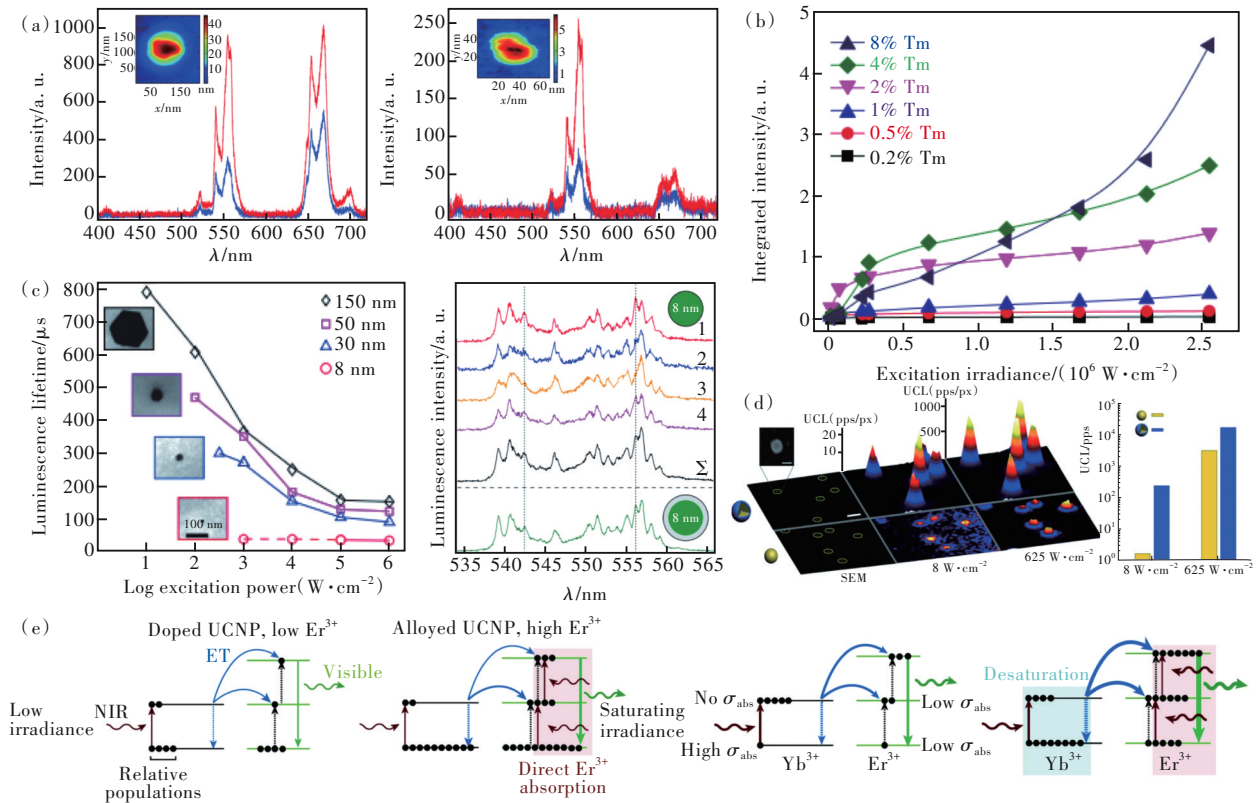


图 5 单颗粒上转换依赖特性: (a) 尺寸依赖特性^[65]; (b) 激活剂掺杂浓度依赖特性^[63]; (c) 上转换寿命尺寸依赖特性及各向异性^[64]; (d) 核壳结构对增强上转换的功率依赖特性^[67]; (e) Er^{3+} 最优掺杂浓度对激发密度依赖的物理机制^[12]。
 Fig. 5 Dependency features of single UCNPs. (a) Size dependent feature^[65]. (b) Activator doping concentration dependent feature^[63]. (c) Upconverting luminescence lifetime dependent feature and heterogeneity^[64]. (d) Power dependent feature of core/shell structure for enhanced upconversion intensity^[67]. (e) Physical mechanism for power dependent Er^{3+} optimal doping concentration^[12].

Liu 等通过单颗粒实验揭示了高激发光功率密度与低激发光功率密度下核壳结构 UCNPs 单颗粒上转换发光的差异 (见图 5(d)), 提出上转换发射强度受掺杂与激发光功率密度共同决定^[67]。Tian 等在单颗粒研究中发现, 当激发光功率密度大于 400 W/cm^2 时, Er^{3+} 掺杂浓度提高能够对饱和的敏化剂激发态能级产生去饱和作用, 见图 5(e), 从而发光强度更高^[12]。Gao 等通过对比不同尺寸、长径比的单个 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Ho}^{3+} (\text{Er}^{3+}, \text{Tm}^{3+})$ 微米棒, 揭示了激发光入射角、激光功率密度对上转换发光强度与光谱特征的影响^[79,91]。Frenzel 等在单颗粒上转换研究中发现, 高激发光功率密度会使 Er^{3+} 高能级的布居增加, 导致出现 $400\sim 500 \text{ nm}$ 之间的发射^[68]。此外, Kim 等研究表明, 单个 UCNPs 的发射强度对粒子中激活剂浓度的依赖性大于对敏化剂浓度的依赖性^[83]。综上, 单颗粒上转换辐射能级的布居与去布居速率对粒子尺寸、激活剂与敏化剂浓度、激发功率等存在

着关键的依赖特性。在不同应用领域, 设计上转换探针时需考虑这些内在依赖特性。

4.2.3 单颗粒下核壳结构对上转换的影响

惰性壳层的引入和多层活性壳的结构设计可以有效增强单颗粒 UCNPs 的发光强度和稳定性, 但是基于聚集体测量的结果不能直接应用到单颗粒的增强方案中^[64]。

Park 等对比了立方相和六方相 $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$ 壳层包覆前后的单颗粒发光特性, 证明了相同尺寸的纳米粒子在包覆惰性壳后发光强度显著提高^[70]。激活剂与敏化剂离子的分布会对核壳结构中的能量传递和发光强度产生重要影响, 如图 6(a), Siefe 等在 $\text{NaYbF}_4@\text{NaY}_{0.8-x}\text{Er}_x\text{Gd}_{0.2}\text{F}_4@\text{NaY}_{0.8-x}\text{Gd}_{0.2}\text{F}_4$ 上转换纳米粒子中, 通过将核内 Yb^{3+} 浓度最大化来吸收近红外光, 通过调节中间壳层 Er^{3+} 浓度实现高效的能量传递; 同时, 当较高浓度 Er^{3+} 占据中间壳层时, 由激活剂离子向表面染料分子共振能量传递的效率提高^[86]。

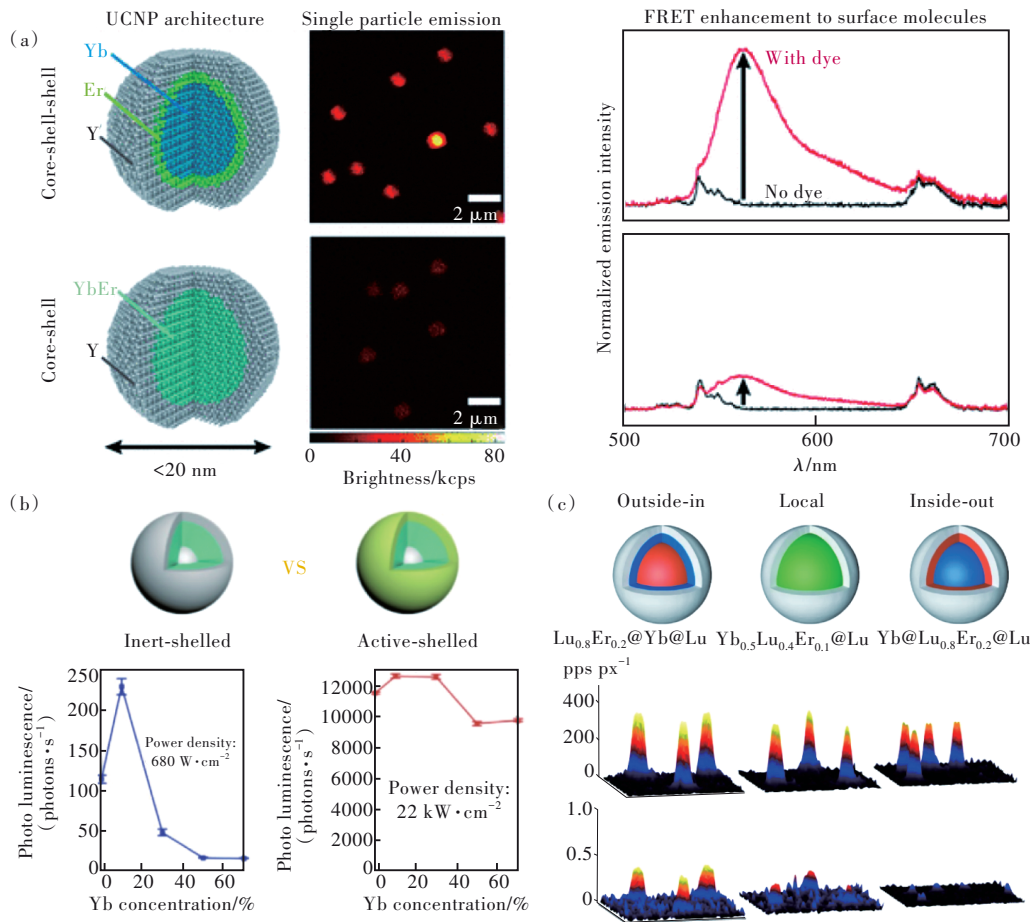


图 6 (a)通过核壳结构分离 Yb^{3+} 和 Er^{3+} 增强上转换及 Er^{3+} 向表面染料分子的能量传递效率^[86]; (b)不同功率密度下壳层 Yb^{3+} 含量对上转换发射强度的影响^[87]; (c)不同核壳结构在 $21.7\text{ kW}/\text{cm}^2$ (上)和 $126\text{ W}/\text{cm}^2$ (下)的上转换强度^[88]。

Fig. 6 (a) Yb^{3+} and Er^{3+} dopant separation realized by core/shell structure for enhanced upconversion efficiency and faster energy transfer toward dye molecules on the surface^[86]. (b) Upconversion intensity of UCNPs with different Yb^{3+} content in the shell at different power densities^[87]. (c) Upconversion intensities of different core-shell structures at $21.7\text{ kW}/\text{cm}^2$ (top) and $126\text{ W}/\text{cm}^2$ (bottom)^[88].

Liu 等在单颗粒水平下对 UCNPs 的核壳结构开展了一系列研究工作,其一表明了低激发光功率密度下惰性壳层更有利于上转换亮度增强而高激发光功率密度下 Yb^{3+} 高掺的活性壳层能够实现更强的上转换发射,如图 6(b)^[87];另一项工作分别对比了 outside-in、inside-out 和 local 三种激活剂、敏化剂分布情况不同的粒子,见图 6(c),实验结果表明激活剂在核中、敏化剂在中间壳层、外壳层包覆惰性壳层的结构最有利于上转换,通过蒙特卡罗模拟推断这是由于在这种结构中敏化剂向激活剂离子迁移距离最短导致的^[88]。虽然目前粒子设计方案不尽一致,但这些研究结果都表明结构优化是实现上转换增强的有效方案。除此之外,通过配合其他材料能够实现单颗粒上转换发光的进一步增强。

4.2.4 单颗粒下表面等离子体共振局域场增强上转换

贵金属的表面等离子体共振局域场(LSPR)是增强 UCNPs 上转换量子效率的常见方法,这主要归因于表面等离子体共振产生的局部磁场具有强吸光性,并且可调的吸收特性使其很容易与上转换吸收位置耦合^[97]。

2010 年, Aichele 等首次报道了单颗粒下 LSPR 增强上转换的工作,如图 7(a),利用 AFM 操控单个金纳米球与单个上转换纳米粒子之间的距离,实现了上转换 2.7~4.8 倍的发光增强,同时证明了随着距离的变化 LSPR 的增强效果也会随之变化^[66]。2014 年, Greybush 等利用光刻技术一比一组装了金纳米棒和上转换纳米粒子,在不同方向的偏振光与激发光功率密度下对比了上转换发

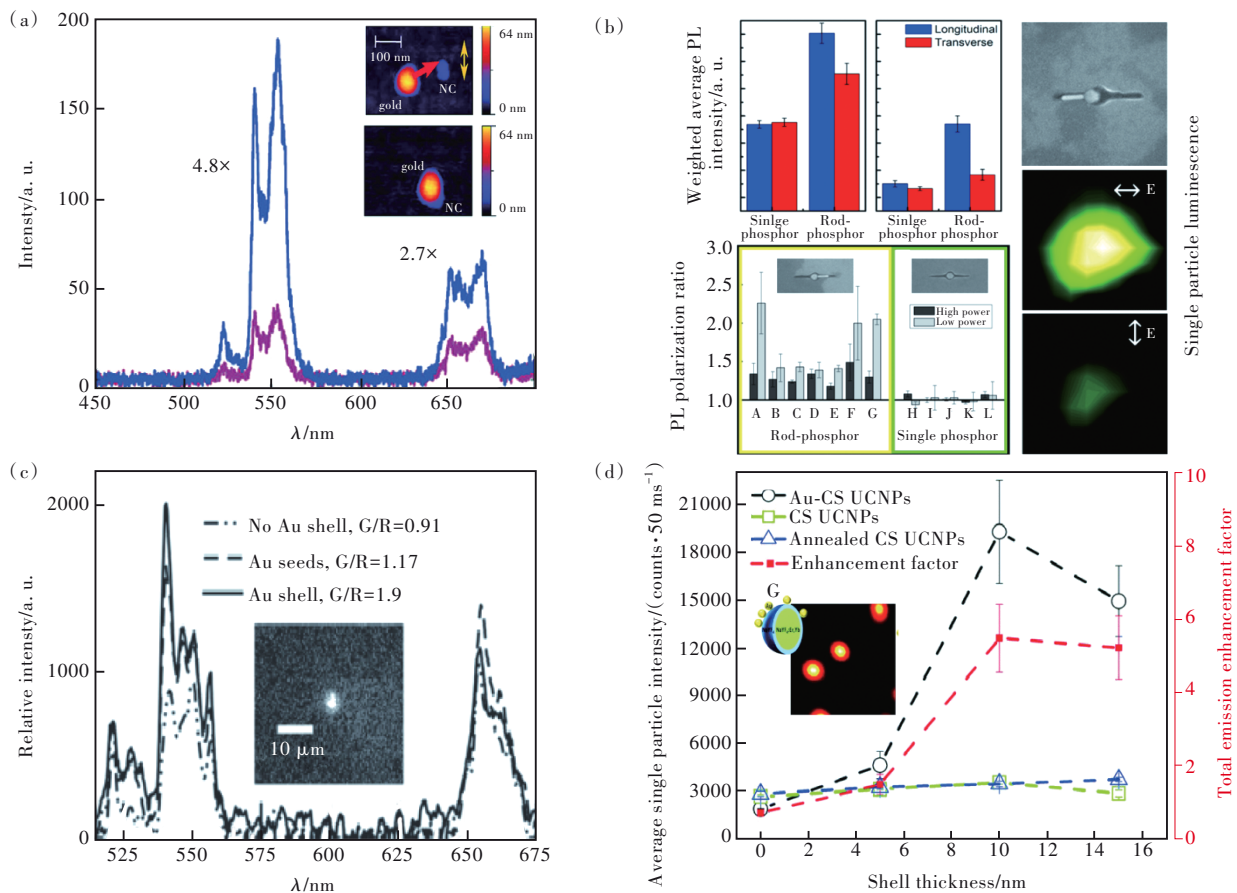


图 7 (a)AFM 操控单个金纳米球增强单个纳米粒子上转换^[66]; (b)单个金纳米棒在不同角度偏振光下对上转换的增强^[72]; (c)单颗粒下金包覆的 UCNPs 上转换增强^[71]; (d)金纳米粒子负载增强单颗粒上转换^[78]。

Fig.7 (a) AFM manipulated single gold nanoparticle for enhanced upconversion from single UCNP^[66]. (b) Enhancement effect of single gold nanorod-UCNP under different angle of polarized excitation^[72]. (c) Upconversion enhancement of gold layer coated single UCNP^[71]. (d) Enhanced upconversion realized by gold nanoparticle loading^[78].

光的增强系数^[72]。

2017年, Xue 等利用 AFM 探针推动单个 UC-NPs 向金纳米棒的轴向移动, 讨论了金纳米棒对上转换的极化增强效应^[90]。以生物成像应用为目标的等离子增强的上转换对纳米结构的一体性存在基本要求, Lim 等设计了在包覆有 SiO₂ 惰性壳层的 NaYF₄: Yb³⁺, Er³⁺ 外部增添 Au 外壳层的结构, 通过调控金壳厚度将 LSPR 共振峰调谐到近红外区域, 单颗粒测试证明了该结构可以实现上转换发光增强^[71], 如图 7(c)。Clarke 等构造了表面修饰有金纳米粒子的核壳结构 UCNPs, 在单颗粒测试下增强了上转换发射强度 5.5 倍, 且最优的惰性壳层厚度即金纳米粒子与稀土离子间间距为 10 nm^[78], 如图 7(d)。目前, 在贵金属与上转换的集成构型下, 等离子体局域场增强上转换的效率较低, 因此, 实现高效的 Au-UCNP 多光子探针优化的组装方案是未来研究的关键。

4. 2. 5 单颗粒上转换纳米粒子的极化发光

不仅金纳米棒对上转换发光具有极化增强效应, 对于非中心对称的上转换颗粒本身, 其发光也具有偏振各向异性, 即在特定的线偏振光激发下发射光谱线形随之变化。这种上转换发光的各向异性有利于创建偏振敏感的纳米级光电探测器, 可用于集成光子电路、光学开关和互连、近场成像和高分辨率探测器等^[98]。

对上转换偏振的研究主要集中在线偏振激发光对上转换发射的极化作用。2013年, Zhou 等在单颗粒水平下报道了 β-NaYF₄: Yb³⁺, Tm³⁺ 上转换发光的极化效应。如图 8(a), 通过对比不同长径比的纳米棒、纳米盘的不同激发态跃迁在线偏振光激发下的偏振角-发射强度极坐标图, 发现它们的偏振特性基本一致; 但在掺杂 30% 的 Gd³⁺ 后, 其极坐标图发生了明显变化, 说明相比于外部形貌, 晶格对称性是影响上转换发射极化性质的主要

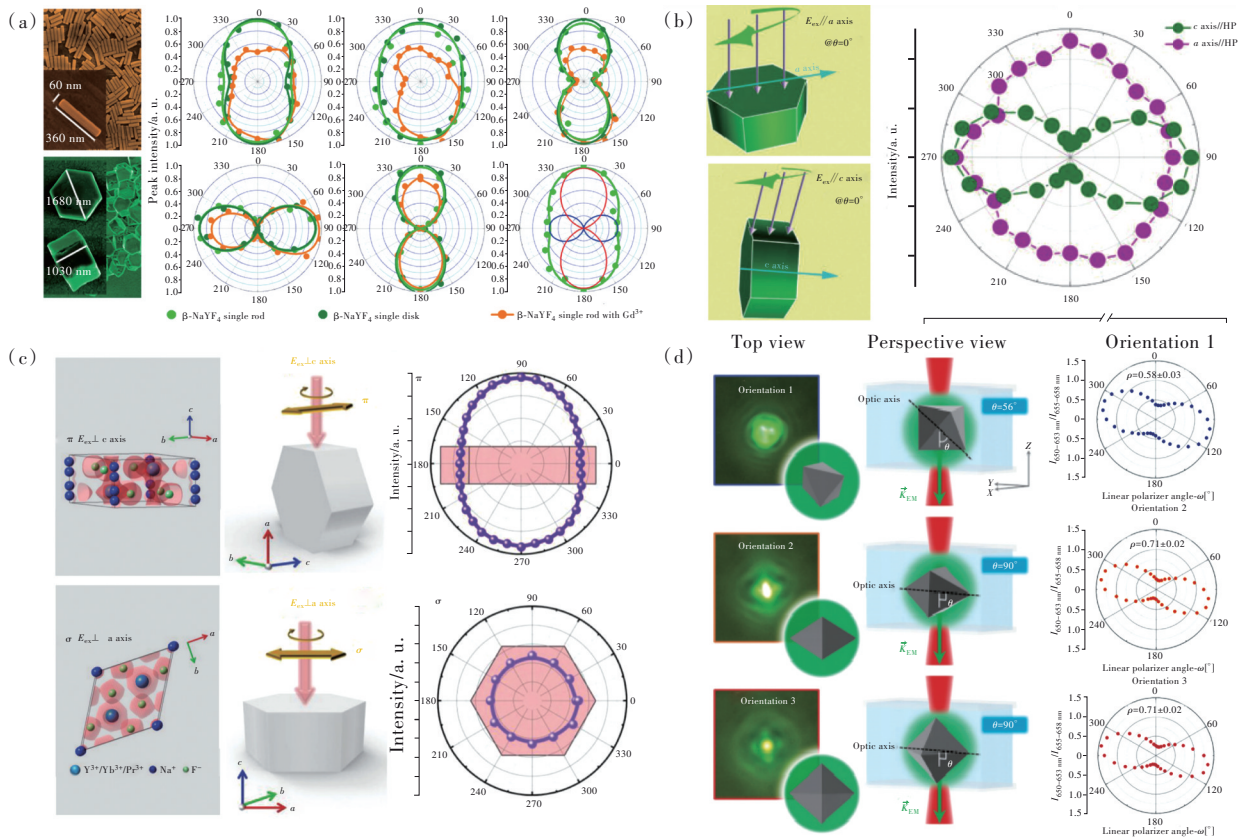


图 8 (a) Tm^{3+} 掺杂的单个亚微米柱状上转换晶体的跃迁偏振角-发射强度极坐标图^[84]; (b) 单个柱状亚微米晶在不同入射方向下的上转换极坐标图^[80]; (c) 单个柱状亚微米晶在不同入射方向下的上转换激发极化效应机理^[81]; (d) 正八面体上转换微米晶在不同激发角度下的极坐标图^[92]。

Fig.8 (a) Polar plots of Tm^{3+} doped single sub-microrod crystal^[84]. (b) Polar plots of single sub-microrod under different incident light directions^[80]. (c) Mechanism for different polar plot profiles of single sub-microrod under different incident light directions^[81]. (d) Polar plots of single sub-micro octahedra under different incident light directions^[92].

因素^[84]。

随后,如图 8(b), Chen 等在 Er^{3+} 掺杂的 NaYF_4 单个纳米盘中对比了偏振光入射方向对上转换极化发光的影响,提出当入射光方向垂直于纳米盘时才能产生明显的极化作用,而当入射光方向平行于纳米盘时极化作用并不明显^[80]。Yang 等在 $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Pr}^{3+}$ 六棱柱状微米晶中进一步研究了线偏振光对上转换的极化作用原理,结合 DFT 模拟揭示了垂直于激发光的电子云密度的对称性是影响偏振效应的关键因素,如图 8(c)^[81]。Panov 等合成了 $\text{LiYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 正八面体微米晶,通过光学陷阱实现对单个微米晶的空间方向进行调控,如图 8(d)。研究发现,当正八面体空间方向与入射光轴夹角分别为 56° 和 90° 时,极化率常数分别为 0.58 ± 0.03 和 0.71 ± 0.02 ,再一次证明了单颗粒上转换发光的激发角度依赖特性^[92]。

5 UCNP 的单颗粒应用

近年来,越来越多的单颗粒 UCNP 在温度传感、生物检测、成像与示踪等领域的优秀研究成果被报道,说明单颗粒 UCNP 拥有广阔的应用前景。

5.1 温度测量

由于 Er^{3+} 的 $^2\text{H}_{11/2}$ 和 $^4\text{S}_{3/2}$ 能级距离较近,位于较低的 $^4\text{S}_{3/2}$ 能级的电子可被热布居至 $^2\text{H}_{11/2}$ 能级,因此 $^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ 和 $^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ 两个绿光辐射跃迁的发射分支比与环境温度存在特定的依赖关系。基于这一原理,如图 9(a),2016 年, Kilbane 等首次报道了单颗粒 Er^{3+} 掺杂的 UCNP 在远场温度传感中的应用^[73]。在此基础上, Pickel 等进一步研究了单个 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 上转换纳米粒子中绿光发射分支比与激发光功率密度的关系,指出在高激发光功率密度下, Er^{3+} 的高能级布居增加,因此会影响 $^4\text{S}_{3/2}$ 和 $^2\text{H}_{11/2}$ 到 $^4\text{I}_{15/2}$ 能级辐射跃迁强度分支比,进而得出建立该分支比与环境温度的依赖关

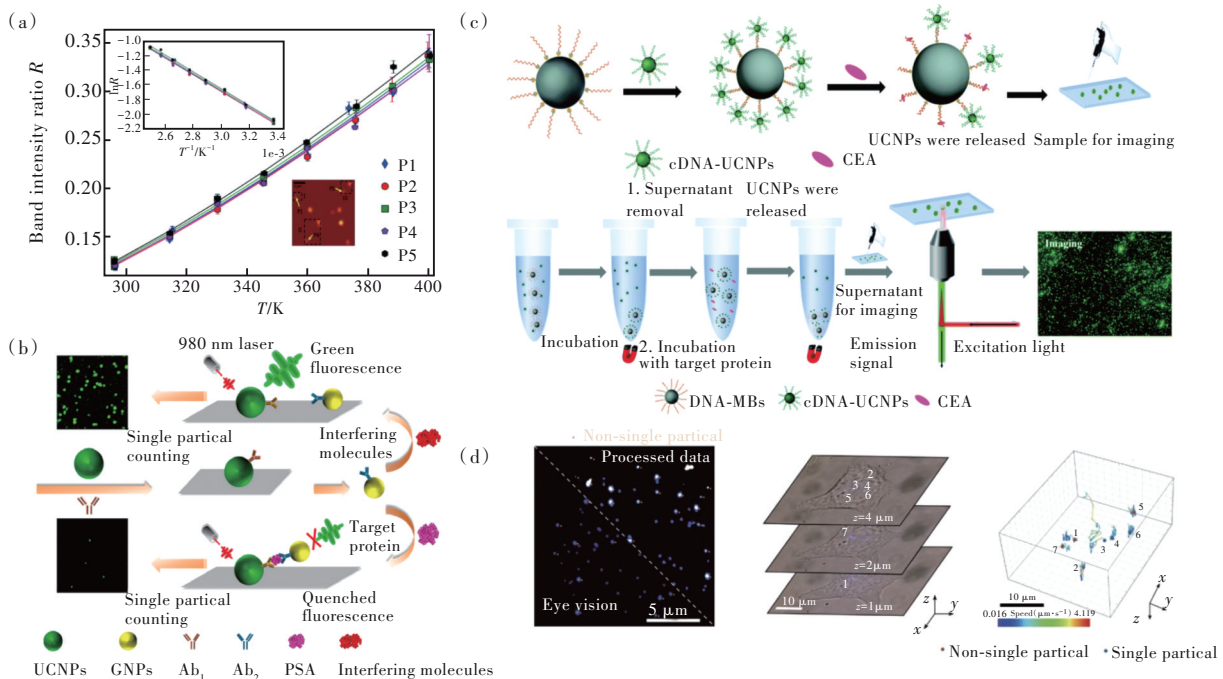


图 9 (a) 单颗粒测温^[73]; (b) 单颗粒计数用于 PSA 浓度检测^[75]; (c) 利用磁性小球修饰的上转换探针及其通过单颗粒计数法对 CEA 浓度的测定^[77]; (d) 活细胞内长时间三维单颗粒 UCNP 追踪^[85]。

Fig.9 (a) Single UCNP for temperature measurement^[73]. (b) Single particle counting for PSA concentration detection^[75]. (c) Magnetic beads decorated UCNP for CEA concentration detection using single particle counting technique^[77]. (d) *In vivo* long-term three-dimensional tracking of single UCNP^[85].

系需以特定的激发光功率密度为前提的结论^[74]。但由于水的吸收峰与 980 nm 激发光位置重合, 因此 980 nm 激发光会导致水升温, 这会严重影响 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 单颗粒活体温度探测的准确性。可用于生物介质内温度传感的单颗粒 UCNP 需基于其他具有热布居能级的上转换体系进行设计开发^[73]。

5.2 生物检测、成像与示踪

生物检测方面, 2018 年, Li 等利用抗原特异性结合原理, 在抗原 PSA 存在时能够实现 UCNP-PSA-金纳米粒子的结构、使游离的 UCNP 与金纳米粒子相结合, 由于 UCNP 与金纳米粒子距离满足 FRET 共振能量传递距离, 且金纳米粒子吸收与 UCNP 的绿色发射位置相重合, 因此该结构中上转换发光能够被猝灭, 如图 9(b)。在微流控通道中视野内通过单颗粒计数法, 实现了对低浓度 PSA 的检测, 检出限低至 $1.0 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检测浓度区间为 $0\sim 500 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[75]。利用类似的原理, Wang 等设计了用于 Cu^{2+} 检测的 $\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ 掺杂 UCNP-BHQ1 探针, 利用单颗粒测试技术, 实现了亚纳摩尔-微摩尔超过三个数量级的检测范围, 检出限相对于集成检测降低了 7 个数量级, 低至 220

$\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[76]。Xu 等利用磁性筛选的原理构造了检测 CEA 的 UCNP 探针, 如图 9(c), 通过互补的 DNA 链将 UCNP 与磁性小球进行组装, CEA 的介入能够打开 DNA 双链使二者分离, 因此在磁场作用下游离的 UCNP 的数量与 CEA 浓度成反比例关系; 利用单颗粒计数的方法, CEA 的检测范围为 $0.1\sim 30 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检出限为 $65 \text{ fmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[77]。Liu 等设计了 UCNP-IR-798 探针, 在全内反射显微镜下通过单颗粒计数法测定 NO_2^- 浓度, 并测试了该探针在 HeLa 细胞内检测 NO_2^- 浓度的可行性^[89]。由于单个 UCNP 依赖于高度聚焦的激光 (光斑直径 $< 1 \mu\text{m}$)、通过激光扫描进行成像, 这一技术需要样品空间位置固定; 目前大多数体外单颗粒检测可以实现, 而要实现尺寸在微米及以上的细胞、组织甚至器官等活体内运动的单颗粒进行实时追踪, 其难度较高。Wang 等通过透镜调制激发光斑直径至约 $5 \mu\text{m}$ 水平, 成功实现了在 A549 活细胞中对单个直径约 40 nm 的 Tm^{3+} 掺杂 UCNP 的实时追踪, 如图 9(d); 通过对单颗粒迁移速度、扩散系数等数据的分析, 进一步解析了颗粒所在的亚细胞结构^[85]。这一成果证实了单颗粒活体示踪的可行性。未来, 基于 UCNP 探针发展单颗粒水平下

的活体特异性检测将为更高分辨率下乃至单分子水平生物医学研究提供有力的技术支撑。

6 结论与展望

光学成像作为活体研究的重要手段存在着生物自发荧光背景干扰等问题,多光子成像由于特殊的发光物理过程,能够有效避免背景噪声的干扰;也正是由于多个光子的吸收实现一个光子的发射这一特殊物理过程,决定了多光子发光面临量子效率低的关键问题,因此开发高效的多光子探针是发展多光子成像亟待解决的问题。能够产生多光子发光的材料主要为部分能产生双光子吸收或二次谐波的非线性光学材料,但是传统有机荧光团和半导体量子点在双光子吸收或二次谐波所依赖的高激发光功率密度下化学稳定性、光稳定性较差,容易发生光漂白、光闪烁。上转换纳米粒子由于光、化学性质稳定且稀土离子具有亚稳态中间能级等特点,成为一种实现二阶或高阶非线性光学的理想材料。对 UCNPs 的研究一般以粒子聚集体为对象,测试与研究条件与实际成像平台在激发光功率密度等方面存在一定差别,而单颗粒成像平台更接近于实际成像平台。近年来对单颗粒研究的一系列成果表明,在这一研究水平下 UCNPs 所表现出的光物理性质与传统聚集体测试所得出的一些结论不尽一致,因此在单颗粒水平下研究上转换发光的激发光功率密度依赖、温度依赖等特性,通过稀

土离子掺杂浓度、核壳结构、表面等离子局域场等提高上转换量子效率,对实现高效上转换多光子探针具有重要的理论意义。

目前,设计生物成像用上转换纳米探针仍对小尺寸下的高量子效率有着基本要求。这是因为提高上转换量子效率是解决因其效率低而衍生出来的一系列问题的钥匙,比如因发射信号弱导致的探测器成本高的问题,因激发阈高导致的生物组织光损伤的问题,因聚焦激光光斑小导致的成像时间长、无法实现宽场成像的问题等。根据 UCNPs 聚集体研究中积累的丰富经验,通过核壳结构设计、杂原子或空位引入、集成型等离子体增强、吸收天线引入等方法实现对能量传递、晶体场、局域场、激发光吸收等的有效调控,将为推动单颗粒下 UCNPs 实现更高的量子效率奠定基础。单颗粒 UCNPs 在生物成像实际应用中,虽然目前大部分工作主要局限于体外检测,但是活体成像工作在调制的激发光斑下已经实现。结合前期聚集体 UCNPs 在成像、示踪、药物递送、光热治疗等生物医学领域的应用成果,设计开发具有多功能的异质复合单颗粒 UCNPs 将会助力其在生物应用领域的飞速发展。

本文专家审稿意见及作者回复内容的下载地址:
<http://cjl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20230126>.

参 考 文 献:

- [1] BURKE B P, CAWTHORNE C, ARCHIBALD S J. Multimodal nanoparticle imaging agents: design and applications [J]. *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.*, 2017, 375(2107): 20170261-1-16.
- [2] LIANG G F, WANG H J, SHI H, *et al.* Recent progress in the development of upconversion nanomaterials in bioimaging and disease treatment [J]. *J. Nanobiotechnol.*, 2020, 18(1): 154-1-22.
- [3] METTENBRINK E M, YANG W, WILHELM S. Bioimaging with upconversion nanoparticles [J]. *Adv. Photonics Res.*, 2022, 3(12): 2200098-1-25.
- [4] DENK W, STRICKLER J H, WEBB W W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy [J]. *Science*, 1990, 248(4951): 73-76.
- [5] ZHOU J J, XU S Q, ZHANG J J, *et al.* Upconversion luminescence behavior of single nanoparticles [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(37): 15026-15036.
- [6] CHEN C H, WANG F, WEN S H, *et al.* Multi-photon near-infrared emission saturation nanoscopy using upconversion nanoparticles [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 3290-1-6.
- [7] HOANG V T, BOUSSAFA Y, SADER L, *et al.* Optimizing supercontinuum spectro-temporal properties by leveraging machine learning towards multi-photon microscopy [J]. *Front. Photonics*, 2022, 3: 940902-1-19.
- [8] NING Y J, WEI L, LIN S, *et al.* Dissection the endocytic routes of viral capsid proteins-coated upconversion nanoparticles by single-particle tracking [J]. *Chin. Chem. Lett.*, 2022, 33(10): 4710-4714.

- [9] 罗阳, 廖正芳, 张伟, 等. 近红外到近红外 Mn^{2+} 掺杂 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ 纳米粒子的制备及其生物成像 [J]. 发光学报, 2018, 39(10): 1371-1377.
LUO Y, LIAO Z F, ZHANG W, *et al.* Synthesis of NIR-to-NIR Mn^{2+} doped- $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ nanoparticles and their applications in bioimaging [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2018, 39(10): 1371-1377. (in Chinese)
- [10] DENG H L, HUANG S, XU C. Intensely red-emitting luminescent upconversion nanoparticles for deep-tissue multimodal bioimaging [J]. *Talanta*, 2018, 184: 461-467.
- [11] YAN C L, ZHAO H G, PEREPICHKA D F, *et al.* Lanthanide ion doped upconverting nanoparticles: synthesis, structure and properties [J]. *Small*, 2016, 12(29): 3888-3907.
- [12] TIAN B N, FERNANDEZ-BRAVO A, NAJAFIAGHDAM H, *et al.* Low irradiance multiphoton imaging with alloyed lanthanide nanocrystals [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 3082-1-8.
- [13] WU S W, HAN G, MILLIRON D J, *et al.* Non-blinking and photostable upconverted luminescence from single lanthanide-doped nanocrystals [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, 106(27): 10917-10921.
- [14] PARK Y I, KIM J H, LEE K T, *et al.* Nonblinking and nonbleaching upconverting nanoparticles as an optical imaging nanoprobe and t1 magnetic resonance imaging contrast agent [J]. *Adv. Mater.*, 2009, 21(44): 4467-4471.
- [15] WANG F, DENG R R, WANG J, *et al.* Tuning upconversion through energy migration in core-shell nanoparticles [J]. *Nat Mater*, 2011, 10(12): 968-973.
- [16] 贺飞, 盖世丽, 杨飘萍, 等. 稀土上转换荧光材料的发光性质调变及其应用 [J]. 发光学报, 2018, 39(1): 73-87.
HE F, GAI S L, YANG P P, *et al.* Luminescence modification and application of the lanthanide upconversion fluorescence materials [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2018, 39(1): 73-87. (in Chinese)
- [17] LIU Y J, LU Y Q, YANG X S, *et al.* Amplified stimulated emission in upconversion nanoparticles for super-resolution nanoscopy [J]. *Nature*, 2017, 543(7644): 229-233.
- [18] REDDY K L, BALAJI R, KUMAR A, *et al.* Lanthanide doped near infrared active upconversion nanophosphors: Fundamental concepts, synthesis strategies, and technological applications [J]. *Small*, 2018, 14(37): 1801304.
- [19] YAO J, HUANG C, LIU C H, *et al.* Upconversion luminescence nanomaterials: a versatile platform for imaging, sensing, and therapy [J]. *Talanta*, 2020, 208: 120157-1-23.
- [20] DALTON L R, HARPER A W, GHOSH R, *et al.* Synthesis and processing of improved organic second-order nonlinear optical materials for applications in photonics [J]. *Chem. Mater.*, 1995, 7(6): 1060-1081.
- [21] SUYVER J F, AEBISCHER A, BINER D, *et al.* Novel materials doped with trivalent lanthanides and transition metal ions showing near-infrared to visible photon upconversion [J]. *Opt. Mater.*, 2005, 27(6): 1111-1130.
- [22] CHAN E M. Combinatorial approaches for developing upconverting nanomaterials: high-throughput screening, modeling, and applications [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(6): 1653-1679.
- [23] GUO L, WONG M S. Multiphoton excited fluorescent materials for frequency upconversion emission and fluorescent probes [J]. *Adv. Mater.*, 2014, 26(31): 5400-5428.
- [24] LIU X Y, YU B, SHEN Y Q, *et al.* Design of NIR-II high performance organic small molecule fluorescent probes and summary of their biomedical applications [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2022, 468: 214609.
- [25] ALGAR W R, MASSEY M, REES K, *et al.* Photoluminescent nanoparticles for chemical and biological analysis and imaging [J]. *Chem. Rev.*, 2021, 121(15): 9243-9358.
- [26] WU L L, LIU J H, LI P, *et al.* Two-photon small-molecule fluorescence-based agents for sensing, imaging, and therapy within biological systems [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2021, 50(2): 702-734.
- [27] ZHU S J, TIAN R, ANTARIS A L, *et al.* Near-infrared-II molecular dyes for cancer imaging and surgery [J]. *Adv. Mater.*, 2019, 31(24): 1900321-1-25.
- [28] LEI Z H, ZHANG F. Molecular engineering of NIR-II fluorophores for improved biomedical detection [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2021, 60(30): 16294-16308.
- [29] GAO Y, LIU H, LI J Z, *et al.* Photophysical properties of water-soluble CdTe/CdSe/ZnS core/shell/shell nanocrystals emitting at 820 nm [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2020, 124(14): 7994-7999.
- [30] LARSON D R, ZIPFEL W R, WILLIAMS R M, *et al.* Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging *in vivo* [J]. *Science*, 2003, 300(5624): 1434-1436.
- [31] HONG H, WU C C, ZHAO Z X, *et al.* Giant enhancement of optical nonlinearity in two-dimensional materials by multiphoton-excitation resonance energy transfer from quantum dots [J]. *Nat. Photonics*, 2021, 15(7): 510-515.

- [32] CHENG L, CHENG Y, XU J, *et al.* Near-infrared two-photon absorption upconversion of PbS/CdS quantum dots prepared by cation exchange method [J]. *Mater. Res. Bull.*, 2021, 140: 111298-1-5.
- [33] ZHANG Y Y, JIANG D Y, YANG W, *et al.* Near-infrared-emitting colloidal Ag₂S quantum dots exhibiting upconversion luminescence [J]. *Superlattices Microstruct.*, 2017, 102: 512-516.
- [34] LIU H J, DENG X Q, TONG S, *et al.* *In vivo* deep-brain structural and hemodynamic multiphoton microscopy enabled by quantum dots [J]. *Nano Lett.*, 2019, 19(8): 5260-5265.
- [35] SANTOS C I M, RODRÍGUEZ-PÉREZ L, GONÇALVES G, *et al.* Novel hybrids based on graphene quantum dots covalently linked to glycol corroles for multiphoton bioimaging [J]. *Carbon*, 2020, 166: 164-174.
- [36] XING Y, RAO J H. Quantum dot bioconjugates for *in vitro* diagnostics & *in vivo* imaging [J]. *Cancer Biomark.*, 2008, 4(6): 307-319.
- [37] ALGAR W R, SUSUMU K, DELEHANTY J B, *et al.* Semiconductor quantum dots in bioanalysis: crossing the valley of death [J]. *Anal. Chem.*, 2011, 83(23): 8826-8837.
- [38] ROSENTHAL S J, CHANG J C, KOVTUN O, *et al.* Biocompatible quantum dots for biological applications [J]. *Chem. Biol.*, 2011, 18(1): 10-24.
- [39] KLIMOV V I. Spectral and dynamical properties of multiexcitons in semiconductor nanocrystals [J]. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2007, 58: 635-673.
- [40] 张松涛, 王樱慧, 张洪杰. 稀土发光材料在近红外二区成像中的应用 [J]. *发光学报*, 2020, 41(12): 1460-1478.
ZHANG S T, WANG Y H, ZHANG H J. Lanthanide-doped fluorescence probes for NIR- II fluorescence imaging [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2020, 41(12): 1460-1478. (in Chinese)
- [41] LI Y, CHEN C, LIU F F, *et al.* Engineered lanthanide-doped upconversion nanoparticles for biosensing and bioimaging application [J]. *Microchim. Acta*, 2022, 189(3): 109-1-28.
- [42] WANG F, LIU X G. Recent advances in the chemistry of lanthanide-doped upconversion nanocrystals [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2009, 38(4): 976-989.
- [43] DACOSTA M V, DOUGHAN S, HAN Y, *et al.* Lanthanide upconversion nanoparticles and applications in bioassays and bioimaging: a review [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2014, 832: 1-33.
- [44] LIU G K. Advances in the theoretical understanding of photon upconversion in rare-earth activated nanophosphors [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(6): 1635-1652.
- [45] ZHOU J, LIU Q, FENG W, *et al.* Upconversion luminescent materials: advances and applications [J]. *Chem. Rev.*, 2015, 115(1): 395-465.
- [46] VAN DIJK J M F, SCHUURMANS M F H. On the nonradiative and radiative decay rates and a modified exponential energy gap law for *4f-4f* transitions in rare-earth ions [J]. *J. Chem. Phys.*, 1983, 78(9): 5317-5323.
- [47] HAASE M, SCHÄFER H. Upconverting nanoparticles [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, 50(26): 5808-5829.
- [48] MAHALINGAM V, VETTRONE F, NACCACHE R, *et al.* Colloidal Tm³⁺/Yb³⁺-doped LiYF₄ nanocrystals: multiple luminescence spanning the UV to NIR regions via low-energy excitation [J]. *Adv. Mater.*, 2009, 21(40): 4025-4028.
- [49] WANG J, WANG F, XU J, *et al.* Lanthanide-doped LiYF₄ nanoparticles: synthesis and multicolor upconversion tuning [J]. *C. R. Chim.*, 2010, 13(6): 731-736.
- [50] DE G J H, QIN W P, ZHANG J S, *et al.* Bright-green upconversion emission of hexagonal LaF₃:Yb³⁺, Er³⁺ nanocrystals [J]. *Chem Lett.*, 2005, 34(7): 914-915.
- [51] SINGH A K, KUMAR K, PANDEY A C, *et al.* Multi-phonon assisted upconversion emission and power dependence studies in LaF₃:Er³⁺ phosphor [J]. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2013, 106: 236-241.
- [52] 李波, 黄立辉, 陈新禹, 等. Tm³⁺/Yb³⁺共掺含 LaF₃纳米晶锆酸盐微晶玻璃的上转换发光及其温度传感特性 [J]. *发光学报*, 2023, 44(2): 271-278.
LI B, HUANG L H, CHEN X Y, *et al.* Upconversion luminescence and temperature sensing characteristics of Tm³⁺/Yb³⁺ co-doped germanate glass ceramics containing LaF₃ nanocrystals [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2023, 44(2): 271-278. (in Chinese)
- [53] XIN H B, LI Y C, XU D K, *et al.* Single upconversion nanoparticle-bacterium cotrapping for single-bacterium labeling and analysis [J]. *Small*, 2017, 13(14): 1603418-1-10.
- [54] WANG F, HAN Y, LIM C S, *et al.* Simultaneous phase and size control of upconversion nanocrystals through lanthanide doping [J]. *Nature*, 2010, 463(7284): 1061-1065.

- [55] KRÄMER K W, BINER D, FREI G, *et al.* Hexagonal sodium yttrium fluoride based green and blue emitting upconversion phosphors [J]. *Chem. Mater.*, 2004, 16(7): 1244-1251.
- [56] CHEN G Y, QIU H L, PRASAD P N, *et al.* Upconversion nanoparticles: design, nanochemistry, and applications in theranostics [J]. *Chem. Rev.*, 2014, 114(10): 5161-5214.
- [57] JI Y N, XU W, WANG Y, *et al.* Supersensitive sensing based on upconversion nanoparticles through cascade photon amplification at single-particle level [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2022, 367: 132125-1-9.
- [58] FRENZEL F. *Characterisation of Photo-physical Properties of Upconversion Nanocrystals at Ensemble and Single Particle Level* [D]. Berlin: Humboldt-Universität zu Berlin, 2022.
- [59] DONG H, SUN L D, YAN C H. Upconversion emission studies of single particles [J]. *Nano Today*, 2020, 35: 100956-1-23.
- [60] ZHOU J J, CHIZHIK A I, CHU S, *et al.* Single-particle spectroscopy for functional nanomaterials [J]. *Nature*, 2020, 579(7797): 41-50.
- [61] CAO T Y, YANG Y, SUN Y, *et al.* Biodistribution of sub-10 nm PEG-modified radioactive/upconversion nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(29): 7127-7134.
- [62] LIU C Y, GAO Z Y, ZENG J F, *et al.* Magnetic/upconversion fluorescent NaGdF₄:Yb, Er nanoparticle-based dual-modal molecular probes for imaging tiny tumors *in vivo* [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(8): 7227-7240.
- [63] ZHAO J B, JIN D Y, SCHATNER E P, *et al.* Single-nanocrystal sensitivity achieved by enhanced upconversion luminescence [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2013, 8(10): 729-734.
- [64] GARGAS D J, CHAN E M, OSTROWSKI A D, *et al.* Engineering bright sub-10-nm upconverting nanocrystals for single-molecule imaging [J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2014, 9(4): 300-305.
- [65] SCHIETINGER S, MENEZES L D S, LAURITZEN B, *et al.* Observation of size dependence in multicolor upconversion in single Yb³⁺, Er³⁺ codoped NaYF₄ nanocrystals [J]. *Nano Lett.*, 2009, 9(6): 2477-2481.
- [66] SCHIETINGER S, AICHELE T, WANG H Q, *et al.* Plasmon-enhanced upconversion in single NaYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ codoped nanocrystals [J]. *Nano Lett.*, 2010, 10(1): 134-138.
- [67] LIU Q, ZHANG Y X, PENG C S, *et al.* Single upconversion nanoparticle imaging at sub-10 W·cm⁻² irradiance [J]. *Nat. Photonics*, 2018, 12(9): 548-553.
- [68] FRENZEL F, WÜRTH C, DUKHNO O, *et al.* Multiband emission from single β-NaYF₄(Yb, Er) nanoparticles at high excitation power densities and comparison to ensemble studies [J]. *Nano Res.*, 2021, 14(11): 4107-4115.
- [69] OSTROWSKI A D, CHAN E M, GARGAS D J, *et al.* Controlled synthesis and single-particle imaging of bright, sub-10 nm lanthanide-doped upconverting nanocrystals [J]. *ACS Nano*, 2012, 6(3): 2686-2692.
- [70] PARK Y I, NAM S H, KIM J H, *et al.* Comparative study of upconverting nanoparticles with various crystal structures, core/shell structures, and surface characteristics [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2013, 117(5): 2239-2244.
- [71] LI L, GREEN K, HALLEN H, *et al.* Enhancement of single particle rare earth doped NaYF₄:Yb, Er emission with a gold shell [J]. *Nanotechnology*, 2015, 26(2): 025101-1-9.
- [72] GREYBUSH N J, SABOKTAKIN M, YE X C, *et al.* Plasmon-enhanced upconversion luminescence in single nanophosphor-nanorod heterodimers formed through template-assisted self-assembly [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(9): 9482-9491.
- [73] KILBANE J D, CHAN E M, MONACHON C, *et al.* Far-field optical nanothermometry using individual sub-50 nm upconverting nanoparticles [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(22): 11611-11616.
- [74] PICKEL A D, TEITELBOIM A, CHAN E M, *et al.* Apparent self-heating of individual upconverting nanoparticle thermometers [J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 4907-1-12.
- [75] LI X, WEI L, PAN L L, *et al.* Homogeneous immunosorbent assay based on single-particle enumeration using upconversion nanoparticles for the sensitive detection of cancer biomarkers [J]. *Anal. Chem.*, 2018, 90(7): 4807-4814.
- [76] WANG X D, ZHANG X R, HUANG D X, *et al.* High-sensitivity sensing of divalent copper ions at the single upconversion nanoparticle level [J]. *Anal. Chem.*, 2021, 93(34): 11686-11691.
- [77] XU Z H, WANG C N, MA R, *et al.* Aptamer-based biosensing through the mapping of encoding upconversion nanoparticles for sensitive CEA detection [J]. *Analyst*, 2022, 147(14): 3350-3359.
- [78] CLARKE C, LIU D M, WANG F, *et al.* Large-scale dewetting assembly of gold nanoparticles for plasmonic enhanced upconversion nanoparticles [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(14): 6270-6276.
- [79] 张翔宇, 马英翔, 徐春龙, 等. 单颗粒稀土微/纳晶体上转换荧光行为的光谱学探究 [J]. *物理学报*, 2018, 67

- (18): 183301-1-9.
- ZHANG X Y, MA Y X, XU C L, *et al.* Spectroscopic exploration of upconversion luminescence behavior of rare earth-doped single-particle micro/nanocrystals [J]. *Acta Phys. Sinica*, 2018, 67(18): 183301-1-9. (in Chinese)
- [80] CHEN P, SONG M, WU E, *et al.* Polarization modulated upconversion luminescence: single particle *vs.* few-particle aggregates [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(15): 6462-6466.
- [81] YANG D D, PENG Z X, ZHAN Q Q, *et al.* Anisotropic excitation polarization response from a single white light-emitting β -NaYF₄:Yb³⁺, Pr³⁺ microcrystal [J]. *Small*, 2019, 15(43): 1904298-1-9.
- [82] LU Y Q, ZHAO J B, ZHANG R, *et al.* Tunable lifetime multiplexing using luminescent nanocrystals [J]. *Nat. Photonics*, 2014, 8(1): 32-36.
- [83] KIM J, PARK H S, AHN Y, *et al.* Universal emission characteristics of upconverting nanoparticles revealed by single-particle spectroscopy [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(1): 648-656.
- [84] ZHOU J J, CHEN G X, WU E, *et al.* Ultrasensitive polarized up-conversion of Tm³⁺-Yb³⁺ doped β -NaYF₄ single nanorod [J]. *Nano Lett.*, 2013, 13(5): 2241-2246.
- [85] WANG F, WEN S H, HE H, *et al.* Microscopic inspection and tracking of single upconversion nanoparticles in living cells [J]. *Light Sci. Appl.*, 2018, 7(4): 18007-1-6.
- [86] SIEFE C, MEHLENBACHER R D, PENG C S, *et al.* Sub-20 nm core-shell-shell nanoparticles for bright upconversion and enhanced Förster resonant energy transfer [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141(42): 16997-17005.
- [87] HU J L, GUAN D M, ZHAO B J, *et al.* Ytterbium-enriched outmost shell for enhanced upconversion single molecule imaging and interfacial triplet energy transfer [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2022, 10(6): 2101763-1-8.
- [88] ZHANG Y X, WEN R R, HU J L, *et al.* Enhancement of single upconversion nanoparticle imaging by topologically segregated core-shell structure with inward energy migration [J]. *Nat. Commun.*, 2022, 13(1): 5927-1-12.
- [89] LIU Y C, ZHU W R, WEI X R, *et al.* Cyanine dye-assembled composite upconversion nanoparticles for the sensing and cell imaging of nitrite based on a single particle imaging method [J]. *Analyst*, 2022, 147(12): 2793-2801.
- [90] XUE Y X, DING C J, RONG Y Y, *et al.* Tuning plasmonic enhancement of single nanocrystal upconversion luminescence by varying gold nanorod diameter [J]. *Small*, 2017, 13(36): 1701155-1-11.
- [91] GAO D L, WANG D, ZHANG X Y, *et al.* Spatial control of upconversion emission in a single fluoride microcrystal *via* the excitation mode and native interference effect [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2018, 6(3): 622-629.
- [92] PANOV N, LU D S, ORTIZ-RIVERO E, *et al.* Hyperspectral imaging and optical trapping: complementary tools for assessing direction-dependent polarized emission from single upconverting LiYF₄:Yb³⁺/Er³⁺ microparticles [J]. *Adv. Opt. Mater.*, 2021, 9(12): 2100101-1-9.
- [93] DE OLIVEIRA LIMA K, DOS SANTOS L F, GALVÃO R, *et al.* Single Er³⁺, Yb³⁺:KGd₃F₁₀ nanoparticles for nanothermometry [J]. *Front. Chem.*, 2021, 9: 712659-1-13.
- [94] SWEARER D F, FISCHER S, ANGELL D K, *et al.* Single particle cathodoluminescence spectroscopy with sub-20 nm, electron-stable phosphors [J]. *ACS Photonics*, 2021, 8(6): 1539-1547.
- [95] GAO W, HAN S S, WANG B Y, *et al.* Single-layer gold nanoparticle film enhances the upconversion luminescence of a single NaYbF₄:2%Er³⁺ microdisk [J]. *J. Alloys Compd.*, 2022, 900: 163493-1-12.
- [96] RODRÍGUEZ-SEVILLA P, RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ H, PEDRONI M, *et al.* Assessing single upconverting nanoparticle luminescence by optical tweezers [J]. *Nano Lett.*, 2015, 15(8): 5068-5074.
- [97] XU W, CHEN X, SONG H W. Upconversion manipulation by local electromagnetic field [J]. *Nano Today*, 2017, 17: 54-78.
- [98] ZHENG W, HUANG P, TU D T, *et al.* Lanthanide-doped upconversion nano-bioprobes: electronic structures, optical properties, and biodetection [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(6): 1379-1415.



李雅珍(1997-),女,河北张家口人,硕士,2023年于太原理工大学获得硕士学位,主要从事稀土上转换发光材料的研究。

E-mail: 118833033151@163.com



田碧凝(1988-),女,河北石家庄人,博士,研究员,硕士生导师,2023年于大连海事大学获得博士学位,主要从事微纳光电功能材料的研究。

E-mail: tianbinying@tyut.edu.cn