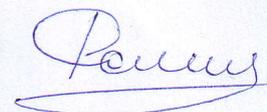


Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр
«Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук»

На правах рукописи



Ромшин Алексей Максимович

**ТЕРМОМЕТРИЯ НА ОСНОВЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ЦЕНТРОВ
“КРЕМНИЙ-ВАКАНСИЯ” В НАНОАЛМАЗАХ**

Специальность: 1.3.19. Лазерная физика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
Власов Игорь Иванович
кандидат физико-математических наук

Москва - 2025

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Обзор современного состояния литературы по теме диссертации.....	11
1.1. Принципы наноразмерной термометрии.....	11
1.2. Оптическая нанотермометрия.....	15
1.2.1. Органические красители.....	16
1.2.2. Квантовые точки.....	32
1.2.3. Ионы редкоземельных металлов.....	36
1.2.4. Углеродные точки.....	41
1.2.5. Полимерные комплексы.....	43
1.2.6. Алмазные наночастицы.....	50
1.3. Заключение к главе 1.....	58
Глава 2. Люминесцентные термометры на основе алмазных частиц, содержащих SiV-центры.....	59
2.1. Температурная чувствительность люминесценции SiV-центров в алмазных частицах различного происхождения.....	59
2.1.1. Образцы алмазных частиц и методы исследования.....	59
2.1.2. Процедура аппроксимации бесфононной линии люминесценции SiV-центров.....	61
2.1.3. Экспериментальные результаты.....	63
2.2. Люминесценция SiV-центров в адамантановых HPHT-алмазах при криогенных температурах.....	66
2.2.1. Методы исследования.....	67
2.2.2. Экспериментальные результаты.....	68
2.3. Нагревательная способность алмазных микрочастиц различного происхождения.....	72
2.4. Уровень шума алмазного термометра на основе (HPHT+CVD)-частиц различного размера.....	76

2.5. Выводы к главе 2.....	80
Глава 3. Пространственно-временные температурные профили наноразмерных тепловых источников.....	82
3.1. Картирование пространственного распределения температуры микронного теплового источника.....	82
3.2. Динамика установления температуры алмазных частиц различных размеров в локальных водных объемах.....	89
3.3. Выводы к главе 3.....	100
Глава 4. Применение алмазного термометра для измерения температуры вблизи митохондрий.....	102
4.1. Методы исследования.....	103
4.2. Результаты измерений теплопродукции митохондрий.....	104
4.3. Выводы к главе 4.....	110
Заключение.....	111
Список используемых сокращений.....	114
Список литературы.....	116

Введение

Актуальность выбранной темы обусловлена современным интенсивным развитием люминесцентных методов измерения температуры в наноскопических объемах для решения задач в области биомедицины, биохимии и микроэлектроники. Первые работы, демонстрирующие перспективы использования люминесцентных наночастиц для температурных измерений, были опубликованы в начале 2000-х годов [1, 2]. Несмотря на значительный прогресс, люминесценция большинства материалов недостаточна фотостабильна, подвержена эффектам самопоглощения и фотообесцвечивания, а также чувствительна к нетемпературным параметрам внешней среды, таким как локальные электромагнитные поля, рН, вязкость, показатель преломления и прочие, что сильно затрудняет их применение в задачах, связанных с изучением тепловых процессов в биологических средах и полупроводниковых наноструктурах.

Одним из наиболее перспективных направлений для микро- и наноскопической термометрии представляется применение наноалмазов (<1 мкм), содержащих примесные дефекты, люминесцентные и спиновые свойства которых зависят от температуры. Наноалмазы с термочувствительными центрами представляют собой замкнутую термодинамическую систему, что предотвращает прямой контакт датчика температуры с окружающей средой, и делает его идеальным наноразмерным термометром слабо чувствительным к другим внешним параметрам.

Применение наноалмазов для измерения температуры было предложено впервые в 2013 году. Локальные температурные измерения были проведены с помощью оптически детектируемого магнитного резонанса (ODMR) для спиновых переходов в наноалмазах, содержащих центры «азот-вакансия» (NV) [3], включая измерения внутри живой клетки [4]. Позднее был изготовлен наногибрид – флуоресцентный наноалмаз (нанотермометр) и золотой наностержень (наноагреватор) [5, 6], позволивший получить контролируемый наноразмерный источник тепла. К недостаткам такого подхода относятся чувствительность спиновых состояний NV-центров к внешним параметрам и необходимость использования высокочастотного электро-магнитного поля для контроля спинового состояния NV-центра.

В настоящей работе в качестве люминесцентного зонда предложено использовать алмазные частицы, содержащие центры окраски “кремний-вакансия” (SiV, англ. Silicon-Vacancy). Люминесценция SiV-центров характеризуется яркой и узкой бесфононной линией (БФЛ) в первом биологическом окне прозрачности, стабильна и не подвержена фотообесцвечиванию. Механизм считывания температуры основан на зависимости спектрального положения и ширины БФЛ SiV-центров. Такой полностью оптический подход к измерению температуры свободен от недостатков, присущих ранее предложенному методу, основанному на использовании спиновых переходов центров «азот-вакансия» в алмазе [3].

На сегодняшний день алмазные частицы с SiV-центрами получают преимущественно методами высокого давления и температуры (HPHT) или газофазного осаждения (CVD), что позволяет оптимизировать их характеристики для конкретных задач.

Степень разработанности

Автор настоящей работы входит в состав научного коллектива (лаборатория Углеродной нанофотоники ИОФ РАН), который одним из первых в мире начал развивать оптический метод детектирования локальных температурных полей с помощью наноалмазов, содержащих люминесцирующие SiV-центры [7, 8]. Благодаря результатам, полученным автором в ходе диссертационной работы, в настоящее время коллектив занимает лидирующие позиции в мире в области оптической наноалмазной термометрии.

Цель и задачи

Целью настоящего диссертационного исследования является разработка нового оптического метода детектирования локальных температурных полей с помощью наноалмазов, содержащих люминесцирующие центры “кремний-вакансия” (SiV-центры). Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Исследование особенностей температурной зависимости спектральных характеристик SiV-центров для алмазных частиц различного происхождения и различного размера при комнатных и криогенных температурах.
2. Объединение свойств температурного сенсора и управляемого нагревателя в одной алмазной частице.

3. Изучение временных процессов установления стационарной температуры в алмазных термометрах-нагревателях различных размеров в водной среде с субмикросекундным разрешением.
4. Апробация алмазного термометра для высокоточных измерений локальной температуры внутри или вблизи живых клеток и органелл.

Научная новизна работы

1. Обнаружено, что температурная чувствительность SiV-центров зависит от метода синтеза алмазных частиц. Наибольшей температурной чувствительностью обладают алмазы, синтезированные при высоком давлении и высокой температуре (НРНТ методом) из адамантана.
2. Установлено, что наноалмазы, синтезированные НРНТ методом из адамантана, имеют самую узкую ширину линии (94 МГц) излучения одиночного SiV-центра при криогенных температурах среди известных SiV-содержащих наноалмазов, полученных НРНТ и CVD методами.
3. Установлено, что поликристаллические алмазные частицы, синтезированные CVD методом и содержащие люминесцирующие SiV-центры, сочетают в себе свойства как термометра, так и эффективного нагревателя.
4. Предложен новый метод изучения динамики тепловых процессов в наноразмерных системах, основанный на использовании одиночной алмазной частицы, сочетающей свойства термометра и нагревателя.
5. Впервые CVD алмазные частицы с SiV-центрами успешно апробированы для измерения температуры вблизи органелл размером ~1 мкм.

Теоретическая и практическая значимость

Развитый в настоящей работе оптический метод детектирования локальных температурных полей с помощью наноалмазов, содержащих люминесцирующие SiV-центры, открывает новые технологические возможности как в области биомедицины:

- достоверный мониторинг теплопродукции вблизи/внутри живой клетки,
- ультралокальное термическое управление структурными и биохимическими процессами в клетке,

так и в области микроэлектроники:

- выявление конструктивных недостатков на стадии разработки электронных интегральных схем и контроль качества при их серийном производстве.

Теоретическая значимость работы заключается в разработке нового подхода для точного определения спектрального положения линий различных люминесцентных источников.

Методология и методы исследований

1. В данном исследовании используется комплексный подход, объединяющий оптические, спектроскопические и криогенные методы анализа для изучения алмазных наночастиц с SiV-центрами. Методология включает в себя этапы подготовки образцов, измерения при различных температурных режимах и последующего анализа данных с использованием математического моделирования и статистической обработки.
2. Рамановская спектроскопия применяется для оценки структурного качества алмазных частиц, выявления примесей и дефектов в кристаллической решетке.
3. Люминесцентная микроскопия и спектроскопия используется для детектирования люминесценции и анализа спектральных параметров SiV-центров в алмазных наночастицах и термометров на их основе.
4. Исследования при криогенных температурах проводят с помощью метода резонансной стоксовой флуоресценции, что позволяет выявить дублетную структуру переходов и снизить тепловое уширение линий.
5. Для определения спектрального положения и ширины бесфононной линии (БФЛ) SiV-люминесценции используется метод Левенберга-Марквардта.
6. Все эксперименты проводятся с использованием конфокального микроскопа, оснащенного лазерными источниками возбуждения люминесценции и охлаждаемой ПЗС-матрицей для регистрации люминесценции, а также высокоразрешающего спектрометра для спектрального анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. В наноалмазах, синтезированных НРНТ методом из адамантана, коэффициенты температурной чувствительности спектрального положения и ширины бесфононной линии люминесценции SiV-центров, составляют $0.013 \text{ nm}/^\circ\text{C}$ и $0.05 \text{ nm}/^\circ\text{C}$, соответственно, в температурном диапазоне от 20 до $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

2. Алмазная частица размером 200 нм, синтезированная НРНТ методом из адамантана, демонстрирует самую узкую ширину линии излучения одиночного SiV-центра при криогенных температурах среди известных SiV-содержащих алмазных частиц аналогичного размера – 94 МГц.
3. Поликристаллическая CVD-алмазная частица, содержащая люминесцирующие SiV-центры, сочетает в себе свойства как термометра, так и управляемого нагревателя. Амплитуда локального нагрева такой частицы размером 250 нм в водной среде под воздействием излучения на длине волны 473 нм достигает 6.5 °С на пошаговое увеличение плотности мощности 1 мВт/мкм².
4. Для алмазной частицы размером 900 нм в водной среде время, необходимое для достижения стационарной температуры при нагреве на 10 °С, составляет 1.31 мкс, тогда как время остывания до температуры окружающей среды составляет 21.9 мкс.
5. Локальное повышение температуры вблизи метаболически активных митохондрий размером ~1 мкм, измеренное с помощью алмазного термометра, составляет в среднем 12 °С.

Личный вклад

Личный вклад соискателя в диссертационную работу является определяющим и заключается в активном участии в постановке задач, определении способов их решения, сборке и юстировке экспериментальных установок, автоматизации измерений, проведении экспериментов и численных расчетов, анализе, обработке и интерпретации полученных данных, написании текстов статей. Все результаты, представленные в работе, получены соискателем лично, либо в соавторстве при его непосредственном участии.

Степень достоверности

Достоверность полученных данных обеспечивается высоким уровнем использованного экспериментального оборудования; применением современных теоретических представлений и методов обработки при анализе данных; сравнением полученных результатов с имеющимися литературными данными; воспроизводимостью результатов; публикацией материалов исследования в высокорейтинговых научных журналах и докладами на всероссийских и международных конференциях.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на Всероссийских и международных конференциях: XXIV Объединенная международная молодежная научная школа «Когерентная оптика и оптическая спектроскопия» и «Квантовая информатика и квантовые сенсоры на основе алмазов», Казань, 10-11 декабря 2020; Школа-конференция молодых ученых ИОФ РАН «Прохоровские недели», Москва, 8-10 декабря 2020; VIII International School and Conference on Photonics “Photonica2021”, Belgrade, Serbia, 23-27 August 2021; VI International Conference on Ultrafast Optical Science «UltrafastLight-2022», Moscow, 3-7 October 2022; XXVI научная школа-конференция молодых учёных по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, 26-27 октября 2022; VII Съезд биофизиков России, Краснодар, 17-23 апреля 2023; 31st international conference Advanced Laser Technologies (ALT 2024), Vladivostok, 23-27 September 2024.

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертационного исследования представлены в 8 тезисах конференций и 8 публикациях в рецензируемых научных изданиях, включая 7 статей в журналах, индексируемых в международной базе данных Web of Science:

1. Fourier Transform Limited Linewidth of Optical Transitions in Single SiV Centers in ‘Adamantane’ Nanodiamonds / A.M. Romshin, O.S. Kudryavtsev, E.A. Ekimov, A.B. Shkarin, D. Rattenbacher, M.V. Rakhlin, A.A. Toropov, I.I. Vlasov // JETP Letters. – 2020. – Vol. 112. – P. 13-16. DOI: 10.1134/S002136402013010X
2. A new approach to precise mapping of local temperature fields in submicrometer aqueous volumes / A.M. Romshin, V. Zeeb, A.K. Martyanov, O.S. Kudryavtsev, D.G. Pasternak, V.S. Sedov, V.G. Ralchenko, A.G. Sinogeykin, I.I. Vlasov // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – P. 14228. DOI: 10.1038/s41598-021-93374-7
3. Heat Release by Isolated Mouse Brain Mitochondria Detected with Diamond Thermometer / A.M. Romshin, A.A. Osypov, I.Yu. Popova, V.E. Zeeb, A.G. Sinogeykin, I.I. Vlasov // Nanomaterials. – 2023. – Vol. 13. – № 1. – P. 98. DOI: 10.3390/nano13010098
4. Temperature characteristics of ‘silicon-vacancy’ luminescent centers in diamond particles synthesized by various methods / A.M. Romshin, Pasternak D.G., Altakhov A.S.,

Bagramov R.K., Filonenko V.P., Vlasov I.I. // *Optics and Spectroscopy*. – 2023. – Vol. 131. – № 2. – P. 133. DOI: 10.61011/EOS.2023.02.55773.18-23

5. Nanoscale thermal control of a single living cell enabled by diamond heater-thermometer / A.M. Romshin, V. Zeeb, E. Glushkov, A. Radenovic, A.G. Sinogeikin, I.I. Vlasov // *Scientific Reports*. – 2023. – Vol. 13. – P. 8546. DOI: 10.1038/s41598-023-35141-4

6. Warm Cells, Hot Mitochondria: Achievements and Problems of Ultralocal Thermometry / A.G. Kruglov, A.M. Romshin, A.B. Nikiforova, A. Plotnikova, I.I. Vlasov // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 23. – P. 16955. DOI: 10.3390/ijms242316955

7. The Relationship between the Temperature in the Deep Layers of the Somatosensory Cortex and Blood Flow Velocity in the Brain of Anesthetized Mice / A.M. Romshin, A.A. Osypov, V.K. Krohaleva, S.G. Zhuravlev, O.N. Egorova, I.I. Vlasov, I.Yu. Popova // *Biophysics*. – 2024. – Vol. 69. – № 2. – P. 306-313. DOI: 10.1134/S0006350924700374

8. Rapid neurostimulation at the micron scale with an optically controlled thermal-capture technique / A.M. Romshin, N.A. Aseyev, O.S. Idzhilova, A.A. Koryagina, V.E. Zeeb, I.I. Vlasov, P.M. Balaban // *Biomaterials Science*. – 2025. – Vol. 13. – P. 250-260. DOI: 10.1039/D4BM01114G

Глава 1. Обзор современного состояния литературы по теме диссертации

1.1. Принципы наноразмерной термометрии

На рубеже XVI века итальянский ученый Галилео Галилей попытался впервые экспериментально измерить температуру. Предложенный им прибор – термоскоп – состоял из стеклянного шарика и трубки, свободный конец которой погружался в сосуд с водой [9]. При нагревании шарика воздух в трубке расширялся, а уровень воды понижался, охлаждение же наоборот повышало уровень жидкости. Позже итальянский врач Санторио Санкториус усовершенствовал прибор измерительной шкалой, что позволило использовать его для измерения температуры человеческого тела. Кажущийся сейчас примитивным прибор стал важной отправной точкой и основой единого принципа построения методов наноразмерной термометрии, который заключается в поиске измеряемых величин A , наиболее точно отражающих изменения температуры T . Мы не будем детально останавливаться на обзоре существующих макроскопических методов измерения температуры, а перейдем сразу к наноразмерной термометрии.

Спектр современных наносенсоров температуры необычайно велик. По термодинамическому принципу функционирования их можно разделить на две группы: 1) первичные (абсолютные) и 2) вторичные (относительные или калиброванные). Первичные термометры основаны на уравнениях состояния, где температура является переменной состояния и поэтому определяется абсолютным образом. Типичными примерами являются уравнения для идеальных газов, скорости звука в газе, Джонсона-Найквиста (теплового) шума в электрическом резисторе и т.д. Во всех этих случаях существует уравнение $f(T, a_1, a_2, \dots, a_n) = 0$, которое позволяет абсолютно точно определить температуру T с учетом того, что известны другие величины a_i . Однако довольно часто первичные термометры неудобны с практической точки зрения из-за низкой воспроизводимости, медленного времени отклика и недостаточной простоты эксплуатации [10].

Вторичные же термометры являются относительными, поэтому абсолютных значений измеряемой величины уже недостаточно для непосредственного определения температуры и требуется калибровка в соответствии с эталонной системой. При этом

зависимость $A(T)$ наблюдаемой величины от температуры должна быть определена с использованием известных эталонных значений, таких как тройные точки газов и жидкостей или точки плавления материалов, которые воспроизводятся при одной и той же температуре и согласованы в Международной температурной шкале (ITS-90) [11]. И хотя этот аспект очевиден, он имеет решающее значение ввиду нетривиальности процесса калибровки. Например, температурные показания некоторых вторичных нанотермометров основаны непосредственно на изменениях интенсивности фотолюминесценции (ФЛ) зонда. Если такой предварительно откалиброванный нанотермометр используется в среде, которая поглощает или рассеивает свет на рабочих длинах волн, полученные показания могут оказаться некорректными.

Как уже упоминалось выше, первичные сенсоры сложны в использовании, а их разнообразие сильно ограничено. Поэтому дальнейшее повествование будет сосредоточено на обзоре и сравнении характеристик вторичных термометров, которые благодаря своей гибкости и высокой воспроизводимости являются предпочтительными для большинства приложений. Обычно для оценки эффективности и сравнения сенсоров между собой используются следующие ключевые параметры [12]:

1. *Чувствительность*. Минимальное изменение температуры, которое термометр способен зарегистрировать, определяет его абсолютную чувствительность $S_a = \frac{\partial A(T, p, V, \dots)}{\partial T}$. Данная величина описывает восприимчивость наблюдаемой A (например, электрического сопротивления или интенсивности) к изменению температуры на 1 К и выражается в единицах измеряемой величины на единицу температуры (например, в мВ/К или Ом/К). Часто для сравнения разных термометров вводят относительную чувствительность $S_r = \frac{S_a}{A} = \frac{\partial A(T, p, V, \dots)/\partial T}{A}$, которая оценивает способность сенсора фиксировать изменения температуры в пропорциональном отношении к исходному значению выходного сигнала и выражается в процентах на единицу температуры %/К.
2. *Неопределенность показаний* (σ_T) отражает близость показаний термометра к истинному значению температуры и изменяется синхронно со стандартным отклонением измеряемой величины σ_A . Данная величина включает в себя как все возможные источники систематических ошибок (грубая калибровка, влияние

окружающих условий на измерения, малое время интегрирования сигнала и проч.), так и фундаментальный источник ошибок σ_{th} , связанный с флуктуациями температуры в наноразмерных системах:

$$\sigma_{th} = T \sqrt{\frac{k_B}{VC_v}}, \quad (1.1)$$

где k_B - постоянная Больцмана, V - объем нанотермометра, а C_v - его постоянная объемная теплоемкость на единицу объема. Характерный временной масштаб этих флуктуаций τ_{rel} определяется теплообменом между термометром и окружающей средой. Нанотермометр в однородной среде имеет τ_{rel} порядка $\frac{L^2}{\alpha}$, где L - размер термометра, а α - теплопроводность среды. Тепловые флуктуации могут быть определены как $\sigma_{th} \sqrt{\tau_{rel}/t_m}$, где t_m - время интегрирования. Если в качестве нанотермометра используется алмазная частица размером 100 нм, помещенная в воду с температурой 22 °С, то при $t_m = \tau_{rel}$ флуктуации температуры окажутся равными $\sigma_{th, diamond} = 0.034$ °С.

3. *Уровень шума* (η). Согласно распределению Пуассона, стандартное отклонение измеряемого сигнала σ_A уменьшается с увеличением t_m по закону $\sim 1/\sqrt{t_m}$. По этой причине удобно использовать величину уровня шума термометра, равную произведению $\eta = \sigma_T \cdot \sqrt{t_m}$ [К·Гц^{-1/2}]. Предельное значение этой величины может быть оценено как:

$$\eta_{th,T} = \sigma_{th} \sqrt{\tau_{rel}} \approx T \cdot \frac{k_B}{\sqrt{LC_v \alpha}}, \quad (1.2)$$

а для 100 нм алмазного термометра в воде $\eta_{th,T, diamond} = 9$ мкК·Гц^{-1/2}.

4. *Разрешающая способность* (ΔT_{min}) характеризует способность термометра различать минимальные температурные изменения, которые могут быть надежно зафиксированы данным термометром на фоне существующих шумов и

артефактов. Формально ΔT_{min} выражается как отношение стандартного отклонения измеряемого сигнала σ_A к чувствительности нанотермометра S_a :

$$\Delta T_{min} = \frac{\sigma_A}{S_a}, \quad (1.3)$$

Достичь высокой разрешающей способности сенсора можно за счет увеличения времени интеграции сигнала, тем самым снижая влияние случайных колебаний измеряемой A .

5. *Пространственное разрешение* характеризует способность термометра измерять локализованные градиенты температуры, что особенно важно при работе с эндогенными источниками тепла в живых клетках и органеллах. Чем выше пространственное разрешение, тем корректнее можно определять локальные изменения температуры. Интуитивно понятно, что уменьшение размера термометра повышает пространственное разрешение. Однако для наноразмерных систем необходимо учитывать распределение длин волн свободного пробега теплоносителей. В том случае, когда размер термометра - намного меньше Λ , перенос тепла не является диффузионным, что может привести к некорректным интерпретациям измеряемого профиля температуры.
6. *Время отклика* — время, за которое термометр реагирует на изменение температуры и дает корректное показание. В большинстве приложений, а особенно в биологических, важно иметь отклик термосенсора, как минимум соизмеримый с временной шкалой протекающих тепловых процессов.
7. *Диапазон измерения* термометра указывает на минимальные и максимальные значения температуры, в пределах которых он надежно измеряет температуру. Каждый метод термометрии основан на наборе физико-химических зависимостей, которые действуют или оптимально действуют в определенном диапазоне температур. Этот диапазон может препятствовать практическому использованию метода в конкретных приложениях. Примечательно, что некоторые нанотермометры (например, основанные на центрах окраски в наноалмазах) могут иметь несколько рабочих механизмов, что позволяет переключаться между ними в зависимости от того, в каком диапазоне температур они оптимальны. Следует отметить, что часто чувствительность и разрешение могут зависеть от

температуры, то есть быть лучше или хуже в зависимости от того, в каком температурном диапазоне работает датчик.

8. *Инвазивность* – это степень воздействия термометра на исследуемую среду. В нанотермометрии, особенно при работе с биологическими объектами, крайне важно минимизировать инвазивность, чтобы термометр не нарушал естественные физиологические процессы.

По ряду универсальных характеристик, применимых к любому типу датчиков, нанотермометр должен обладать высокой *точностью* и *надежностью*: его показания должны максимально соответствовать истинной температуре с минимальными вариациями между измерениями. Более того, показания должны обладать хорошей воспроизводимостью, то есть сохранять точность при многократных циклах изменения температуры, и стабильностью – неизменностью в течение длительного временного интервала.

Существующие термометрические подходы можно разделить по принципу действия на два класса - неоптические и оптические. В то время как первые требуют непосредственного физического контакта с объектом, вторые считывают температуру полностью оптически, что позволяет проводить удобную и минимально инвазивную регистрацию.

1.2. Оптическая нанотермометрия

Оптическая нанотермометрия представляет собой широкий класс методов, которые вызывают значительный интерес благодаря возможности измерения температуры без прямого воздействия на измеряемый объект. В большинстве случаев такие методы основаны на температурной зависимости люминесценции — явлении, при котором определённые вещества испускают фотоны в результате перехода электронов из возбужденного состояния, индуцированного внешним источником света, таким как лазерное излучение. Электронная структура вещества, отвечающая за испускание фотонов, изменяется в зависимости от температуры, что приводит к вариациям таких параметров люминесценции, как интенсивность, спектральное положение, ширина и форму линии, а также время жизни (рис. 1.1).

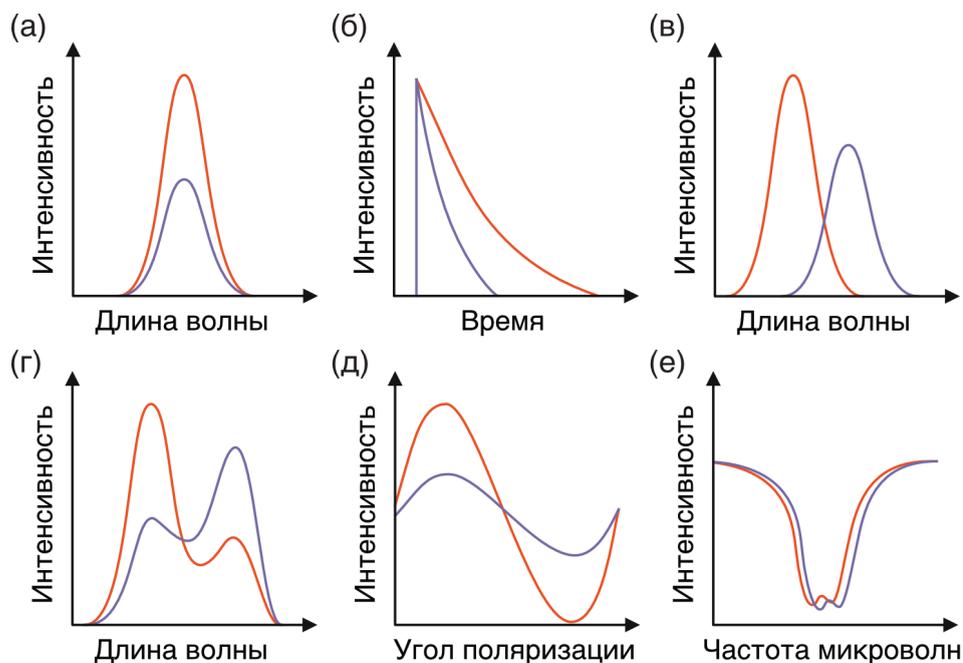


Рисунок 1.1 – Стратегии люминесцентной термометрии. Определение температуры базируется на детектировании изменений различных параметров люминесценции: (а) интенсивности, (б) времени жизни, (в) спектрального положения, (г) соотношения между спектральными полосами излучения (возбуждения), (д) анизотропии поляризации флуоресценции, (е) частотного сдвига оптически детектируемого магнитного резонанса.

1.2.1. Органические красители

Флуоресцентный краситель представляет собой небольшое органическое соединение, обычно молекулярного происхождения, которое при оптическом возбуждении излучает на отличной длине волны. Флуоресценция происходит, когда молекула возбуждается в верхнее электронное состояние (возбужденное состояние) с определенным колебательным режимом и затем возвращается в электронное состояние с более низкой энергией, одновременно испуская фотон. Как правило, каждый флуоресцентный краситель обладает индивидуальными диапазонами поглощения (участок спектра, в котором молекула эффективно поглощает свет) и излучения, которые обычно расположены в видимой области спектра.

Фундаментальные механизмы, лежащие в основе зависимости фотолюминесценции от температуры, различны для разных классов молекулярных

красителей. В большинстве случаев повышение температуры приводит к деактивации молекулы либо через фонон-опосредованный электронный переход в более высокое колебательное состояние, из которого радиационная релаксация менее благоприятна, либо через многократную безызлучательную релаксацию в основное электронное состояние. И хотя фундаментальные механизмы, лежащие в основе зависимости флуоресценции от температуры, индивидуальны для различных классов молекулярных красителей, тем не менее можно выявить общие принципы, некоторые из которых будут рассмотрены в деталях.

1. *Тушение флуоресценции*: Первый класс красителей — это молекулы, чей квантовый выход, а, следовательно, и интенсивность флуоресценции, зависит от температуры. Обратимся к модели уровней энергии Яблонского (рис. 1.2). Поглощение фотона молекулой, находящейся в основном, обычно синглетном, состоянии S_0 , приводит к ее возбуждению в синглетное S_i или триплетное T_i состояния ($i > 1$). Каждое электронное состояние имеет разные колебательные и вращательные состояния, а энергия первого возбужденного триплетного состояния T_1 обычно ниже энергии соответствующего синглетного состояния S_1 . Отметим, что переходы синглет–синглет $S_0 \rightarrow S_i$ более вероятны и быстры, нежели синглет–триплетные $S_0 \rightarrow T_i$, поскольку последние изменяют мультиплетность. Из возбужденного состояния S_i молекула красителя быстро (за время порядка пикосекунд) релаксирует до нижнего синглетного состояния S_1 без излучения фотона (внутренняя конверсия — ВК), после чего переходит в основное состояние S_0 излучательно (флуоресценция), либо безызлучательно (ВК или внешняя конверсия — ВнК). Альтернативно, молекула может совершить запрещенный по спину переход $S_1 \rightarrow T_1$ между двумя состояниями с разной мультиплетностью спина (межсистемный переход — МП). Последующий переход $T_1 \rightarrow S_0$ может пройти с излучением фотона (фосфоресценция), либо без него (МП или ВнК). Следует отметить, что внешняя конверсия связана с взаимодействием между возбужденной молекулой и окружающей средой (например, с растворенными веществами). Передавая энергию при столкновениях

или диффузии ближайшим атомам или молекулам среды, краситель теряет возможность излучательной релаксации, что приводит к тушению флуоресценции. Населенность возбужденных состояний зависит от конкуренции описанных фотофизических процессов, и ее можно обобщить с помощью системы связанных уравнений:

$$\frac{dS_1}{dt} = k_{S_1} S_0 - (k_{r,f} + k_{ic} + k_{isc, S_1 \rightarrow T_1} + k_{ec, S}) S_1 + k_{isc, T_1 \rightarrow S_1} T_1, \quad (1.4)$$

$$\frac{dT_1}{dt} = k_{isc, S_1 \rightarrow T_1} S_1 - (k_{r,p} + k_{isc, T_1 \rightarrow S_0} + k_{isc, T_1 \rightarrow S_1} + k_{ec, T}) T_1, \quad (1.5)$$

где $I_a = k_{S_1} [S_0]$ — скорость поглощения света, пропорциональная населенности S_0 и константе скорости возбуждения k_{S_1} ; $k_{r,f}$ и $k_{r,p}$ представляют собой скорости излучательной релаксации флуоресценции и фосфоресценции соответственно; $k_{isc, S_1 \rightarrow T_1}$, $k_{isc, T_1 \rightarrow S_0}$ и $k_{isc, T_1 \rightarrow S_1}$ — константы скорости межсистемных переходов $S_1 \rightarrow T_1$, $T_1 \rightarrow S_0$ и $T_1 \rightarrow S_1$ соответственно; k_{ic} — скорость внутренней конверсии, тогда как $k_{ec, S}$ и $k_{ec, T}$ — скорости внешней конверсии в синглетном и триплетном состояниях соответственно.

Причина, по которой молекулярные красители этого типа могут использоваться в качестве нанотермометров, заключается в том, что некоторые из скоростей в уравнениях (1.4) и (1.5) зависят от температуры. По мере изменения температуры изменяется и относительная вероятность того, что возбужденная молекула вернется в основное состояние через радиационные или безызлучательные пути, что фактически изменяет интенсивность и время жизни ее фотолуминесценции. Следует отметить, что зависимость скоростей распада от температуры может включать сложные и конкурирующие эффекты, обусловленные связью с такими параметрами внешней среды как pH, локальные электромагнитные поля, давление, наличие активных форм кислорода. Поэтому для нанотермометров этого типа требуется калибровка по набору эталонных температур. Общая скорость распада молекулы красителя может быть описана с использованием модели Штерна–Фольмера:

$$\tau^{-1} = k = (k_r + k_{nr}) + k_q, \quad (1.6)$$

где k_r и k_{nr} включают все внутренние радиационные и безызлучательные скорости распада, явно указанные в уравнениях (1.4) и (1.5), а k_q — безызлучательная скорость распада, обусловленная взаимодействием с внешними веществами, присутствующими в системе (эквивалентно $k_{ec,S}$ и $k_{ec,T}$). В общем случае константы скорости k_{nr} и k_q для безызлучательных процессов и процессов тушения зависят от температуры. Обратная величина скорости k является временем жизни молекулы τ . Следует отметить, что уравнение (1.18) является общим и может быть применено как к флуоресценции ($S_1 \rightarrow S_0$), так и фосфоресценции ($T_1 \rightarrow S_0$).

Молекулярные красители этого класса успешно использовались для картирования температуры внутри микрофлюидных систем [13, 14]. Одним из первых и наиболее показательных примеров этого подхода было использование молекул родамина В, растворенных в деионизированной воде, протекающей через микрофлюидные каналы (рис. 1.3) [13]. После калибровки зависимости интенсивности люминесценции от температуры, раствор был электрокинетически пропущен через многоветвистые микрофлюидные схемы с резкими углами и сужениями для картирования температурного распределения в этих критических точках, которые, как ожидалось, должны были нагреваться за счет эффекта Джоуля. На рис. 1.3б показано температурное распределение, полученное с помощью данной методики; микрометровое (примерно на уровне дифракционного предела) пространственное разрешение было достигнуто за счет использования оптического микроскопа, а максимальная чувствительность зонда составила $S_r = 2\% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 290–360 К. Были также разработаны аналогичные подходы, основанные на нанесении тонких слоев термочувствительных красителей на поверхность исследуемых структур для картирования температуры [15, 16]. Однако, основанные на покрытиях методы могут использоваться для только измерения двумерных температурных распределений вблизи поверхности, заметно увеличивая тепловую нагрузку и

приводя к изменениям температуры самой поверхности. Флуоресцентные красители данного класса также активно применяются в биологических исследованиях, где температура специфических органелл внутри клеток была картирована с использованием изменений интенсивности люминесценции и времени жизни молекулярных красителей [17–20].

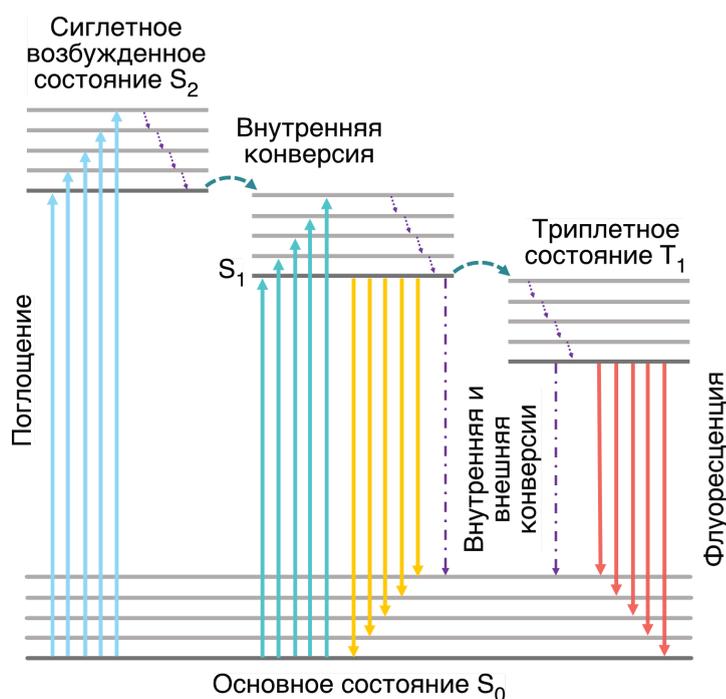


Рисунок 1.2 – Диаграмма Яблонского [21].

2. *Время жизни флуоресценции.* Изменяя относительные вклады радиационных и безызлучательных скоростей распада повышение температуры приводит не только к тушению флуоресценции, но также и к изменению времени жизни молекулы красителя (см. уравнение 1.6). Цикл возбуждение–излучение для органических красителей обычно покрывает диапазон от наносекунд до миллисекунд. В некоторых случаях картирование температуры путем отслеживания вариаций времени жизни флуоресценции может быть удобнее и надежнее в сравнении с интенсивностью. В измерениях интенсивности флуоресценции более высокое разрешение достигается за счет увеличения отношения сигнал/шум путем накопления в течение более длительного времени или увеличения мощности возбуждающего излучения, что может приводить к локальному нагреву среды и, следовательно, к некорректным показаниям

температуры. Напротив, измерения времени жизни могут проводиться с использованием быстрых фотодетекторов с высоким отношением сигнал/шум (например, лавинных фотодиодов или фотоумножителей) и относительно короткими временами интеграции. Изменения времени жизни, вызванные температурой, для таких красителей, как родамин В [22, 23] и Kiton Red [24] (водорастворимый сульфированный производный родамина В), ранее эффективно использовались для термометрических приложений.

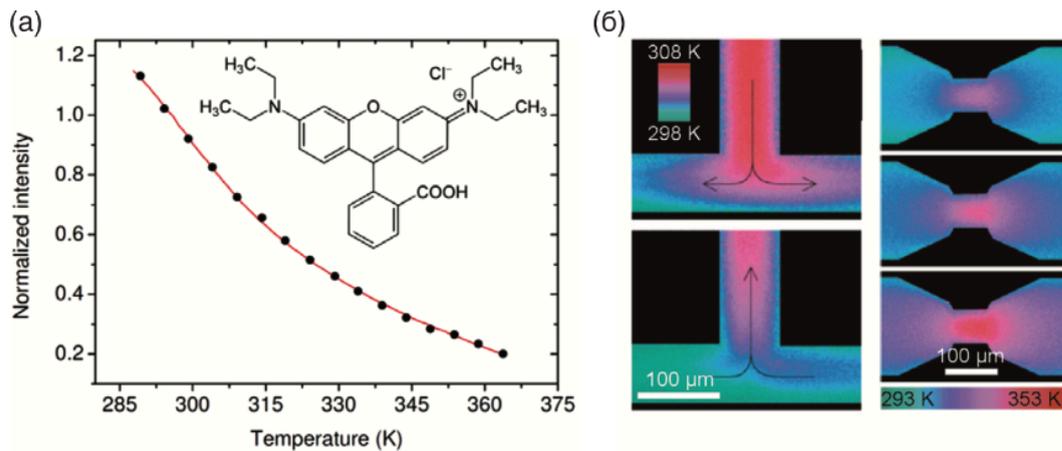


Рисунок 1.3 – (а) Зависимость интенсивности флуоресценции Родамина В от температуры, (б) температурное распределение микрофлюидного канала при электрокинетическом пропускании раствора.

3. *Ратиометрический подход: эксимеры и эксиплексы.* Другим классом органических нанотермометров являются красители, молекулы которого могут образовывать эксимеры — короткоживущие димерные молекулы, состоящие из возбужденной (M^*) и де-возбужденной (M) молекул-мономеров красителя. Поскольку связь между двумя мономерами обусловлена де-локализацией энергии возбуждения, эксимер релаксирует из связанного возбужденного состояния в основное с испусканием фотона большей длины в сравнении с исходной флуоресценцией красителя. В наблюдаемом спектре появляется две линии с интенсивностями I_m и I_e , соответствующими мономерному и эксимерному состояниям, соотношение между которыми зависит от температуры среды. Одним из примеров такого эксимерного красителя является бис(-пирен)пропан (БПП) [25]. В качестве флуоресцентных мономеров выступают пиреновые кольца, соединенные через гибкую пропиловую алкановую цепь (рис. 1.4). При

возбуждении мономера ультрафиолетовым светом (~ 345 нм), БПН релаксирует с испусканием фотона на длине волны ~ 400 нм или же безызлучательно со скоростями k_r и k_{nr} , соответственно. В то же время M^* мономер образует эксимер со скоростью k_{ov} , накладываясь при вращении вокруг гибкой связи с ближайшим M мономером. Каждый вновь образованный эксимер распадается с испусканием фотона или без со скоростями k'_r и k'_{nr} , либо диссоциирует обратно в пару M и M^* мономеров со скоростью k_d . Соотношение интенсивностей флуоресценции I_e/I_m определяется как [26]:

$$\frac{I_e}{I_m} = \frac{k'_r k_{ov}}{k_r(k_d + k')}, \quad (1.7)$$

где k' — это полная скорость распада эксимера. Наблюдаемый спектр флуоресценции зависит от температуры, так как скорости k_{ov} и k_d изменяются с температурой. Однако эта зависимость не является простой. Скорость k_{ov} , отвечающая вращению кольца пирена в положение эксимера, зависит также от скорости внутримолекулярной ротационной релаксации: $k_d \sim CT\mu$, где C — это константа, T — температура, а μ — молекулярная вязкость вблизи эксимера. Вязкость является функцией как температуры, так и давления и подчиняется уравнению типа Аррениуса.

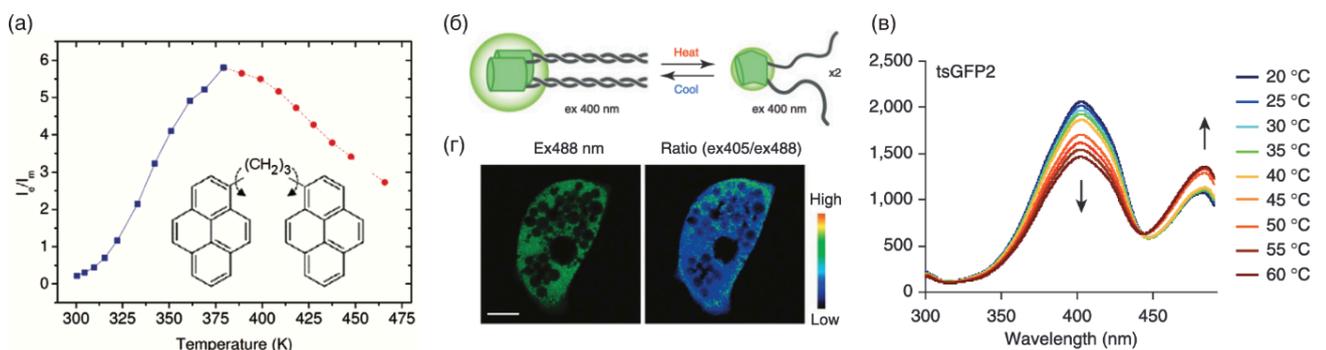


Рисунок 1.4 – (а) Температурная зависимость относительной флуоресценции эксимер-мономер в бис(-пирен)пропане, структура которого показана на вставке. (б) Структурные изменения спирально-скрученных мотивов tsGFP1. (в) Спектры возбуждения флуоресценции tsGFP1. (г) Конфокальное и ратиометрическое

изображение клеток бурого жира, экспрессирующих tsGFP1 [27]. Масштабная линия - 10 мкм.

Примером использования нанотермометров данного типа в сочетании с полимерными матрицами является измерения температуры во время экструзии вещества [28]. В этом случае k_{ov} изменяется с температурой согласно эмпирическим уравнениям, которые описаны в [29]. С повышением температуры увеличивается доля свободного объема в полимерной матрице, а следовательно и подвижность молекул, приводя к повышению k_{ov} . Согласно уравнению 1.7 отношение I_e/I_m увеличивается с температурой, пока скорость диссоциации остается меньше скорости распада эксимера $k_d \ll k'$ (рис. 1.7а, синие квадраты). Как только образуется эксимерное состояние, скорость его диссоциации подчиняется закону Аррениуса, причем энергия активации определяется порогом разрыва внутримолекулярной связи. Одновременно с повышением температуры скорость диссоциации k_d увеличивается, что в конечном итоге приводит к изменению монотонности зависимости I_e/I_m от температуры от возрастающей функции к убывающей (рис. 1.4а, красные круги).

Практическое использование эксимерных красителей в качестве термосенсоров требует калибровки на основе набора эталонных температур. Более того, процессы, связанные со скоростями k_{ov} и k_d , могут конкурировать [28], и наблюдаемое отношение I_e/I_m может быть немонотонной функцией температуры, ограничивая рабочий диапазон температур, в котором термометр работает однозначно. Тем не менее было показано, что абсолютная чувствительность методов на основе конверсии мономер–эксимер достигает $S_r = 4.5 \% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 290–335 К [71].

Близкими к эксимерным нанотермометрам являются эксиплекс-образующие красители. Эксиплекс эквивалентен эксимеру, однако молекулы в нем принадлежат к разным видам. Механизм, лежащий в его основе, можно обобщить с помощью модели двухкомпонентного равновесия. Молекулы различных видов могут находиться в равновесии как в форме отдельных

мономеров, так и в виде эксиплекса. Температурные изменения оказывают влияние на соотношение пар молекул, находящихся в одном из этих состояний.

Примером такого соединения являются молекулы перилена и N-аллил-N-метиланилина (NANM), заключённые в мягкую эластичную полистирольную матрицу [30]. Фотоэмиссия данного соединения демонстрирует характерные особенности на 463 и 475 нм (связанные с мономерами перилена), а также широкую полосу с максимальной интенсивностью на 551 нм (обусловленную образованием эксиплекса между периленом и NANM). NANM сам по себе не проявляет эмиссионных свойств в рассматриваемых областях спектрального возбуждения/излучения. По мере повышения температуры соотношение между эмиссией на коротких длинах волн (463 и 475 нм) и на более длинных волнах (551 нм) увеличивается, оставаясь постоянным в точке 543 нм. Отношение I_e/I_m подчиняется уравнению Аррениуса с энергией активации E_a , которая по сути является энтальпией активации эксиплекса. В данном случае чувствительность эксиплексов к температуре составила $S_r = 1\% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 298-358 К. Важно отметить, что для достижения максимального контраста в изменении I_e/I_m в зависимости от температуры при использовании термометров данного класса необходимо контролировать относительную концентрацию молекул различных видов.

В биологической области часто используются макромолекулы с встроенными в их структуру органическими флуоресцентными субъединицами. Наиболее распространенным примером является зеленый флуоресцентный белок (англ. Green Fluorescent Protein, GFP) — макромолекула, представляющая собой белок, состоящий из ~238 аминокислотных остатков, которая обладает уникальной способностью к автокаталитическому образованию флуорофора внутри своей структуры [27]. GFP имеет компактную трехмерную форму в виде бочкообразной β -складки, окружающей центральный флуорофор, образующийся в результате посттрансляционной модификации трех аминокислот (обычно серина, тирозина и глицина). Термочувствительность флуоресценции GFP обусловлена влиянием температуры на конформацию белка и микроокружение его флуорофора, что влияет на интенсивность свечения, время жизни флуоресценции

и спектральные характеристики. Благодаря биосовместимости, стабильности и возможности генетического кодирования GFP широко применяется для бесконтактного картирования температуры в живых клетках, органеллах и тканях. В недавней работе была продемонстрирована внутриклеточная визуализация температуры путем отслеживания отношения интенсивностей генетически модифицированного tsGFP при двух возбуждениях — 405 нм и 488 нм. При повышении температуры изменялась конформация GFP (рис. 1.4б), что влияло на равновесие между фенольной и фенолатной формами его флуорофора. Это равновесие зависело от температурно-чувствительных структурных изменений в области спирально-скрученных мотивов (coiled-coil), встроенных в конструкцию GFP. Температурная чувствительность сенсора достигала ~3.5-кратного изменения отношения интенсивностей (ex405/ex488) на каждый градус вблизи критической температуры 37.6 °С. Вдали от критической температуры чувствительность оказалась в ~10 раз меньше. Наилучшая неопределенность температурных показаний составила ± 0.2 °С.

4. *Флуоресценция при скрученном внутримолекулярном переносе заряда* (англ. Twisted Intramolecular Charge Transfer — TICT). TICT-соединения — это молекулы, которые могут существовать в двух различных флуоресцентных возбужденных состояниях [31]. Они относятся к широкой группе соединений, как правило, гетероароматических, которые способны претерпевать внутри- и межмолекулярные фотохимические реакции в возбужденном состоянии, приводящие к различным молекулярным конформациям и процессам релаксации. Типичными примерами являются триарилборные соединения, содержащие пирен [32, 33], и соединения (N,N-диметиламино)бензонитрила [34], которые демонстрируют две характерные полосы флуоресценции: коротковолновая исходит от так называемого локального возбужденного состояния, а длинноволновая — от TICT-состояния. Вероятность нахождения молекулы в одном из двух состояний зависит от совокупности факторов, среди которых полярность и вязкость окружающей среды, а также ее температура. При корректном выборе как соединений, так и окружающей среды (например, посредством микроинкапсуляции красителя) [33] флуоресцентный отклик может зависеть исключительно от температуры. В этом случае интенсивность

ПСТ-флуоресценции увеличивается с температурой (рис. 1.5а-б) за счет роста квантового выхода красителя, в то время как спектральное положение пика изменяется от оранжево-красного (590 нм) к зелено-желтому (560 нм). В работе [33] было показано, что температурное зондирование с использованием ПСТ-соединений позволяет достигать чувствительности $S_r = 0.1\% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 243–413 К с пространственным разрешением 4 мкм.

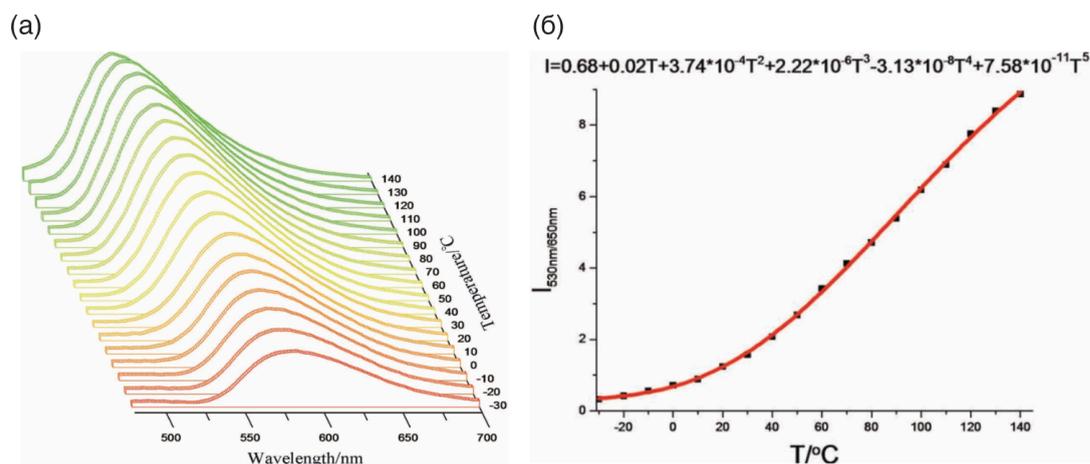


Рисунок 1.5 – (а) Спектры флуоресценции типичного пирен-содержащего триарилборного соединения, полученные при разных температурах. (б) Температурная зависимость относительной флуоресценции I_{530}/I_{650} [33].

5. *Спиновый переход.* Другой класс молекулярных нанотермометров основан на использовании координационных комплексов, в которых происходит спиновый переход (спин-кроссовер). Координационные комплексы — химические соединения, состоящие из центрального атома или иона (комплексобразователя), чаще всего металла, который окружен группами полярных молекул или отрицательных ионов другого типа, называемых лигандами. Лиганды присоединяются к центральному атому посредством координационных связей за счет передачи электронных пар к комплексобразователю и стабилизируются электростатическим взаимодействием с ним.

Ионы координационных соединений $3d$ -элементов переходных металлов с электронной конфигурацией $d^4 - d^7$ под влиянием внешних воздействий могут изменять свое спиновое состояние [35]. Согласно теории кристаллического поля, комплексы переходных металлов могут существовать в двух спиновых

состояниях: низкоспиновом (НС) и высокоспиновом (ВС) (метастабильном) с различной конфигурацией электронов на d -орбиталях. Спиновая би-стабильность характерна для ионов переходных металлов, у которых d -орбитали теряют вырождение при взаимодействии с лигандами. Электроны переходных металлов стремятся занять орбитали с наименьшей энергией, однако, согласно правилу Хунда, максимизация суммарного спинового числа приводит к равномерному заполнению d -оболочки. При низких температурах НС-состояние имеет меньшую энергию и является более стабильным. С повышением температуры вклад ВС-состояний увеличивается и становится доминирующей при достижении порога $T_{1/2}$ — температуры, при которой нахождение системы в обоих спиновых состояниях равновероятно. Данный процесс объясняется конкуренцией между энтальпией, благоприятствующей состоянию с низкой энергией (НС) при низких температурах, и энтропией, которая при высоких температурах поддерживает более дезорганизованную фазу (ВС), компенсируя энергетический прирост. Отметим, что спиновый переход НС→ВС может также быть вызван воздействием других факторов, таких как давление или облучение светом [36].

При контролируемых внешних условиях изменение температуры может вызвать спиновый переход, сопровождаемый изменением формы оптических спектров поглощения и эмиссии лигандов. В более сложных приложениях координационные комплексы металлов могут быть химически связаны с фотолюминесцентными суб-единицами, флуоресценция которых подавляется в зависимости от температуры через взаимодействие с ионом металла. Недавние исследования показали, что комплексы с центральными ионами железа [37, 38] ($S_r = 2 \% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 305–325 К) или никеля [39], связанные с флуоресцентными молекулярными сегментами ($S_r = 3 - 4 \% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 300–338 К), могут эффективно использоваться в качестве нанотермометров. Такие системы требуют предварительной калибровки для точных температурных измерений. Их фотодинамика сложна и определяется энергетическими уровнями низкоспинового (НС) и высокоспинового (ВС) состояний, а также механизмами тушения флуоресценции, вызванными взаимодействиями между флуорофором и ионами металлов. Эти процессы могут включать перенос электронов или энергии

и зависят от того, в каком спиновом состоянии (НС или ВС) находится комплексообразователь [39].

6. *Анизотропия поляризации флуоресценции.* При возбуждении ансамбля молекул с помощью линейно поляризованного излучения, флуоресценция оказывается частично поляризована из-за случайной ориентации переходных дипольных моментов молекул относительно вектора электрического поля возбуждающего света. Анизотропия поляризации ρ определяется как соотношение двух возможных поляризаций излучения – параллельной (I_{\parallel}) и перпендикулярной (I_{\perp}) – к поляризации возбуждения:

$$\rho = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + 2I_{\perp}}, \quad (1.8)$$

В предположении равенства нулю угла между диполями поглощения и испускания молекулы, теоретическое значение анизотропии составляет $\rho = 0.4$. Однако на практике значения часто ниже из-за деполаризационных факторов, таких как вторичная флуоресценция, миграция энергии между молекулами и вращательные движения молекул. Кроме того, угол между диполями поглощения и испускания может быть отличен от нуля, если молекула возбуждается на более высокие энергетические уровни и затем возвращается на флуоресцентный уровень через безызлучательную конверсию. Температура влияет на вращение молекул, вызванное броуновским движением, и приводит к изменению в анизотропии флуоресценции:

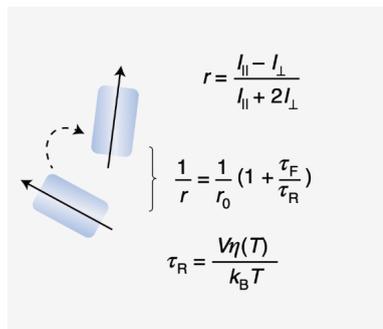
$$\frac{1}{\rho} = \frac{1}{\rho_0} \left(1 + \frac{\tau_F}{\tau_R} \right), \quad (1.9)$$

где ρ_0 — значение анизотропии при эталонной температуре, τ_F и τ_R — время жизни флуоресценции и вращательной релаксации молекул соответственно. Величина τ_R зависит от температуры T через уравнение Дебая–Стокса–Эйнштейна:

$$\tau_R = \frac{V\mu}{k_B T}, \quad (1.10)$$

где V — гидродинамический объем молекулы, μ — вязкость растворителя, а k_B — постоянная Больцмана. Из выражения (1.10) видна зависимость скорости вращения молекул от температуры, что позволяет использовать измеряемую анизотропию для картирования температуры. Такой подход является ратиометрическим, то есть нечувствительным к флуктуациям возбуждения, фотостабильности и неоднородности распределения молекул. К недостаткам относится требование калибровки в конкретной среде, поскольку вязкость μ и время жизни флуоресценции τ_F могут также быть функцией температуры. Оптимизация метода достигается за счет контроля вязкости μ и гидродинамического объема V , что позволяет настраивать время вращательной релаксации τ_R до соизмеримых с τ_F значений. Пространственное разрешение метода определяется используемым микроскопом и ограничивается дифракционным пределом. Пример использования этого подхода представлен на рис. 1.6 для молекул флуоресцеина [40] ($S_r = 4 - 5 \% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 293–343 К) и зеленого флуоресцентного белка в живых организмах ($S_r = 1 \% \cdot K^{-1}$ в диапазоне 297–308 К) [41].

(a)



(б)

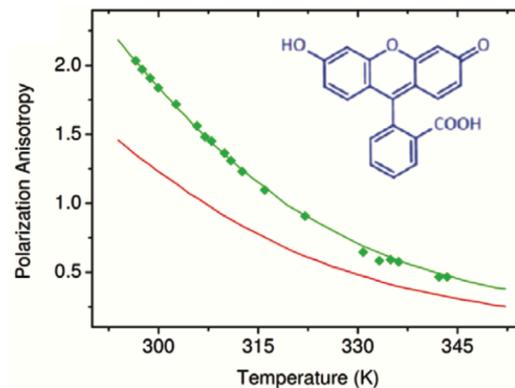


Рисунок 1.6 – (а) Молекулярное вращение, возникающее в результате броуновской динамики и описываемое уравнением Перрена. (б) Измерение температуры на основе анизотропии поляризации флуоресцеина (вставка), растворенного в смеси глицерина и воды. Теоретическая кривая (зеленая линия) и экспериментальные данные (зеленые ромбы) представлены вместе с рассчитанной скорректированной кривой (красная сплошная линия), учитывающей высокую апертуру объектива [40].

Одним из ключевых преимуществ ОК перед другими оптическими нанотермометрами является их универсальность. Существует широкий выбор доступных органических флуорофоров, которые можно подобрать как по оптическим (длина волны поглощения и эмиссии), так и химическим (растворимость, возможность функционализации для конкретных аналитов) характеристикам. ОК широко используются в биологических приложениях благодаря своей яркости, обусловленной относительно высоким квантовым выходом, и возможности функционализации для связывания с различными биомолекулами, например, в клетках и органеллах.

Краткий итог. Нанотермометры на основе ОК обладают высокой чувствительностью к изменениям температуры, которая варьируется в диапазоне от 0.1 до 5 %. Несмотря на различные фундаментальные механизмы, большинство подходов основано на измерении абсолютной и ратиометрической интенсивности флуоресценции, что позволяет быстро и просто картировать распределения температуры. Хотя молекулы красителей имеют нанометровые размеры, в практических измерениях обычно используются их ансамбли, а оптическая природа считывания ограничивает пространственное разрешение дифракционным пределом. Термосенсоры на основе ОК имеют ограниченный рабочий диапазон, который обычно охватывает несколько десятков градусов около комнатной температуры. Отметим, однако, что в некоторых случаях микроинкапсуляция молекул в матрицы может расширить диапазон в обе стороны шкалы температур (от 243 до 413 К) [12].

Ограничения и недостатки. Одним из главных недостатков является тот факт, что температура определяется путем отслеживания изменений интенсивности или времени жизни флуоресценции ОК. Такие экспериментальные факторы, как флуктуации источника возбуждения, фоторазрушение красителя (что особенно часто встречается у органических флуорофоров), изменение pH и неоднородное распределение красителя, неизбежно приводят к искажениям показаний и становятся источником эквивалентного теплового шума. Особенно эта проблема проявляется в живых клетках и тканях, в которых велико рассеяние и поглощение света, а также присутствуют значительные неоднородности состава и показателя преломления. Одним из подходов к уменьшению ошибок является использование ратиометрических методов, в которых сигнал термочувствительного ОК нормируется на не зависящий от температуры сигнал эталонного красителя. Например, такие системы были реализованы для родамина В в

сочетании с эталонными красителями родамин-110, родамин-560 и сульфородамин-101. Кроме того, необходимо учитывать возможную спектральную зависимость поглощения и рассеяния среды, что также может стать источником ошибок. Даже при использовании ратиометрических подходов важно обеспечить однородность концентрации сигнального и эталонного красителей. Этого можно достичь, например, инкапсуляцией обоих красителей в наночастицу (например, полимерную оболочку). Экцимерные и эксиплексные нанотермометры обладают самореферентными свойствами, так как отображают температуру через изменение отношения интенсивностей фотолюминесценции между температурно-зависимым и независимым сигналом. Однако даже для этих методов необходимо учитывать зависимость среды от длины волны, чтобы минимизировать эквивалентный тепловой шум.

Флуоресценция некоторых органических красителей может зависеть не только от температуры, но и от других факторов, среди которых полярность, вязкость или ионная сила среды, а также концентрация молекул. Эти эффекты можно контролировать, например, инкапсуляцией красителей в матрицы, что усложняет синтез и подготовку термосенсора. Для минимизации влияния этих факторов на точность измерений необходима калибровка как *in situ*, так и *ex situ*. Еще одна важная проблема, которая часто упускается из виду, — это самопоглощение. Поскольку спектры поглощения и эмиссии органических красителей частично перекрываются, испущенные фотоны могут быть повторно поглощены молекулами красителя, что приводит к сдвигу спектра в красную область. Этот эффект усиливается при высокой концентрации красителя и должен учитываться при проектировании нанотермометров. Наконец, температурная зависимость фотолюминесценции органических красителей часто носит нелинейный характер, описываемый уравнением Аррениуса. Хотя линейность не является строгим требованием для нанотермометрии, сильно нелинейные зависимости могут привести к изменению чувствительности нанотермометра в зависимости от диапазона рабочих температур, что важно учитывать при их применении.

1.2.2. Квантовые точки

Квантовые точки (КТ) - это коллоидные полупроводниковые кристаллы, носители которых локализованы в трех пространственных измерениях. По мере уменьшения размеров КТ до значений, сравнимых с боровским радиусом связанного электрон-дырочного состояния, спектры поглощения и излучения становятся дискретными, а эффективная ширина запрещенной зоны увеличивается. Размер, форма и природа КТ позволяет настраивать энергию перехода в предпочтительном спектральном диапазоне. С практической точки зрения квантовые точки легко доступны и синтезируются из множества материалов групп II–VI и III–V (например, ZnS, CdS, ZnSe, CdTe, PbSe) с диапазоном излучения от ультрафиолета до ИК-области. В нанотермометрии распространены композитные квантовые точки типа ядро–оболочка (например, ядра CdSe, CdS и CdSeTe, покрытые оболочками ZnS), поскольку оболочка с более широкой запрещенной зоной улучшает квантовый выход эмиссии, подавляя поверхностные безызлучательные рекомбинационные процессы и увеличивая тем самым отношение сигнал/шум при измерении температуры. Кроме того, внешняя оболочка изолирует внутреннее, зачастую токсичное, ядро, что особенно важно для биомедицинских приложений.

Механизмы температурной зависимости флуоресценции КТ связаны с рассеянием фононов на носителях заряда и процессами передачи энергии из объема кристалла к поверхностным безызлучательным состояниям, которые влияют на интенсивность, ширину и спектральное положение линий флуоресценции (рис. 1.7а). Каждая из указанных величин может использоваться для отслеживания температурных измерений. Рассмотрим их по отдельности:

- 1) *Спектральный сдвиг* длины волны эмиссии КТ определяется совокупностью температурно-зависимых механизмов, изменяющих ширину запрещенной зоны E_g , основным из которых является тепловое расширение кристаллической решетки. В объемных полупроводниках зависимость dE_g/dT экспериментально известна [42] и широко исследована теоретически [43]:

$$E_g = E_0 - \alpha T^2 / (T + \beta), \quad (1.11)$$

где E_0 - ширина запрещенной зоны при 0 К, а α и β - константы. Однако для квантовой точки соотношение dE_g/dT для КТ (где E_g — уже энергия перехода на нижний экситонный уровень) может значительно отличаться от значений для объемного материала — в некоторых случаях более чем на порядок. Когда радиус r квантовой точки превышает боровский радиус r_B связанного состояния электрон-дырка, зависимость $E_g(T)$ приближается к аналогичной для объемного полупроводника. При $r \leq r_B$ энергия E_g , а следовательно, и длина волны эмиссии КТ становятся практически независимыми от температуры, то есть в режиме сильного квантового ограничения энергетические уровни квантовой точки определяются в большей степени ее размером, чем потенциалом решетки.

На рис. 1.7б показана зависимость величины сдвига энергии в зависимости от размера для КТ PbS. В диапазоне температур 12–300 К измеренный сдвиг энергии в спектре поглощения для квантовых точек PbS размером 4.5 нм значительно слабее (примерно в десять раз), чем для точек размером 8.5 нм, у которых, напротив, наблюдается зависимость, близкая к объемному значению $dE_g/dT = 500 \text{ мВ} \cdot \text{К}^{-1}$. Таким образом, размер КТ определяет не только пространственное разрешение, но и чувствительность нанотермометров на их основе при использовании спектрального сдвига для считывания температуры.

- 2) *Спектральное уширение.* Помимо спектрального сдвига, температура также влияет на полную ширину на половине высоты (англ. FWHM, Γ) пика флуоресценции КТ. Рекомбинация электронно-дырочных пар на краю зоны вызывает характерный гауссовский пик излучения, а с повышением температуры ширина линии увеличивается. За изменение величины Γ ответственны два основных механизма: неоднородное уширение, вызванное вариациями размера, формы и состава нанокристаллов, и однородное уширение, связанное с рассеянием экситонов на оптических и акустических фононах [44]:

$$\Gamma = \Gamma_{inh} + \sigma T + \Gamma_{LO} \left(e^{E_{LO}/k_B T} - 1 \right)^{-1}, \quad (1.12)$$

где Γ_{inh} – неоднородное уширение, σ и Γ_{LO} – силы взаимодействия экситонов с акустическими и продольными оптическими (LO) фононами соответственно, E_{LO} – энергия LO-фонона. Неоднородное уширение не зависит от температуры, в то время как однородное уширение усиливается при снижении размеров КТ. Кроме того, рассеяние на поверхностных дефектах также может влиять на однородное уширение в режиме малых размеров. На рис. 1.7в показана типичная температурная зависимость ширины эмиссионной линии для CdS КТ (диаметр ядра и оболочки составляет 7 и 12 нм соответственно) в диапазоне температур 24.4–43.6 °С.

- 3) *Интенсивность.* Интенсивность излучения КТ снижается с повышением температуры из-за активации рекомбинации электрон-дырка с участием фононов и термически обусловленного переноса энергии от объема к поверхностным безызлучательным состояниям. При температурах близких к комнатной тушение флуоресценции имеет линейный характер и хотя линейность не является обязательной, она желательна для нанотермометрии, так как обеспечивает постоянную чувствительность в рабочем температурном диапазоне [45].
- 4) *Время жизни.* Аналогичные механизмы приводят к уменьшению времени жизни флуоресценции КТ с повышением температуры, изменяя относительный вклад радиационных и безызлучательных скоростей распада. Температурные измерения, основанные на изменениях времени жизни, были реализованы, например, с использованием квантовых точек CdTe и CdSe. Чувствительность составила $S_r = 1 \% \cdot K^{-1}$ [46].

Квантовые точки (КТ) являются перспективными нанотермометрами благодаря возможности многопараметрического отображения температуры. Однако они должны восприниматься с осторожностью, поскольку на считываемые показания одновременно влияют размер и состав КТ, накладывая требование индивидуальной калибровки для конкретных параметров излучения КТ. Также фотолюминесцентные измерения могут страдать от нестабильности возбуждения, поглощения и рассеяния в среде, а также фотобликанья КТ. Для решения этой проблемы применяются материалы с двойной эмиссией, позволяющие проводить ратиометрическое измерение. Например, коллоидные КТ на основе $Zn_{1-x}Mn_xSe-ZnCdSe$ с допированием марганцем обеспечивают надежное

измерение температуры, используя соотношение интенсивностей экситонной эмиссии и эмиссии ионов Mn^{2+} , что делает отклик устойчивым к внешним влияниям.

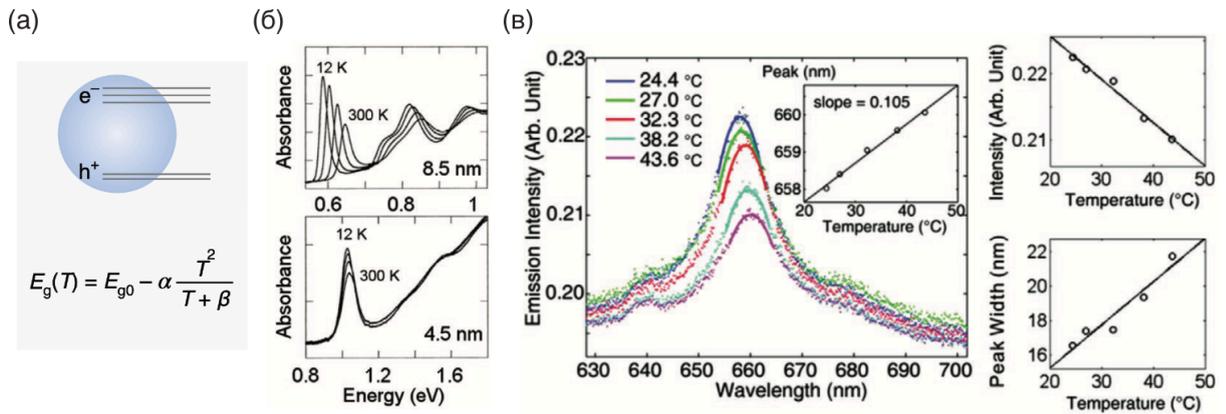


Рисунок 1.7 – Температурная зависимость параметров люминесценции КТ. (а) Схема изменения ширины запрещенной зоны [47]. (б) Спектры поглощения PbS КТ размером 8.5 и 4.5 нм, зарегистрированные при температурах 12, 100, 200 и 300 К [48]. (в) Температурно-зависимые спектральные сдвиги одиночной КТ в диапазоне 24.4–43.6 °С. Правые панели показывают среднюю интенсивность излучения (вверху) и изменение ширины спектральной линии (внизу) в зависимости от температуры [49].

Краткий итог. Пространственное разрешение нанотермометров на основе КТ ограничено дифракционным пределом, хотя их размеры могут составлять всего несколько нанометров, что позволяет им работать на наномасштабном уровне. Чувствительность таких нанотермометров варьируется в диапазоне $S_r = 0.01 - 2.2 \% \cdot K^{-1}$ с максимумом для измерения изменений интенсивности эмиссии у (CdSe)ZnS КТ в диапазоне температур 278–313 К. Повышение чувствительности и стабильности возможно за счет модификации поверхности, например, лигандов, а также схем многофотонного возбуждения. Прямые значения уровня шума термометров на основе КТ в литературе не встречаются. Извлеченные из временных треков температуры неопределенности показаний составляют ~ 0.2 К при накоплении сигнала в течение 1 с [50], откуда уровень шума $200 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$.

Ограничения и недостатки. Флуоресценция коллоидных КТ подвержена фотообесцвечиванию и недостаточной фотостабильности, а их применение в биомедицинских приложениях ограничено возможной токсичностью. Как и органическим красителям, квантовым точкам свойственно самопоглощение, что может

изменять интенсивность и длину волны излучения, влияя на точность температурных измерений. Самопоглощение зависит от концентрации КТ и должно контролироваться. Другой возможный источник погрешностей связан с нагревом из-за лазерного возбуждения и процессов безызлучательной рекомбинации, зависящих от температуры. Малые размеры КТ и высокая удельная площадь поверхности требуют проведения контрольных экспериментов для исключения химических реакций на поверхности, влияющих на тушение интенсивности. Главным ограничением КТ в биологических приложениях является их токсичность.

1.2.3. Ионы редкоземельных металлов

Редкоземельные ионы (РЗИ, или ионы лантанидов Ln^{3+}) формируют ядро оптических нанотермометров другого типа. Благодаря обширной энергетической структуре, РЗИ имеют оптические электроны на дальних орбиталях (D, F и т.д.), которые не участвуют в формировании химических связей. Однако сами по себе свободные РЗИ не обладают оптической активностью ввиду запрета правилами отбора по орбитальному и энергетическому числам. Для преодоления этого ограничения они обычно включаются в кристаллические (фториды, оксиды, фосфаты, сульфиды) или полимерные матрицы, а также образуют хелаты (например, с ТГА). В таких условиях энергетические уровни РЗИ смещаются, что приводит к частичному смешиванию состояний с различной четностью. В результате становятся разрешенными электрические дипольные переходы между/внутри удаленных орбиталей, сопровождающиеся излучением фотонов в видимом и ближнем ИК-диапазонах.

Температурная чувствительность эмиссии РЗИ связана с усилением безызлучательных переходов и тепловым перераспределением между близкими возбужденными состояниями. В случае хелатированных РЗИ радиационно-безызлучательный перенос энергии от возбужденных ионов к полидентатным лигандам делает зонд чувствительным к температуре через изменение интенсивности флуоресценции (более детально этот механизм описан в параграфе 1.2.5 настоящего раздела).

Люминесценция РЗИ разделяется на классическую стоксовую (рис. 1.8а) и антистоксовую (рис. 1.8б) [51]. Третьим видом, активно используемым в термометрии является эмиссия, которая сопровождается повышением частоты вторичного излучения РЗИ — ап-конверсия (рис. 1.9) [52]. Если при стоксовой люминесценции РЗИ излучает в области больших длин волн в сравнении с возбуждением, то в случае ап-конверсии эмиссия происходит на более коротких длинах волн (видимый диапазон), чем поглощение (БИК-диапазон). Наблюдение ап-конверсии возможно как для частиц, легированных единственным типом РЗИ, так и для солегированных частиц (два и более типа РЗИ). Однако, в первом случае используется двухфотонное возбуждение, в то время как во втором возбуждение однофотонно, а повышение частоты излучения достигается за счет резонансного переноса энергии между различными РЗИ.

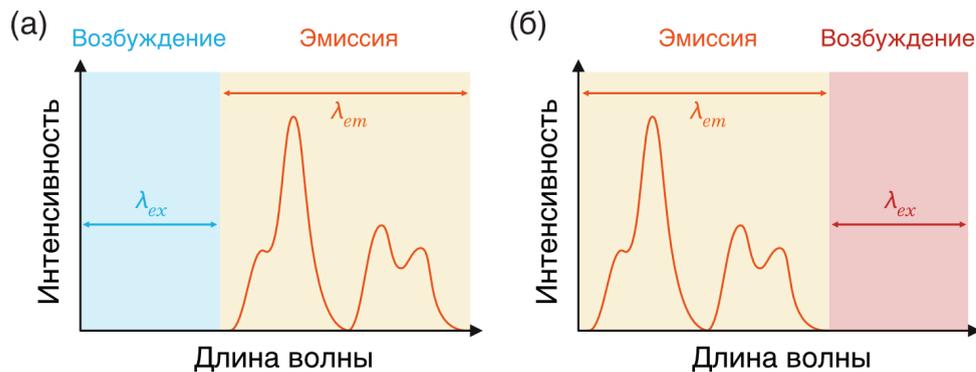
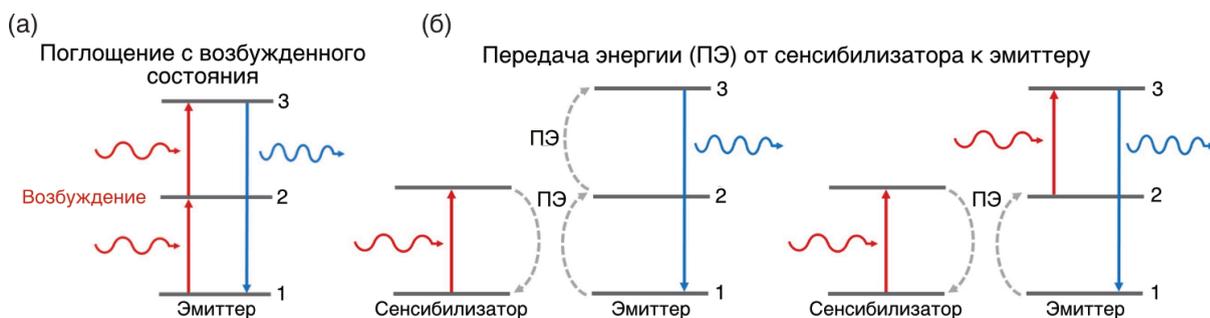
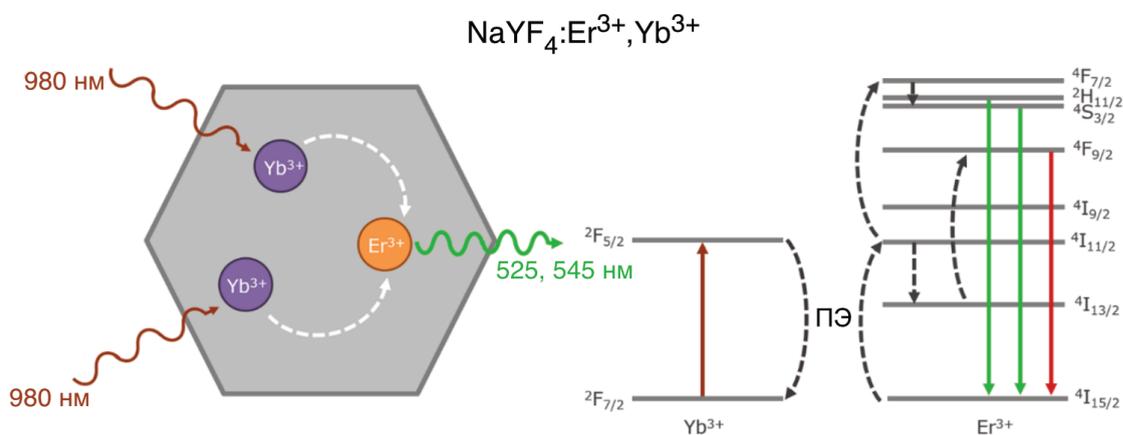


Рисунок 1.8 – Схема излучения РЗИ: (а) стоксова, (б) антистоксова флуоресценция и ап-конверсия.

Стоксова люминесценция и ап-конверсия позволяют измерять температуру путем отслеживания изменений спектральных параметров и времени жизни люминесценции [53]. Однако благодаря богатой энергетической структуре РЗИ более распространенным подходом является ратиометрия интенсивностей термически связанных переходов. В работе [54] сообщалось об использовании наночастиц $YVO_4:Nd^{3+}$ в качестве люминесцентных стоксовых нанотермометров, оперирующих в диапазоне от 123 до 873 К с чувствительностью $S_r = 1.5 \% \cdot K^{-1}$ при комнатных условиях.



Наиболее изученным термометрическим комплексом на основе солегированных апконверсионных частиц является комплекс с парами ионов $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ [55]. Возбужденные ИК лазером (980 нм) ионы Yb^{3+} передают свою энергию соседним ионам Er^{3+} , которые излучают в зеленом (переходы ${}^2\text{H}_{11/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$ и ${}^4\text{S}_{3/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$, 525 и 550 нм соответственно) и красном (${}^4\text{F}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$, 660 нм) диапазонах (рис. 1.10). Термочувствительность обеспечивается благодаря малому энергетическому разделению уровней Er^{3+} : ${}^2\text{H}_{11/2}$ и ${}^4\text{S}_{3/2}$, которые отделены всего несколькими сотнями волновых чисел. Соотношение населенностей указанных уровней определяется распределением Больцмана $R = \frac{I_{525}}{I_{545}} = Ae^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}$. На рис. 1.11 показана зависимость отношения I_{525}/I_{545} от температуры, демонстрирующая предсказуемое увеличение этого соотношения при повышении температуры. Максимальная чувствительность, достигнутая при комнатных температурах, составила $S_r = 0.5 \% \cdot \text{K}^{-1}$ при разрешающей способности 0.3 К.



Краткий итог. Наночастицы с эффектом ап-конверсии можно синтезировать с размерами менее 10 нм, что обеспечивает высокую локальность при измерении температуры. Однако интенсивность их излучения зависит от количества легирующих ионов, поэтому слишком малые частицы имеют низкую яркость и приводят к повышению эквивалентного температурного шума. Более того, пространственное разрешение термометров данного типа также ограничено дифракционным пределом. Измерение температуры с помощью РЗИ может осуществляться с временным разрешением порядка миллисекунд. Чувствительность нанотермометров на основе РЗИ варьируется в диапазоне от 0.2% до 1.7%, а наилучшая разрешающая способность составила 0.2 К. Хотя большинство исследований сосредоточены на физиологическом температурном диапазоне, наночастицы с РЗИ показали возможность измерения температур от 125 до 873 К. Частицы с РЗИ особенно полезны в биомедицинских приложениях благодаря их устойчивости к изменениям pH и концентрации солей, но их низкая люминесцентная эффективность и спектральные изменения при варьировании мощности накачки требуют регулярной калибровки. Возбуждение в ближнем ИК-диапазоне снижает фоновую автофлуоресценцию, однако может вызывать нежелательный нагрев окружающей среды.

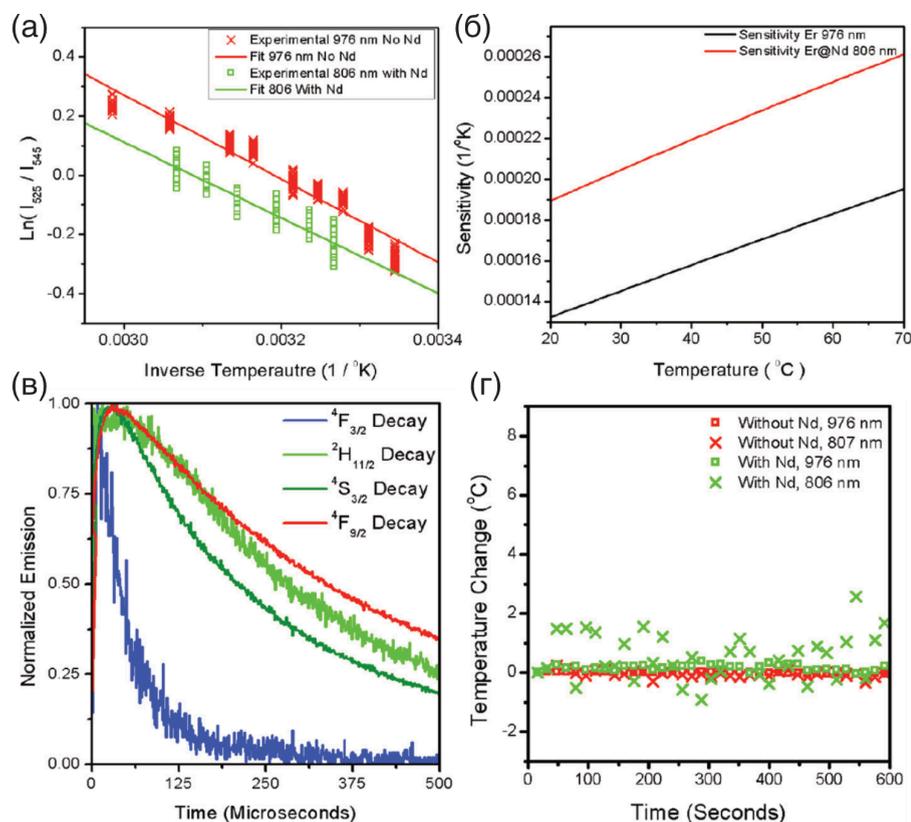


Рисунок 1.11 – Люминесцентная нанотермометрия на основе наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$: (а) зависимость $\ln(I_{525}/I_{545})$ от обратной температуры. (б)

Чувствительность в прямой зависимости от температуры. (в) Кривые затухания люминесценции уровней ${}^4\text{F}_{3/2}$, ${}^2\text{H}_{11/2}$, ${}^4\text{S}_{3/2}$, ${}^4\text{F}_{9/2}$. (г) Временной трек температуры для наночастиц, размещенных в водной среде. Красный и зеленый цвета на графиках (а) и (г) отражают зависимости для наночастиц без добавления Nd и возбуждении 976 нм и с добавлением Nd и возбуждении 806 нм соответственно.

Ограничения и недостатки. Наночастицы с РЗИ являются одними из наиболее широко используемых нанотермометров. Однако последние работы высказывают обеспокоенность их надежностью, поскольку некоторые артефакты, связанные с условиями измерений, могут привести к неверным значениям температуры. Одной из проблем является зависимость спектрального излучения РЗИ от мощности возбуждения, что особенно актуально при измерениях в средах, где рассеяние и поглощение, а также деформация фокального объема могут привести к отклонению плотности мощности от номинальных значений. В многофотонных переходах контроль этих параметров особенно важен, поскольку вероятность поглощения фотонов с разной кратностью по-разному масштабируется с изменением мощности, что может быть ошибочно принято за изменение температуры. Время затухания люминесценции наночастиц с РЗИ лежит в субмиллисекундном диапазоне, что может быть достаточно велико, чтобы корректно реагировать на тепловые процессы, происходящие на меньших временных интервалах.

Другим ограничивающим фактором является частичное самопоглощение, поскольку спектры поглощения и излучения РЗИ перекрываются. Количественная оценка самопоглощения зависит от концентрации и состава наночастиц, а также от длины оптического пути испущенного света в матрице РЗИ. Влияние окружающей среды также играет важную роль, поскольку она может проявлять поглощение и рассеяние, зависящие от длины волны, что является нежелательным фактором в ратиометрическом подходе к измерению температуры. Частично данная проблема решается рассмотрением спектрально близких переходов.

1.2.4. Углеродные точки

Углеродные точки (УТ) — углеродные наночастицы с размерами порядка нескольких десятков нанометров. УТ обладают уникальными характеристиками, среди которых настраиваемые оптоэлектронные свойства, интенсивная люминесценция, превосходная биосовместимость, а также гибкие функциональные группы. В основном УТ состоят из углеродного скелета со смешанной sp^2/sp^3 -гибридизацией с возможными функциональными группами или полимерными цепями. Ядро УТ может иметь графитовую или алмазоподобную решетку либо аморфную структуру.

Происхождение люминесценции углеродных наноточек остается предметом активного исследования и обсуждения. УТ, изготовленные с использованием различных методов, исходных материалов и пост-обработок, демонстрируют различные оптические свойства, что указывает на сложную природу этих материалов. Существует несколько предложенных механизмов, объясняющих их свечение, и, скорее всего, на это влияют сразу несколько факторов:

- 1) *Поверхностные состояния и функциональные группы*: УТ имеют высокую плотность поверхностных состояний, которые могут возникать благодаря наличию кислорода и карбоксильных, гидроксильных или аминных функциональных групп на их поверхности. Взаимодействие между поверхностными состояниями и возбужденными электронами может приводить к излучательной рекомбинации.
- 2) *Квантовое ограничение*: Малый размер углеродных наноточек вызывает эффект квантового ограничения, который влияет на электронную структуру материала и приводит к формированию дискретных энергетических уровней.
- 3) *Молекулярная флуоресценция*: Введение флуоресцентных примесей (в частности, органических молекул) во время синтеза также значительно повышает излучательную способность УТ.

Эти механизмы подчеркивают сложную структуру углеродных наноточек, а их оптические свойства могут значительно варьироваться в зависимости от метода синтеза, исходных материалов и пост-обработки, что делает их весьма универсальными для применения в биоизображении, сенсорике и оптоэлектронике.

Механизм температурно-зависимой люминесценции УТ до сих пор не имеет однозначного объяснения. Как правило, с повышением температуры эмиссия УТ сдвигается в красную область спектра, а скорость нерадиационного распада увеличивается. В работе [56] температурное тушение флуоресценции приписывают разрыву водородных связей, стабилизирующих излучательные свойства УТ, и одновременному увеличению кислородсодержащих функциональных групп. Напротив, альтернативные гипотезы связывают затухание флуоресценции с «энергетическими ловушками» на поверхности УТ, которые активируются при повышенных температурах, провоцируя передачу энергии и тепловое тушение [57, 58]. В работе [57] впервые исследовалась температурная зависимость времени жизни флуоресценции УТ в диапазоне 77-300 К.

Калитчуком и соавторами [59] были получены высокодопированные азотом и серой УТ (N-S-УТ) и исследованы их флуоресцентные свойства в близком к физиологическому диапазоне температур (10-70 °С). В отличие от многих полупроводниковых нанокристаллов, в спектрах поглощения и испускания N-S-УТ не наблюдалось сдвига полос при изменении температуры. Вместе с тем время жизни флуоресценции оказалось зависимым от температуры, обеспечивая чувствительность $S_r = 1.8 \% \cdot K^{-1}$ и неопределенность показаний 0.27 °С. Будучи стабильными в широком окне значений рН и ионной силы окружающей среды, N-S-УТ являются перспективными для внутриклеточной нанотермометрии. Авторы апробируют данный подход в *in vitro* измерениях распределения температуры в живых клетках культуры HeLa. Позднее в работе [60] было показано, что интенсивность флуоресценции допированных азотом и бором УТ (N-B-УТ) чувствительна к изменениям температуры в диапазоне 0-90 °С (рис. 1.12). N-B-УТ излучали в синей области видимого диапазона с максимумом на 450 нм и квантовым выходом до 70%. Измеренная термочувствительность составила $S_r = 1.8 \% \cdot K^{-1}$.

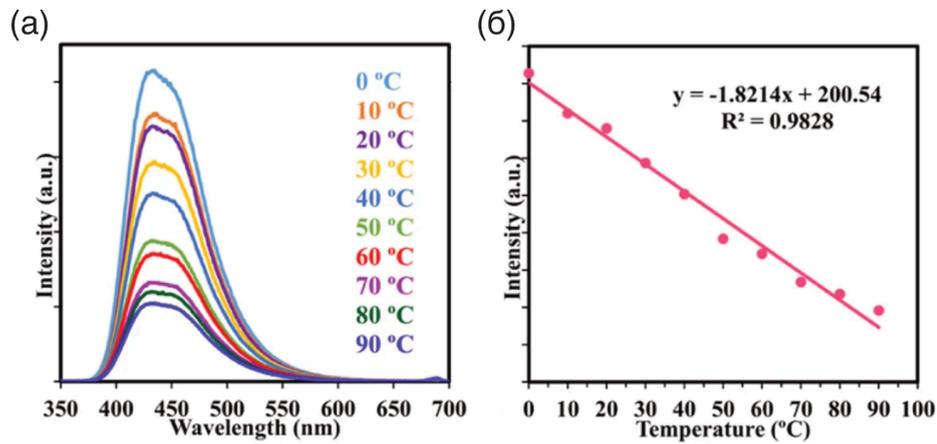


Рисунок 1.12 – (а) Спектры флуоресценции УТ при различных температурах. (б) Линейная зависимость между интенсивностью флуоресценции и температурой.

Ограничения и недостатки нанотермометров на основе УТ в основном связаны с их люминесцентными и физико-химическими свойствами, которые могут влиять на точность, стабильность и воспроизводимость температурных измерений. Сложная природа флуоресценции УТ затрудняет стандартизацию и унификацию их температурных характеристик, что приводит к необходимости калибровки *in situ* в конкретных условиях. При этом нелинейный характер температурной зависимости часто усложняет процедуру калибровки. Несмотря на вышеупомянутую работу, большинство УТ подвержены фотообесцвечиванию при длительном воздействии света, что ограничивает их пригодность для долгосрочного мониторинга температурных изменений в условиях высокой интенсивности возбуждения. Оптические характеристики УТ, такие как интенсивность флуоресценции и положение пиков эмиссии, могут сильно зависеть от pH, ионной силы и полярности среды. Использование УТ в качестве нанотермометров требует учета этих ограничений для обеспечения надежности и точности измерений, особенно в биологических и других сложных условиях.

1.2.5. Полимерные комплексы

Использование полимеров в качестве люминесцентных нанотермометров основано на их выдающихся структурных свойствах. Полимеры могут играть пассивную роль, обеспечивая лишь механическую поддержку и являясь матрицей для

термочувствительной флуоресцентной субъединицы, либо выступать активным компонентом сложной термометрической системы. Способность полимерных материалов к измерению температуры широко проанализирована в обзоре Pietsch и соавторов [61].

Изначально полимеры применялись в качестве поддерживающих сред для флуоресцирующих молекул. Например, в работе [62] исследовалась температурная зависимость флуоресценции фуллерена C_{70} . Широко известно, что чистые фуллерены не растворимы в водных средах. Более того, присутствие синглетного кислорода в среде приводит к тушению их флуоресценции за счет переноса энергии между триплетными состояниями молекул кислорода и фуллерена. Авторы показали, что инкапсуляция C_{70} в полистирол (ПС) с помощью метода миниэмульсионной полимеризации приводит к формированию стабильной водно-дисперсной суспензии с размерами от 60 нм до 190 нм. При последующем смешивании ПС- C_{70} с полиакрилонитрилом (ПАН), который является практически непроницаемым для молекул кислорода полимером, наночастицы ПАН-ПС- C_{70} демонстрируют высокую температурную зависимость интенсивности и времени жизни термически активированной замедленной флуоресценции (англ. Thermally activated delayed fluorescence — TADF) даже в воздушной среде. Отметим, что данный вид флуоресценции использует тепловую энергию для активации испускания света с задержкой — молекула совершает обратный межсистемный переход, при котором электроны, находящиеся в триплетном состоянии (с продолжительным временем жизни), за счёт тепловой энергии возвращаются в синглетное состояние, откуда излучательно релаксируют. Ратиометрическое соотношение интенсивностей быстрой и TADF-флуоресценции оказалось зависимым от температуры в диапазоне 293–363 К с максимальной чувствительностью $S_r = 1.3 \% \cdot K^{-1}$ при 330 К. Сообщалось также об инкапсуляции C_{70} в полиметилметакрилат [63], чувствительность в этом случае составила $1.8 \% \cdot K^{-1}$ и $2.2 \% \cdot K^{-1}$ для интенсивности и времени жизни TADF-флуоресценции соответственно. Другим примером является использование пленок поливинилового спирта для инкапсуляции супрамолекул полидиацетилена и нанесение полученных композитов на устройства памяти с резистивным доступом для определения температурных градиентов, связанных с дефектами [64]. Этот метод

основан на необратимом увеличении интенсивности флуоресценции PDA при повышении температуры с комнатной до 350 К.

Позже появились так называемые сложные термометрические системы (СТС), в основе функционирования которых лежат фазовые переходы в структуре полимера. В СТС принципы оптического отклика на изменение температуры схожи с описанными для простых систем. Они включают усиление или тушение флуоресценции, изменение времени жизни, спектральный сдвиг полосы излучения или поглощения, резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET), плазмонный резонанс, взаимодействия экситонов и плазмонов и пр. [61]. Температурная восприимчивость обычно основана на полимерном переходе от гидрофильно-набухшего глобулярного состояния к гидрофобно-свернутому спиральному состоянию [65], что, в свою очередь, изменяет параметры окружающей оптической эмиттер среды (полярность, вязкость, среднее расстояние между донором и акцептором в случае FRET). В таких полимерных структурах часто используются органические красители, квантовые точки и редкоземельные ионы. Различные конфигурации полимер-фосфор схематично представлены на рис. 1.13. Простейшей системой такого рода является система, содержащая термочувствительный полимер и органический краситель, который пришивается к основе полимера.

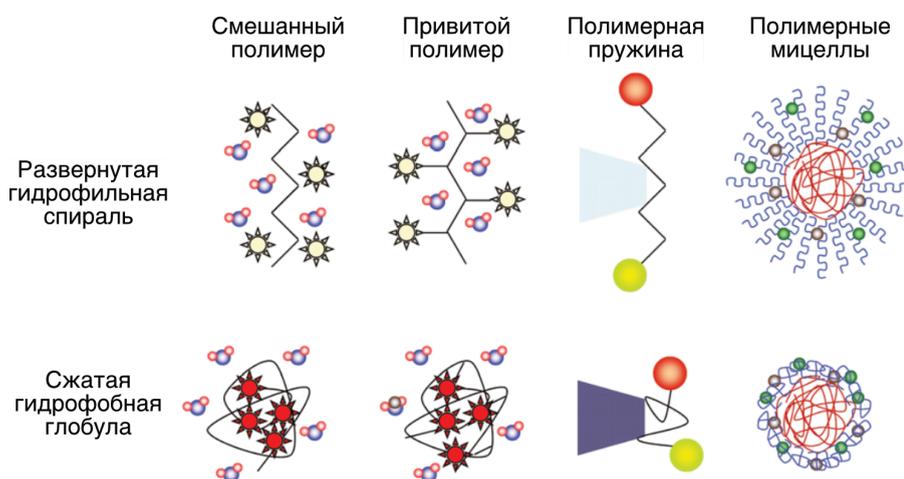


Рисунок 1.13 – Стратегии конструирования термометрических комплексов полимер-флуорофор [66].

На данный момент наиболее исследованными термочувствительными полимерами являются поли(N-изопропилакриламид) (PNIPAM) с критической температурой перехода около 305 К [67, 68], а также полимеры из того же семейства

NNPAM и NIPAM [69]. Другие примеры основаны на использовании полиэтиленгликоля (ПЭГ) [70, 71], полиметилметакрилата (ПММА) [72] и полисахаридов со спиральной структурой (шизофиллан) [73]. В большинстве случаев оптически активным компонентом является органический краситель, а основная роль полимера заключается в изменении полярности среды, окружающей молекулу красителя. Механизм считывания температуры такими системами чаще всего основан на детектировании изменения интенсивности или времени жизни флуоресценции. Так, в работе [74] сообщалось о температурной зависимости флуоресценции бензофуразана в PNIPAM с максимальной чувствительностью $S_r = 10.4 \% \cdot K^{-1}$ при 308 К (рис. 1.14). В различных версиях PNIPAM могут быть инкорпорированы такие люминесцентные молекулы, как хемицианин (PNIPAM-co-HC), борон-дипиррометен (PNIPAM-co-BODIPY) или акриламид, модифицированный флуоресцентным красителем (PNIPAM), что расширяет спектр применений термочувствительных полимерных систем. Ли и соавторы [71] разработали биосовместимый термометр на основе ПЭГ-сополимера и красителя с эмиссией в ближнем ИК-диапазоне, удобного для внутритканевого зондирования температуры в диапазоне 274–353 К. В работе [75] использовался краситель индоцианин зеленый, заключенный в мицеллу сополимера Pluronic F-127 (рис. 1.15). Объем мицеллы уменьшался почти в 5 раз при повышении температуры с 290 до 310 К, что приводило к шестикратному повышению флуоресценции.

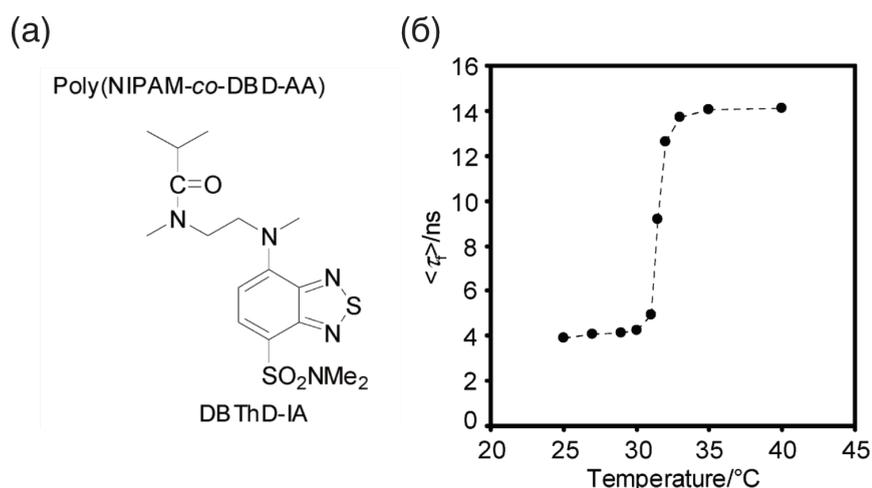


Рисунок 1.14 – (а) Химическая структура бензофуразан-содержащего полимера. (б) Температурная зависимость времени жизни флуоресценции бензофуразана [74].

Ратиометрический подход был реализован в работе [76] и основан на использовании соотношения интенсивностей эмиссии эксимеров и мономеров пирена. Ниже температуры фазового перехода полимера молекулы пирена оказываются в полярной среде, что приводит к образованию эксимеров и, соответственно, увеличению их флуоресценции. Другой подход [77] для повышения воспроизводимости основан на резонансном переносе энергии флуоресценции между донором и акцептором. В данном случае донор также чувствителен к рН. Этот термометр работает в диапазоне температур 293–323 К с чувствительностью $S_r = 13.3 \% \cdot K^{-1}$ при 313 К. Система PNIPAM–порфирина, описанная в [78], демонстрирует синий сдвиг максимума поглощения при нагревании, возможно, связанный с изменением локальной полярности. Расширить операционный диапазон термометров можно с использованием порфиринов, координированных с различными ионами металлов.

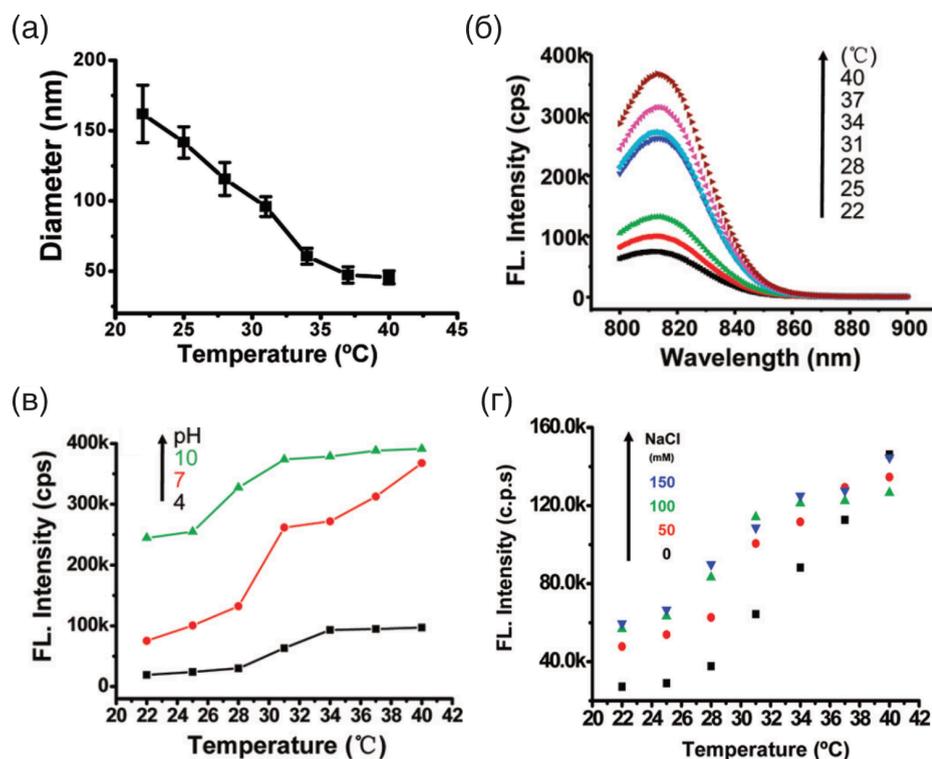


Рисунок 1.15 – (а) Средний размер нанокapsул (индоцианин зеленый-плюроник/полиэтиленимин), измеренный методом динамического светорассеяния при различных температурах. (б) Спектры флуоресценции нанокapsул при различных температурах. (в) Зависимость интенсивности флуоресценции индоцианина зеленого в нанокapsулах от рН среды. (г) Зависимость интенсивности флуоресценции индоцианина зеленого в нанокapsулах от температуры [75].

Одним из недавних улучшений в области полимерной нанотермометрии стало использование плазмонных метарезонансных сенсоров. В данной системе, предложенной Котовым и соавторами [70], используется обратимый нанотермометр, состоящий из двух различных наночастиц, соединенных полимером, выполняющим функцию «молекулярной пружины». Оптический механизм работы такого сенсора основан на плазмонном резонансе и взаимодействии экситонов с плазмонами. Типичная структура включает наночастицы золота (Au) размером около 20 нм, окруженные более мелкими наночастицами CdTe (около 4 нм), которые связаны с поверхностью золота с помощью ПЭГ. При изменении температуры в диапазоне 293–333 К длина полимерной связи изменяется, что влияет на межчастичное расстояние между Au и CdTe и, соответственно, на резонансные условия для эмиссии CdTe. Хотя точные данные о чувствительности данной системы отсутствуют, она демонстрирует потенциал как обратимая наноструктура, которая изменяет свою структуру в зависимости от условий окружающей среды.

Фосфоры на основе ионов лантанидов (Ln^{3+}) часто применяются в качестве оптических термосенсоров в сложных полимерных системах. Большинство примеров используют β -дикетонатные комплексы Ln^{3+} благодаря управляемому температурой механизму обратного переноса энергии между внутренними 4f-уровнями, резонансными с триплетным возбужденным состоянием лиганда. Молекулярные термометры на основе координационных соединений Eu^{3+} с β -дикетонатами были предложены в последние десятилетия как для изолированных комплексов, так и для комплексов, встроенных в полимеры и органо-неорганические гибридные материалы. Однако значительным недостатком таких комплексов является фоторазрушение под воздействием УФ-излучения, что снижает интенсивность люминесценции и делает их нерелевантными для долговременных измерений. Преодолеть этот недостаток помогает инкапсуляция этих комплексов в полимерные и гибридные матрицы, значительно повышая их устойчивость к УФ-излучению.

Интересный пример полимера, содержащего хелаты Eu^{3+} для одновременного люминесцентного измерения температуры и содержания кислорода в среде, был представлен в работе [79] с использованием комплекса $\text{Eu}(\text{tta})_3\text{L}$ (где L — производное дипиразолилтриазина) и индикатора кислорода на основе порфирина палладия, инкапсулированного в микрошарики из поли(трет-бутилстирола). Оба индикатора

возбуждались светодиодом с длиной волны 405 нм, а их люминесценция разделялась с помощью оптических фильтров. На основе температурной зависимости времени жизни состояния 5D_0 комплекса $\text{Eu}(\text{tta})_3\text{L}$ был разработан термометр, работающий в диапазоне 273–333 К с чувствительностью $S_r = 1.1 \% \cdot K^{-1}$ при 333 К. Другой пример ратиометрического термометра на основе Eu^{3+} включает инкапсуляцию двухцветных люминесцентных соединений (трис(бензоилацетонат)моно(фенантролин) европия(III) и 4,4'-Бис(2-бензоксазолил)стильбен) в газонепроницаемые наночастицы P(VDC-co-AN) [80]. Эти полимерные наночастицы демонстрируют полностью обратимый температурный отклик, что позволяет быстро оценивать температуру по спектральному сдвигу в диапазоне 273–323 К с чувствительностью $S_r = 7.2 \% \cdot K^{-1}$ при 323 К.

Краткий итог. Оптические нанотермометры на основе полимеров обладают высокой температурной чувствительностью от 1% до 18.9% и разрешением ~ 0.1 К в узком диапазоне температур, как правило, около комнатной. Данный класс нанотермометров отличается биосовместимостью и возможностью адаптации под конкретные условия, такие как pH и содержание кислорода.

Ограничения и недостатки. Основное ограничение полимерных термометров связано с гистерезисом, при котором выходной сигнал при одной и той же температуре может различаться в зависимости от направления изменения температуры (повышение или понижение). Это приводит к погрешности в измерении температуры, которая может составлять значительную часть рабочего диапазона. В таких условиях чувствительность также зависит от оптически активного компонента, например, флуоресцентных красителей, чья реакция зависит от полярности окружающей среды. Для уменьшения гистерезиса могут использоваться метакрилаты на основе ПЭГ, что повышает точность и воспроизводимость результатов. Другим недостатком полимерных нанотермометров является возможная неоднородность отклика по объему полимерной частицы, особенно если оптический отклик зависит от локальной химической среды. Многофакторная чувствительность системы к температуре, pH, содержанию кислорода и концентрации солей во многом является недостатком, поскольку изменение одного из этих параметров способно исказить температурный отклик. Тем не менее такая мультичувствительность также предоставляет возможность разработки логических устройств, реагирующих на несколько стимулов различной природы.

1.2.6. Алмазные наночастицы

Алмаз является оптически прозрачным и химически инертным диэлектрическим материалом. Благодаря широкой запрещенной зоне (5.45 эВ) в нем могут быть сформированы люминесцентные центры окраски (так называемые «искусственные атомы») с изолированной энергетической структурой. Их оптические свойства в значительной степени определяются условиями синтеза и типом вводимых примесей. Методы синтеза позволяют получать данный вид материала в различных формах, начиная от пленок и крупных кристаллитов и заканчивая высокодисперсным порошком наноалмазов.

Методы получения алмазов

В настоящее время люминесцентные алмазные материалы получают, как правило, двумя методами: химического осаждения из газообразной фазы (CVD-метод) [81] и высокого давления и высокой температуры (HPHT-метод) [82]. Метод химического осаждения из газообразной фазы основан на разложении углеводородов (как правило, метана) в смеси с водородом с последующим осаждением алмаза на нагретой подложке и позволяет получать пленки и пластины поликристаллического алмаза диаметром более 100 мм и толщиной более 1 мм, а также эпитаксиальные монокристаллические пленки и крупные кристаллы. Подложка с затравочным материалом помещается в камеру CVD реактора заполненную смесью водорода H_2 и метана CH_4 под давлением 100 торр. Смесью газов разогревается пучком микроволн до температуры около 1000 °С и образует плазму. Продукты разложения доставляются конвекцией и диффузией к подложке, нагретой до температуры 800 °С, на которой происходит рост алмаза. В некоторых случаях в газовую смесь вводят небольшие добавки азота и кремния для увеличения концентрации примесей в CVD-алмазе. Алмазные материалы, получаемые данным методом, чаще всего имеют большое количество водородных примесей и дефектов, что снижает структурное качество кристалла.

Высокотемпературный синтез при высоких давлениях является альтернативным методом. При комнатной температуре и нормальном давлении графит является более термодинамически стабильной фазой, чем алмаз. Поэтому синтез из графита осуществляется в области высоких значений этих параметров, где термодинамически

стабилен алмаз. Рост HPHT-алмазов происходит в специальной ячейке, заполненной графитом и металлом-катализатором, который необходим для разрыва углеродных связей. В качестве таких металлов широко используются элементы группы периодической системы, такие как Fe, Ni, Co. При нагреве катализатор растворяет графит и позволяет атомам углерода осаждаться на затравочном алмазе, находящемся в основании ячейки. В ростовой ячейке также находятся дополнительные компоненты, - титан, бор, алюминий, а также азот, который попадает в рабочий объем из атмосферы - определяющие концентрацию и тип примесей в синтезированном кристалле. Ростовая ячейка помещается под пресс, обеспечивающий давление порядка 55 кбар с одновременным подогревом до 1700 °С. В зависимости от распределения температуры вдоль ячейки меняется и скорость роста: чем выше разница температур (20–50 °С), тем больше металлических включений внедряются в алмаз при росте. Время синтеза варьируется от нескольких минут до сотен часов. Наличие металлических включений в легированных алмазах, выращенных при высоких давлениях с использованием металлов-катализаторов, в ряде случаев становится органическим недостатком этих материалов, которое, помимо препятствия их практическому применению, может приводить к искажению кристаллической структуры алмаза. В связи с этим были предприняты попытки найти новые подходы к синтезу данным методом. Так, в работе [83] сообщается об алмазном синтезе из адамантана без использования металлических катализаторов. Обладая углеродной основой, точно повторяющей структуру алмазной решетки, а также низкой способностью адсорбции неконтролируемых примесей, адамантан является перспективной системой для получения алмазных материалов высокого структурного качества.

Центры окраски в алмазе

Как и во многих кристаллических структурах в алмазах присутствует большое число точечных дефектов - нарушений периодичности кристаллической решетки, размеры которых во всех измерениях сопоставимы с размерами атома. К точечным дефектам относятся вакансии (узлы в кристаллической решетке, свободные от атомов), межузельные атомы (атомы, находящиеся вне узлов кристаллической решетки), а также примесные атомы, которые могут или замещать атомы основного материала (примеси замещения), или внедряться в наиболее свободные места решетки аналогично

межузельным атомам (примеси внедрения). Примесные атомы могут связываться с вакансиями, образуя оптически активные дефекты - центры окраски. Из всего многообразия центров окраски [84] наиболее исследованными являются центры азот-вакансия (NV, рис. 1.16а) и центры на основе элементов IV группы (Si, Ge, Sn, Pb и пр.; рис. 1.16б) соответственно.

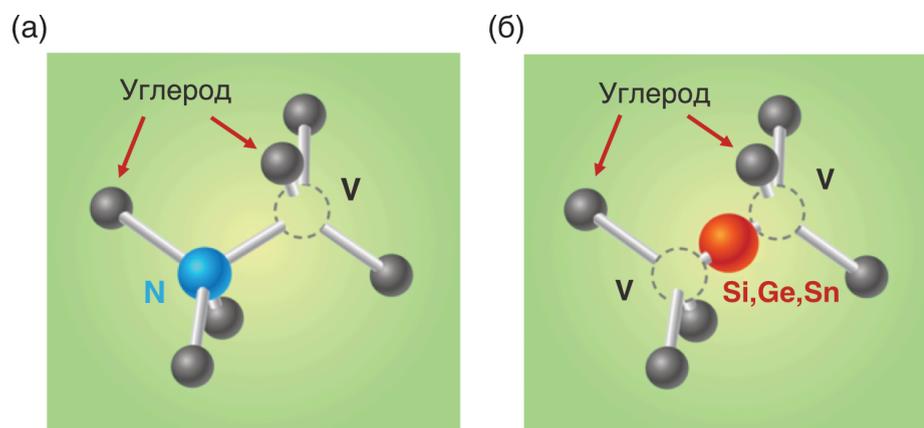


Рисунок 1.16 – Пространственная структура (а) NV-центра и (б) SiV-центра.

NV-центр излучает в видимом диапазоне и может находиться в двух различных зарядовых состояниях: нейтральном (NV^0) с бесфононной линией (БФЛ) на длине волны 575 нм и отрицательно заряженном с БФЛ около 638 нм (NV^-). Как NV^0 , так и NV^- обладают широкой полосой фононных повторений из-за аксиальной тригональной симметрии алмазной решетки. Люминесценция NV-центров не подвержена фотообесцвечиванию и стабильна на больших временных интервалах. В отрицательно заряженном состоянии NV-центр обладает триплетными основным и возбужденным состояниями (рис. 1.17). В состоянии 3A_2 наблюдается аксиальное тонкое расщепление в нулевом поле между спиновыми подуровнями $m_s = 0$ и ± 1 ($D_{gs} \approx 2.88$ ГГц при комнатной температуре), обусловленное спин-спиновым взаимодействием. Возбужденное состояние представляет собой орбитальный дублет, в котором вырождение снимается внеосевой деформацией, каждая из орбитальных ветвей образована тремя спиновыми состояниями. Выше 150 К тонкая структура возбужденного состояния 3E становится аналогичной структуре основного состояния 3A_2 с нулевым расщеплением поля между спиновыми подуровнями $m_s = 0$ и ± 1 ($D_{es} \approx 1.42$ ГГц при комнатной температуре) и деформационно-зависимым расщеплением E_{es} подуровней $m_s = \pm 1$. Примечательно, что спином основного состояния можно

управлять с помощью микроволнового излучения, резонансного с частотой аксиального расщепления, и изменять тем самым поляризацию и интенсивность люминесценции NV-центра — так называемый оптически детектируемый магнитный резонанс.

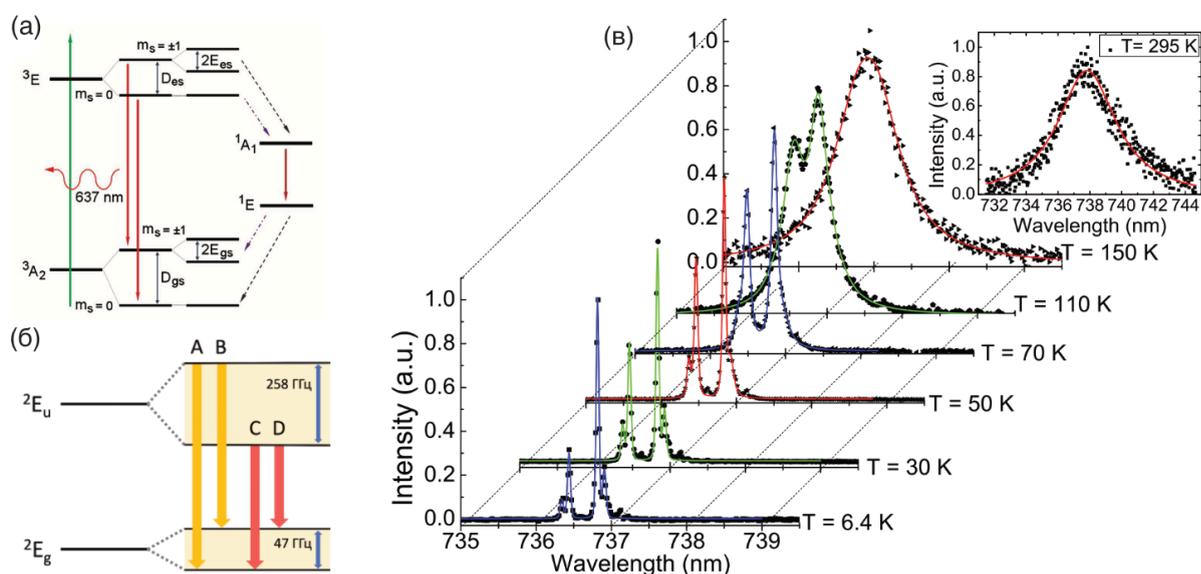


Рисунок 1.17 – Энергетическая структура (а) NV-центра и (б) SiV-центра. (в) Характерные спектры люминесценции SiV-центров в алмазных наночастицах, полученных CVD-методом, при комнатной и криогенных температурах [85].

Пространственная структура центров IV-группы отличается от структуры NV-центров. Как правило, элементы IV-группы встраиваются в междуузлия алмазной решетки и связываются с двумя вакансиями, расположенными в соседних узлах [84]. Образованные центры окраски обладают симметрией D_{3d} и в отличие от NV-центров не имеют статического дипольного момента, а потому являются менее чувствительными к внешним электромагнитным полям, pH и ионной силе среды. Комплекс “кремний-вакансия” (SiV) является наиболее исследованным в этом классе центров окраски. SiV-центры имеют узкую (~ 6 нм) БФЛ при 738 нм в первом окне биологической оптической прозрачности и почти однородное поглощение, начиная с 450 нм (рис. 1.17в). Более 70% излучения SiV-центров сконцентрировано в БФЛ, в то время как оставшаяся часть рассредоточена по фоннным повторениям в диапазоне 750-820 нм. Люминесценция SiV-центров стабильна и не подвержена фотообесцвечиванию.

Алмазы в нанотермометрии

Температурная зависимость спектрального положения и ширины БФЛ для NV-центров была исследована в середине 1980-х в пионерской работе [86]. Однако первые предложения по созданию термометров с использованием наноалмазов появились лишь в 2010 году и основывались на идее отображения температуры с помощью изменения параметров люминесценции (ширина, интенсивность и спектральное положение БФЛ) и энергии спина основного состояния NV-центра [87, 88]. Было обнаружено, что интенсивность люминесценции NV-центров в алмазных наночастицах (<35 нм) уменьшается в четыре раза при увеличении температуры в диапазоне 320–670 К, в то время как время жизни сокращалось в 2.7 раза в связи с увеличением скорости безызлучательной релаксации NV-центров.

Чувствительность спектрального сдвига БФЛ к температуре обеспечивается главным образом (а) тепловым расширением алмазной кристаллической решетки и (б) процессами электрон-фононного рассеяния (динамический эффект Яна-Теллера), происходящими в ней. В зависимости от симметрии и энергетической структуры центра вклады этих процессов различаются. Так, например, спектральный сдвиг БФЛ NV-центров определяется выражением [89]:

$$\Delta E(T) = - \Delta E_{ex}(T) - \Delta E_{e-p}(T) = - AB \int_0^T e(T) dT - CT^5, \quad (1.13)$$

где $A = 14.56 \text{ МГц} \cdot \text{ГПа}^{-1}$ - гидростатический сдвиг, B - модуль объемной упругости алмаза, $e(T)$ - коэффициент объемного расширения алмаза, C - константа аппроксимации. При этом $\Delta E_{e-p}(T)$ на порядок превышает $\Delta E_{ex}(T)$ при соответствующих температурах [89], что подчеркивает доминирование электрон-фононных взаимодействий в характере температурной зависимости спектрального положения. Ширина БФЛ NV-центра описывается полиномиальной зависимостью $aT^3 + bT^5$ (a, b - константы) [90]. Кубический член связан с (а) участием вырожденных электронных состояний, (б) ослаблением прочности связей и увеличением плотности низкоэнергетических локальных фононов в возбужденном состоянии NV-центра и (в) флуктуирующими полями, которые возникают вследствие изменения фононами расстояния между центром окраски и другими дефектами в кристалле. Член

T^5 приписывается переходам между различными компонентами вырожденного состояния под действием рассеяния на фононах. В работе [89] сообщалось о реализации нанотермометра на основе спектрального сдвига и ширины БФЛ, оперирующего в диапазоне 28-75 °C с чувствительностью $S_r = 0.3 \% \cdot K^{-1}$ и уровнем шума $\eta = 2 K \cdot \text{Гц}^{-1/2}$ (рис. 1.18а-б). Низкий фотонный выход БФЛ и наличие широкого фононного крыла приводят к ошибкам в аппроксимации и, как следствие, высокому уровню шума, который осложняет использование спектральных параметров NV-центров на практике.

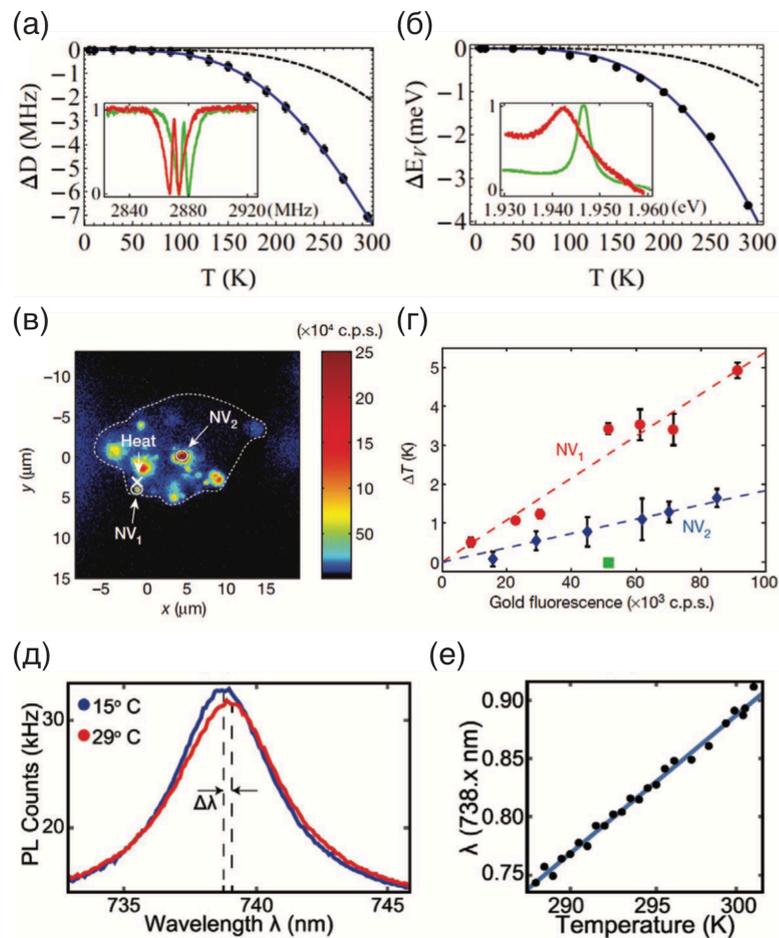


Рисунок 1.18 – (а) Температурно-зависимый сдвиг (а) резонансной частоты спинового расщепления в ODMR-спектрах (вставка) и (б) БФЛ NV-центров. (в) Внутриклеточная термометрия на основе NV-содержащих наноалмазов: круги обозначают наноалмазы, крестики - золотые наночастицы, выступающие нагревателями. (г) Измеренная температура в зависимости от мощности излучения, приложенной к золотым наночастицам. (д) Спектры SiV-люминесценции при разных температурах. (е)

Зависимость спектрального положения БФЛ SiV-центров от температуры. (а, б) воспроизведены из [89], (б, в) воспроизведены из [4], (в, г) воспроизведены из [7].

Другой метод считывания температуры с помощью NV-центров, основан на тепловой зависимости их спиновых свойств. Используя резонансное микроволновое излучение, можно инициализировать спиновое состояние с одновременным уменьшением люминесценции. Таким образом, проводя сканирование частоты микроволнового излучения, можно получить ODMR-спектры с минимумами, соответствующими резонансной частоте, которая сдвигается при изменении температуры [3]. В недавних экспериментах такой подход использовался для внутриклеточного измерения температуры в человеческих эмбриональных фибробластах при физиологических условиях [4] (рис. 1.18в-г), а также в первичных культурах нейронов при внешней стимуляции их активности [91]. Чувствительность термометра оказалась равной $S_r = 1.3 \% \cdot K^{-1}$, а уровень шума при считывании температуры $\eta = 1.8 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$. И хотя термометрия с использованием техники ODMR отличается высокой чувствительностью, она также требует одновременного оптического и микроволнового контроля, а из-за неоднородного уширения каждый эмиттер должен быть индивидуально откалиброван перед использованием в качестве термометра.

Более перспективными и удобными в использовании являются нанотермометры на основе SiV-центров. Спектральный сдвиг и уширение БФЛ SiV-центров в основном обусловлены электрон-фононным взаимодействием второго порядка в возбужденном состоянии, приводящим к кубической зависимости [92]. Скорость электрон-фононного взаимодействия значительно выше скорости спонтанного распада, что приводит к сильной температурно-зависимой модификации ширины линии и положения длины волны излучения (рис. 1.18д-е). Используя чувствительность положения БФЛ SiV-центров к температуре, Нгуен и соавторы [7] продемонстрировали возможность полностью оптического считывания температуры с чувствительностью $S_r = 1.62 \cdot 10^{-5} \% \cdot K^{-1}$ и уровнем шума $\eta = 521 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$ для алмазной частицы размером 200 нм, содержащей по крайней мере 10 центров окраски (рис. 1.21е). SiV-термометрия обладает рядом уникальных преимуществ по сравнению с другими

люминесцентными термометрами, особенно для биологических приложений. Полностью оптическая схема исключает необходимость использования микроволн и работает при низкой мощности лазера (~100 мкВт мощности резонансного лазера), снижая индуцированный нагрев и потенциальное повреждение исследуемого объекта.

Краткий итог. Алмазная нанотермометрия демонстрирует широкий потенциал для оптоэлектронных и биологических применений. В сравнении со многими другими материалами наноалмазы химически инертны, нетоксичны и биосовместимы. Они могут быть легко функционально связаны с большим количеством специфических биомолекул [93], что делает их идеальными для биомедицинских применений. Люминесценция центров окраски в алмазе стабильна и не подвержена фотообесцвечиванию при длительных измерениях. Размер алмазных частиц можно точно регулировать от микрометров до нескольких нанометров [94], что позволяет визуализировать температуру в широком диапазоне пространственных масштабов.

Ограничения и недостатки. Несмотря на многочисленные преимущества, термометры на основе наноалмазов с NV-центрами имеют и ряд ограничений. Во-первых, такие системы подвержены самопоглощению, что может изменять интенсивность и длину волны фотолюминесценции, и, таким образом, искажать результаты измерений. Кроме того, нагрев самого нанозонда, вызванный лазерным возбуждением или безызлучательными процессами, может приводить к индуцированным температурным эффектам.

Методы, основанные на считывании спинового состояния NV-центров, также требуют применения микроволнового излучения, которое может поглощаться в биологических средах, приводя к дополнительной погрешности. Вдобавок, такие методы не могут однозначно различить изменения температуры и воздействия локальных электрических или магнитных полей, что создает риски термического эквивалентного шума в биологических системах, где такие поля часто присутствуют.

Наконец, наноалмазы, как и другие люминесцентные наночастицы, могут взаимодействовать с поверхностными лигандами и ловушечными состояниями, что требует дополнительных контрольных экспериментов для точного учета влияния окружающей среды на фотолюминесценцию. Эти ограничения требуют тщательной калибровки и контроля параметров измерения для обеспечения достоверных температурных данных.

1.3. Заключение к главе 1

Проведенный анализ литературы показал, что в последние годы растет интерес к термометрам на основе люминесцирующих наночастиц и молекулярных соединений. Среди них особый интерес вызывают квантовые точки, полимерные комплексы, наночастицы на основе редкоземельных элементов и центры окраски в алмазах. Однако большинство этих методов сталкиваются с рядом ограничений, связанных с фотопобочными эффектами, самопоглощением и зависимостью от характеристик окружающей среды. Наибольшие перспективы представляют SiV-центры в наноалмазах, которые являются фотостабильными и устойчивыми к флуктуациям внешней параметров, обеспечивая более надежные и точные температурные измерения даже в биологических средах, где другие нанотермометры могут испытывать трудности с воспроизводимостью сигналов.

К началу настоящего диссертационного исследования была опубликована лишь одна работа [7], в которой сообщалось о возможности измерения температуры с использованием алмазных наночастиц с SiV-центрами. В настоящем диссертационном исследовании данный метод получил всестороннее развитие. Диссертационная работа посвящена исследованию температурной зависимости люминесценции центров окраски “кремний-вакансия” в алмазных микро- и наночастицах, разработке на их основе точного и чувствительного люминесцентного термометра-нагревателя, изучению теплофизических свойств субмикронных источников тепла в водной среде, а также применению разработанного алмазного термометра-нагревателя (АТН) для решения актуальных биомедицинских задач, среди которых измерение теплопродукции митохондрий.

Глава 2. Люминесцентные термометры на основе алмазных частиц, содержащих SiV-центры

В последние годы в мире активно развивается оптический метод измерения локальной температуры различных сред и биологических объектов, основанный на детектировании сдвига и уширения люминесцентной линии оптически-активных центров в алмазных частицах микронного и нанометрового размеров при их нагревании. Примечательно, что исследования с использованием алмазных термосенсоров до сих пор были сфокусированы на их применении, в частности в биологии, тогда как зависимость температурных характеристик таких сенсоров от метода получения люминесцирующих алмазных кристаллитов не изучалась.

Настоящая глава посвящена экспериментальному исследованию температурной чувствительности положения и ширины БФЛ люминесценции SiV-центров в алмазных микрочастицах, полученных тремя различными методами. Такое сравнение позволяет выявить оптимальные подходы к синтезу алмазных частиц для повышения точности и стабильности их температурных характеристик. Проводится анализ эффективности нагрева различных алмазных частиц под воздействием лазерного излучения, возбуждающего люминесценцию, что является важным шагом для разработки высокочувствительных и избирательных алмазных нанотермометров для применения в сложных средах, включая биологические. Определяется эквивалентный тепловой шум люминесцентных параметров алмазов и уровень шума термометров на их основе в зависимости от размера частицы и мощности возбуждающего излучения.

2.1. Температурная чувствительность люминесценции SiV-центров в алмазных частицах различного происхождения

2.1.1. Образцы алмазных частиц и методы исследования

Для исследования температурной зависимости параметров люминесценции SiV-центров использовались три типа алмазных частиц:

1. HPHT-частицы, синтезированные (а) в смеси адамантана ($C_{10}H_{16}$) и детонационных наноалмазов при давлении ~ 7.5 ГПа, температурах 1500-1600 °С и временной выдержке 20 с, и (б) чисто из адамантана при температурах 1600-1700 °С и давлении 8 ГПа. Для формирования SiV-центров в алмазной матрице в конечную смесь добавляли небольшое количество тетракис(триметилсилил)силана ($C_{12}H_{36}Si_5$) в соотношении $\sim Si/(Si+C) = 0.3\%$;
2. CVD-частицы, выращенные в режиме спонтанной нуклеации на германии (111) в газовой смеси водород-метан (96%:4%) с добавлением 0.1% легирующего газа силана (SiH_4) при температуре подложки 700-800 °С, давлении 75 Торр, мощности СВЧ 3 кВт и времени осаждения 30 мин;
3. Комбинированные (HPHT+CVD)-частицы, полученные CVD-доращиванием мелких (< 50 нм) HPHT-наноалмазов, предварительно синтезированных аналогично частицам первого типа.

Алмазные частицы, полученные методами CVD и комбинированным HPHT-CVD, были выращены на пластине германия с размерами 8x8 мм *in situ* и распределены по ее площади равномерно со средней плотностью $\sim 10^6$ частиц/мм². Результатом HPHT-синтеза является высокодисперсный порошок алмазов. Синтезированные наноалмазы очищались в смеси серной и азотной кислот в соотношении 1:3 для удаления металлических и органических загрязнителей, а также остаточного графита, а затем переводились в слабоконцентрированную (0.1 мг/мл) этанольную суспензию. После кислотной обработки порошок промывался деионизированной водой до достижения нейтрального pH, высушивался. Для получения слабоконцентрированной суспензии к очищенному порошку добавлялся 1 мл этанола. Затем суспензия подвергалась ультразвуковому воздействию в ультразвуковой ванночке в течение 30 минут с целью разрушения агломератов и получения однородного распределения частиц. Наконец, алмазные частицы наносились на кремниевую подложку путем высушивания их из капли.

Изучение температурной чувствительности проводилось с помощью конфокального спектрометра Horiba Jobin-Yvon LabRam HR800, упрощенная оптическая схема которого представлена на рис. 2.1. Люминесценция SiV-центров возбуждалась лазерным источником LaserQuantum на длине волны 473 нм и регистрировалась охлаждаемой ПЗС-матрицей Andor iDus с помощью объектива Olympus (x50, NA=0.55).

Измерение температурной чувствительности SiV-люминесценции алмазов проводилось в термостате Linkam TS1500 с точностью установления температуры 1 °С при малой мощности лазерного возбуждения (0.1 мВт). При каждом значении температуры проводилось измерение спектра SiV-люминесценции и последующее определение положения и ширины бесфонной линии.



Рисунок 2.1 – Схема экспериментальной установки для измерения температурной чувствительности SiV-центров в алмазных частицах.

2.1.2. Процедура аппроксимации бесфонной линии люминесценции SiV-центров

На рис 2.2 представлен характерный спектр люминесценции SiV-центров в алмазе, полученный с помощью экспериментальной установки, показанной на рис. 2.1. В коротковолновой области наблюдается узкий пик комбинационного рассеяния (КР) на оптических фонах в алмазной кристаллической решетке. Бесфонная линия SiV-люминесценции располагается в ближнем ИК-диапазоне (738 нм) со слабым фоновым крылом вблизи 750-760 нм. Для извлечения спектральных параметров БФЛ

был разработан алгоритм аппроксимации кривой лоренцевой формы, который состоит в следующем:

1. Из измеренного спектра SiV-люминесценции вычитается фоновый спектр, зарегистрированный в том же спектральном диапазоне и в той же точке пространства, в отсутствие люминесценции SiV-центров (при выключенном лазере). Производится нормировка по максимальному значению I_0 в диапазоне 730-750 нм.
2. Из дальнейшей аппроксимации исключается длинноволновая часть спектра, лежащая ниже уровня интенсивности $\frac{1}{2}I_0$ (на рис. 2.2 она изображена как часть кривой в синем цвете справа от I_0). Выполнение данной операции необходимо для исключения влияния длинноволнового фоновый крыла бесфононной линии, которое приводит к ее искажению и отклонению от кривой лоренцевой формы.
3. Также из аппроксимации исключается коротковолновая часть спектра, лежащая ниже уровня интенсивности $\frac{1}{4}I_0$ для исключения возможного влияния дополнительных источников люминесценции, излучающих на длине волны <738 нм (например, небольшая широкополосная люминесценция, связанная с возможным присутствием sp^2 -фазы углерода на поверхности алмаза (на рис. 2.2 – часть кривой в синем цвете слева от I_0)).
4. Образованная область БФЛ аппроксимируется кривой лоренцевой формы по алгоритму Левенберга-Марквардта [95]:

$$I(\lambda) = \frac{I_0}{2\pi} \frac{\Delta\lambda^2}{(\lambda - \lambda_{center})^2 + \Delta\lambda^2}, \quad (2.1)$$

Из параметров аппроксимации извлекается значение спектрального положения, ширины на полувысоте и относительной амплитуды БФЛ SiV-центров.

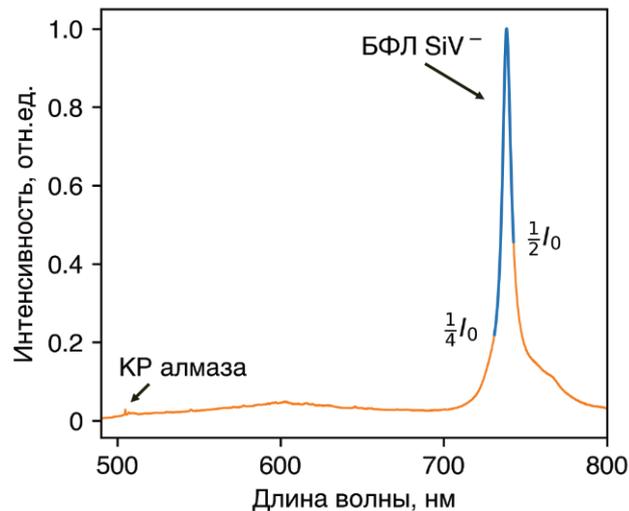


Рисунок 2.2 – Спектр люминесценции алмазов с SiV-центрами (оранжевая кривая). Часть спектра, выделенная синим цветом на вставке, аппроксимируется профилем Лоренца.

Погрешность в определении спектральных параметров связана с отклонениями формы БФЛ от идеального профиля Лоренца, а также с наличием ошибок при решении оптимизационной задачи о наименьших квадратах. Данная погрешность является источником эквивалентного теплового шума и составляет по оценкам проведенным в настоящей работе $8.5 \cdot 10^{-4}$ и $2.4 \cdot 10^{-3}$ нм для положения и ширины БФЛ соответственно.

2.1.3. Экспериментальные результаты

РЭМ-изображения исследуемых частиц приведены на рис. 2.1. Видно, что частица, полученная методом НРНТ (рис. 2.3а), обладает ярко выраженной сингулярной огранкой и является монокристаллом. В то же время частицы, полученные методами CVD и (НРНТ+CVD) (рис. 2.3б,в), имеют поликристаллическую структуру, причем для частиц, полученных методом CVD, она выражена более ярко.

Анализ спектров комбинационного рассеяния (КР) (рис. 2.3г) обнаруживает наличие аморфной sp^2 -углеродной фазы в (НРНТ+CVD)- и CVD-частицах, которая характерна для межкристаллитных границ алмазных поликристаллов. В спектре КР

НРНТ-частицы аморфной фазы не наблюдается. Для всех типов частиц наблюдается яркий пик люминесценции SiV-центров на длине волны ~ 738 нм (рис. 2.3д).

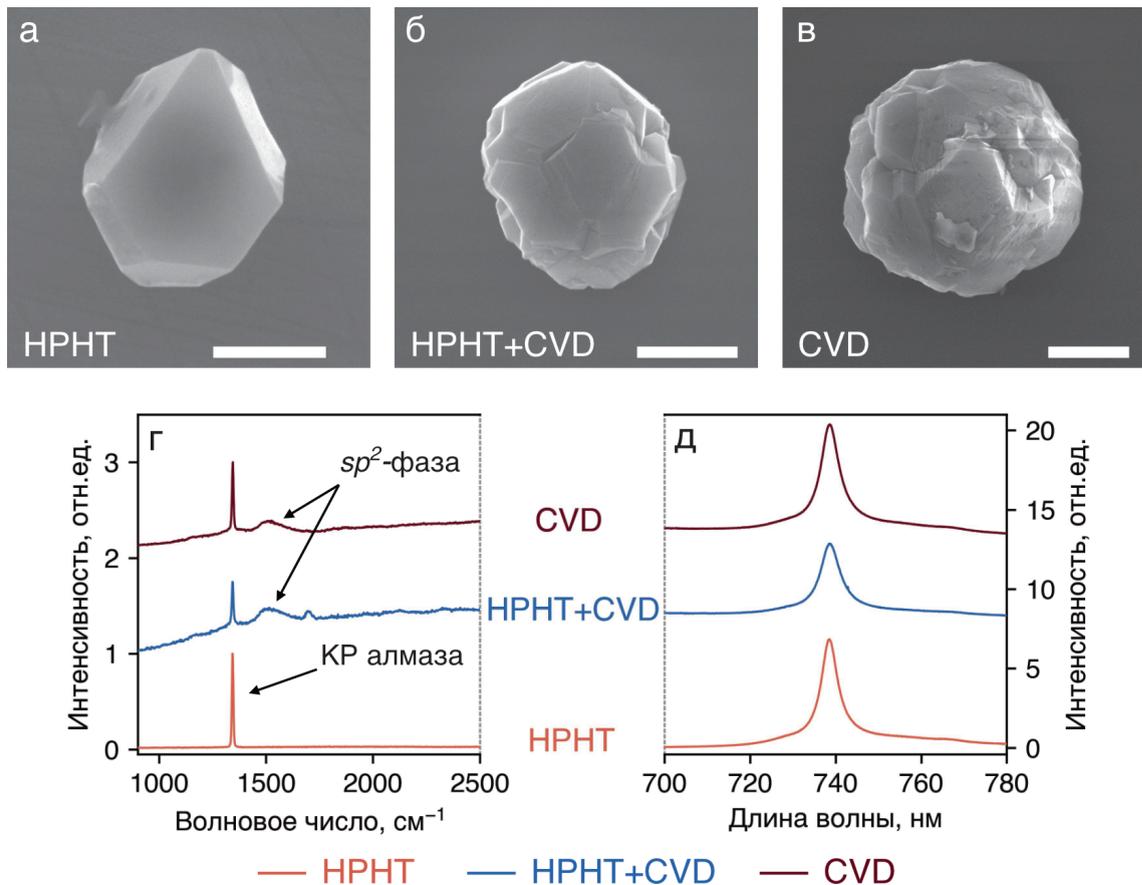


Рисунок 2.3 – Репрезентативные РЭМ-изображения НРНТ- (а), (НРНТ+СVD)- (б) и СVD- (в) алмазных микрочастиц. Масштабная линия в правом нижнем углу соответствует 1 мкм. (г)-(д) Соответствующие спектры КР и люминесценции SiV-центров при 473-нм возбуждении.

На следующем этапе для каждого типа частиц определялась абсолютная чувствительность S измеряемой величины A (в нашем случае A - ширина на полувысоте/положение БФЛ) к изменениям температуры. На рис. 2.4 (а)-(б) показаны температурные зависимости положения и ширины БФЛ SiV-люминесценции в диапазоне температур от 20 до 60 °С для микроалмазов различных типов. Отметим, что для НРНТ-частиц при комнатной температуре параметры БФЛ имеют минимальные значения. Напротив, для СVD- и (НРНТ+СVD)- частиц положение и ширина сдвинуты в область больших значений, что может быть связано с поликристаллическостью таких частиц, наличием структурных дефектов и локальных напряжений в кристаллической решетке алмаза [96].

В ранних работах [86, 89] сообщалось о квадратичном возрастании ширины и положения линий люминесценции центров окраски в алмазах с температурой, что связывалось с тепловым расширением алмазной решетки [97], приводящему к уменьшению ширины запрещенной зоны и, как следствие, появлению отрицательного сдвига уровней SiV-центра. В 2014 году Джанке и соавторы [92] экспериментально и теоретически показали, что изменения спектральных характеристик SiV-центра обусловлены главным образом линейным взаимодействием Яна-Теллера во втором порядке между E -симметричными электронными состояниями центра и E -симметричными акустическими фононными модами в алмазной решетке, приводящие к кубической зависимости ширины и положения БФЛ. С опорой на эти результаты экспериментально определенные для всех типов частиц ширины и спектральные положения БФЛ были аппроксимированы зависимостью $A \sim a + b \cdot T^3$ [92].

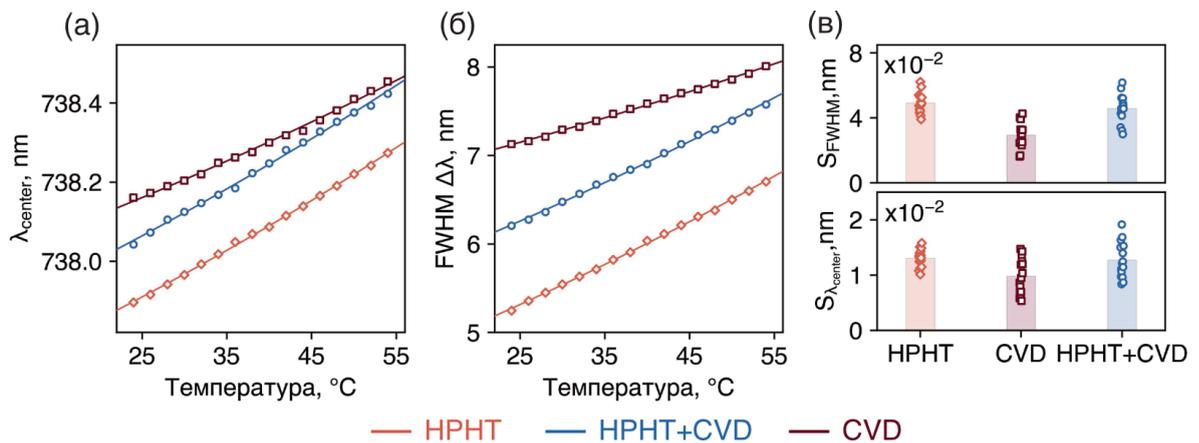


Рисунок 2.4 – Температурная зависимость сдвига (а) и ширины (б) БФЛ люминесценции SiV-центров в алмазных микрочастицах различного типа. Экспериментальные точки аппроксимированы кубической зависимостью [92]. (в)-(г) Чувствительность ширины и положения БФЛ к температуре соответственно для одной частицы каждого типа, определенная между последовательными парами экспериментальных точек зависимостей (а)-(б).

На рис. 2.2 (в)-(г) показаны средние значения температурной чувствительности ширины S_{FWHM} и положения $S_{\lambda_{center}}$. Наибольшую чувствительность демонстрирует HPHT-частица $\langle S_{\lambda_{center}}^{HPHT} \rangle = 1.3 \cdot 10^{-2}$ нм/°C и $\langle S_{FWHM}^{HPHT} \rangle = 5.0 \cdot 10^{-2}$ нм/°C с минимальными среди всех частиц стандартными отклонениями $1.5 \cdot 10^{-3}$ и $6.1 \cdot 10^{-3}$

нм/°С соответственно. Отметим, что эти значения совпадают с полученными ранее для SiV-центров в объемном монокристаллическом алмазе [14]. Благодаря высокому структурному качеству в частицах этого типа SiV-центры остаются более чувствительными к тепловым фононам, что усиливает температурный сдвиг и уширение спектральных линий. При этом температурная чувствительность (НРНТ+CVD)-частиц в пределах стандартного отклонения совпадает с НРНТ-частицей. Аналогичные характеристики для CVD-частицы имеют наименьшие значения - $\langle S_{\lambda_{center}}^{НРНТ} \rangle = 0.97 \cdot 10^{-2}$ нм/°С и $\langle S_{FWHM}^{CVD} \rangle = 2.9 \cdot 10^{-2}$ нм/°С, уступая НРНТ- и (НРНТ+CVD)-частицам в 1.4 и 1.7 раза по ширине и положению соответственно. Такое поведение, вероятно, связано с низким структурным качеством CVD-кристаллов: SiV-центры в них оказываются адиабатически менее чувствительны к воздействию *E*-симметричных акустических фононов [92].

2.2. Люминесценция SiV-центров в алмазном НРНТ-алмазах при криогенных температурах

Спектральные параметры алмазных частиц, полученных НРНТ-методом, наиболее чувствительны к изменению температуры предположительно из-за эффективной электрон-фононной связи, а их абсолютные величины имеют минимальные значения среди всех типов алмазов. Ввиду содержания алмазами ансамбля SiV-центров, измеряемая БФЛ формируется суперпозицией вкладов от множества эмиттеров, каждый из которых имеет индивидуальные спектральные свойства — положение, ширину, стабильность, спектральную диффузию и другие.

При комнатных температурах тепловое уширение затрудняет детальный анализ формы БФЛ и различение вклада от отдельных центров. Для преодоления этой проблемы и повышения спектрального разрешения частицы охлаждают до гелиевых температур. В таких условиях влияние теплового уширения существенно снижается, что позволяет выявить дублетные линии в структуре БФЛ, соответствующие разрешенным переходам отдельных SiV-центров.

Разброс спектральных характеристик отдельных SiV-центров в ансамбле играет ключевую роль в формировании итоговой температурной чувствительности и величины

эквивалентного теплового шума алмазной частицы. Изучение этих параметров особенно важно для оптимизации работы термометров на основе НРНТ-алмазов. В настоящем разделе представлены результаты исследований низкотемпературных характеристик БФЛ ансамблей и одиночных SiV-центров при нерезонансном и резонансном возбуждениях, позволяющие выявить особенности их поведения в криогенных условиях и определить факторы, приводящие к повышенной термочувствительности SiV-центров в НРНТ-алмазах из адамантана.

2.2.1. Методы исследования

В настоящих исследованиях использовались НРНТ-алмазы, синтезированные чисто из адамантана (см. раздел 2.1.1). Спектры люминесценции SiV-центров измерялись при гелиевых температурах с помощью конфокального микроскопа, с использованием двух ступеней монохроматора TriVista Princeton Instruments. Разрешающая способность монохроматора составляла 0.03 нм на длине волны 740 нм. В качестве детектора использовалась охлаждаемая жидким азотом кремниевая ПЗС-матрица (прибор с зарядовой связью) PyLon 100BR_eXcelon с квантовой эффективностью более 85% вблизи бесфононной линии SiV-центра. Люминесценция возбуждалась непрерывным лазерным излучением на длине волны 405 нм (Coherent Cube Laser). Плотность мощности составляла 4 Вт/см². Спектры люминесценции измерялись в пятне размером ~1 мкм в фокальной плоскости объектива Mitutoyo 50x NA=0.42. Низкотемпературные измерения люминесценции ансамбля SiV-центров проводились в гелиевом криостате проточного цикла при температуре 11 К.

Для резонансного возбуждения люминесценции одиночных SiV-центров использовали перестраиваемый по длине волны лазер TOPTICA's TeraScan в диапазоне от 500 до 740 нм с максимальным разрешением 5 МГц. Лазер был встроен в конфокальный микроскоп, в котором для детектирования сигнала использовалась EMCDD-камера IXON. Кремниевая подложка с наноалмазами размещалась в камере гелиевого криостата при температуре 2.3 К. Возбуждающий пучок мощностью 30 нВт фокусировался на образец длиннофокусным объективом 100x NA = 0.7. Каждый из

переходов SiV-центра резонансно возбуждался и детектировался по интенсивности длинноволновых фоновых повторений.

2.2.2. Экспериментальные результаты

Измерения спектральных характеристик ансамблей SiV-центров проводились для крупных кристаллитов размером 1–2 мкм. Как будет показано ниже, самые маленькие алмазы размером около 200 нм содержали один или несколько SiV центров, что позволило оценить содержание SiV-центров в частицах размером ~1 мкм на уровне 10^3 . Понижение температуры приводит к смещению БФЛ на ~1 нм в синюю область спектра и ее расщеплению на четыре составляющих (рис. 2.5а). Такое поведение объясняется дублетной структурой основного (2E_g) и возбужденного (2E_u) состояний оптически активного электрона SiV-центра. Четыре оптических перехода A, B, C и D, разрешенные в дипольном приближении, попарно отстоят друг от друга на 258 ГГц (A-C, B-D) и 47 ГГц (A-B, C-D) [98].

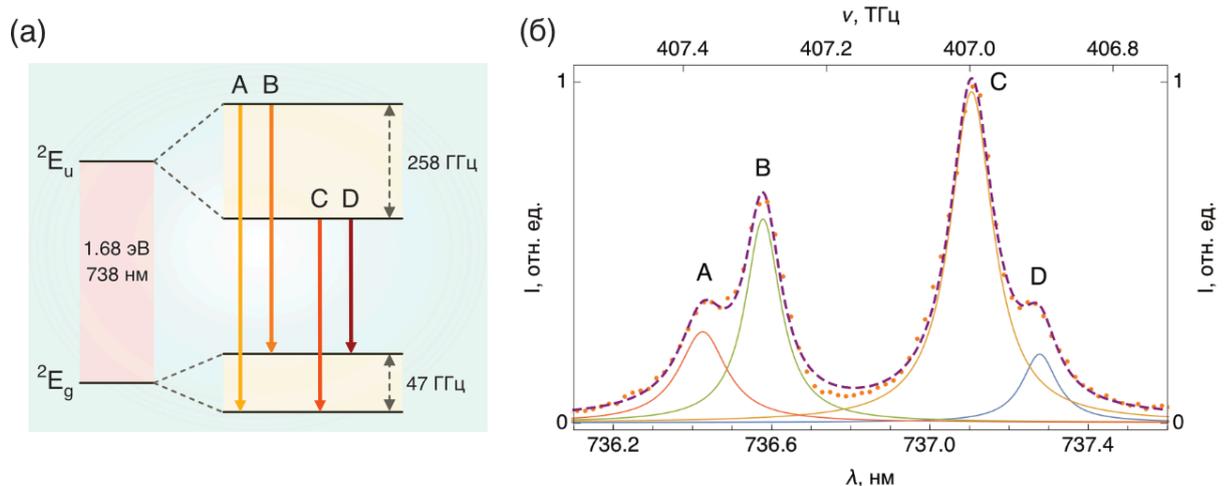


Рисунок 2.5 – (а) Схема оптических переходов A, B, C, D, между основным (2E_g) и возбужденным (2E_u) электронными состояниями SiV-центра. (б) Спектр люминесценции ансамбля SiV-центров алмазной частице размером 1 мкм, измеренный при 11 К.

В характерном спектре люминесценции крупных алмазов, измеренном при 11 К (рис. 2.5б), наблюдаются все четыре перехода. Каждый из пиков был аппроксимирован кривой Лоренца с соответствующей шириной на полувысоте: 84 ГГц (A), 60 ГГц (B), 78 ГГц (C), 60 ГГц (D). При этом линии разрешения спектральных линий не происходит

из-за (1) неоднородного уширения, обусловленного большим числом SiV-центров в исследуемой алмазной частице и (2) аппаратной функции монохроматора.

С целью минимизации влияния данных факторов на ширины переходов в ансамбле нами была использована техника сканирующего резонансного возбуждения SiV-люминесценции при температуре 2.3 К со средним шагом 20 МГц в частотном диапазоне 406.8–407.6 ТГц, что соответствует волновому диапазону 736–737.5 нм. Каждый из переходов резонансно возбуждался и детектировался по интенсивности длинноволновых фононных переходов. Спектр, измеренный для одноименной частицы при резонансном возбуждении (рис. 2.6а), характеризуется более выраженными переходами с минимальными значениями ширины линий: 27.7 ТГц (А), 16.6 ТГц (В), 38 ТГц (С), 30.5 ТГц (D).

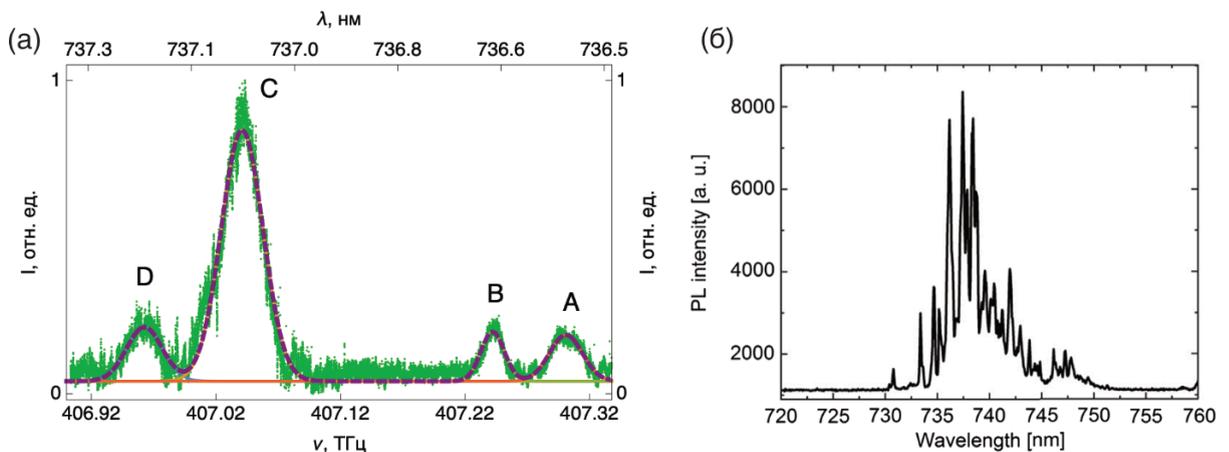


Рисунок 2.6 – Спектры резонансного возбуждения люминесценции ансамбля SiV-центров: (а) НРНТ-алмазной частице размером 1 мкм, измеренный при 2.3 К; (б) CVD-алмазной частицы размером 450 нм, измеренный при 15 К [96].

Сравнительный анализ с CVD-частицами (Рис. 2.6б) показал, что спектральные линии переходов SiV-центров в последних распределены в более широком диапазоне (730–750 нм) и не обладают выраженной дублетной структурой, что связано с низким структурным качеством поликристаллических CVD-частиц и наличием в них внутренних напряжений [96]. Напротив, в НРНТ-алмазах дублетные линии сосредоточены около центральных значений с минимальными отклонениями, что обусловлено высоким качеством кристаллической структуры и низким уровнем остаточного неоднородного уширения. Таким образом, SiV-центры в НРНТ-алмазах

демонстрируют синхронное и согласованное поведение с минимальным спектральным размытием.

Для исследования спектральных характеристик отдельных переходов использовались одиночные SiV-центры, расположенные в наиболее мелких кристаллитах размером около 200 нм. По числу наблюдаемых линий в спектре идентифицировалось количество SiV-центров в данном наноалмазе. На рис. 2.7а представлен типичный спектр возбуждения люминесценции SiV-центра в одном из таких кристаллитов. Наличие четырех отчетливых пиков подтверждает, что исследуемый кристалл содержит один люминесцирующий SiV-комплекс. Для количественной оценки оптических характеристик спектра каждый пик был аппроксимирован лоренцианом методом Бройдена–Флетчера–Гольдфарба–Шанно (рис. 2.7б). Результаты, представленные в таблице 2.1, находятся в хорошем согласии с теоретическими [99] и экспериментальными [100] данными о тонкой структуре электронных переходов в SiV-центрах. Согласно этим данным, расстояние между парами переходов А–С и В–D составляет 258 ГГц, а между переходами А–В и С–D — 47 ГГц.

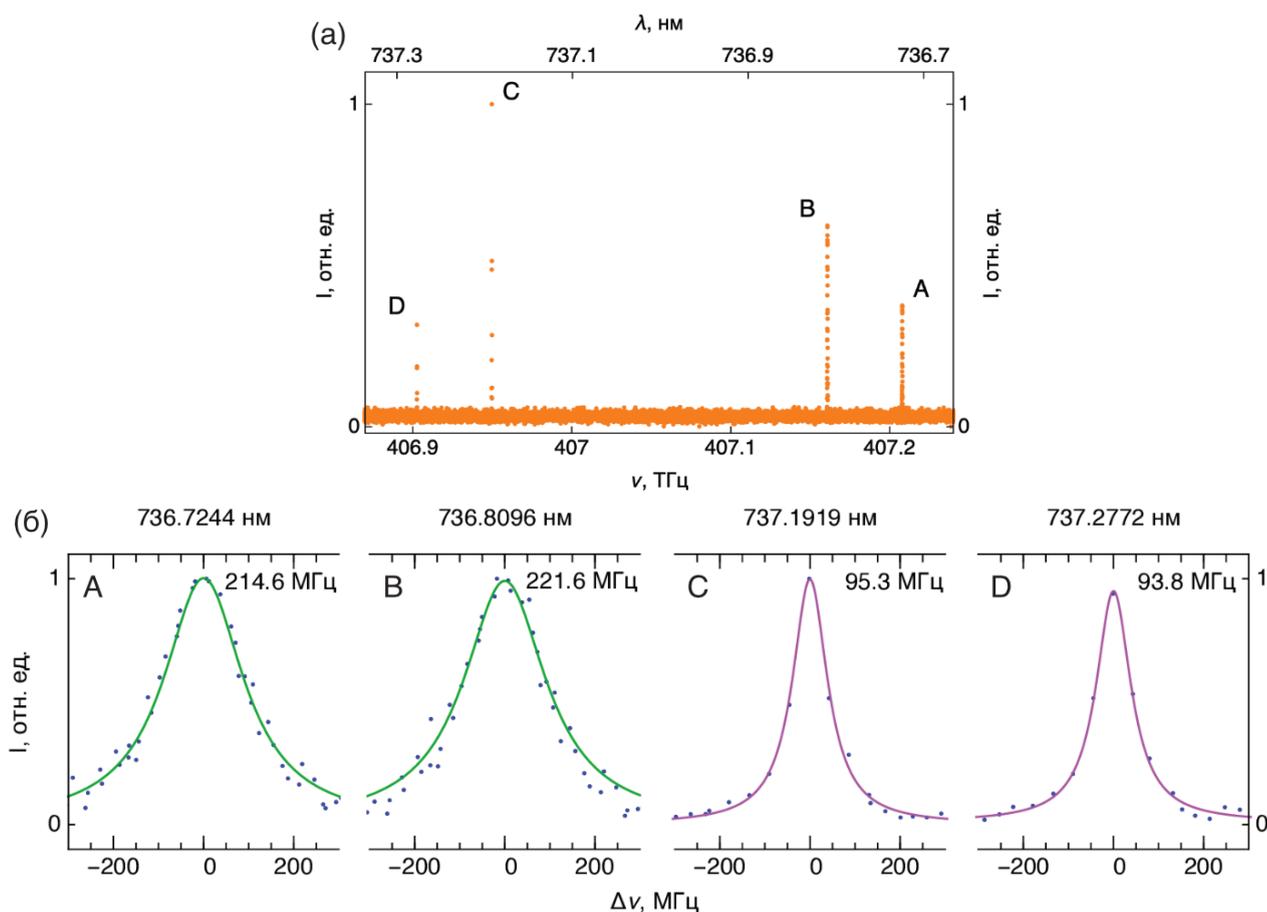


Рисунок 2.7 – Спектры резонансного возбуждения одиночного SiV-центра: (а) полный спектр, (б) четыре пика А-В-С-Д в увеличенном масштабе; в правом верхнем углу показана их ширина на полувысоте.

Отметим, что ширина пика D демонстрирует рекордно малое для известных SiV-содержащих наноалмазов значение в 94 МГц, практически равное Фурье-ограниченной ширине $\Delta\omega = 1/2\pi\tau \approx 93$ МГц, определяемой временем жизни D-перехода $\tau = 1.7$ нс при данной температуре. В работе [101] сообщалось о достаточно узкой ширине переходов SiV-центров в HPNT-алмазах размером 200 нм, синтезированных из нафталина и высоко фторированного графита [102]. При 5 К минимальная ширина SiV-линий составила 354 МГц в режиме длительного накопления. Многократное сканирование с малым временем накопления позволило авторам выявить спектральную диффузию линии в пределах ~ 100 МГц, и тем самым скорректировать ее ширину до 206 МГц. В наноалмазах из адамантана спектральной диффузии SiV-линий не наблюдалось. Более высокое качество структуры “адамантановых” алмазов по сравнению с аналогом, синтезированным из смесей нафталина и фторированного графита, может быть связано с чистотой ростовой среды. Нафталин, являясь ненасыщенным углеводородом, в большей степени склонен к адсорбции неконтролируемых примесей, чем адамантан. Для сравнения также отметим, что наименьшая ширина переходов одиночных SiV-центров в алмазах, синтезированных химическим осаждением из газовой фазы (CVD методом), размером около 300 нм составила примерно 300 МГц при 4 К [103]. Таким образом, наблюдение Фурье-ограниченной ширины линий оптических переходов одиночных SiV-центров в “адамантановых” наноалмазах свидетельствует о более высоком структурном качестве этих алмазов по сравнению с HPNT наноалмазами, синтезированными из других прекурсоров, а также CVD наноалмазами аналогичных размеров.

Наконец, HPNT-наноалмазы, синтезированные из адамантана, оказываются сравнимы по структурному качеству с эпитаксиальными алмазными пленками, выращенными CVD-методом на $\langle 100 \rangle$ -ориентированной HPNT-алмазной подложке [104], для которых ширина переходов составила 352 МГц (А), 409 МГц (В), 136 МГц (С), 119 МГц (D) при 4 К. Тем не менее минимальное неоднородное уширение (≈ 16.6 ГГц) оптических переходов, определенное для ансамблей SiV-центров в исследуемых

алмазах, значительно уступает аналогичному параметру (≈ 5 ГГц), установленному для ансамблей SiV-центров в $\langle 100 \rangle$ -ориентированных эпитаксиальных слоях CVD алмаза [105]. Такое различие может объясняться наличием $\langle 111 \rangle$ -ориентированного направления роста в отдельных алмазных кристаллитах, которое характеризуется значительно большим содержанием структурных дефектов, чем $\langle 100 \rangle$ -направление роста CVD алмазного слоя.

Таблица 2.1 – Результаты аппроксимации: диагональные элементы суть полуширины переходов одиночного SiV-центра, недиагональные – расстояния между каждой из пар переходов.

FWHM, МГц	A	B	C	D	
-	214	47 ГГц	258 ГГц	305 ГГц	A
-	-	221	211 ГГц	258 ГГц	B
-	-	-	95	47 ГГц	C
-	-	-	-	94	D

В заключение, нами было установлено, что наноалмазы, синтезированные из адамантана, демонстрируют самую узкую Фурье-ограниченную ширину линий оптических переходов одиночных SiV-центров при криогенных температурах среди известных SiV-содержащих наноалмазов, полученных HPHT и CVD методами. Малое неоднородное уширение переходов ансамбля SiV-центров обеспечивает высокую спектральную яркость и согласованную температурную зависимость всех центров сразу, обеспечивая максимальную восприимчивость HPHT-частиц к изменениям температуры. Несмотря на это, HPHT-частицы уступают в спектральной яркости комбинированным (HPHT+CVD)-алмазам, которые при той же чувствительности обеспечивают более высокое соотношение сигнал/шум и, как следствие, минимальный эквивалентный тепловой шум.

2.3. Нагревательная способность алмазных микрочастиц различного происхождения

При воздействии лазерного излучения люминесцирующие наночастицы или молекулы могут нагреваться. Такой эффект может привести к ошибочным значениям температуры исследуемого объекта, поскольку измеренные показания будут включать как фактическую температуру окружающей среды, так и добавленный эффект нагрева от самого термометра. Контроль этих свойств особенно важен в биологических приложениях, где даже небольшие колебания температуры могут повлиять на жизнеспособность клеток и других биологических структур. Избыточный локальный нагрев, вызванный самим термометром, может нарушать биохимические процессы, вызывать стресс клеток и даже их повреждение [106]. Тем не менее локальные нагреватели находят применение в таргетированной терапии раковых опухолей (гипертермии), минимизируя повреждение окружающих здоровых тканей. Они также играют ключевую роль в химических и биохимических процессах, где контролируемый локальный нагрев можно использовать для таргетированной активации реакций или их ускорения. Так, в работах [107, 108] сообщалось об управлении емкостными токами ионов, проходящих через мембрану живых клеток, с помощью лазерно-индуцированного нагревания ИК-излучением локального водного объема.

Для корректного использования алмазов в термометрических приложениях была исследована эффективность нагрева алмазных частиц различной природы возбуждающим лазерным излучением с помощью экспериментальной установки описанной в разделе 2.1.2. На первом этапе микроалмазы различной природы, нанесенные на поверхность монокристалла германия, нагревались под действием мощного (>1 мВт) лазерного излучения 473 нм. Эффективность их нагрева оценивалась по спектральному сдвигу БФЛ SiV-центров согласно калибровочным кривым, измеренным для каждого типа частиц в разделе 2.1.3. Алмазные наночастицы прецизионно размещались в фокусе объектива Olympus x50 так, чтобы сигнал SiV-люминесценции достигал максимального значения при времени экспозиции 10 с (рис. 2.8а). При мощностях излучения в диапазоне 10-50 мкВт для всех трех типов частиц не было обнаружено спектрального сдвига, превышающего шумовые флуктуации на уровне 0.002 нм (~ 0.1 - 0.2 °C), поэтому именно эти значения положений БФЛ были

приняты за соответствующие комнатной температуре. По мере увеличения мощности излучения на два порядка комбинированные (НРНТ+CVD)- и CVD-алмазы значительно нагреваются, достигая амплитуд 31.1 °С и 34.9 °С соответственно при 4 мВт. Для НРНТ-алмазов при максимальной мощности излучения температура частицы превысила температуру окружающей среды лишь на 0.5 °С. Отметим, что эффективность нагрева алмазных частиц зависит от теплопроводности локального окружения. В нашем случае тепловой поток через границы алмазной частицы поступает в верхнее полупространство, заполненное воздухом, и в нижнее - в пластину германия. Предполагая размер частицы достаточно малым, эффективная теплопроводность вблизи границы раздела фаз определяется последовательным соединением сопротивлений теплового потока, а значит $\frac{1}{k_{\Sigma}} = \frac{1}{k_{\text{воздух}}} + \frac{1}{k_{\text{германия}}}$. При идеальном тепловом контакте с пластиной германия влиянием воздушной среды можно пренебречь. Однако ввиду того, что частицы не были выращены эпитаксиально на германии, а нанесены из водной суспензии, тепловой контакт между алмазом и подложкой может быть нарушен наличием (а) нанометрового водяного и (б) воздушного слоев.

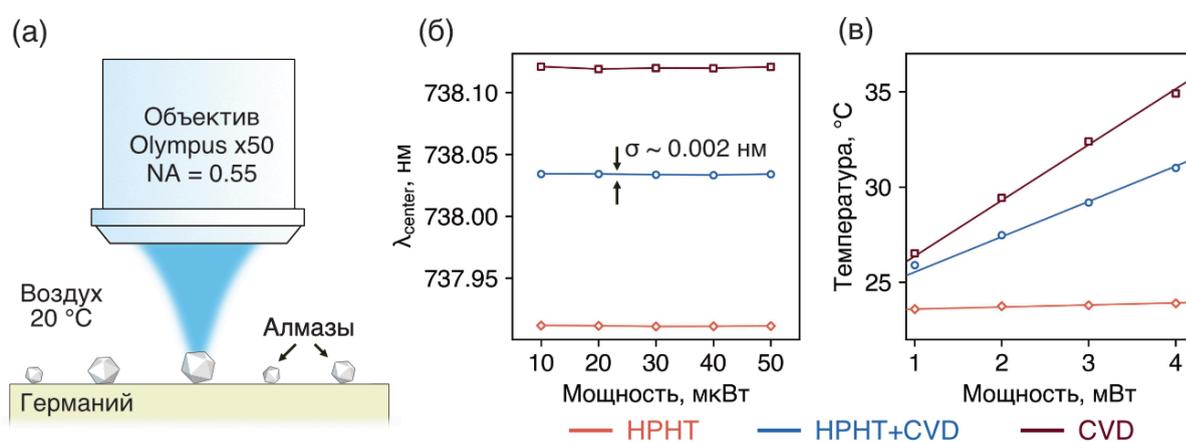


Рисунок 2.8 – (а) Схема измерений амплитуды локального нагрева алмазных микрочастиц. (б)-(в) Зависимость спектрального положения (б) и температуры локального нагрева (в) от мощности лазерного излучения 473 нм при малых и больших значениях соответственно. Аппроксимация зависимостей на рисунке (в) осуществлялась линейной функцией вида $T(P) = k \cdot P + 23$.

С целью уменьшения влияния сред с большим контрастом теплопроводностей на измеряемую эффективность нагрева частиц было изучено поведение этой

характеристики для алмазов в водной среде. Для этого каждая из частиц фиксировалась на торце субмикронного капилляра по одной из следующих процедур:

- 1) На подложку наносили каплю дистиллированной воды объемом 5 мкл. Механически перемешивали алмазные частицы до образования водной суспензии наноалмазов. К поверхности капли по нормали подводили стеклянный капилляр, во внутренний канал которого под действием капиллярных сил втягивался столб воды с алмазной наночастицей.

Нанесенная капля воды объемом 5 мкл, растекаясь по подложке, образовывала круглое пятно радиусом $r \approx 2$ мм, при этом концентрация частиц была равной $n = 10^6$ частиц/мкл, а эффективный объем воды, содержащий одну частицу $V_{eff} = 1/n = 10^{-6}$ мкл. Объем водяного столба V_{water} , проникающего в капилляр, определялся экспериментально с помощью камеры оптического микроскопа: для стеклянного капилляра $V_{water} \approx 1.5 \cdot 10^{-7}$ мкл. Как результат

$$\frac{V_{water}}{V_{eff}} = 0.15 \ll 1,$$

поэтому вероятность попадания внутрь капилляра одновременно нескольких частиц мала, а для успешного встраивания хотя бы одной частицы необходимо проводить процедуру смачивания капилляра несколько раз, проводя контроль попадания в нее наноалмаза по сигналу люминесценции SiV центров.

- 2) Локализация алмазной частицы на торце микрокапилляра осуществлялась в поле зрения оптического микроскопа с использованием объектива Olympus x50 (NA=0.55) путем подхвата частиц, расположенных на подложке со слабой адгезией.

Фиксация алмазной частицы на торце стеклянного микрокапилляра достигалась его подплавлением в микрокузнице MF2 Narishige.

Система алмаз-микрокапилляр помещалась емкость с дистиллированной водой, где под действием мощного (>1 мВт) лазерного излучения 473 нм исследовалась эффективность нагрева алмазных частиц различного типа. Рис. 2.9б иллюстрирует характер изменения температуры алмаза при повышении мощности лазерного излучения в интервале 1-4 мВт. НРНТ-частицы даже при мощностях >4 мВт

практически не нагреваются, в то время как CVD- и (HPHT+CVD)-частицы уже при небольшом повышении мощности до 1 мВт нагреваются на 6.5 и 4 °С соответственно.

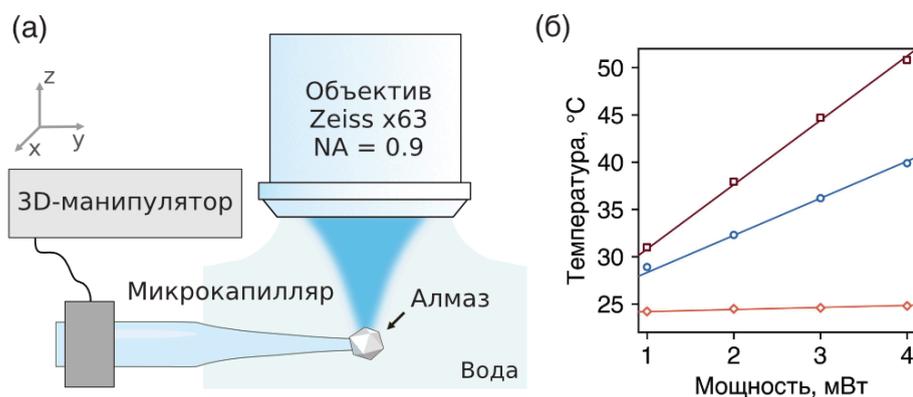


Рисунок 2.9 – (а) Схема измерений амплитуды локального нагрева алмазных микрочастиц на торце микрокапилляра в водной среде. (б) - Зависимость температуры локального нагрева от мощности лазерного излучения 473 нм. Аппроксимация осуществлялась линейной функцией вида $T(P) = k \cdot P + 24$.

Таким образом, наибольшую эффективность нагрева 6.5 °С/мВт демонстрируют поликристаллические алмазные частицы, синтезированные CVD-методом, ввиду повышенного поглощения лазерного излучения sp^2 -гибридизованным углеродом в межзерновом пространстве. На основании полученных результатов приходим к заключению, что HPHT-алмазы оптимальны для использования их в качестве температурных сенсоров, тогда как CVD-алмазы наиболее пригодны в качестве контролируемых локальных нагревателей.

2.4. Уровень шума алмазного термометра на основе (HPHT+CVD)-частиц различного размера

Уровень шума термометра и теплового эквивалентного шума измеряемой величины представляет собой важную интегральную характеристику, которая выражает масштаб погрешности измерений температуры за единицу времени. В качестве критерия уровня шума принимается минимальное изменение температуры, превышающее двойное среднеквадратичное отклонение измерений, умноженное на корень из времени измерения ($\text{мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$). Для алмазных термометров точность во многом зависит от 1) спектрального разрешения и 2) соотношения сигнал/шум в регистрируемом спектре,

что, в свою очередь, определяется интенсивностью люминесценции оптически активных центров. С уменьшением размера алмазных частиц уменьшается и число люминесцирующих центров, что приводит к снижению интенсивности сигнала и, как следствие, к увеличению эквивалентного теплового шума и погрешности температурных показаний. В условиях наномасштабного разрешения особенно важно учитывать данный эффект, поскольку шумовые характеристики могут значительно возрасти. Контроль масштабов погрешности измерений при миниатюризации термометров становятся критически важными для обеспечения надежности и точности алмазных термометров, особенно в задачах биомедицинского применения, где даже незначительные колебания температуры могут оказывать существенное влияние на биологические процессы.

Измерения шумовых характеристик проводилось с использованием наиболее ярких и в то же время чувствительных к температуре комбинированных (HPHT+CVD)-алмазов с помощью экспериментальной установки, показанной на рис. 2.10.

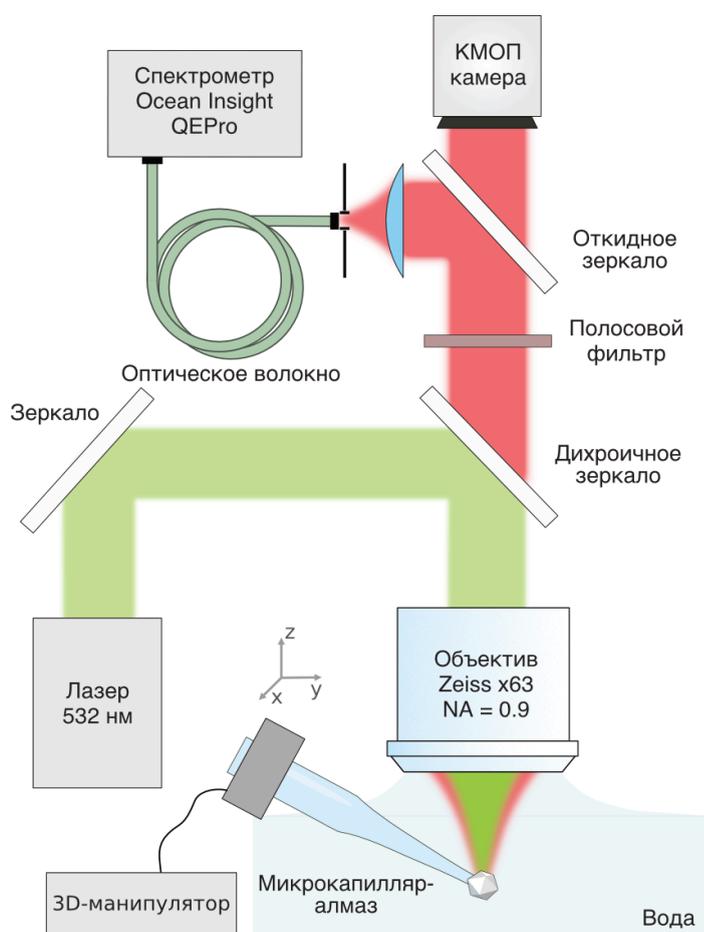


Рисунок 2.10 – (а) Схема экспериментальной установки для оценки погрешности измерений алмазного термометра в водной среде.

Алмазные частицы различных размеров фиксировались на торце микрокапилляра (см. раздел 2.3) и размещались в водной среде. Люминесценция центров SiV-центров возбуждалась лазерным источником на длине волны 532 нм с помощью объектива Mitutoyo ($\times 100$, $NA = 0.7$) и регистрировалась спектрометром Ocean Insight QEPro. Для каждой алмазной наночастицы измерялась последовательность из $n = 10$ спектров при длительности накопления от 2 мс до 1 с, откуда извлекалась температура и определялось среднеквадратическое отклонение (рис. 2.12).

На первом этапе исследовалась зависимость погрешности измерений температуры для алмазов различных размеров (150 нм, 250 нм, 500 нм, 900 нм), РЭМ-изображения которых до фиксации на микрокапилляре представлены на рис. 2.11.

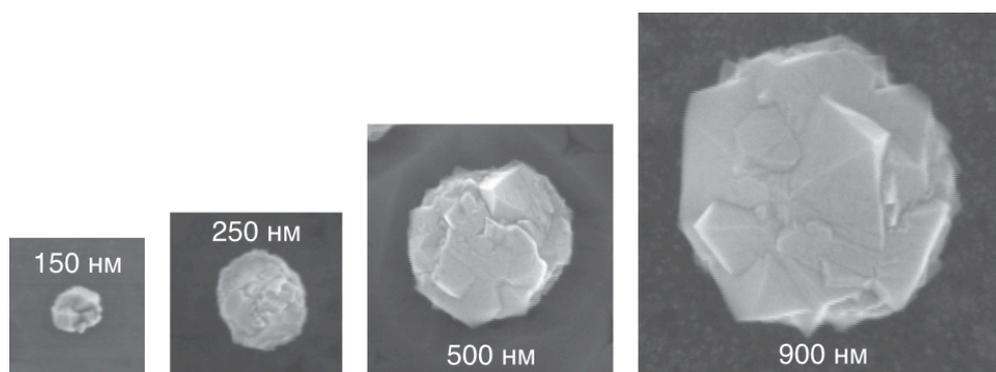


Рисунок 2.11 – РЭМ-изображения (HPHT+CVD)-алмазов различных размеров.

Для каждого из исследуемых размеров частиц измерялась погрешность считывания температуры в зависимости от мощности возбуждающего излучения (рис. 2.13б). По мере повышения мощности уровень шума для всех частиц уменьшается, достигая минимального значения $38 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$. Обнаружено, что все частицы начинают нагреваться при мощности излучения $>0.4 \text{ мВт}$. При этом порог нагревания, в качестве которого мы выбрали увеличение регистрируемой температуры на $0.2 \text{ }^\circ\text{C}$, для частиц разного размера оказался различным — 0.5 мВт и 0.9 мВт для алмазов размером 900 нм и 150 нм соответственно. На рис. 2.13 серая линия разграничивает области, в которых алмазные частицы работают как термометры (голубой) и как термометры-нагреватели (розовый). Различия в порогах нагревания объясняются уменьшением интегральной оптической мощности, приходящуюся на занимаемую алмазом площадь относительно

фокального пятна. Другой возможной причиной является сниженное содержание аморфной sp^2 -фазы частицами меньшего размера, поскольку в процессе CVD-доразивания аморфный углерод встраивается преимущественно в межзерновое пространство и его содержание убывает кубически с диаметром d алмазной частицы.

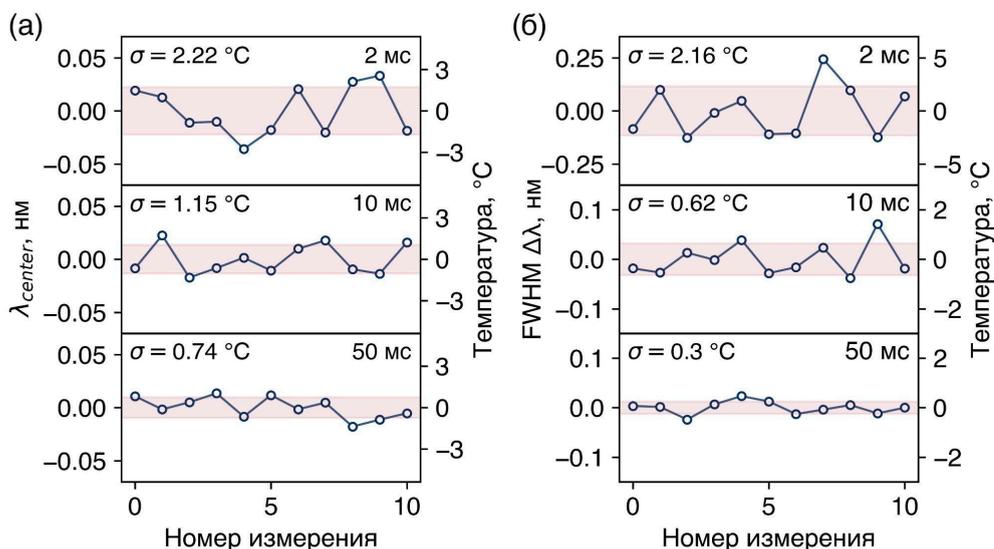


Рисунок 2.12 – Определение уровня шума показаний термометра на основе алмазов размером 250 нм при мощности возбуждения 1.5 мВт и времени накопления 2 мс, 10 мс, 50 мс: (а) спектрального положения и (б) ширина на половине высоты.

На следующем этапе исследовался уровень шума для алмазных частиц всех размеров, функционирующих в режиме термометра, т.е. в отсутствие нагрева, индуцированного возбуждающим лазерным излучением (рис. 2.13а). Было обнаружено, что частицы размером 500 и 900 нм соответствуют наиболее высоким показаниям точности $\sigma_{500} = 110 \text{ мК}\cdot\text{Гц}^{-1/2}$ и $\sigma_{900} = 52 \text{ мК}\cdot\text{Гц}^{-1/2}$. При уменьшении размера термометра погрешность считывания температуры увеличивается, достигая максимального значения $\sigma_{150} = 360 \text{ мК}\cdot\text{Гц}^{-1/2}$ для кристалла размером 150 нм. Такое поведение связано с уменьшением количества центров окраски в алмазе, приводящему к повышению шума в детектируемом спектре.

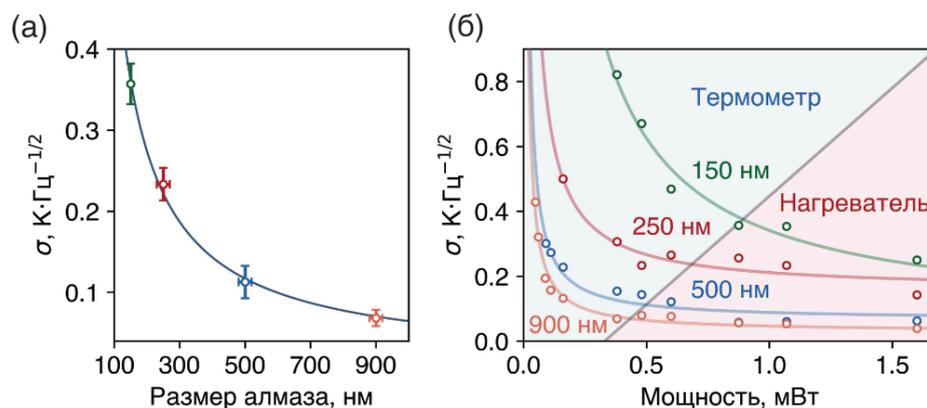


Рисунок 2.13 – (а) Зависимость уровня шума показаний термометра от размера алмазной частицы. Измерения проводились в отсутствие индуцированного лазерным возбуждением нагрева. (б) Зависимости точности показаний термометра от мощности возбуждающего излучения для алмазных частиц размером 150 нм (зеленый), 250 нм (красный), 500 нм (синий) и 900 нм (оранжевый). Затененные области соответствуют двум различным функциональным состояниям термометра – 1) режим измерения температуры (голубой) и 2) режим контролируемого нагрева (розовый).

2.5. Выводы к главе 2

Определена температурная чувствительность ширины и положения БФЛ люминесценции SiV-центров в алмазных частицах, синтезированных различными методами. Установлено, что температурная чувствительность зависит от способа синтеза алмазов. Наибольшую температурную чувствительность демонстрируют частицы, синтезированные методом высоких давлений и температур (НРНТ) из адамантана ($0.013 \text{ нм}/^\circ\text{C}$ и $0.05 \text{ нм}/^\circ\text{C}$ по положению и ширине соответственно). Эффект объясняется высоким структурным качеством адамантановых наноалмазов.

Исследованы спектральные характеристики адамантановых НРНТ алмазов размером 200 нм и 1-2 мкм, содержащих как одиночные SiV-центры, так и их ансамбли. Определены энергетические характеристики дублетной структуры основного и возбужденного состояний оптически активного электрона SiV-центра: разрешенные в дипольном приближении оптические переходы А-В-С-Д попарно отстоят друг от друга на 258 ГГц (А-С, В-Д) и 47 ГГц (А-В, С-Д). Установлено, что при резонансном возбуждении люминесценции одиночных SiV-центров в наноалмазах размером 200 нм

наименьшая ширина линии отдельного оптического перехода Фурье-ограничена и составляет 94 МГц, что является рекордным значением среди известных наноалмазов, синтезированных HPNT- и CVD-методами. Для ансамблей SiV-центров ($\sim 10^3$ в одной алмазной частице размером 1-2 мкм) минимальное неоднородное уширение оптических переходов, равное 50 ГГц, объясняется отсутствием локальных напряжений в алмазной решетке и высоким структурным качеством адамантановых HPNT-алмазов, что обеспечивает согласованное и синхронное температурное изменение спектральных характеристик для всех SiV-центров в ансамбле. Полученные результаты ставят адамантановые HPNT-наноалмазы, содержащие SiV-центры, в ряд наиболее перспективных материалов для высокоточной криогенной термометрии.

Обнаружено, что поликристаллические алмазные частицы, синтезированные CVD методом и содержащие люминесцирующие SiV-центры, сочетают в себе свойства как термометра, так и эффективного нагревателя. Под воздействием лазерного излучения с длиной волны 473 нм эффективность нагревания в водной среде составила 6.5 °C/мВт. На основе полученных результатов предложен новый термометрический подход, основанный на использовании одиночной алмазной CVD-частицы для управляемого локального нагрева, что открывает новые возможности в решении широкого класса биомедицинских задач, в частности, в таргетированной тепловой стимуляции живых клеток.

Наконец, исследованы шумовые характеристики термосенсоров на основе (HPNT+CVD)-частиц в зависимости от их размера и мощности оптического излучения. Для самых больших частиц размером 900 нм, функционирующих в режиме термометра, уровень шума оказался минимальным $52 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$, в то время как в режиме нагревателя данная величина составила $38 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$. С уменьшением размера частиц вплоть до 150 нм порог нагревания увеличивался в 1.8 раза, а уровень шума возрастал до $360 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$ (термометр) и $250 \text{ мК} \cdot \text{Гц}^{-1/2}$ (нагреватель). Полученные результаты ставят (HPNT+CVD)-алмазы в ряд наиболее перспективных материалов для наноразмерного считывания температуры и нагревания.

Глава 3. Пространственно-временные температурные профили наноразмерных тепловых источников

Наноагрегаторы широко применяются в биомедицине для локального нагрева органелл, клеток и тканей, а также управления тепловыми режимами в биологических объектах. Для повышения их эффективности необходимы точные данные о температурном распределении и динамике теплопередачи.

В данной главе представлены результаты экспериментальных и теоретических исследований пространственно-временных профилей наноразмерных тепловых источников. Описана методика картирования распределения температуры микронного теплового источника в водной среде с использованием люминесцентных алмазных наночастиц, исследованных в предыдущей главе. Представлены данные о динамике нагрева и охлаждения алмазных термометров-нагревателей в водной среде, а также анализ зависимости этих характеристик от размера нагревателей (от 200 нм до 2 мкм). На основе полученных результатов обсуждаются перспективы применения таких источников тепла в задачах биомедицины и других областях науки.

3.1. Картирование пространственного распределения температуры микронного теплового источника

Измерение температуры с субмикронным пространственным разрешением осуществлялось с использованием одиночной алмазной частицы размером 500 нм, закрепленной на входе внутреннего канала стеклянного микрокапилляра (рис. 3.1) по протоколу, описанному в разделе 2.3. Алмазные частицы были получены CVD-методом в режиме спонтанной нуклеации [96]. Образованный алмазный термометр позиционировался в пространстве с помощью микроманипулятора (ММ) Sensapex uMr-4 с точностью около 50 нм. В качестве стратегии люминесцентной термометрии была выбрана температурная зависимость спектрального положения максимума БФЛ SiV-люминесценции. Считывание и обработка данных о температуре выполнялись с использованием коммерческого конфокального рамановского/люминесцентного спектрометра (HORIBA) и описанного ранее алгоритма определения температуры по

спектральному положению БФЛ. Картирование температуры с субмикронным разрешением осуществлялось на примере распределения вблизи локального нагревателя, размещенного в водной среде. Нагреватель был сконструирован аналогично термометру и представлял собой небольшой агрегат из алюминиевых наночастиц размером 100 нм на входе во внутренний канал другого микрокапилляра. Для его точного позиционирования в пространстве и выбора удобной экспериментальной геометрии использовался аналогичный ММ.

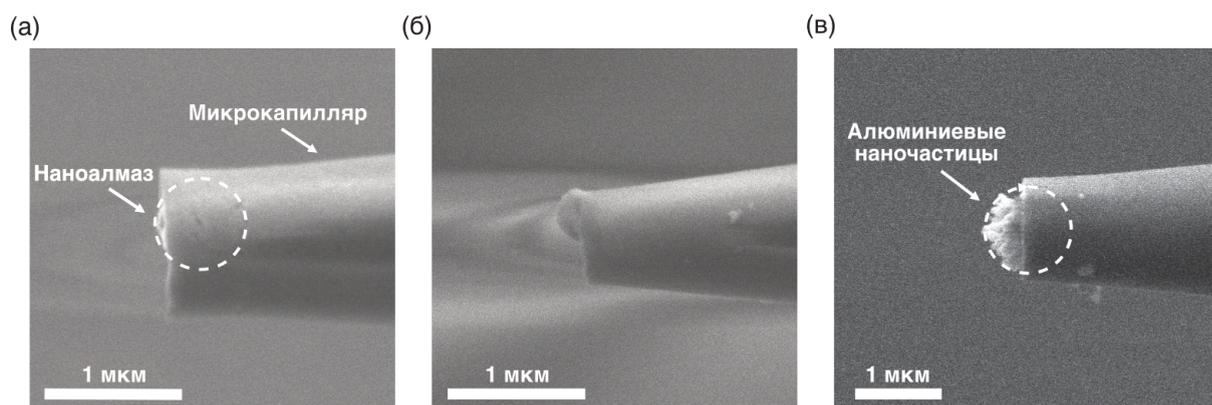


Рисунок 3.1 – РЭМ-изображения термометра с алмазным кристаллом на торце (а) и во внутреннем канале микрокапилляра (б) и алюминиевого нагревателя (в).

Термометр и нагреватель взаимно перпендикулярно размещались в кювете с водой под некоторыми углами к лазерному пучку (рис. 3.2). Для возбуждения люминесценции SiV-центров и нагрева алюминиевых наночастиц использовался один лазерный источник с длиной волны 473 нм. Непрерывное лазерное излучение проходило через водно-иммерсионный объектив ($NA = 0.9$) и фокусировалось на агрегате из алюминиевых наночастиц, вызывая его нагрев. SiV-люминесценция возбуждалась на «хвосте» гауссового распределения интенсивности лазерного пучка.

Положение нагревателя оставалось фиксированным на протяжении всего эксперимента, что обеспечивало постоянный температурный градиент в его окрестности. Зависимость температуры от расстояния до нагревателя измерялась путем перемещения термометра вдоль оси микрокапилляра с нагревателем с шагом 0.2–1 мкм. На каждом шаге регистрировался спектр люминесценции (рис. 3.3а), из которого определялось спектральное положение БФЛ люминесценции SiV-центров.

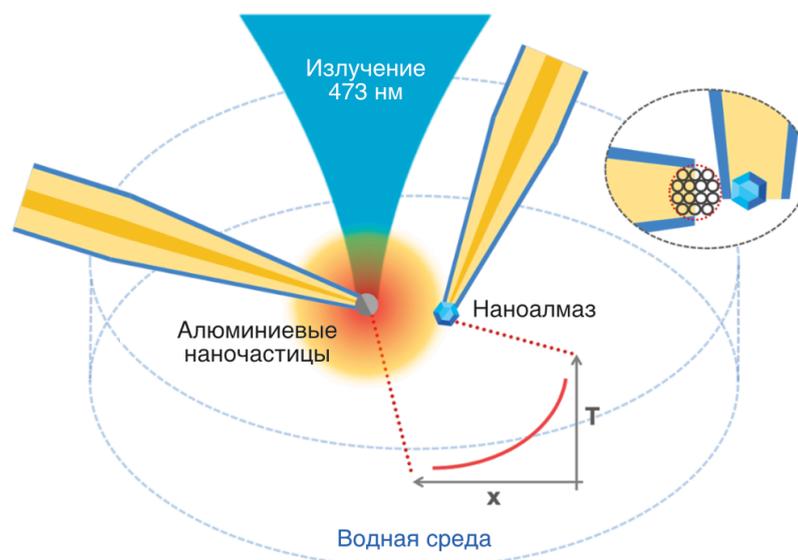


Рисунок 3.2 – Схема оценки распределения температуры вблизи локального нагревателя: взаимное расположение термометра, нагревателя и перетяжки пучка возбуждающего излучения в кювете с водой.

На рис. 3.3б представлена зависимость спектрального положения БФЛ от расстояния X между нагревателем и термометром. Предварительная калибровка люминесценции алмаза от температуры с использованием термостата позволила преобразовать смещение максимума люминесценции в температуру алмазной частицы в заданной точке. Полученные экспериментальные данные позволили выявить следующие ключевые особенности:

1. Алмазная частица диаметром 500 нм воспроизводимо фиксирует изменения температуры на $2.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ на расстоянии 200 нм (вблизи $X = 2\text{ мкм}$).

2. Термометр способен регистрировать высокие температурные градиенты $\Delta T/\Delta X$ на субмикронном масштабе. Например, падение $\Delta T \approx 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ наблюдается при $\Delta X \approx 500\text{ нм}$ вблизи $X = 1\text{ мкм}$, а в двух ближайших к нагревателю координатах при $\Delta X \approx 200\text{ нм}$ изменение температуры составляет $\Delta T \approx 8\text{ }^{\circ}\text{C}$, что соответствует градиенту $40\text{ }^{\circ}\text{C/мкм}$.

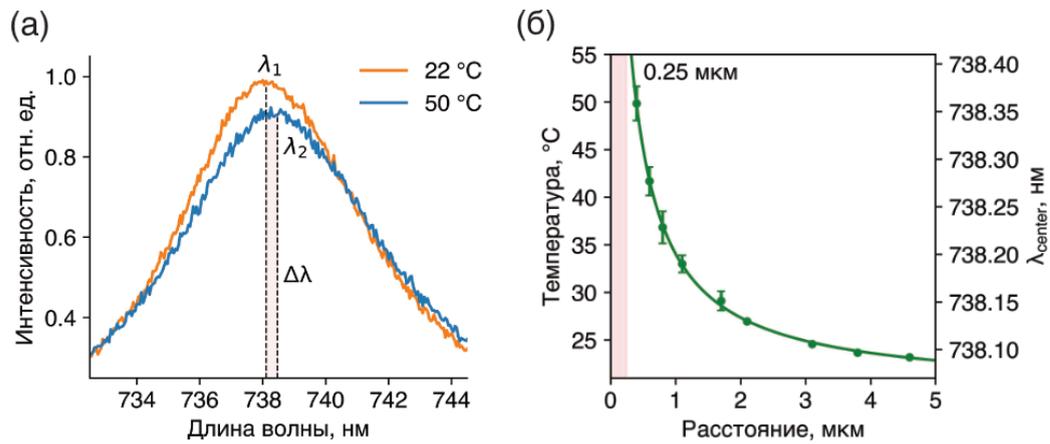


Рисунок 3.3 – (а) Спектры люминесценции алмазного термометра, измеренные на различных расстояниях от нагревателя; положения максимумов БФЛ SiV-центров λ_1 и λ_2 отвечают температурам 22 °C и 50 °C, соответственно. (б) Зависимость положения БФЛ SiV-центров и температуры от расстояния X между поверхностью нагревателя и центром термометра; пунктирная линия при $X = 0.25$ мкм соответствует расстоянию между поверхностью нагревателя и центром термометра в момент их соприкосновения. Для каждого зеленого значения выполнено 7 измерений. Соответствующие погрешности (стандартные отклонения) минимальны (0.2 °C) на расстояниях 2–5 мкм и достигают максимума 2.5 °C при $X = 0.41$ мкм.

Когда термометр и нагреватель соприкасаются, температура достигает максимального значения в 50.8 °C. Здесь и далее X обозначает расстояние между поверхностью нагревателя и центром термометра, которое составляет около 0.41 мкм. Данное значение является суммой толщины стенки микрокапилляра нагревателя (≈ 0.16 мкм) и радиуса алмазного кристалла (≈ 0.25 мкм), как показано на вставке к рис. 3.2.

Влияние алмазной наночастицы, искажающей температурное поле нагревателя, на точность измерения пространственного распределения температуры анализировалось численно в программном пакете COMSOL Multiphysics. Геометрия моделируемой системы "нагреватель-термометр" выбиралась приближенной к экспериментальной (рис. 3.4). В качестве нагревателя выступала алюминиевая сфера радиусом $R_1 = 500$ нм, что ограничивалось входным диаметром внутреннего канала микропипетки (800 нм). Термометр был представлен алмазной сферой с радиусом $R_2 = 250$ нм. Оба объекта

погружены в куб воды с длиной ребра 40 мкм, центр которого совпадает с центром нагревателя. Границы куба термически изолированы.

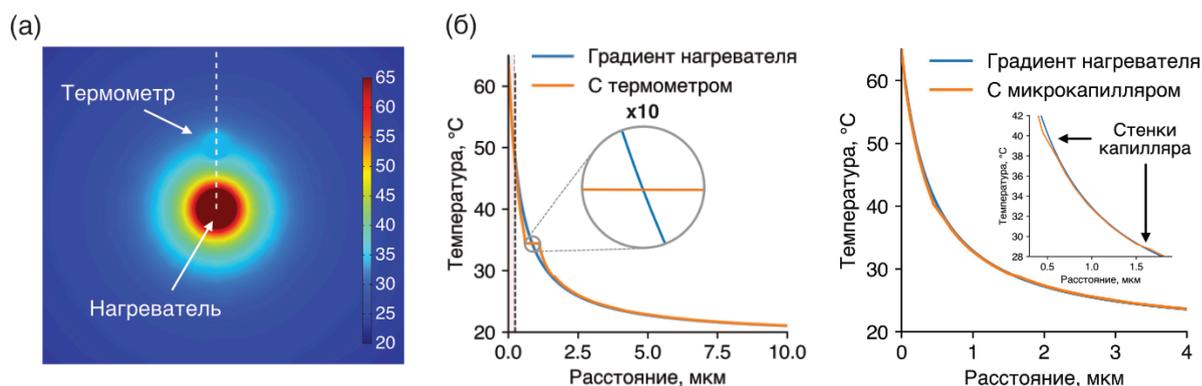


Рисунок 3.4 – (а) Карта распределения температуры в модельной системе "нагреватель-термометр" (COMSOL MultiphysicsX v. 5.4). (б) Рассчитанная зависимость температуры $T(X)$ без термометра (синяя кривая) и с термометром (оранжевая кривая), центр которого находится на расстоянии $X = 0.85$ мкм от поверхности нагревателя. Зависимость $T(X)$ рассчитывалась вдоль траектории, показанной пунктирной линией на (а). (в) Вычисленные зависимости температуры $T(X)$ без учета пипетки (синяя кривая) и с пипеткой толщиной 1.1 мкм (оранжевая кривая), центр которой находится на расстоянии $X = 0.85$ мкм от поверхности нагревателя. Присутствие стенок капилляра оказывает лишь незначительное влияние на распределение температуры внутри внутреннего канала пипетки (менее 0.2 °C).

Для моделирования распределения температурного поля вблизи нагревателя необходимо знать его стационарную температуру T_h на поверхности. Значение T_h определялось экспериментально с использованием в качестве эталона температуры кипения воды. Для этого мощность входного лазерного излучения P увеличивалась до появления вблизи погруженного в воду нагревателя воздушных пузырьков. Было установлено, что температура нагревателя $T_{boil} = 100$ °C соответствовала $P_0 = 4.3$ мВт. На следующем этапе мощность излучения уменьшалась до значения $P_0 = 2.4$ мВт. С учетом того, что температура воды в экспериментальной камере $T_{RW} = 22$ °C, температура нагревателя составила 65 °C. Пространственное распределение температурного поля сферического источника тепла $T(X)$ определяется решением

стационарного уравнения теплопроводности в сферической системе координат и описывается выражением:

$$T(X) = T_0 + (T_h - T_0) \frac{R_1}{(R_1 + X)}, \quad (3.1)$$

где T_0 — температура вдали от нагревателя (температура экспериментальной камеры, в наших экспериментах $T_0 = 22$ °С, R_1 — радиус нагревателя, X — расстояние до поверхности нагревателя. Зависимость $T(X)$ представлена синей кривой на рис. 3.4б. Размещение алмазного термометра рядом с нагревателем вызывало нарушение температурного поля вблизи термометра, что видно на карте распределения температуры (рис. 3.4а). Отметим, что и стеклянные стенки микропипеток также могут оказывать влияние на распределение температуры вблизи нагревателя. Однако, учитывая незначительную разницу в теплопроводности стекла (1.1 Вт/м·К) и воды (0.65 Вт/м·К) [109], данным эффектом можно пренебречь (рис. 3.4в). По этой причине присутствие стенок стеклянного капилляра в модели не учитывалось.

Смоделированный профиль распределения температуры $T(X)$ при положении термометра на расстоянии $X = 0.85$ мкм от нагревателя представлен на рис. 3.4б оранжевой кривой. Температура рассчитывалась вдоль траектории, показанной на рис. 3.4а белой штриховой линией. Распределение $T(X)$ отклоняется от синей кривой вблизи координат термометра: температура снижается перед термометром и увеличивается за ним. Внутри алмазной частицы перепад температуры составляет всего 0.007 °С. Температурное плато в алмазной частице объясняется исключительно высокой теплопроводностью алмаза (~ 20 Вт/см·К), которая на три порядка превышает теплопроводность воды. Температуры, рассчитанные на расстоянии 0.85 мкм с учетом наличия алмаза и без него, практически совпадают. Таким образом, выдающаяся характеристика алмаза — его высокая теплопроводность — позволяет практически исключить влияние размера термометра на точность измерения температуры даже при температурных градиентах до 40 °С/мкм. Следствием этого является способность термометров на основе теплопроводных материалов точно регистрировать температуру тепловых источников, размер которых значительно меньше термометра. В таком случае тепловая энергия нагревателя передается алмазной частице через область контакта с ним, а не в окружающую среду с более высоким термосопротивлением. Тем не менее

минимальный размер источника ограничивается его мощностью и тепловой емкостью термометра.

На рис. 3.5а представлены сравнения смоделированных распределений температуры $T(X)$ без термометра (синяя кривая) и с термометром (оранжевые точки), а также экспериментальные данные, совпадающие с рис. 3.3б (зеленые точки). Видно, что по мере приближении термометра к нагревателю и увеличении температурного градиента возникает систематическая ошибка в измерениях температуры. Эта ошибка связана с конечными размерами термометра и сильным температурным градиентом (>20 °С/мкм). Расчеты показывают, что данная ошибка может быть значительно снижена за счет уменьшения размера алмазной частицы до 100 нм (рис. 3.5б). Различие между рассчитанными и экспериментальными показаниями термометра может быть объяснено возможной неточностью в определении (а) размеров алмаза и (б) температуры нагревателя, а также отличием реальной формы нагревателя и термометра от сферической.

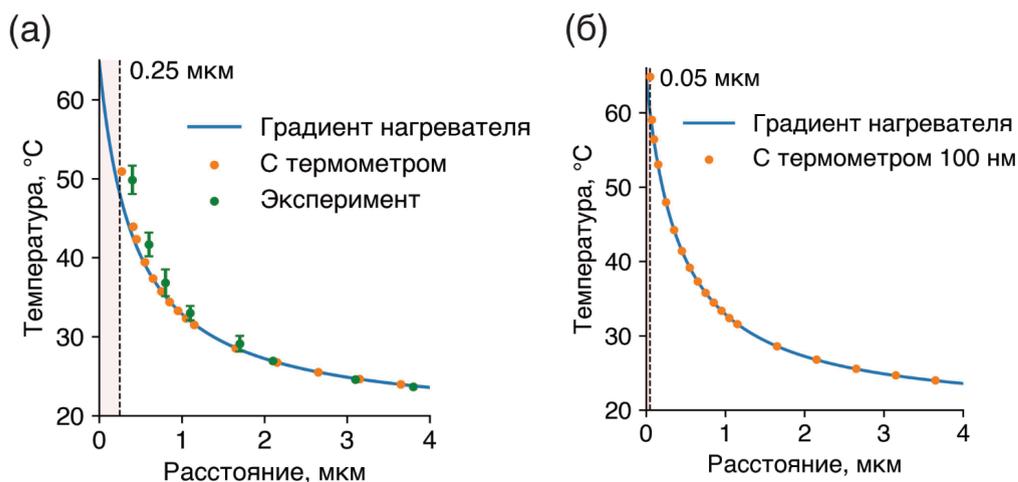


Рисунок 3.5 – (а) Зависимость температуры $T(X)$ без термометра (синяя кривая), рассчитанные показания термометра (оранжевые точки) и экспериментальные данные (зелёные точки). Для каждого зеленого значения выполнено 7 измерений. Соответствующие погрешности (стандартные отклонения) минимальны (0.3 °С) на расстояниях 2–5 мкм и достигают максимума (2.5 °С) при $X = 0.41$ мкм. (б) Рассчитанная зависимость температуры $T(X)$ без термометра (синяя кривая) и показания алмазного термометра размером 100 нм (оранжевые точки).

3.2. Динамика установления температуры алмазных частиц различных размеров в локальных водных объемах

Измерение временных параметров установления термодинамического равновесия с внешней средой проводилось в оптическом микроскопе, схема которого представлена на рис. 3.6, с использованием в качестве нагревателей комбинированных (HPHT+CVD)-алмазных частиц размером от 200 нм до 2 мкм.

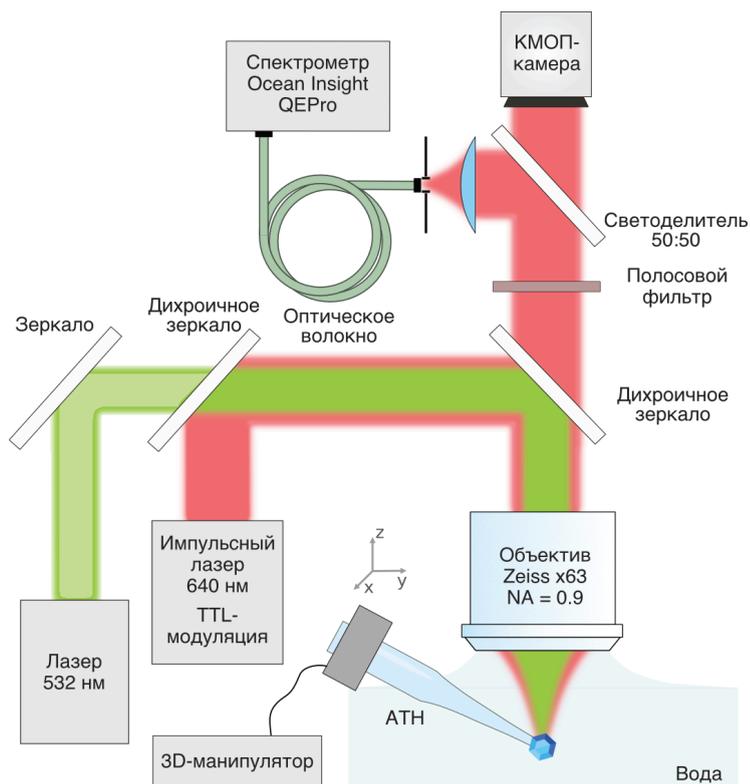


Рисунок 3.6. Схема экспериментальной установки для измерения динамики нагрева и остывания алмазных частиц.

Каждая из частиц заданного размера фиксировалась на торце микрокапилляра, который прецизионно размещался относительно перетяжки лазерного излучения. Для возбуждения люминесценции SiV-центров и нагревания алмазных наночастиц использовались два лазерных источника - непрерывный с длиной волны 532 нм и TTL-модулированный импульсный лазер с длиной волны 640 нм, который нагревает образец. Свет, собранный через объектив Zeiss x63 с числовой апертурой $NA = 0.9$, проходит через систему дихроичных зеркал и полосовой фильтр. Полученный сигнал регистрируется с помощью спектрометра Ocean Insight QEPro. Для высокоточной

пространственной манипуляции капилляром в поле зрения КМОП-камеры используется микроманипулятор Sensapex uMr-4. Измерение времен нагревания и остывания алмазных частиц осуществлялось по двум разным сценариям, общей чертой которых являлся нагрев до температуры заданного уровня с помощью оптических импульсов прямоугольной формы. Для каждого из алмазных термометров-нагревателей предварительно измерялась зависимость температуры нагревания от мощности 640 нм лазера, оперирующего в непрерывном режиме с целью выявления максимально достижимых температур.

На первом этапе измерялись времена нагрева алмазных частиц в водной среде под воздействием только импульсного лазерного излучения с длиной волны 640 нм по сценарию, показанному на рис. 3.7. Подача серии оптических импульсов с длительностью τ_{pulse} на нагреватель, приводит к повышению температуры частицы и люминесцентному отклику SiV-центров. Согласно приведенным в литературном обзоре оценкам (см. раздел 1.1) мы ожидаем, что масштаб времен установления термодинамического равновесия $\tau_{heating/cooling}$ для субмикронных частиц находится в микросекундном диапазоне и значительно превышает время единичного акта испускания фотонов SiV-люминесценции, т.е. время жизни $\tau_{SiV} \approx 1$ нс [104]. Таким образом, малое операционное время термочувствительных центров приводит к считыванию температуры в узком временном бине более длительного процесса нагревания. По этой причине регистрируемая температура T_{reg} является кумулятивным средним временного профиля температуры $\Delta T_{heating}(t)$ за период светового импульса и определяется выражением:

$$T_{reg}(\tau_{pulse}) = \frac{1}{\tau_{pulse}} \int \Delta T_{heating}(T_{max}, t) dt + T_0, \quad (3.2)$$

где T_{max} - максимальная температура нагревания частиц при непрерывном излучении, T_0 - температура окружающей среды.

Распространение тепла описывается уравнением теплопроводности, которое для однородной среды имеет следующий вид:

$$\kappa \nabla^2 T + \frac{dq}{dt} = c \frac{\partial T}{\partial t}. \quad (3.3)$$

Применимость диффузионного уравнения теплопроводности для тепловых процессов на наномасштабе требует обоснования. Диффузионное уравнение справедливо, если средняя длина свободного пробега (ДСП) теплоносителя меньше характерного размера системы. В твердых телах ДСП может достигать десятков нанометров и более, поэтому тепловой поток в наночастицах с размерами, сопоставимыми или меньшими этой длины, не может быть описан уравнением (3.3). С другой стороны, в аморфных твердых телах и жидкостях из-за отсутствия кристаллической структуры ДСП крайне мала и сопоставима с масштабом межатомных расстояний. Тем не менее, согласно результатам молекулярно-динамического моделирования, тепловой поток в жидкостях может быть успешно описан диффузионным уравнением теплопроводности даже на наномасштабах.

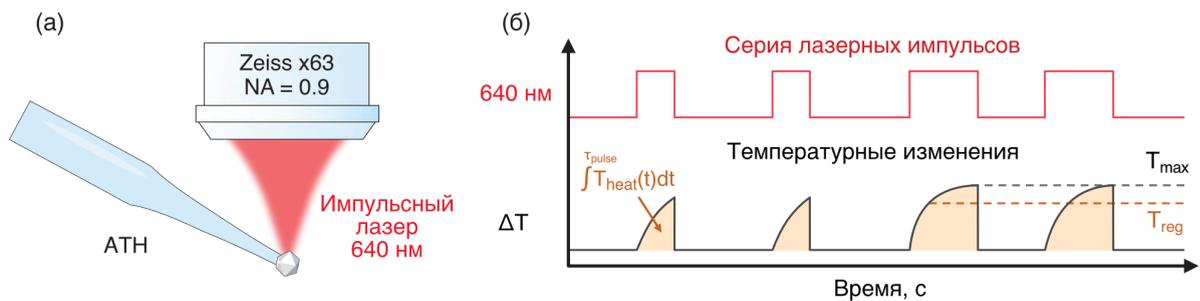


Рисунок 3.7. Измерение времен нагрева алмазных частиц в водной среде: (а) - оптическая схема; (б) - сценарий измерений: температура считывается только в присутствии света.

В работе Кеблинского и соавторов [110] было получено решение уравнения 3.3 для температурного поля, возникающего при непрерывном нагреве одиночной сферической частицы в области за ее пределами, при условии постоянства теплового потока на поверхности частицы. Временной профиль изменения температуры на поверхности частицы описывается выражением:

$$T_{heating}(\Delta T_{max}, t) = T_0 + \Delta T_{max} (1 - e^{-t/\tau_{heating}} \cdot \operatorname{erfc}(\sqrt{t/\tau_{heating}})), \quad (3.4)$$

где T_0 - температура вдали от наночастицы, $\tau_{heating} = \frac{r_{diamond}^2}{\alpha}$ - время достижения частицей локального равновесия со средой (далее - время нагревания) при нагревании

до стационарной температуры T_{max} , α - коэффициент температуропроводности среды.

Подставляя 3.4 в уравнение 3.2 и проводя интегрирование, получаем выражение для регистрируемой в эксперименте температуры:

$$T_{reg}(\tau_{pulse}) = T_0 + \Delta T_{max} \left(1 - \frac{\tau_{heating}}{\tau_{pulse}} \left(e^{\frac{\tau_{pulse}}{\tau_{heating}}} \operatorname{erfc} \left(\sqrt{\frac{\tau_{pulse}}{\tau_{heating}}} \right) + 2 \sqrt{\frac{\pi \tau_{pulse}}{\tau_{heating}}} - 1 \right) \right). \quad (3.5)$$

Вариация длительности импульсов в диапазоне позволяет экспериментально установить зависимость $T_{reg}(\tau_{pulse})$, откуда путем аппроксимации определяется величина $\tau_{heating}$, а следовательно и временной профиль $T_{heating}(T_{max}, t)$. При заданной оптической мощности и малой величине τ_{pulse} частица почти не успевает нагреться, в то время как увеличение τ_{pulse} приводит к росту пиковой температуры частицы вплоть до значений, соответствующих непрерывному режиму излучения. В настоящих экспериментах для определения зависимости $T_{heating}(T_{max}, t)$ величина τ_{pulse} варьировалась в диапазоне от единиц до десятков микросекунд. При этом частота следования импульсов выбиралась из диапазона 2-10 кГц (временное расстояние 100-500 мкс) с целью избежания влияния от перекрытия релаксационных хвостов, соответствующих остыванию частицы.

На рис. 3.8 представлены результаты измерений регистрируемой температуры $\Delta T_{reg} = T_{reg} - T_0$ в зависимости от длительности лазерного импульса для алмазных частиц размером 2 мкм, 1.3 мкм, 900 нм, 600 нм, 300 нм. Пиковая мощность оптического импульса для каждой частицы выбиралась равной непрерывному режиму облучения, при котором регистрируемая температура превышала температуру окружающей среды на $\Delta T_{continuous} = T_{reg} - T_0 = 10 \text{ }^\circ\text{C}$. Определенные из аппроксимации экспериментальных точек времена нагрева ожидаемо убывают со размером теплового источника и составляют 7.9 ± 0.7 мкс и 0.043 ± 0.007 мкс для самой крупной и мелкой частиц соответственно. Таким образом, уменьшение размера источника тепла в 10 раз приводит к одновременному нелинейному сокращению времени нагревания на три порядка. При этом времен нагревания квадратично уменьшаются с размером АТН, что согласуется с диффузионным транспортом тепловой энергии от частицы к среде даже при размерах 200 нм.

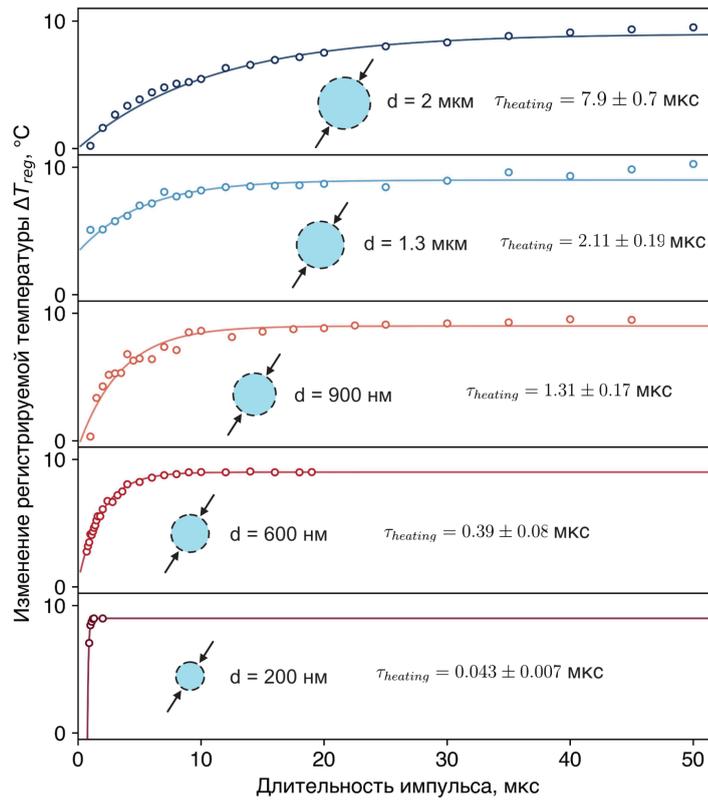


Рисунок 3.8. Зависимости изменений регистрируемой температуры от длительности импульсов лазера 640 нм для алмазных нагревателей различных размеров при оптической мощности, соответствующей стационарному нагреву на $\Delta T_{continuous} = 10$ °C.

На следующем этапе проводились измерения времен релаксации алмазных наночастиц в водной среде (рис. 3.9). Для этого использовались два лазера - импульсный 640 нм для нагревания алмазных частиц и непрерывный 532 нм для зондирования температуры. Пиковая мощность импульсов выбиралась сообразно экспериментам по измерению времен нагревания, в то время как мощность зеленого лазера выбиралась столь малой, чтобы избыточный нагрев алмазной частицы заданного размера при непрерывном облучении двумя лазерами сразу не превышал разрешающую способность термометра 0.2 °C. Сценарий измерений времен релаксации показан на рис. 3.9б и основан на вариации временного интервала считывания температуры зондирующим излучением $\Delta\tau = \frac{1}{\nu} - \tau_{pulse}$, где ν - частота следования нагревающих импульсов. Для каждого размера частицы τ_{pulse} выбирается равным удвоенному измеренному ранее времени нагревания, с целью обеспечения максимальной начальной амплитуды T_{max} в

процессе релаксации. Регистрируемая температура в данном случае является суммой средних температур по профилям 1) нагревания за время τ_{pulse} и 2) релаксации за время $\Delta\tau$:

$$T_{reg}(\Delta\tau) = \frac{1}{\tau_{pulse}} \int_0^{\tau_{pulse}} \Delta T_{heating}(T_{max}, t) dt + \frac{1}{\Delta\tau} \int_{\tau_{pulse}}^{\tau_{pulse} + \Delta\tau} \Delta T_{relax}(T_{max}, t) dt + T_0, \quad (3.3)$$

где $\Delta T_{heating}(T_{max}, t)$ и $\Delta T_{relax}(T_{max}, t)$ - временные профили температуры в фазах нагревания и релаксации соответственно. Температурный профиль релаксации $\Delta T_{relax}(T_{max}, t)$ в настоящей работе описывался экспоненциальной функцией времени $\Delta T_{max} e^{-(t-\tau_{pulse})/\tau_{relax}}$, где τ_{relax} - характерное время термической релаксации частицы.

Подстановка этого выражения во второе слагаемое уравнения (3.3) приводит к зависимости $\Delta T_{max} \frac{\tau_{relax}}{\Delta\tau} (1 - e^{-\Delta\tau/\tau_{relax}})$. При малых значениях $\Delta\tau$ частица не успевает существенно охладиться и вклад релаксационного процесса оказывается незначительным. В этом случае регистрируемая температура преимущественно определяется процессом нагревания, что искажает достоверный релаксационный профиль $\Delta T_{relax}(T_{max}, t)$. Для восстановления кумулятивной релаксационной температуры ΔT_{reg} из T_{reg} исключался вклад первого слагаемого, предварительно рассчитанный из временного профиля нагревания согласно выражению (3.2):

$$\Delta T_{reg}(\Delta\tau) = T_{reg}(\Delta\tau) - \Delta T_{max} \left(1 - \frac{\tau_{heating}}{\tau_{pulse}} \left(e^{\frac{\tau_{pulse}}{\tau_{heating}}} \operatorname{erfc}\left(\sqrt{\frac{\tau_{pulse}}{\tau_{heating}}}\right) + 2\sqrt{\frac{\pi\tau_{pulse}}{\tau_{heating}}} - 1 \right) \right) - T_0$$

. Следует отметить, что верхняя граница диапазона вариации $\Delta\tau$ ограничена двумя факторами: (а) уровнем шума термометра, и (б) размером теплового источника. При достаточно больших $\Delta\tau$ регистрируемая температура стремится к T_0 , а следовательно

$$\Delta T_{reg}(\Delta\tau \rightarrow \infty) = 0.$$

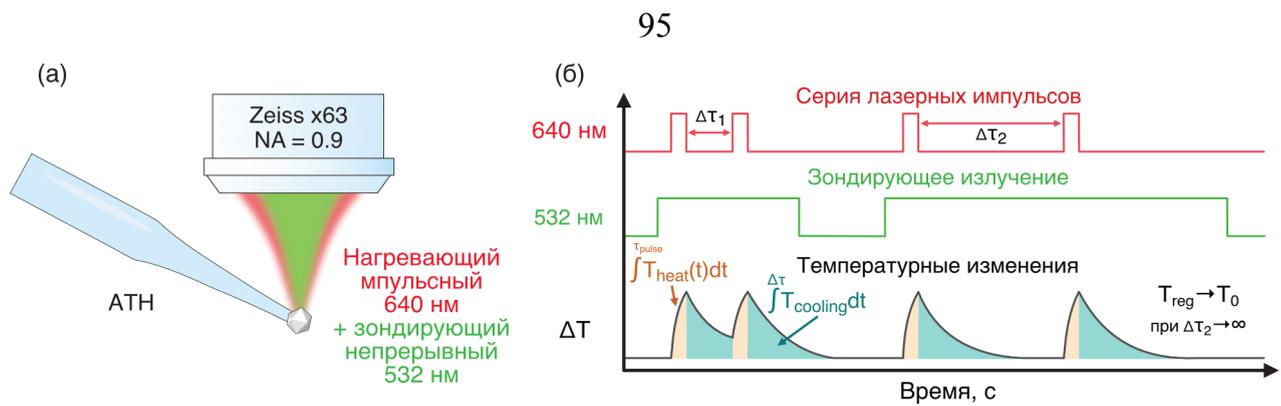


Рисунок 3.9. Измерение времен релаксации алмазных частиц в водной среде: (а) - оптическая схема; (б) - сценарий измерений: импульсное излучение 640 нм используется для нагрева, слабое излучение 532 нм - для зондирования температуры.

На рис. 3.10 представлена экспериментальная зависимость изменения регистрируемой температуры $\Delta T_{reg}(\Delta\tau)$ от временного интервала между нагревающими импульсами $\Delta\tau$ для алмазных частиц размером 1.3 мкм, 900 нм, 600 нм и 300 нм при $\Delta T_{max} = 10$ °С. Результаты показывают экспоненциальное убывание температуры с увеличением $\Delta\tau$, что согласуется с теоретическим релаксационным профилем (сплошные кривые). Определенные из аппроксимации времена термической релаксации τ_{relax} составили 27.2 ± 1.2 мкс и 3.3 ± 0.3 мкс для самой крупной и мелкой частиц соответственно. Полученные результаты демонстрируют ожидаемое уменьшение времени релаксации с уменьшением размера частиц по квадратичному закону, что обусловлено меньшей тепловой инерцией локального водяного слоя.

Времена релаксации алмазных наночастиц в среднем превышают времена нагревания в 10-15 раз, что связано с различиями в механизмах теплопередачи и влиянием теплового сопротивления на границе раздела "частица-среда". При импульсном лазерном воздействии процесс нагревания начинается с быстрого поглощения энергии излучения sp^2 -гибридизованным углеродом в межзерновом пространстве и структурными дефектами в кристаллической решетке алмаза. Время, необходимое для поглощения излучения определяется процессами взаимодействия фотонов с материалом и для упорядоченного sp^2 -гибридизованного углерода обычно лежит в фемтосекундном диапазоне [111]. Аморфный углерод обладает неупорядоченной структурой, характеризующейся широкой спектральной плотностью фононных состояний и наличием дефектов. Из-за локализации электронов в таких

дефектных состояниях процессы поглощения и конверсия энергии излучения в тепловую в аморфном углероде замедляются и протекают в пикосекундном диапазоне [111]. Как результат, тепловая конверсия энергии излучения является пренебрежимо быстрым процессом в сравнении с измеренными временами нагрева.

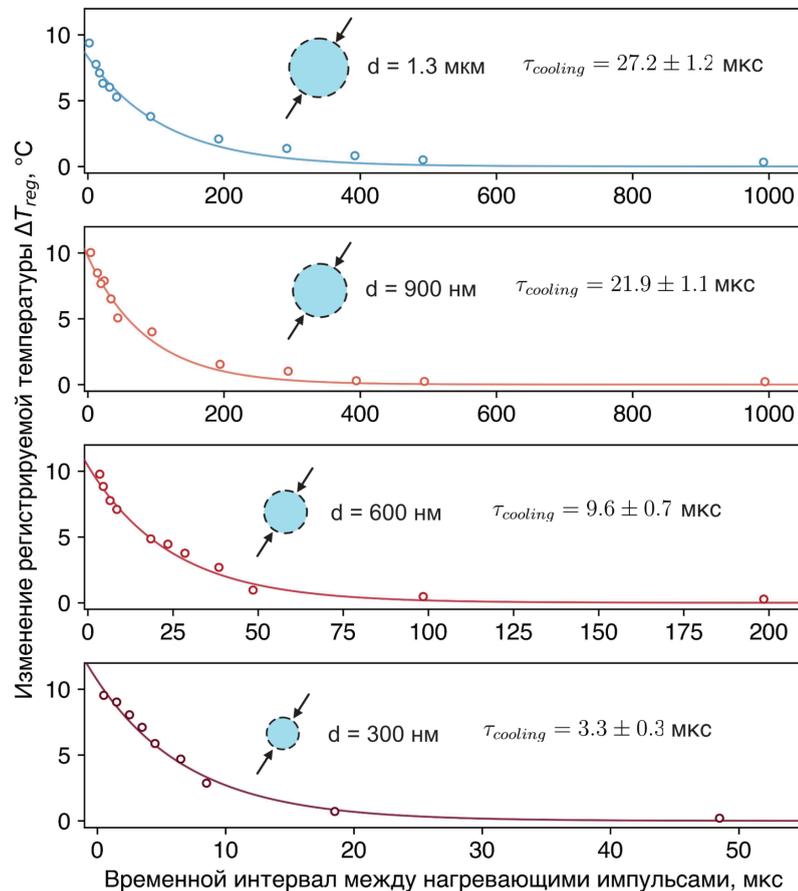


Рисунок 3.10. Зависимости изменений регистрируемой релаксационной температуры ΔT_{reg} ($\Delta\tau$) от временного интервала между нагревающими импульсами лазера 640 нм для алмазных частиц различных размеров при оптической мощности, соответствующей

$$\Delta T_{max} = 10 \text{ °C}.$$

На следующем этапе тепло распространяется по объему алмазной частицы, причем нагревание происходит быстро ввиду высокого коэффициента теплопроводности алмаза $\alpha_{diamond} = 1120 \text{ мм}^2/\text{с}$ и, соответственно, малого теплового сопротивления алмаза $R_{diamond}$. Феноменологически, характерное время термализации τ для системы с пространственным масштабом L определяется как

$\tau_{rel} = \frac{L^2}{\alpha}$. Так, для алмаза с радиусом $r = 650$ нм (диаметр - 1.3 мкм) время распространения температурной волны составляет $\Delta\tau_{diamond} = r^2/\alpha_{diamond} = 0.37$ нс $\ll \tau_{heating_{d1.3}} = 10.8$ мкс, а соответствующее термосопротивление $R_{diamond_{d1.3}} = \frac{1}{4\pi rk} \approx 3 \cdot 10^2$ К/Вт. В реальности $\Delta\tau_{diamond}$ может быть существенно ниже рассчитанного значения, поскольку аморфный углерод при получении (НРНТ+CVD)-частиц локализуется в между алмазных зерен, характерный размер которых составляет 30-100 нм, ограничивая тем самым расстояние между двумя различными тепловыми источниками в алмазе. Более того, близость размера исследуемых частиц и зерен поликристалла к средней длине свободного пробега фононов в алмазной решетке, которая по приведенным в литературе оценкам составляет $\Lambda \sim 100$ нм при комнатной температуре [112], обуславливает баллистический перенос тепла и квази-равномерное пространственное распределение температуры в частице после установления термодинамического равновесия. Таким образом, распространение тепла внутри частицы не объясняет продолжительность ее нагревания в водной среде.

Замедление теплопередачи происходит на этапе транспорта тепла от частицы к окружающей среде из-за (1) оттока тепла от границы раздела вглубь водной среды и (2) наличия теплового сопротивления Капицы $R_{interface}$ на границе раздела “алмаз-вода”, которое ограничивает скорость отвода тепла в среду. Если $R_{interface}$ велико, нагревание происходит быстрее, поскольку тепло удерживается внутри частиц. Теплоносители в кристаллической решетке алмаза передают тепловую энергию внешней среде неэффективно, рассеиваясь в обратном направлении на границе раздела. Напротив, при низких $R_{interface}$ часть тепловой энергии передается в среду, что приводит к увеличению времени нагревания. Как уже упоминалось в главе 1 теоретический расчет интерфейсного сопротивления является сложной задачей, поскольку $R_{interface}$ зависит от индивидуальных параметров шероховатости и химического состояния поверхности, а также механизмов транспорта тепла на границе раздела. Тем не менее, опираясь на экспериментальные значения в литературе [113], полученные для водной суспензии наночастиц золота размером 10 нм, где характерные значения $R_{interface}$ составляют $\sim 10^8$ К/Вт, можно предположить о значительном вкладе интерфейсного сопротивления в

системе “алмаз-вода”. Однако с увеличением размера теплового источника $R_{interface}$ уменьшается пропорционально площади поверхности частицы, через которую проходит тепловой поток (см. уравнение 1.13). Учитывая, что теплоемкость золота в 1.4 раза выше аналогичной характеристики для алмаза, для алмазной частицы размером 1.3 мкм интерфейсное сопротивление оценивается $R_{interface}^{diamond} = \left(\frac{1.3}{0.01}\right)^{-2} \cdot 1.4 \cdot 10^8 \approx 8.3 \cdot 10^4$ К/Вт.

Наконец, последним и решающим фактором является отток тепла от границы раздела вглубь водной среды. Ввиду малости длины свободного пробега теплоносителей распространение тепла в воде описывается чисто диффузионным законом и происходит медленнее нагревания алмазной частицы из-за малости коэффициента температуропроводности $\alpha_{water} = 0.146$ мм²/с. Из результатов, представленных в разделе 3.1, четырехкратное уменьшение температуры (уменьшение на 75%) по мере отдаления от микронного источника тепла достигается на расстоянии ~ 0.8 мкм. Для сферического слоя воды такой толщиной получаем оценку времени нагревания $\Delta\tau_{water} \approx 4.4$ мкс. При этом термосопротивление водяного слоя, окружающего алмазную частицу радиусом 650 нм, составляет $R_{water} = \frac{1}{4\pi r k_w} = 2 \cdot 10^5$ К/Вт. Отметим, что данная величина доминирует над величиной рассчитанного интерфейсного сопротивления.

Таким образом, по измеренным временам нагревания алмазных частиц возможно локальное определение коэффициента температуропроводности среды α_{env} согласно выражению $\alpha_{env} = \frac{r_{diamond}^2}{\tau_{heating}}$. Так, для частицы размером 900 нм время нагревания составило 1.31 мкс, а определенный $\alpha_{env} = 0.151 \pm 0.15$ мм²/с, что в пределах ошибки совпадает с табличным значением для воды. Предложенный метод может быть использован для определения локальной температуропроводности живых клеток и органелл.

Изменение теплового потока через границы алмазной частицы влияет на динамику теплопередачи. С целью проверки этой гипотезы для частицы размером 900 нм были проведены измерения зависимости $\tau_{heating}$ от ΔT_{max} , результаты которых

представлены на рис. 3.11. При повышении максимальной температуры наблюдается нелинейное уменьшение времени нагревания частицы в 1.8 раза с выходом на плато при достаточно больших $\Delta T_{max} > 15$ °С, что может быть связано с активацией высокочастотных тепловых колебаний молекул вод в прилегающем к алмазной частице слое, способствующих ускоренному переносу тепла в окружающую среду. Другим возможным объяснением является снижение роли $R_{interface}$ по мере увеличения чистого теплового потока через границу раздела “алмаз-вода”. При этом по мере уменьшения роли $R_{interface}$ общее тепловое сопротивление системы начинает определяться сопротивлением водной среды R_{water} , чем и объясняется плато в области ΔT_{max} .

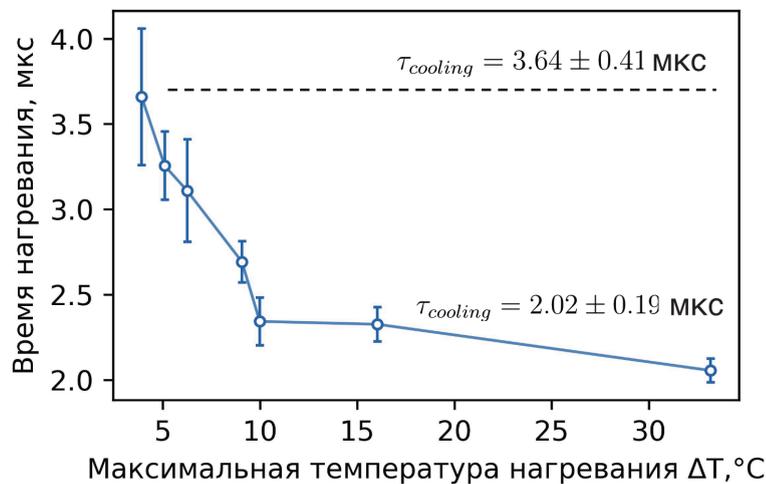


Рисунок 3.11. Зависимость времени нагревания алмазной частицы размером 900 нм от ΔT_{max} .

Из полученных результатов следует, что нагревание алмазной частицы в воде происходит в среднем на порядок быстрее, чем остывание. Наблюдаемая асимметрия согласуется с теоретическими выводами и экспериментами, изложенными в статье Ибаньеса и соавторов [114]. Согласно предложенной термокинематической модели, на коротких временных масштабах скорость теплопереноса выше в фазе нагревания, чем в фазе охлаждения. Основной причиной асимметрии является различие в механизмах температурной релаксации. Нагревание происходит быстрее благодаря процессу “свободного расширения”, который сопровождается быстрым ростом энтропии и минимизацией избыточной свободной энергии системы “алмаз-вода” и ускоряет тем самым выравнивание температуры.

Сокращение времени нагрева с увеличением амплитуды теплового импульса по всей видимости связано с активацией высокочастотных тепловых мод, характеризующихся более короткими временами релаксации [114]. Согласно спектральной теории система, находящаяся вдали от равновесия, требует большего количества собственных функций для описания тепловых колебаний молекул жидкости, в то время как холодная система имеет более локализованное тепловое распределение. Резкий повышение температуры создает широкий спектр кинетических состояний молекул воды, увеличивая вклад от высокоэнергетических молекул, которые быстрее передают и перераспределяют тепло. При охлаждении скорость столкновения молекул уменьшается, в спектре начинают доминировать низкочастотные тепловые состояния.

3.3. Выводы к главе 3

Исследованы пространственно-временные профили микро- и наноразмерных нагревателей в водной среде. Разработан экспериментальный подход к изучению распределения температуры и динамики тепловых процессов на субмикронном уровне. Показана принципиальная возможность наноразмерного картирования температурного поля алюминиевого нагревателя размером 800 нм в водной среде с использованием одиночной алмазной наночастицы размером 500 нм, зафиксированной на торце стеклянного микрокапилляра и способной считывать температуру с точностью до 0.2 °С. Такой алмазный термометр воспроизводимо регистрирует высокие температурные градиенты на субмикронном масштабе вплоть до значений 40 °С/мкм на расстоянии 600 нм от нагревателя. До настоящего времени измерения температуры на субмикронном уровне при столь высоких градиентах не проводились. Обнаружено, что температурный профиль теплового источника уменьшается на 90% на расстоянии ~2 мкм, что соответствует объему значимых изменений температуры около 80 мкм³. Экспериментально измеренный профиль температуры в пределах погрешности измерений совпадает с рассчитанным при градиентах до 20 °С/мкм.

Предложен новый метод изучения динамики тепловых процессов в наноразмерных системах, основанный на использовании одиночной алмазной частицы, сочетающей свойства термометра и нагревателя. С субмикросекундным разрешением

определены времена нагревания и остывания алмазных частиц широкого диапазона размеров от 200 нм до 2 мкм, расположенных в водной среде. Установлено, что для алмаза диаметром 900 нм в водной среде время, необходимое для достижения равновесной температуры при нагреве на 10 °С, составляет 1.31 мкс, тогда как остывание до температуры окружающей среды занимает 21.9 мкс. С увеличением стационарной амплитуды нагревания алмазной частицы размером 900 нм с 4 до 15 °С время нагревания уменьшается в 1.8 раза. Выявлена квадратичная зависимость убывания времен нагревания и остывания с размером АТН, что согласуется с диффузионным транспортом тепловой энергии от частицы к среде даже при размерах 200 нм. Определенный по измеренным характеристикам коэффициент температуропроводности среды с высокой точностью соответствует значению для воды.

Полученные результаты позволяют точно оценивать тепловые свойства на границе раздела "алмаз-среда" и подчеркивают потенциал алмазных люминесцентных нанотермометров для измерения температуры в биологических объектах. Высокая пространственная и температурная разрешающая способность позволяет использовать такие термометры для исследования тепловых процессов в митохондриях, где остается открытым вопрос о возможной разнице температуры между этими органеллами и окружающей цитоплазмой [115, 116], а также для экспериментальной проверки гипотезы о горячих ионных каналах в билипидной мембране живых клеток [117].

Глава 4. Применение алмазного термометра для измерения температуры вблизи митохондрий

Температура по праву является одним из наиболее значимых регуляторов клеточной активности, определяя скорость химических реакций в различных компартментах [118], вязкость биологических мембран и их фазовые переходы [119], скорость диффузии [120], а также частоту и скорость конформационных изменений макромолекул [121], их стабильность и пластичность [122]. Выделение тепла в локальной области живой клетки способно инициировать и воспроизводимо стимулировать каскад специфических реакций, приводящих к так называемой «тепловой внутриклеточной сигнализации», при которой температурные изменения в одной части клетки служат передающим сигналом для другой [123].

С целью подтверждения существования внутриклеточных локальных тепловых градиентов и проверки состоятельности концепции «тепловой сигнализации» алмазный термометр был адаптирован для измерения температуры в различных клеточных компартментах на микро- и наномасштабах. В настоящей главе представлены результаты по изучению теплопродукции митохондрий, изолированных из мозга мышей, в процессе окислительного фосфорилирования, активации ионного транспорта и резкого увеличения проницаемости митохондриальных мембран для ионов и низкомолекулярных соединений (рис. 4.1).

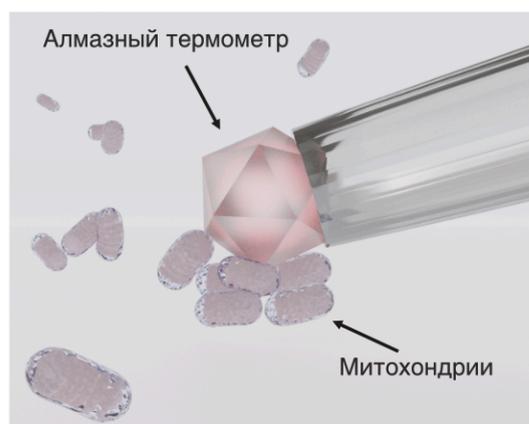


Рисунок 4.1. Иллюстрация применения алмазного термометра-нагревателя для (а) измерения температурного профиля изолированных митохондрий.

Для всестороннего понимания термогенеза митохондрий требуется надежный метод, не оказывающий внешнего биологического воздействия. В последнее время было

разработано множество подходов, направленных на определение температуры митохондрий, среди которых флуоресцентные наногели [124], полимеры [125] и белки [126], молекулярные красители [19], коллоидные квантовые точки [127]. В некоторых из них сообщалось о регистрации повышения температуры митохондрий на несколько градусов с использованием экстра-митохондриальных зондов. Указанное повышение температуры вызвано усилением митохондриальной активности, как правило, за счет разобщения дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий. Другие подходы, основанные на термосенсорах, расположенных внутри митохондрий, выявили повышение температуры органелл на несколько градусов в аналогичных условиях. Данные работы приводят к предположению о том, что митохондриальные радиаторы могут быть теплее, чем их окружение. Хотя в работе Chr'etien et al. [128] температура митохондрий в нормальных условиях (без каких-либо стимулов) превышала температуру культуральной среды более чем на 10 °С, их исследование пока остается единственным свидетельством столь высокого выделения тепла митохондриями.

4.1. Методы исследования

Экспериментальная установка. Исследование теплового отклика митохондриального разобщения проводилось с использованием конфокального спектрометра LabRam HR800 (Horiba) (рис. 4.2). Флуоресценция SiV-центров возбуждалась лазерным излучением с длиной волны 473 нм (Laser Quantum), которое фокусировалось объективом с низкой числовой апертурой на одном из концов многомодового оптического волокна (Thorlabs) с максимумом пропускания при 740 нм. Другой конец волокна, проходивший через внутреннюю часть капилляра и расположенный возле его торца, направлял возбуждающее излучение непосредственно на микроалмаз. Мощность возбуждения на входе в волокно составляла 3 мВт, что обеспечивало достаточный уровень флуоресцентного сигнала без дополнительного нагрева. Флуоресценция собиралась с помощью воздушного объектива с длинным фокусным расстоянием (Olympus x50, NA=0.55) и направлялась в спектрометр. Оценка жизнеспособности митохондрий проводилась с использованием красителя TMRM с помощью той же оптической системы, оборудованной лазером с длиной волны 532 нм и

полосовым фильтром (550–700 нм) в плече регистрации. Для инициации температурного отклика митохондрий использовался протонофор карбонилцианид м-хлорфенил-гидразон (англ. carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone, CCCP), являющийся ингибитором и разобщителем электрон-транспортной цепи в митохондриях.

4.2. Результаты измерений теплопродукции митохондрий

Для исследования теплового отклика митохондрий на электрохимическое действие CCCP 200 мкл суспензии митохондрий наносили на крышку чашки Петри и распределяли по её поверхности. Остальная часть суспензии хранилась на льду в течение всего эксперимента для сохранения метаболической активности митохондрий. Чашка размещалась на 3D-механической платформе под объективом микроскопа, и подходящий агрегат митохондрий размером от 2 до 10 мкм находили с помощью оптической КМОП-камеры (рис. 4.2г; следует отметить, что не все видимые агрегаты являются митохондриями, так как после выделения остаются остатки клеточного детрита).

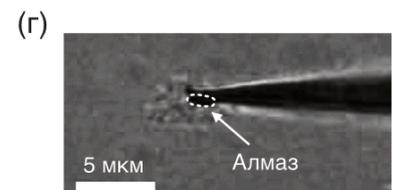
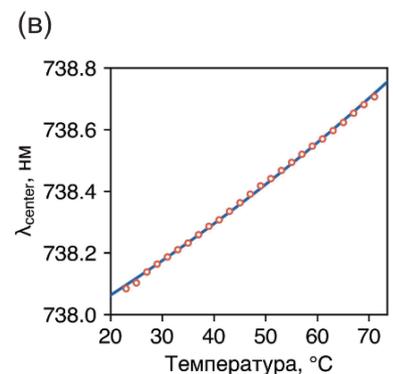
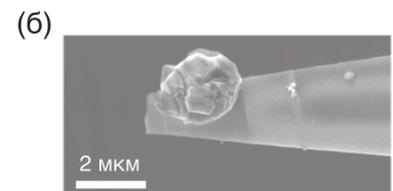
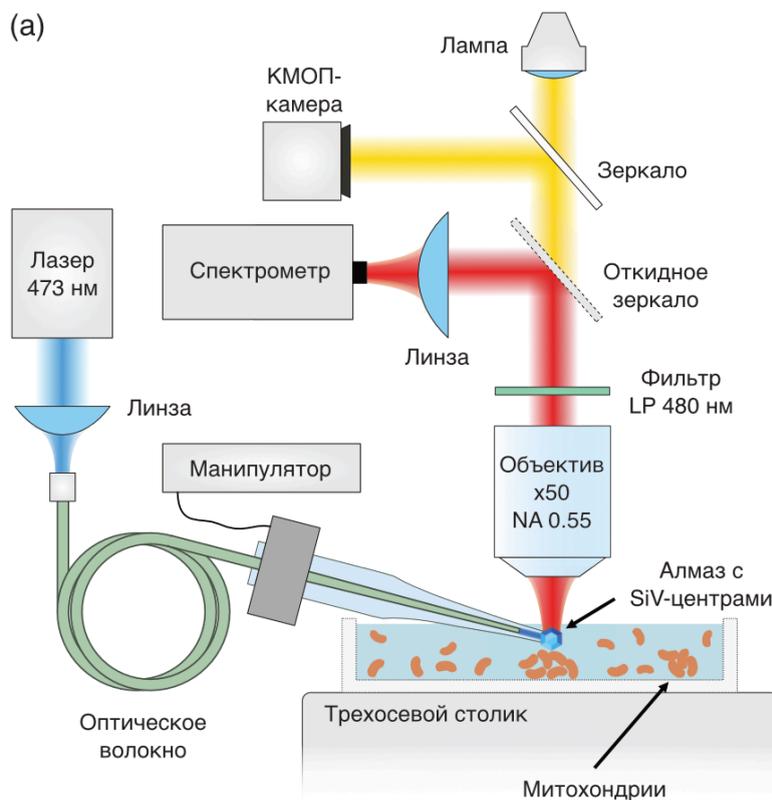


Рисунок 4.2. (а) Схема экспериментальной установки, используемой для наблюдения за SiV-люминесценцией и движением агрегатов митохондрий. Чашка с митохондриальной суспензией устанавливалась на механическую трехосевую платформу, что позволяло легко находить и визуализировать изолированные агрегаты митохондрий с помощью оптической КМОП-камеры. Позиционирование АТ в фокальной точке объектива осуществлялось с использованием трехосевого микроманипулятора. (б)

РЭМ-изображение микроалмаза, расположенного на торце капилляра. (в) Калибровочная зависимость положения максимума БФЛ от температуры в термостате. (г)

Репрезентативное оптическое изображение АТ вблизи заранее выбранного агрегата митохондрий. Белая пунктирная линия соответствует контуру алмазной частицы.

На следующем этапе АТ погружался в раствор так, чтобы микроалмаз аккуратно касался верхней поверхности выбранного агрегата, слегка его прижимая. Небольшое давление необходимо для фиксации органелл во время выполнения температурных протоколов. Для инициации протонной проницаемости внутренней мембраны митохондрий и, соответственно, сброса трансмембранного потенциала, в суспензию добавлялось 2.5 мкл СССР, после чего определялось изменение температуры. В качестве референсного показателя макроскопической температуры использовался погруженный в раствор стандартный термопарный датчик.

На рис. 4.3 представлены временные температурные зависимости, зарегистрированные для различных чашек Петри каждой из шести мышей. Временной интервал между показаниями АТ составлял 1 с, что обеспечивало оптимальное соотношение сигнал/шум и учитывало возможную быструю тепловую динамику. Видно, что повышение температуры (ΔT) варьируется от нескольких до десятков градусов Цельсия выше уровня окружающей среды, преимущественно сразу после введения СССР. Максимальный тепловой всплеск в одной чашке, равный $\Delta T_{max} = 22.4$ °C, был зарегистрирован для M3D1. Тем не менее, тепловые всплески также наблюдались до введения СССР (например, M2D1, M2D6, M3D1). Эти спонтанные тепловые реакции не уступают по амплитуде вызванным СССР и могут быть связаны с митохондриями, которые в данный момент участвуют в синтезе АТФ или осуществляют контролируемую утечку потенциала для предотвращения гиперпродукции реактивных форм кислорода вследствие избыточного уровня мембранного потенциала.

Длительность тепловых всплесков также варьируется в широком диапазоне — от нескольких секунд до сотен секунд (рис. 4.3), что, вероятно, связано с неравномерным воздействием СССР на отдельные митохондрии внутри одного агрегата. Пока митохондрии на краю агрегата подвергаются воздействию протонофора, глуболежащие органеллы остаются изолированными и не затронутыми. Таким образом, медленное проникновение СССР приводит к асинхронному и неоднородному временному отклику.

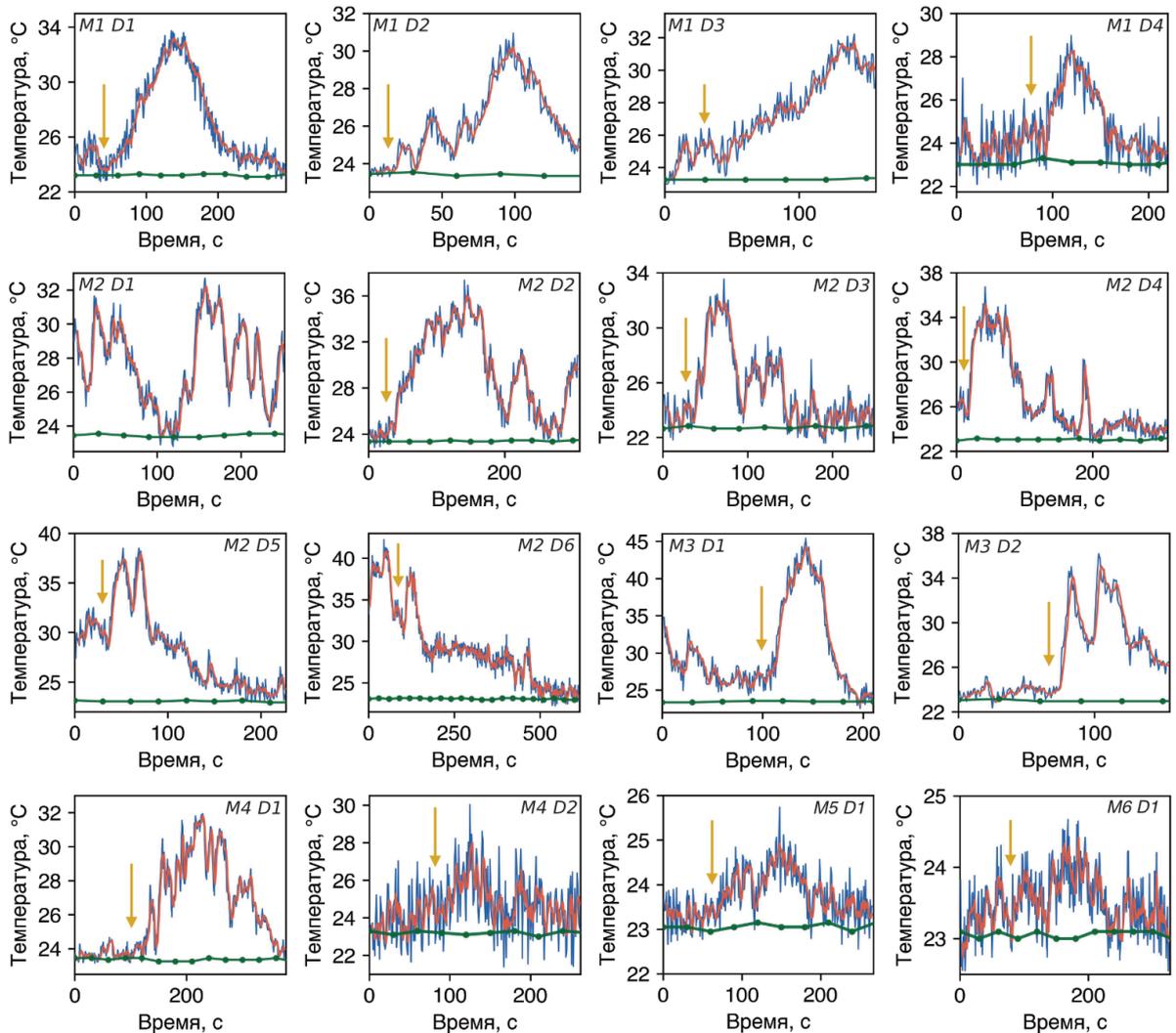


Рисунок 4.3. Временная зависимость температурных показаний АТ (синие линии), расположенного в непосредственной близости от индивидуальных агрегатов митохондрий. Для удобства визуализации красной линией представлены сглаженные данные. Зеленые кривые отражают показания температуры всего раствора, полученные с помощью термопары. Желтые стрелки указывают момент добавления СССР (2.5 мкл). Текст в верхнем правом или левом углу каждого графика указывает номер мыши (М) и

номер чашки (D), для которых проводились измерения температуры. Обратите внимание, что номера чашек указаны в хронологической последовательности с средним интервалом времени между измерениями около 20 минут. Различия в уровне шума связаны с разной толщиной слоя суспензии и, как следствие, с различной мутностью раствора.

Анализ температурных графиков позволил определить значения ΔT_{max} для каждой чашки Петри у различных мышей (рис. 4.4а). Средний тепловой отклик митохондрий для мышей M1–M4 составляет $\langle \Delta T_{max} \rangle \sim 11$ °C, хотя некоторые графики демонстрируют значительные температурные скачки в диапазоне 15–22 °C. В то же время графики для мышей M5 и M6 показывают более низкую амплитуду динамики, со средним значением $\langle \Delta T_{max} \rangle \sim 1$ °C. Возможное объяснение такого поведения связано с различием в средах выделения митохондрий. Среда с сахарозой и маннитолом, дополненная EGTA и сывороточным альбумином, более благоприятна для поддержания физиологического состояния митохондрий в процессе выделения. Она предотвращает избыточную нагрузку калием и фосфатами, хелатирует ионы кальция и поглощает свободные липиды, что в совокупности обеспечивает более высокий выход интактных митохондрий с сохраненными метаболическими функциями.

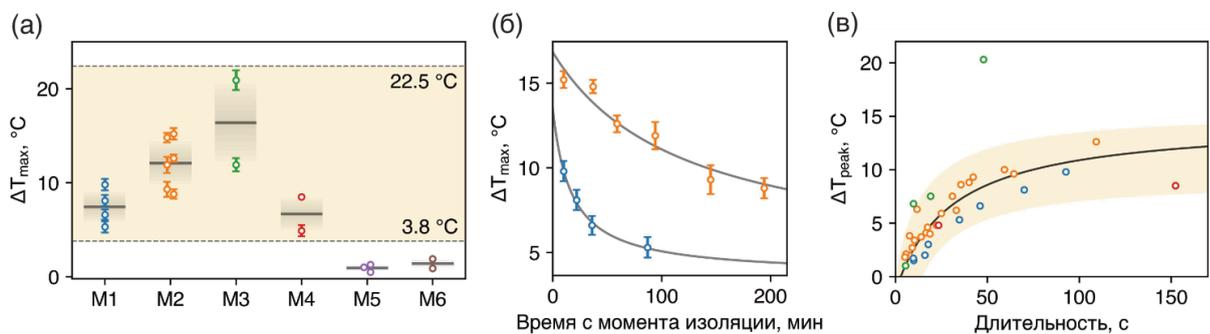


Рисунок 4.4. Статистика и кинетика тепловых откликов митохондрий из различных мышей. (а) Максимальный тепловой отклик (ΔT_{max}) представлен с учетом среднего значения по чашкам для каждой группы мышей, обозначенного серыми линиями, серые градиенты соответствуют стандартным отклонениям. Вертикальная пунктирная линия разделяет две группы митохондрий: (1) M1–M4, выделенные в среде, содержащей глюкозу, и (2) M5–M6, выделенные в среде без глюкозы. (б) Временная эволюция ΔT_{max} для мышей M1 и M2. (в) Зависимость амплитуды тепловых всплесков (ΔT_{peak}) от их

длительности. ΔT_{peak} учитывает базовый уровень с учетом флуктуаций.

Экспериментальные точки аппроксимированы черной кривой.

На рис. 4.4б показаны изменения ΔT_{max} во времени для мышей М1 и М2, с явным снижением для обеих, что очевидно связано с деградацией митохондрий по мере увеличения времени. Однако скорость снижения для М1 несколько выше, чем для М2. Таким образом, через 90 минут амплитуда теплового отклика для М1 уменьшается в два раза, тогда как для М2 — только в 1.3 раза. Это различие может быть обусловлено многими факторами, включая возраст и физиологическое состояние мышей, а также небольшими отличиями в процессе выделения митохондрий, особенно на стадии гомогенизации.

На следующем этапе была изучена кинетика тепловых откликов для мышей М1–М4 (рис. 4.4в). Каждый всплеск температуры (как спонтанный, так и стимулированный СССР) на рис. 4.3 был тщательно проанализирован на предмет оценки амплитуды температуры (ΔT_{peak}) в зависимости от его длительности, определяемой полной шириной на половине высоты (FWHM). Набор экспериментальных точек для каждой мыши, представлен на рис. 4.4в. Зависимость демонстрирует характер насыщения тепловых всплесков. Для количественной оценка максимально достижимой амплитуды и характерного времени тепловыделения использовалось уравнение $\Delta T_{peak}(\tau)$

$$= \Delta T_{peak}(\tau) = \Delta T_{peak}^{\infty} \frac{\tau}{\tau + \tau_{sat}}, \text{ где } \Delta T_{peak}^{\infty} \text{ — предельное значение температуры, а } \tau_{sat} \text{ —}$$

время насыщения. Извлеченные из аппроксимации значения составляют $\Delta T_{peak}^{\infty} = 14.5$

°C и $\tau_{sat} = 33$ с, что указывает на то, что основная амплитуда тепловых всплесков

перестает существенно возрастать при длительности около 30 секунд. Очевидно, такое поведение свидетельствует о том, что ресурс потенциальной энергии, накопленной в митохондриях, ограничен и недостаточен для постоянного производства тепла.

Наши эксперименты показали, что утечка трансмембранного потенциала при введении СССР вызывает нагрев митохондрий на 4–22 °C выше температуры окружающей среды. Такое широкое разнообразие температурных откликов может быть связано с гетерогенностью самих митохондрий, а также их агрегаций в изолированной суспензии. Эти данные согласуются с литературными сведениями о различных типах митохондрий в нейронах [129]. Было показано, что небольшие аксональные

митохондрии обеспечивают буферизацию ионов кальция для поддержания синаптической передачи [130]. В дендритах митохондрии, как правило, имеют вытянутую форму, а в соме образуют сетевую структуру органелл [131]. Также в сообщалось, что изолированные из нейрональных и глиальных клеток митохондрии, отличаются по ряду физиологических параметров [132]. Митохондрии клеток с более высокой потребностью в энергии имеют больше крист и меньший объем митохондриального матрикса. Поэтому тепловые профили митохондрий могут значительно различаться в зависимости от их клеточного и субклеточного происхождения. Кроме того, случайные изменения расстояния между алмазом и агрегатами органелл могли способствовать наблюдаемым постоянным температурным различиям, поскольку температурный градиент вокруг агрегатов был достаточно крутым.

Максимальная абсолютная температура, зарегистрированная в наших экспериментах, составила 45 °С. Данное значение близко к 50 °С, описанным в революционной работе Chre'tien et al. [128], и представляет собой первое независимое подтверждение этих результатов. В их работе исследовались две линии клеток: клетки человеческой эмбриональной почки (НЕК 293) и первичные фибробласты кожи. Впервые мы сообщаем о столь высоких температурах для митохондрий головного мозга. В совокупности наши данные и результаты Chre'tien et al. указывают на универсальные тепловые характеристики митохондрий во всех типах тканей.

Длительность тепловых всплесков варьируется в широком диапазоне — от нескольких секунд до сотен секунд (рис. 4.5б). Это может быть связано с известной гетерогенностью отдельных митохондрий по физическим размерам, функциональному состоянию, энергетической емкости и другим физиологическим параметрам. Другой причиной может быть неоднородное воздействие СССР на отдельные митохондрии в составе агрегатов: митохондрии на краю агрегата подвергаются действию разобшителя, в то время как глубоко расположенные органеллы остаются изолированными и не затронутыми. Таким образом, медленное проникновение СССР приводит к асинхронным и неоднородным временным откликам. В совокупности это может объяснить зависимость амплитуды тепловых всплесков от их длительности (рис. 4.5в). В диапазоне до 50 секунд наблюдается практически линейная зависимость с коэффициентом наклона 0.3 °С/с, что может быть связано с вариациями отдельных

митохондрий. При более продолжительных всплесках начинают играть роль динамика агрегатов, увеличивающая длительность отклика при достигнутой предельной температуре.

4.3. Выводы к главе 4

В заключение, нами был разработан и испытан прототип устройства для наноразмерного контроля температуры с использованием алмазного термометра. Продемонстрирована применимость разработки для однозначных измерений температуры митохондрий, изолированных из мозга мыши. При введении биологически активного соединения СССР температура вблизи таких органелл, размером ~ 1 мкм, повышается на 4–22 °С относительно окружающей среды с абсолютным максимумом 45 °С. Широкое разнообразие температурных откликов связано с гетерогенностью характеристик самих митохондрий, а также их агрегацией в изолированной суспензии. Были обнаружены спонтанные тепловые всплески сравнимой амплитуды до введения биологически активного соединения, что может указывать на участие некоторых митохондрий в биологических процессах. Проведенные эксперименты подтверждают перспективность практического применения разработанного алмазного термометра в исследовании живых объектов с высоким пространственным разрешением и точностью определения температуры.

Заключение

Установлены основные закономерности метода оптического считывания температуры с использованием люминесцирующих SiV-центров в нанодиамазах различного происхождения, создан макет устройства для наноразмерного контроля температуры и определены его основные характеристики, проведена апробация метода на биологических объектах.

- 1) Определена температурная чувствительность ширины и положения БФЛ люминесценции SiV-центров в алмазных частицах, синтезированных различными методами, в диапазоне температур от 20 до 60 °С.

Установлено, что температурная чувствительность зависит от способа синтеза алмазов. Наибольшую температурную чувствительность демонстрируют частицы, синтезированные методом высоких давлений и температур (НРНТ) из адамантана (0.013 нм/°С и 0.05 нм/°С по положению и ширине соответственно). Эффект объясняется высоким структурным качеством адамантановых нанодиамазов.

- 2) Исследованы спектральные характеристики адамантановых НРНТ алмазов размером 200 нм и 1-2 мкм, содержащих как одиночные SiV-центры, так и их ансамбли при температуре 4 К. Установлено, что при резонансном возбуждении люминесценции одиночных SiV-центров в нанодиамазах размером 200 нм наименьшая ширина линии отдельного оптического перехода Фурье-ограничена и составляет 94 МГц, что является рекордным значением среди известных нанодиамазов, синтезированных НРНТ- и CVD-методами. Для ансамблей SiV-центров ($\sim 10^3$ в одной алмазной частице размером 1-2 мкм) минимальное неоднородное уширение оптических переходов, равное 50 ГГц, объясняется высоким структурным качеством адамантановых НРНТ-алмазов, что обеспечивает согласованное и синхронное температурное изменение спектральных характеристик для всех SiV-центров в ансамбле. Полученные результаты ставят адамантановые НРНТ-нанодиамазы, содержащие SiV-центры, в ряд наиболее перспективных материалов для высокоточной криогенной термометрии.
- 3) Обнаружено, что поликристаллические алмазные частицы, синтезированные CVD методом и содержащие люминесцирующие SiV-центры, сочетают в себе свойства как термометра, так и эффективного нагревателя. Под воздействием лазерного

излучения с длиной волны 473 нм эффективность нагревания в водной среде составила 6.5 °С/мВт. На основе полученных результатов предложен новый термометрический подход, основанный на использовании одиночной алмазной CVD-частицы для управляемого локального нагрева, что открывает новые возможности в решении широкого класса биомедицинских задач, в частности, в таргетированной тепловой стимуляции живых клеток.

- 4) Разработан новый метод изучения динамики тепловых процессов в наноразмерных системах, основанный на использовании одиночной алмазной частицы, сочетающей свойства термометра и нагревателя. С субмикросекундным разрешением определены времена нагревания и остывания алмазных частиц широкого диапазона размеров от 200 нм до 2 мкм, расположенных в водной среде. Установлено, что для алмаза диаметром 900 нм в водной среде время, необходимое для достижения стационарной температуры при нагреве на 10 °С, составляет 1.31 ± 0.17 мкс, тогда как остывание до температуры окружающей среды занимает 21.9 ± 1.1 мкс. Выявлена квадратичная зависимость убывания времен нагревания и остывания с размером АТН, что согласуется с диффузионным транспортом тепловой энергии от частицы к среде даже при размерах 200 нм. Определенный по измеренным характеристикам коэффициент температуропроводности среды с высокой точностью соответствует значению для воды. Предложенный метод может быть использован для определения локальной температуропроводности живых клеток и органелл.
- 5) Разработан и испытан прототип устройства для наноразмерного контроля температуры с использованием алмазного термометра. Продемонстрирована применимость разработки для однозначных измерений температуры митохондрий, изолированных из мозга мыши. При введении биологически активного соединения температура вблизи таких органелл, размером ~1 мкм, повышается на 4–22 °С относительно окружающей среды с абсолютным максимумом 45 °С. Широкое разнообразие температурных откликов связано с гетерогенностью характеристик самих митохондрий, а также их агрегацией в изолированной суспензии. Были обнаружены спонтанные тепловые всплески сравнимой амплитуды до введения биологически активного соединения, что может указывать на участие некоторых митохондрий в биологических процессах.

Проведенные эксперименты подтверждают перспективность практического применения разработанного алмазного термометра в исследовании живых объектов с высоким пространственным разрешением и точностью определения температуры.

Перспективность дальнейшей разработки темы заключается в возможности расширения функционала и применения алмазных частиц с SiV-центрами для решения новых научных и технологических задач. Развитие методов детектирования температуры с высоким временным и пространственным разрешением позволит детально изучать динамику тепловых процессов на нано- и микро- масштабах, что откроет новые перспективы в изучении клеточного термогенеза и теплопродукции в митохондриях. В микроэлектронике развитие технологий адресного термоконтроля имеет перспективы в аспекте улучшения тепловой стабильности и точного управления процессами в чувствительных электронных компонентах.

Список используемых сокращений

NV (англ. Nitrogen-Vacancy) – центр окраски «азот-вакансия» в алмазе

SiV (англ. Silicon-Vacancy) – центр окраски «кремний-вакансия» в алмазе

ODMR (англ. Optically Detected Magnetic Resonance) – оптически детектируемый магнитный резонанс

CVD (англ. Chemical Vapor Deposition) – химическое осаждение из газовой фазы

HPHT (англ. High Pressure High Temperature) – метод высоких давлений и высоких температур

ПЗС – прибор с зарядовой связью

ITS-90 (англ. International Temperature Scale of 1990) – международная температурная шкала 1990 года

ВК, ВнК – внутренняя и внешняя конверсия

МП – межсистемный переход

ТИСТ (англ. Twisted Intramolecular Charge Transfer) – скрученный внутримолекулярный перенос заряда

БПП – бис(-пирен)пропан

NANM – N-аллил-N-метиланилина

GFP (англ. Green Fluorescent Protein) – зеленый флуоресцентный белок

TADF (англ. Thermally Activated Delayed Fluorescence) – термически активированная задержанная флуоресценция

ОК – органический краситель

КТ – квантовые точки

РЗИ – редкоземельные ионы

БИК – ближний инфракрасный

ИК – инфракрасный

УТ – углеродные точки

ТТА (англ. 2-Thenoyltrifluoroacetone) – 2-Теноилтрифторацетон

ПАН – полиакрилонитрил

FRET (англ. Förster resonance energy transfer) – флуоресцентный резонансный перенос энергии

PNIPAM (англ. Poly(N-isopropylacrylamide)) – поли(N-изопропилакриламид)

ПЭГ – полиэтиленгликоль

АТН – алмазный термометр-нагреватель

БФЛ – бесфоновая линия

КР (англ. Raman Spectroscopy) – спектроскопия комбинационного рассеяния света

РЭМ (англ. SEM – Scanning Electron Microscope) – растровый электронный микроскоп

НА (англ. Numerical Aperture) – числовая апертура

FWHM (англ. Full Width at Half Maximum) – полная ширина на уровне половинной амплитуды (разница между максимальным и минимальным значениями аргумента функции, взятыми на уровне равном половине ее максимального значения)

КМОП – комплементарная структура металл-оксид-полупроводник

СССР (англ. carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone) – карбонилцианид м-хлорфенил-гидразон

ТМРМ (англ. Tetramethylrhodamine) – тетраметилродамин

EGTA (англ. ethylene glycol-bis(β -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid) – этиленгликоль-бис(β -аминоэтиловый эфир)-N, N, N', N' -тетрауксусная кислота

Список литературы

1. Fluorescent Molecular Thermometers Based on Polymers Showing Temperature-Induced Phase Transitions and Labeled with Polarity-Responsive Benzofurazans / S. Uchiyama, Y. Matsumura, A.P. De Silva [et al.] // *Analytical Chemistry*. – 2003. – Т. 75. – № 21. – С. 5926-5935.
2. Nanoscale thermometry via the fluorescence of YAG:Ce phosphor particles: measurements from 7 to 77 °C / S.W. Allison, G.T. Gillies, A.J. Rondinone [et al.] // *Nanotechnology*. – 2003. – Т. 14. – № 8. – С. 859-863.
3. High-Precision Nanoscale Temperature Sensing Using Single Defects in Diamond / P. Neumann, I. Jakobi, F. Dolde [et al.] // *Nano Letters*. – 2013. – Т. 13. – № 6. – С. 2738-2742.
4. Nanometre-scale thermometry in a living cell / G. Kucsko, P.C. Maurer, N.Y. Yao [et al.] // *Nature*. – 2013. – Т. 500. – № 7460. – С. 54-58.
5. Fluorescent Nanodiamond–Gold Hybrid Particles for Multimodal Optical and Electron Microscopy Cellular Imaging / W. Liu, B. Naydenov, S. Chakraborty [et al.] // *Nano Letters*. – 2016. – Т. 16. – № 10. – С. 6236-6244.
6. Measuring Nanoscale Thermostability of Cell Membranes with Single Gold–Diamond Nanohybrids / P. Tsai, C.P. Epperla, J. Huang [et al.] // *Angewandte Chemie*. – 2017. – Т. 129. – № 11. – С. 3071-3076.
7. All-optical nanoscale thermometry with silicon-vacancy centers in diamond / C.T. Nguyen, R.E. Evans, A. Sipahigil [et al.] // *Applied Physics Letters*. – 2018. – Т. 112. – № 20. – С. 203102.
8. Toward Performance and Applications of Large Area Optical Thermometry Based on the Luminescence of Germanium-Vacancy Defects in Diamond Nanocrystals / C. Miller, L. Puust, E. Ekimov [et al.] // *physica status solidi (a)*. – 2021. – Т. 218. – № 5. – С. 2000217.
9. Middleton, W.E.K. A history of the thermometer and its use in meteorology / W.E.K. Middleton. – Baltimore, Md.: Johns Hopkins Univ. Pr, 2003. – 249 с.
10. Rubin, L.G. Cryogenic thermometry: a review of progress since 1982 / L.G. Rubin // *Cryogenics*. – 1997. – Т. 37. – № 7. – С. 341-356.
11. Preston-Thomas, H. The International Temperature Scale of 1990(ITS-90) / H.

- Preston-Thomas. – 1990. – T. 27. – № 1. – C. 3-10.
12. Optical Nanoscale Thermometry: From Fundamental Mechanisms to Emerging Practical Applications / C. Bradac, S.F. Lim, H. Chang [et al.] // *Advanced Optical Materials*. – 2020. – T. 8. – № 15. – C. 2000183.
 13. Ross, D. Temperature Measurement in Microfluidic Systems Using a Temperature-Dependent Fluorescent Dye / D. Ross, M. Gaitan, L.E. Locascio // *Analytical Chemistry*. – 2001. – T. 73. – № 17. – C. 4117-4123.
 14. Significant heat transfer enhancement in microchannels with herringbone-inspired microstructures / J. Marschewski, R. Brechbühler, S. Jung [et al.] // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2016. – T. 95. – C. 755-764.
 15. Thermo-optical characterization of fluorescent rhodamine B based temperature-sensitive nanosensors using a CMOS MEMS micro-hotplate / V.M. Chauhan, R.H. Hopper, S.Z. Ali [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2014. – T. 192. – C. 126-133.
 16. Samy, R. Method for Microfluidic Whole-Chip Temperature Measurement Using Thin-Film Poly(dimethylsiloxane)/Rhodamine B / R. Samy, T. Glawdel, C.L. Ren // *Analytical Chemistry*. – 2008. – T. 80. – № 2. – C. 369-375.
 17. Optical visualisation of thermogenesis in stimulated single-cell brown adipocytes / R. Kriszt, S. Arai, H. Itoh [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – T. 7. – № 1. – C. 1383.
 18. A Molecular Fluorescent Probe for Targeted Visualization of Temperature at the Endoplasmic Reticulum / S. Arai, S.-C. Lee, D. Zhai [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – T. 4. – № 1. – C. 6701.
 19. Mitochondria-targeted fluorescent thermometer monitors intracellular temperature gradient / S. Arai, M. Suzuki, S.-J. Park [et al.] // *Chemical Communications*. – 2015. – T. 51. – № 38. – C. 8044-8047.
 20. Direct organelle thermometry with fluorescence lifetime imaging microscopy in single myotubes / H. Itoh, S. Arai, T. Sudhakaran [et al.] // *Chemical Communications*. – 2016. – T. 52. – № 24. – C. 4458-4461.
 21. Jablonski, A. Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes / A. Jablonski // *Nature*. – 1933. – T. 131. – № 3319. – C. 839-840.
 22. Quantitative comparison of thermal and solutal transport in a T-mixer by FLIM and CFD / D.-A. Mendels, E.M. Graham, S.W. Magennis [et al.] // *Microfluidics and*

- Nanofluidics. – 2008. – T. 5. – № 5. – C. 603-617.
23. Shah, J.J. Generalized Temperature Measurement Equations for Rhodamine B Dye Solution and Its Application to Microfluidics / J.J. Shah, M. Gaitan, J. Geist // *Analytical Chemistry*. – 2009. – T. 81. – № 19. – C. 8260-8263.
 24. Optically trapped microsensors for microfluidic temperature measurement by fluorescence lifetime imaging microscopy / M.A. Bennet, P.R. Richardson, J. Arlt [et al.] // *Lab on a Chip*. – 2011. – T. 11. – № 22. – C. 3821.
 25. Migler, K.B. Fluorescence based measurement of temperature profiles during polymer processing / K.B. Migler, A.J. Bur // *Polymer Engineering & Science*. – 1998. – T. 38. – № 1. – C. 213-221.
 26. Zachariasse, K.A. Intramolecular excimer formation with 1,3-di(1-pyrenyl)propane. Decay parameters and influence of viscosity / K.A. Zachariasse, G. Duveneck, R. Busse // *Journal of the American Chemical Society*. – 1984. – T. 106. – № 4. – C. 1045-1051.
 27. Genetically encoded fluorescent thermosensors visualize subcellular thermoregulation in living cells / S. Kiyonaka, T. Kajimoto, R. Sakaguchi [et al.] // *Nature Methods*. – 2013. – T. 10. – № 12. – C. 1232-1238.
 28. Bur, A.J. Fluorescence based temperature measurements and applications to real-time polymer processing / A.J. Bur, M.G. Vangel, S.C. Roth // *Polymer Engineering & Science*. – 2001. – T. 41. – № 8. – C. 1380-1389.
 29. Investigation of polymer dynamics through the pressure effect on intramolecular excimer formation of a small probe / D.P. Jing, L. Bokobza, P. Sergot [et al.] // *Polymer*. – 1989. – T. 30. – № 3. – C. 443-446.
 30. Chandrasekharan, N. A Dual Fluorescence Temperature Sensor Based on Perylene/Exciplex Interconversion / N. Chandrasekharan, L.A. Kelly // *Journal of the American Chemical Society*. – 2001. – T. 123. – № 40. – C. 9898-9899.
 31. Volchkov, V.V. Structural relaxation of excited molecules of heteroaromatic compounds / V.V. Volchkov, B.M. Uzhinov // *High Energy Chemistry*. – 2008. – T. 42. – № 3. – C. 153-169.
 32. A Triarylboron-Based Fluorescent Thermometer: Sensitive Over a Wide Temperature Range / J. Feng, K. Tian, D. Hu [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2011. – T. 50. – № 35. – C. 8072-8076.
 33. Fluorescent Temperature Sensing Using Triarylboron Compounds and Microcapsules

- for Detection of a Wide Temperature Range on the Micro- and Macroscale / J. Feng, L. Xiong, S. Wang [et al.] // *Advanced Functional Materials*. – 2013. – T. 23. – № 3. – C. 340-345.
34. Rotkiewicz, K. Reinterpretation of the anomalous fluorescence of p-n,n-dimethylamino-benzonitrile / K. Rotkiewicz, K.H. Grellmann, Z.R. Grabowski // *Chemical Physics Letters*. – 1973. – T. 19. – № 3. – C. 315-318.
 35. Kahn, O. Spin-crossover molecular materials / O. Kahn // *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. – 1996. – T. 1. – № 4. – C. 547-554.
 36. Nicolazzi, W. Thermodynamical aspects of the spin crossover phenomenon / W. Nicolazzi, A. Bousseksou // *Comptes Rendus. Chimie*. – 2018. – T. 21. – № 12. – C. 1060-1074.
 37. Cooperative spin crossover phenomena in [Fe(NH₂trz)₃](tosylate)₂ nanoparticles / A. Tokarev, L. Salmon, Y. Guari [et al.] // *Chemical Communications*. – 2010. – T. 46. – № 42. – C. 8011.
 38. A novel approach for fluorescent thermometry and thermal imaging purposes using spin crossover nanoparticles / L. Salmon, G. Molnár, D. Zitouni [et al.] // *Journal of Materials Chemistry*. – 2010. – T. 20. – № 26. – C. 5499.
 39. A fluorescent molecular thermometer based on the nickel(II) high-spin/low-spin interconversion / M. Engeser, L. Fabbrizzi, M. Licchelli [et al.] // *Chemical Communications*. – 1999. – № 13. – C. 1191-1192.
 40. Temperature mapping near plasmonic nanostructures using fluorescence polarization anisotropy / G. Baffou, M.P. Kreuzer, F. Kulzer [et al.] // *Optics Express*. – 2009. – T. 17. – № 5. – C. 3291.
 41. Imaging of Plasmonic Heating in a Living Organism / J.S. Donner, S.A. Thompson, C. Alonso-Ortega [et al.] // *ACS Nano*. – 2013. – T. 7. – № 10. – C. 8666-8672.
 42. O'Donnell, K.P. Temperature dependence of semiconductor band gaps / K.P. O'Donnell, X. Chen // *Applied Physics Letters*. – 1991. – T. 58. – № 25. – C. 2924-2926.
 43. Allen, P.B. Temperature dependence of the direct gap of Si and Ge / P.B. Allen, M. Cardona // *Physical Review B*. – 1983. – T. 27. – № 8. – C. 4760-4769.
 44. Temperature dependence of the photoluminescence properties of colloidal Cd Se/Zn S core/shell quantum dots embedded in a polystyrene matrix / D. Valerini, A. Cretí, M.

- Lomascolo [et al.] // *Physical Review B*. – 2005. – T. 71. – № 23. – C. 235409.
45. Development of Quantum Dot-Mediated Fluorescence Thermometry for Thermal Therapies / B. Han, W.L. Hanson, K. Bensalah [et al.] // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2009. – T. 37. – № 6. – C. 1230-1239.
 46. De Mello Donegá, C. Size- and temperature-dependence of exciton lifetimes in CdSe quantum dots / C. De Mello Donegá, M. Bode, A. Meijerink // *Physical Review B*. – 2006. – T. 74. – № 8. – C. 085320.
 47. Advances and challenges for fluorescence nanothermometry / J. Zhou, B. Del Rosal, D. Jaque [et al.] // *Nature Methods*. – 2020. – T. 17. – № 10. – C. 967-980.
 48. Size-Dependent Temperature Variation of the Energy Gap in Lead-Salt Quantum Dots / A. Olkhovets, R.-C. Hsu, A. Lipovskii [et al.] // *Physical Review Letters*. – 1998. – T. 81. – № 16. – C. 3539-3542.
 49. Significant heat transfer enhancement in microchannels with herringbone-inspired microstructures / J. Marschewski, R. Brechbühler, S. Jung [et al.] // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2016. – T. 95. – C. 755-764.
 50. Intracellular Temperature Sensing: An Ultra-bright Luminescent Nanothermometer with Non-sensitivity to pH and Ionic Strength / H. Liu, Y. Fan, J. Wang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – T. 5. – № 1. – C. 14879.
 51. Auzel, F. Multiphonon-assisted anti-Stokes and Stokes fluorescence of triply ionized rare-earth ions / F. Auzel // *Physical Review B*. – 1976. – T. 13. – № 7. – C. 2809-2817.
 52. Wright, J.C. Up-conversion and excited state energy transfer in rare-earth doped materials / J.C. Wright // *Radiationless Processes in Molecules and Condensed Phases : Topics in Applied Physics*. – Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1976. – T. 15. – C. 239-295.
 53. Allison, S.W. Remote thermometry with thermographic phosphors: Instrumentation and applications / S.W. Allison, G.T. Gillies // *Review of Scientific Instruments*. – 1997. – T. 68. – № 7. – C. 2615-2650.
 54. Near-infrared emitting YVO₄:Nd³⁺ nanoparticles for high sensitive fluorescence thermometry / A.A. Kalinichev, M.A. Kurochkin, E.V. Golyeva [et al.] // *Journal of Luminescence*. – 2018. – T. 195. – C. 61-66.
 55. Intracellular imaging of HeLa cells by non-functionalized NaYF₄: Er³⁺, Yb³⁺ upconverting nanoparticles / F. Vetrone, R. Naccache, A. Juarranz De La Fuente [et al.]

- // *Nanoscale*. – 2010. – T. 2. – № 4. – C. 495-498.
56. Fluorescent N-Doped Carbon Dots as *in Vitro* and *in Vivo* Nanothermometer / Y. Yang, W. Kong, H. Li [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2015. – T. 7. – № 49. – C. 27324-27330.
 57. Temperature-Dependent Fluorescence in Carbon Dots / P. Yu, X. Wen, Y.-R. Toh [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2012. – T. 116. – № 48. – C. 25552-25557.
 58. Multicolor fluorescent graphene quantum dots colorimetrically responsive to all-pH and a wide temperature range / F. Yuan, L. Ding, Y. Li [et al.] // *Nanoscale*. – 2015. – T. 7. – № 27. – C. 11727-11733.
 59. Carbon Dot Nanothermometry: Intracellular Photoluminescence Lifetime Thermal Sensing / S. Kalytchuk, K. Poláková, Y. Wang [et al.] // *ACS Nano*. – 2017. – T. 11. – № 2. – C. 1432-1442.
 60. Mohammed, L.J. Dual functional highly luminescence B, N Co-doped carbon nanodots as nanothermometer and Fe³⁺/Fe²⁺ sensor / L.J. Mohammed, K.M. Omer // *Scientific Reports*. – 2020. – T. 10. – № 1. – C. 3028.
 61. Pietsch, C. Aqueous polymeric sensors based on temperature-induced polymer phase transitions and solvatochromic dyes / C. Pietsch, U.S. Schubert, R. Hoogenboom // *Chemical Communications*. – 2011. – T. 47. – № 31. – C. 8750.
 62. Oxygen-proof fluorescence temperature sensing with pristine C₇₀ encapsulated in polymernanoparticles / V. Augusto, C. Baleizão, M.N. Berberan-Santos [et al.] // *J. Mater. Chem.* – 2010. – T. 20. – № 6. – C. 1192-1197.
 63. An Optical Thermometer Based on the Delayed Fluorescence of C₇₀ / C. Baleizão, S. Nagl, S.M. Borisov [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2007. – T. 13. – № 13. – C. 3643-3651.
 64. Thermofluorescent Conjugated Polymer Sensors for Nano- and Microscale Temperature Monitoring / O. Yarimaga, S. Lee, D. Ham [et al.] // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2011. – T. 212. – № 12. – C. 1211-1220.
 65. Schild, H.G. Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application / H.G. Schild // *Progress in Polymer Science*. – 1992. – T. 17. – № 2. – C. 163-249.
 66. Thermometry at the nanoscale / C.D.S. Brites, P.P. Lima, N.J.O. Silva [et al.] // *Nanoscale*. – 2012. – T. 4. – № 16. – C. 4799.
 67. Hydrophilic Fluorescent Nanogel Thermometer for Intracellular Thermometry / C.

- Gota, K. Okabe, T. Funatsu [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2009. – T. 131. – № 8. – C. 2766-2767.
68. Quantitative mapping of aqueous microfluidic temperature with sub-degree resolution using fluorescence lifetime imaging microscopy / E.M. Graham, K. Iwai, S. Uchiyama [et al.] // *Lab on a Chip*. – 2010. – T. 10. – № 10. – C. 1267.
69. Gota, C. Accurate fluorescent polymeric thermometers containing an ionic component / C. Gota, S. Uchiyama, T. Ohwada // *The Analyst*. – 2007. – T. 132. – № 2. – C. 121-126.
70. Lee, J. Nanoparticle Assemblies with Molecular Springs: A Nanoscale Thermometer / J. Lee, A.O. Govorov, N.A. Kotov // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2005. – T. 44. – № 45. – C. 7439-7442.
71. A Near-Infrared Fluorescence-Based Optical Thermosensor / S. Lee, S. Lee, I. Youn [et al.] // *Chemistry – A European Journal*. – 2009. – T. 15. – № 25. – C. 6103-6106.
72. Pietsch, C. PMMA based soluble polymeric temperature sensors based on UCST transition and solvatochromic dyes / C. Pietsch, R. Hoogenboom, U.S. Schubert // *Polymer Chemistry*. – 2010. – T. 1. – № 7. – C. 1005.
73. Thermo- and Solvent-Responsive Polymer Complex Created from Supramolecular Complexation between a Helix-Forming Polysaccharide and a Cationic Polythiophene / T. Shiraki, A. Dawn, Y. Tsuchiya [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2010. – T. 132. – № 39. – C. 13928-13935.
74. Temperature-Dependent Fluorescence Lifetime of a Fluorescent Polymeric Thermometer, Poly(*N* -isopropylacrylamide), Labeled by Polarity and Hydrogen Bonding Sensitive 4-Sulfamoyl-7-aminobenzofurazan / C. Gota, S. Uchiyama, T. Yoshihara [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2008. – T. 112. – № 10. – C. 2829-2836.
75. Chen, Y. Near-Infrared Fluorescent Nanocapsules with Reversible Response to Thermal/pH Modulation for Optical Imaging / Y. Chen, X. Li // *Biomacromolecules*. – 2011. – T. 12. – № 12. – C. 4367-4372.
76. A Fluorescent Thermometer Based on a Pyrene-Labeled Thermoresponsive Polymer / C. Pietsch, A. Vollrath, R. Hoogenboom [et al.] // *Sensors*. – 2010. – T. 10. – № 9. – C. 7979-7990.
77. Wan, X. Fluorescent water-soluble responsive polymers site-specifically labeled with

- FRET dyes possessing pH- and thermo-modulated multicolor fluorescence emissions as dual ratiometric probes / X. Wan, S. Liu // *Journal of Materials Chemistry*. – 2011. – T. 21. – № 28. – C. 10321.
78. Dual-sensing porphyrin-containing copolymer nanosensor as full-spectrum colorimeter and ultra-sensitive thermometer / Q. Yan, J. Yuan, Y. Kang [et al.] // *Chemical Communications*. – 2010. – T. 46. – № 16. – C. 2781.
79. Borisov, S.M. Temperature-Sensitive Europium(III) Probes and Their Use for Simultaneous Luminescent Sensing of Temperature and Oxygen / S.M. Borisov, O.S. Wolfbeis // *Analytical Chemistry*. – 2006. – T. 78. – № 14. – C. 5094-5101.
80. Preparation of Reversible Colorimetric Temperature Nanosensors and Their Application in Quantitative Two-Dimensional Thermo-Imaging / X. Wang, X. Song, C. He [et al.] // *Analytical Chemistry*. – 2011. – T. 83. – № 7. – C. 2434-2437.
81. Collins, A.T. A spectroscopic study of optical centers in diamond grown by microwave-assisted chemical vapor deposition / A.T. Collins, M. Kamo, Y. Sato // *Journal of Materials Research*. – 1990. – T. 5. – № 11. – C. 2507-2514.
82. Wentorf, R.H. The Behavior of Some Carbonaceous Materials at Very High Pressures and High Temperatures / R.H. Wentorf // *The Journal of Physical Chemistry*. – 1965. – T. 69. – № 9. – C. 3063-3069.
83. High-Pressure Synthesis of Nanodiamonds from Adamantane: Myth or Reality? / E.A. Ekimov, O.S. Kudryavtsev, N.E. Mordvinova [et al.] // *ChemNanoMat*. – 2018. – T. 4. – № 3. – C. 269-273.
84. Zaitsev, A.M. Optical properties of diamond: a data handbook. Optical properties of diamond / A.M. Zaitsev. – 1., ed. softcover version of original hardcover ed. 2001. – Berlin: Springer, 2010. – 502 c.
85. Low-temperature investigations of single silicon vacancy colour centres in diamond / E. Neu, C. Hepp, M. Hauschild [et al.] // *New Journal of Physics*. – 2013. – T. 15. – № 4. – C. 043005.
86. Davies, G. Vibronic spectra in diamond / G. Davies // *Journal of Physics C: Solid State Physics*. – 1974. – T. 7. – № 20. – C. 3797-3809.
87. Temperature Dependence of the Nitrogen-Vacancy Magnetic Resonance in Diamond / V.M. Acosta, E. Bauch, M.P. Ledbetter [et al.] // *Physical Review Letters*. – 2010. – T. 104. – № 7. – C. 070801.

88. Plakhotnik, T. Luminescence of nitrogen-vacancy centers in nanodiamonds at temperatures between 300 and 700 K: perspectives on nanothermometry / T. Plakhotnik, D. Gruber // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2010. – T. 12. – № 33. – C. 9751.
89. Temperature shifts of the resonances of the NV – center in diamond / M.W. Doherty, V.M. Acosta, A. Jarmola [et al.] // *Physical Review B*. – 2014. – T. 90. – № 4. – C. 041201.
90. Hizhnyakov, V. Zero-Phonon Lines: The Effect of a Strong Softening of Elastic Springs in the Excited State / V. Hizhnyakov, H. Kaasik, I. Sildos // *physica status solidi (b)*. – 2002. – T. 234. – № 2. – C. 644-653.
91. Nanodiamond–Quantum Sensors Reveal Temperature Variation Associated to Hippocampal Neurons Firing / G. Petrini, G. Tomagra, E. Bernardi [et al.] // *Advanced Science*. – 2022. – T. 9. – № 28. – C. 2202014.
92. Electron–phonon processes of the silicon-vacancy centre in diamond / K.D. Jahnke, A. Sipahigil, J.M. Binder [et al.] // *New Journal of Physics*. – 2015. – T. 17. – № 4. – C. 043011.
93. Luminescent nanodiamonds for biomedical applications / J.M. Say, C. Van Vreden, D.J. Reilly [et al.] // *Biophysical Reviews*. – 2011. – T. 3. – № 4. – C. 171-184.
94. Molecular-sized fluorescent nanodiamonds / I.I. Vlasov, A.A. Shiryayev, T. Rendler [et al.] // *Nature Nanotechnology*. – 2014. – T. 9. – № 1. – C. 54-58.
95. Moré, J.J. The Levenberg-Marquardt algorithm: Implementation and theory / J.J. Moré // *Numerical Analysis : Lecture Notes in Mathematics* / ed. G.A. Watson. – Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1978. – T. 630. – The Levenberg-Marquardt algorithm. – C. 105-116.
96. Low-Temperature Silicon-Vacancy Luminescence of Individual Chemical Vapor Deposition Nanodiamonds Grown by Seeding and Spontaneous Nucleation / D.G. Pasternak, J. Dai, D.A. Kalashnikov [et al.] // *physica status solidi (a)*. – 2021. – T. 218. – № 5. – C. 2000274.
97. Thermal expansion of a high purity synthetic diamond single crystal at low temperatures / T. Sato, K. Ohashi, T. Sudoh [et al.] // *Physical Review B*. – 2002. – T. 65. – № 9. – C. 092102.
98. Electronic structure of the negatively charged silicon-vacancy center in diamond / L.J.

- Rogers, K.D. Jahnke, M.W. Doherty [et al.] // *Physical Review B*. – 2014. – T. 89. – № 23. – C. 235101.
99. The Twelve-Line 1.682 eV Luminescence Center in Diamond and the Vacancy-Silicon Complex / J.P. Goss, R. Jones, S.J. Breuer [et al.] // *Physical Review Letters*. – 1996. – T. 77. – № 14. – C. 3041-3044.
100. Silicon defects in diamond / C.D. Clark, H. Kanda, I. Kiflawi [et al.] // *Physical Review B*. – 1995. – T. 51. – № 23. – C. 16681-16688.
101. Nanodiamonds carrying silicon-vacancy quantum emitters with almost lifetime-limited linewidths / U. Jantzen, A.B. Kurz, D.S. Rudnicki [et al.] // *New Journal of Physics*. – 2016. – T. 18. – № 7. – C. 073036.
102. Production of nano- and microdiamonds with Si-V and N-V luminescent centers at high pressures in systems based on mixtures of hydrocarbon and fluorocarbon compounds / V.A. Davydov, A.V. Rakhmanina, S.G. Lyapin [et al.] // *JETP Letters*. – 2014. – T. 99. – № 10. – C. 585-589.
103. Nonblinking Emitters with Nearly Lifetime-Limited Linewidths in CVD Nanodiamonds / K. Li, Y. Zhou, A. Rasmita [et al.] // *Physical Review Applied*. – 2016. – T. 6. – № 2. – C. 024010.
104. Multiple intrinsically identical single-photon emitters in the solid state / L.J. Rogers, K.D. Jahnke, T. Teraji [et al.] // *Nature Communications*. – 2014. – T. 5. – № 1. – C. 4739.
105. Monoisotopic Ensembles of Silicon-Vacancy Color Centers with Narrow-Line Luminescence in Homoepitaxial Diamond Layers Grown in H_2 – CH_4 – $^{[x]}$ SiH_4 Gas Mixtures ($x = 28, 29, 30$) / V.G. Ralchenko, V.S. Sedov, A.K. Martyanov [et al.] // *ACS Photonics*. – 2019. – T. 6. – № 1. – C. 66-72.
106. Nanodiamond Theranostic for Light-Controlled Intracellular Heating and Nanoscale Temperature Sensing / Y. Wu, M.N.A. Alam, P. Balasubramanian [et al.] // *Nano Letters*. – 2021. – T. 21. – № 9. – C. 3780-3788.
107. Infrared light excites cells by changing their electrical capacitance / M.G. Shapiro, K. Homma, S. Villarreal [et al.] // *Nature Communications*. – 2012. – T. 3. – № 1. – C. 736.
108. Neural stimulation with optical radiation / C. -P. Richter, A.I. Matic, J.D. Wells [et al.] // *Laser & Photonics Reviews*. – 2011. – T. 5. – № 1. – C. 68-80.

109. Clark, S.P. SECTION 21: THERMAL CONDUCTIVITY / S.P. Clark // Geological Society of America Memoirs. – Geological Society of America, 1966. – T. 97. – SECTION 21. – C. 459-482.
110. Limits of localized heating by electromagnetically excited nanoparticles / P. Keblinski, D.G. Cahill, A. Bodapati [et al.] // Journal of Applied Physics. – 2006. – T. 100. – № 5. – C. 054305.
111. Logothetidis, S. Optical and electronic properties of amorphous carbon materials / S. Logothetidis // Diamond and Related Materials. – 2003. – T. 12. – № 2. – C. 141-150.
112. Efimov, V.B. Phonon scattering in diamond films / V.B. Efimov, L.P. Mezhov-Deglin // Physica B: Condensed Matter. – 1999. – T. 263-264. – C. 745-748.
113. Colloidal metal particles as probes of nanoscale thermal transport in fluids / O.M. Wilson, X. Hu, D.G. Cahill [et al.] // Physical Review B. – 2002. – T. 66. – № 22. – C. 224301.
114. Heating and cooling are fundamentally asymmetric and evolve along distinct pathways / M. Ibáñez, C. Dieball, A. Lasanta [et al.] // Nature Physics. – 2024. – T. 20. – № 1. – C. 135-141.
115. A critique of methods for temperature imaging in single cells / G. Baffou, H. Rigneault, D. Marguet [et al.] // Nature Methods. – 2014. – T. 11. – № 9. – C. 899-901.
116. The conundrum of hot mitochondria / D. Macherel, F. Haraux, H. Guillou [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. – 2021. – T. 1862. – № 2. – C. 148348.
117. Hydrodynamic model of temperature change in open ionic channels / D.P. Chen, R.S. Eisenberg, J.W. Jerome [et al.] // Biophysical Journal. – 1995. – T. 69. – № 6. – C. 2304-2322.
118. Ritchie, M.E. Reaction and diffusion thermodynamics explain optimal temperatures of biochemical reactions / M.E. Ritchie // Scientific Reports. – 2018. – T. 8. – № 1. – C. 11105.
119. Almeida, P.F.F. Lateral diffusion in the liquid phases of dimyristoylphosphatidylcholine/cholesterol lipid bilayers: a free volume analysis / P.F.F. Almeida, W.L.C. Vaz, T.E. Thompson // Biochemistry. – 1992. – T. 31. – № 29. – C. 6739-6747.
120. Coping with Thermal Challenges: Physiological Adaptations to Environmental

- Temperatures / G.J. Tattersall, B.J. Sinclair, P.C. Withers [et al.] // *Comprehensive Physiology* / ed. Y.S. Prakash. – Wiley, 2012. – Coping with Thermal Challenges. – C. 2151-2202.
121. Meltome atlas—thermal proteome stability across the tree of life / A. Jarzab, N. Kurzawa, T. Hopf [et al.] // *Nature Methods*. – 2020. – T. 17. – № 5. – C. 495-503.
122. Van Dijk, E. The Hydrophobic Temperature Dependence of Amino Acids Directly Calculated from Protein Structures / E. Van Dijk, A. Hoogeveen, S. Abeln // *PLOS Computational Biology*. – 2015. – T. 11. – № 5. – C. e1004277.
123. Okabe, K. Intracellular thermometry uncovers spontaneous thermogenesis and associated thermal signaling / K. Okabe, S. Uchiyama // *Communications Biology*. – 2021. – T. 4. – № 1. – C. 1377.
124. A Cell-Permeable Fluorescent Polymeric Thermometer for Intracellular Temperature Mapping in Mammalian Cell Lines / T. Hayashi, N. Fukuda, S. Uchiyama [et al.] // *PLOS ONE*. – 2015. – T. 10. – № 2. – C. e0117677.
125. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy / K. Okabe, N. Inada, C. Gota [et al.] // *Nature Communications*. – 2012. – T. 3. – № 1. – C. 705.
126. Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with wide range and rapid response / M. Nakano, Y. Arai, I. Kotera [et al.] // *PLOS ONE*. – 2017. – T. 12. – № 2. – C. e0172344.
127. Detection of Temperature Difference in Neuronal Cells / R. Tanimoto, T. Hiraiwa, Y. Nakai [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – T. 6. – № 1. – C. 22071.
128. Mitochondria are physiologically maintained at close to 50 °C / D. Chrétien, P. Bénit, H.-H. Ha [et al.] // *PLOS Biology*. – 2018. – T. 16. – № 1. – C. e2003992.
129. Cortical column and whole-brain imaging with molecular contrast and nanoscale resolution / R. Gao, S.M. Asano, S. Upadhyayula [et al.] // *Science*. – 2019. – T. 363. – № 6424. – C. eaau8302.
130. MFF-dependent mitochondrial fission regulates presynaptic release and axon branching by limiting axonal mitochondria size / T.L. Lewis, S.-K. Kwon, A. Lee [et al.] // *Nature Communications*. – 2018. – T. 9. – № 1. – C. 5008.
131. Stępkowski, T.M. mitoLUHMES: An Engineered Neuronal Cell Line for the Analysis of the Motility of Mitochondria / T.M. Stępkowski, S. Męczyńska-Wielgosz, M.

- Kruszewski // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2017. – T. 37. – № 6. – C. 1055-1066.
132. Hamberger, A. Comparative studies on mitochondria isolated from neuron-enriched and glia-enriched fractions of rabbit and beef brain / A. Hamberger, C. Blomstrand, A.L. Lehninger // The Journal of Cell Biology. – 1970. – T. 45. – № 2. – C. 221-234.