

Wykorzystanie fluorescencji do pomiaru stężenia tlenu w opakowaniach

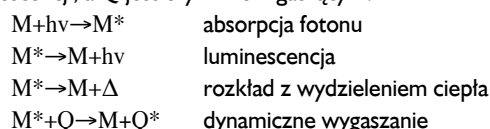
Wojciech KOZAK - Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Poznań

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2011, 65, 7, 627-632

Obecność tlenu w opakowaniu wielu produktów, m.in. produktów spożywczych, przyczynia się do utraty ich jakości, skrócenia okresu przechowywania, a w skrajnych przypadkach prowadzi do zupełnego zepsucia. Producenci żywności stoją więc przed wyzwaniem, by w możliwie tani i efektywny sposób obniżyć ilość tlenu w atmosferze opakowania, np. z wykorzystaniem pakowania próżniowego, MAP czy też zastosowaniem pochłaniaczy tlenu [1]. Zabiegi te mogą jednak nie przynieść spodziewanych efektów, jeśli nie będzie pewności, czy zostały prawidłowo przeprowadzone. Wymiernym wskaźnikiem jest w tym przypadku stężenie tlenu we wnętrzu opakowania po jego zamknięciu. Konieczna jest zatem kontrola ilości tlenu, w celu weryfikacji skuteczności metody zastosowanej do jego usunięcia z atmosfery opakowania. Bez pewnej kontroli stężenia tlenu nie będzie informacji o procesach zachodzących wewnątrz opakowania, a tym samym niemożliwa będzie ocena stanu zapakowanego produktu. Do pomiarów ilości tlenu wewnątrz opakowań do tej pory wykorzystywano głównie chromatografię gazową albo mierniki tlenu oparte na ogniwach cyrkonowych zmieniających swój potencjał elektryczny w zależności od stężenia tlenu znajdującego się w ich otoczeniu. Cechą wspólną, i jednocześnie główną wadą tych metod, jest to, iż pomiar stężenia tlenu możliwy jest tylko i wyłącznie po uprzednim uszkodzeniu opakowania; pomiaru dokonuje się poprzez pobranie gazu za pomocą strzykawki chromatograficznej lub autosamplera, bądź też sondy pomiarowej zakończonej igłą. Przebić opakowania może towarzyszyć jednak nieszczelność wpływająca na końcowy wynik oznaczenia. Dodatkowo każdy pomiar to jednocześnie zmniejszenie objętości gazów wypełniających opakowanie, co ogranicza możliwość pomiarów wielokrotnych. Znanych jest kilka metod pozwalających na pomiar stężenia tlenu w opakowaniu bez jego uszkodzenia, ale z różnych względów metody te nie są stosowane powszechnie.

W niniejszym opracowaniu zaprezentowano nową i – wydaje się – jedną z najbardziej przyjaznych użytkownikowi, nieinwazyjną metodę pomiaru ilości tlenu w opakowaniach, wykorzystującą zjawisko fluorescencji.

U podstaw tej metody leży zależność czasu wygaszania fluorescencji określonych substancji od stężenia tlenu znajdującego się w ich otoczeniu. Dzięki tej właściwości substancje te mogą stanowić specyficzne sensory ilości tlenu [3]. Warunkiem koniecznym jest w tym przypadku, aby czas wygaszania fluorescencji był niezależny od obecności innych (poza tlenem) gazów. Mechanizm wygaszania takiego sensora przebiega zgodnie z reakcjami, w których M reprezentuje cząsteczkę zdolną do luminescencji, a Q jest czynnikiem gaszącym:



W warunkach opisanego przedstawionego procesu, kolizja cząsteczki tlenu (Q) z fluoroforem w jego wzbudzonym stanie (M^*) prowadzi do wymiany energii i obniżenia intensywności fluorescencji [4]. Energia pochłonięta przez tlen (Q) jest następnie, w krótkim czasie, rozproszona w postaci ciepła, a cały proces może być powtórzony. W opisanym mechanizmie nie następuje zmiana składu atmosfery opakowania.

W przypadku handlowych sensorów tlenu, najczęściej wykorzystywanym w tej roli związkem jest chlorek tri-(4,7-bifenyli-1,10-fenantroliny)rutenu [3]. Wynika to z jego wyjątkowej stabilności, trwałości, wysokiej absorpcji światła niebieskiego oraz wywołanej

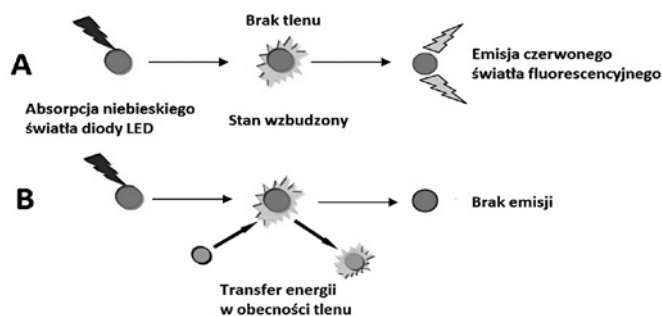
nią intensywnej fluorescencji w zakresie światła czerwonego. Dzięki temu do jego wzbudzenia można wykorzystywać tanie diody LED albo lasery półprzewodnikowe. Przykładowy system pomiarowy składa się ze źródła światła (niebieska dioda LED), światłowodu, urządzenia rejestrującego (fotopowielacz) oraz komputera z oprogramowaniem pozwalającym na przeliczenie czasu wygaszania fluorescencji na stężenie tlenu (rys. 1).

W czasie pomiaru kompleks rutenu jest wzbudzony za pomocą promieniowania emitowanego przez niebieską diodę LED. Krótki impuls niebieskiego światła jest absorbowany przez kompleks. Następnie kompleks emituje promieniowanie z maksimum przy 600 nm (rys. 2A.)



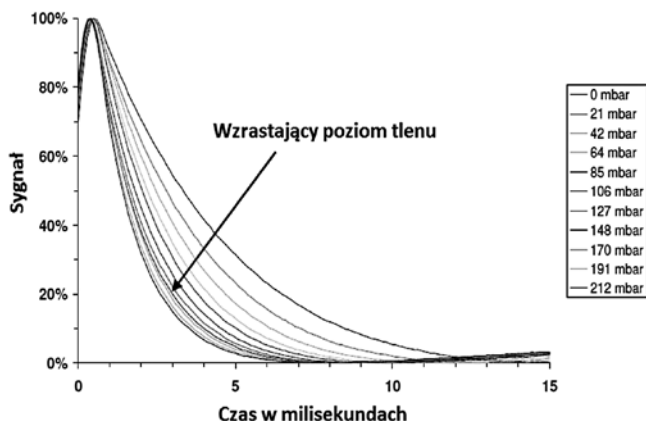
Rys. 1. Przykładowy system do pomiaru ilości tlenu z wykorzystaniem zjawiska fluorescencji [2]

Średni czas pomiędzy absorpcją fotonu i następnie emisją fotonu o innej barwie, nazywany jest średnim czasem życia fluorescencji. Dla wspomnianego kompleksu rutenu wynosi on ok. 5 mikrosekund. Jeżeli jednak w układzie znajduje się tlen, fluorescencja jest wygaszana (rys. 2B). Podczas zderzeń molekuł tlenu z cząsteczkami kompleksu rutenu następuje wymiana energii zapobiegająca emisji fotonów. Taki proces nazywa się dynamicznym wygaszaniem, a jego rezultatem jest spadek czasu życia fluorescencji proporcjonalny do stężenia (ciśnienia cząstkowego) tlenu w otaczającej atmosferze. Przy skrajnie wysokim stężeniu tlenu fluorescencja prawie zanika.



Rys. 2. Proces fluorescencji kompleksu rutenu przy braku tlenu (A) i w przypadku jego obecności (B). Źródło: opracowanie własne na podstawie materiałów firmy OxySense

W warunkach normalnych czas życia spada z 5 mikrosekund w atmosferze beztlenowej o cząstkowym ciśnieniu tlenu 0 mbar do ok. 1 mikrosekundy w powietrzu atmosferycznym, dla którego ciśnienie cząstkowe tlenu wynosi 212 mbar. Zależności czasu luminescencji od ciśnienia cząstkowego tlenu opisuje równanie Sterna-Volmera [3, 5] i są one zaprezentowane na wykresie 1.



Wyk. 1. Czas wygaszania fluorescencji w zależności od ciśnienia cząstkowego tlenu. Źródło: opracowanie własne na podstawie materiałów firmy OxySense

Znając czas życia fluorescencji, można wyznaczyć pośrednie wartości cząstkowego ciśnienia tlenu, a następnie jego stężenia procentowe. Dzięki temu możliwe jest kalibrowanie systemu pomiarowego wykorzystując tylko dwa punkty odpowiadające określonym ciśnieniom cząstkowym tlenu. W praktyce sprowadza się to do stosowania dwóch gazów kalibracyjnych. Jako wzorzec zerowy stężenia tlenu stosuje się najczęściej gazy obojętne niezawierające tlenu (np. azot 5.0 lub argon 5.0), natomiast jako wzorzec wysokiego stężenia tlenu używa się mieszanek gazową z określoną zawartością tlenu (np. 10% tlenu + 90% azotu, 20% tlenu + 90% argonu). Zawartość tlenu w mieszaninie z innym gazem obojętnym zależy od tego, w jak szerokim zakresie zamierza się prowadzić pomiary.

Na rynku dostępne są komercyjne systemy do oznaczania ilości tlenu wykorzystujące opisaną metodę. Należą do nich m.in. systemy OxySense GEN III 300 i 5000 firmy OxySense® oraz system OpTech™ O₂ Platinum firmy MOCON. Mają one kompaktowe wymiary, dzięki czemu można je bez problemu przenosić na miejsce badań. Przygotowanie do pomiaru sprowadza się do podłączenia komputera do sieci zasilającej poprzez złącze USB i uruchomienie dedykowanego oprogramowania, obliczającego stężenie procentowe tlenu na podstawie zarejestrowanego czasu wygaszania fluorescencji. Zasadniczą część stanowi urządzenie emitujące światło wzbudzające i rejestrujące wywołaną fluorescencję. W celu ułatwienia prowadzenia pomiaru stężenia tlenu w opakowaniach, urządzenia te wyposażone są w przewód światłowodowy, pozwalający na transmisję światła wzbudzającego i wyemitowanego z sensora umieszczonego wewnątrz opakowania do systemu mierzącego intensywność i czas wygaszania fluorescencji.

Dodatkowo, na końcu światłowodu znajduje się czujnik temperatury, dzięki czemu możliwa jest korekta wpływu temperatury na czas fluorescencji, a tym samym pomiary można prowadzić przy różnych temperaturach otoczenia i badanego opakowania. Należy jednak unikać dodatkowych źródeł ciepła, ponieważ – jak pokazują przeprowadzone testy – mogą one w znacznym stopniu wpływać na wynik pomiaru.

Badania wykonane w Katedrze Towaroznawstwa Przemysłowego z wykorzystaniem systemu OxySense® pokazują, że systemy wykorzystujące fluorescencję do pomiaru tlenu w atmosferze opakowania, dają bardzo obiecujące rezultaty w zakresie określania ilości tlenu w opakowaniach i mogą być doskonałą alternatywą dla wspomnianych na wstępie tradycyjnych metod pomiaru stężenia tlenu. Zapewniają

niemal natychmiastowy odczyt stężenia tlenu, pozwalają na nieograniczoną liczbę pomiarów w ramach tego samego opakowania (co jest szczególnie istotne w testach przechowalniczych). Pomiary mogą być wykonywane, w zależności od potrzeb, z dokładnością 0,1 lub 0,01% tlenu. W przypadku, gdy badane opakowania (a tym samym sensory zawierające kompleks rutenu) są wystawione w sposób ciągły na działanie światła dziennego, najlepsze rezultaty daje okresowa kalibracja systemu (min. raz na tydzień). Jest to związane z nieznaną zmianą charakterystyki fluorescencyjnej związku rutenu pod wpływem światła widzialnego. Pomiary mogą być wykonywane w opakowaniach o dowolnej formie konstrukcyjnej. Warunkiem, i jednocześnie ograniczeniem, prezentowanej metody jest to, aby materiał, z którego wykonane jest opakowanie, był przezroczysty. W przeprowadzonych badaniach wykorzystywano opakowania wykonane z tworzyw sztucznych (m.in. polietylenu, poliamidu, poliestru oraz laminatów stanowiących ich połączenie) w postaci worków i butelek oraz opakowania szklane, tj. butelki i słoje. W przypadku opakowań z tworzyw sztucznych, rodzaj i grubość materiału nie miały wpływu na wynik pomiaru, przy czym badania prowadzono z wykorzystaniem materiałów o grubościach od 15 do 200 μm. Przeprowadzono również próbę określenia ilości tlenu w butelkach po piwie wykonanych z brązowego politereftalanu etylenu (PET). Należy jednak dokonać kalibracji przez materiał badany, uwzględniającej wpływ jego koloru na wzbudzenie i emisję sensora.

W opakowaniach szklanych istotnym jest, by pomiar był prowadzony z sondą pomiarową znajdującą się możliwie blisko ściany opakowania, a tym samym sensora optycznego znajdującego się po jej wewnętrznej stronie. Przesuwanie sondy pomiarowej na odległość większą niż 5 mm od powierzchni opakowania powodowało istotną zmianę wyników pomiarów. Większość opakowań szklanych ma cylindryczny przekrój powierzchni, w związku z tym część światła wzbudzającego i wyemitowanego mogła ulegać rozpraszaniu i nie docierała do urządzenia analizującego. Możliwe jest również wykonanie pomiarów stężenia tlenu w opakowaniach wykonanych ze szkła kolorowego. Pozytywne rezultaty otrzymano zarówno dla najczęściej stosowanych w opakowalnictwie kolorów szkła, zielonego i jasnobrązowego, jak też dla rzadziej stosowanego (np. do produkcji butelek do wina) szkła niebieskiego. Należy jednak podkreślić, że nie jest możliwy pomiar stężenia tlenu w opakowaniach wykonanych ze szkła ciemnobrązowego. W tym przypadku otrzymywane wyniki były zupełnie przypadkowe.

Największą zaletą opisywanej metody jest jej nieinwazyjny charakter, pozwalający na wykonanie pomiaru bez uszkodzenia opakowania. Dodatkowo żaden z wchodzących w reakcję (w trakcie pomiarów) substratów nie jest zużywany, co pozwala na wielokrotne pomiary w tym samym opakowaniu. Sensor otoczony hydrofobowym polimerem jest bardzo stabilny i odporny na niekorzystne czynniki zewnętrzne, np. tłuszcze, wysoką temperaturę, wilgoć, co znacznie rozszerza możliwości jego stosowania. Kolejnym atutem jest krótki czas reakcji, dzięki czemu możliwe jest bardzo szybkie określenie ilości tlenu w opakowaniu. Zalety te predysponują przedstawioną metodę do monitorowania procesów pakowania w modyfikowanej atmosferze MAP oraz sprawdzania szczelności opakowań. Należy również wspomnieć o możliwości wykorzystania tej metody do określenia stopnia przenikalności tlenu przez materiały opakowaniowe, i wykonane z nich opakowania, zgodnie z metodyką przyjętą przez American Society for Testing and Materials [6]. Parametr ten jest jedną z najważniejszych wielkości charakteryzujących materiały opakowaniowe z punktu widzenia ich przydatności do pakowania produktów spożywczych. Pozwala na prawidłowy dobór materiału opakowaniowego dla określonego produktu i stosowanej techniki jego pakowania. Podejmowane są próby zmierzające do wykorzystania opisywanej metody w medycynie, do celów diagnostycznych [7, 8]. Prowadzone są też badania, które pozwolą w przyszłości wykorzystać fluorescencję i sensory optyczne do oznaczania stężenia innych gazów, np. ditlenku węgla [9].

Literatura:

1. Parry R.T.: *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods*. Blackie Academic & Professional, London 1993, s 1-18.
2. www.oxyense.com
3. Mills A.: *Optical Oxygen Sensors utilising the luminescence of platinum metals complexes*. *Platinum Metals Rev.* 1997, **41**, 3, 115-127.
4. Lakowicz J.R.: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, New York, London 1983, s. 257.
5. Baleizão C. Nagl S., Schäferling M, Berberan-Santos M.N., Wolfbeis O.S.: *Dual Fluorescence Sensor for Trace Oxygen and Temperature with Unmatched Range and Sensitivity*. *Anal. Chem.* 2008, **80**, 6449–6457.
6. ASTM F2714 – 08 Standard Test Method for Oxygen Headspace Analysis of Packages Using Fluorescent Decay.
7. Grist S.M., Chrostowski L, Cheung K.C.: *Optical Oxygen Sensors for Applications in Microfluidic Cell Culture*. *Sensors* 2010, **10**, 1-31.
8. Zhong W., Urayama P, Mycek M.A.: *Imaging fluorescence lifetime modulation of a ruthenium-based dye in living cells: the potential for oxygen sensing*. *J. Phys. D Appl. Phys.* 2003, **36**, 16891695.
9. Bültzingslöwen Ch., McEvoy K.A., McDonagh C, MacCraith B.D.: *Lifetime-based optical sensor for high-level pCO₂ detection employing fluorescence resonance energy transfer*. *Analytica Chimica Acta* 2003, **480**, 275–283.

Dr inż. Wojciech KOZAK jest absolwentem Wydziału Towaroznawstwa Akademii Ekonomicznej w Poznaniu (1999). Doktorat w zakresie opakowań aktywnych w Katedrze Towaroznawstwa Przemysłowego (2005) wyróżniony nagrodą Rektora AE w Poznaniu. Obecnie pracuje w Katedrze Towaroznawstwa Przemysłowego na Uniwersytecie Ekonomicznym w Poznaniu. Zainteresowania naukowe: opakowania aktywne i inteligentne, nowoczesne materiały, automatyczna identyfikacja towarów. Jest autorem wielu publikacji w czasopismach o zasięgu krajowym i zagranicznym oraz referatów i doniesień konferencyjnych.

Międzynarodowa konferencja



na temat metali ziem rzadkich

Regionalne Centrum Turystyki Biznesowej przy Hali Stulecia we Wrocławiu w dniach 13-15 czerwca br. było miejscem spotkania kilkudziesięciu naukowców i przedsiębiorców z całego świata, zajmujących się wykorzystaniem metali ziem rzadkich w rozwoju nowoczesnych technologii. Uczestnicy z Europy, Japonii, Brazylii i Izraela prowadzili wykłady o tych wyjątkowych surowcach.

Organizatorzy konferencji stworzyli forum do dyskusji nad aktualnym stanem badań, zasobach, właściwościach oraz wykorzystaniem metali ziem rzadkich. Te surowce o specyficznych właściwościach optycznych i magnetycznych są wykorzystywane w procesie wytwarzania wielu przedmiotów codziennego użytku. Znajdują zastosowanie przy produkcji katalizatorów samochodowych, są używane przy tworzeniu laserów i wzmacniaczy optycznych, wpływają na miniaturyzację przenośnych odtwarzaczy muzycznych, a także spełniają istotną rolę w urządzeniach produkujących zieloną energię, takich jak np. panele słoneczne.

Przewodniczącymi konferencji byli: Prof. Mirosław Miller (Wrocławskie Centrum Badań EIT+), Prof. Wiesław Stręk (Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN), Prof. Eugeniusz Zych (Uniwersytet Wrocławski). Tematyka wydarzenia obejmowała najbardziej aktualne zagadnienia naukowe związane z ziemiemi rzadkimi. Na czas trwania konferencji zaplanowano trzy sesje tematyczne, z których każda poprzedzona została godzinnym wykładem plenarnym wiodącego w danej dziedzinie naukowca. Do Wrocławia przybyli wybitni eksperci, od lat specjalizujący się w badaniu metali ziem rzadkich, m.in. prof. Jorma Holsa – uznany na świecie ekspert w zakresie tzw. materiałów fosforyzujących. Obecni byli także prof. Georges Boulon – specjalista od budowy i zastosowania laserów medycznych i militarnych wykorzystujących lantanowce oraz prof. Renata Reisfeld – ekspert z dziedziny materiałów luminescencyjnych, poprawiających konwersję światła słonecznego na energię elektryczną.

Lokalnymi organizatorami REMAT'11 we Wrocławiu byli: Wrocławskie Centrum Badań EIT+, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu, Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, Wydział Chemii Politechniki Wrocławskiej i Wydział Inżynierii Ekonomicznej Przemysłu Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu oraz Centrum Badawczo-Rozwojowe KGHM Cuprum. Złotym sponsorem wydarzenia był KGHM Polska Miedź SA.