

**LUMINESCENCYJNE SENSORY TLENU,
CIŚNIENIA I TEMPERATURY**
**OXYGEN, PRESSURE AND TEMPERATURE
LUMINESCENT SENSORS**

Mikhail Tsvirko, Bartosz Kalota

*Akademia im. Jana Długosza, Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii
al. Armii Krajowej 13/15, 42-200, Częstochowa
e-mail: m.tsvirko@ajd.czest.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

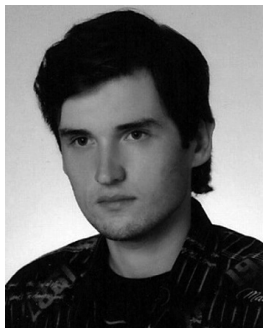
1. Właściwości fizykochemiczne i wybrane zastosowania analityczne porfiryn
2. Właściwości fizykochemiczne i wybrane zastosowania związków kompleksowych europu
3. Monofunkcjonalne sensory luminescencyjne
 - 3.1. Farby czułe na stężenie tlenu i ciśnienie
 - 3.2. Farby czułe na temperaturę
 - 3.3. Mechanizm wygaszania luminescencji
 - 3.4. Krótka charakterystyka wybranych monofunkcjonalnych sensorów luminescencyjnych wraz z sensorem „ruchomego światła”
 - 3.5. Sensory luminescencyjne wykrywające tlen w układach biologicznych
4. Bifunkcjonalne sensory luminescencyjne
 - 4.1. Krótka charakterystyka wybranych bifunkcjonalnych sensorów luminescencyjnych
 - 4.2. Luminescencja tlenu singletowego sensybilizowana porfiryńą

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mikhail Tsvirko absolwent Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego w Mińsku (1969). Otrzymał stopień doktora nauk fizyczno-matematycznych za „*Energetykę pierwotnych fotofizycznych procesów w cząsteczkach porfiryn*” (1973) na tej samej uczelni. Laureat Konkursu Młodych Naukowców Białorusi (1976). Za „*Procesy transformacji energii wzbudzenia elektronowego w porfirynach i metaloporfirynach*” (1989) otrzymał habilitację w Instytucie Fizyki Białoruskiej Akademii Nauk w Mińsku. Następnie zdobył tytuł profesora w dziedzinie optyki w Białoruskim Uniwersytecie Państwowym w Mińsku (1990). W międzyczasie (1975–1997) był starszym, czołowym pracownikiem Instytutu Badawczego Stosowanych Problemów Fizycznych Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego w Mińsku. Później został kierownikiem laboratorium biofotoniki i zastępcą dyrektora w sprawach naukowych w Narodowym Centrum Badawczym Monitoringu Ozonofery Białoruskiego Uniwersytetu Państwowego w Mińsku (od 1997). Aktualnie jest zatrudniony na stanowisku profesora w Instytucie Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie (od 2002). Autor 3 monografii, 17 patentów, ponad 140 publikacji, 175 materiałów konferencyjnych oraz kierownik ponad 25 projektów badawczych.



Bartosz Kalota ukończył studia dyplomowe na Akademii im. Jana Długosza w 2010 roku. Obecnie jest na studiach magisterskich na tej samej uczelni do roku 2012. Jego główne zainteresowania dotyczą syntezy i badania właściwości pochodnych porfiryn.

ABSTRACT

Optical chemical sensors enlarge the definition of a classical chemical sensor; they present results in two-dimensional (2D) or three-dimensional (3D) aspect. They can determine parameters of micro and macro scale objects without using a lot of electronic equipment.

This article is focused on sensors based on porphyrin derivatives and europium complexes, being the most frequently used substances sensitive to oxygen concentration, pressure and temperature changes. Along with the presentation of characteristics of substances employed to sensors' construction, also the general principle of luminescent sensors operation, composition and operation range of selected mono- and bifunctional luminescent sensors are described; moreover the selected achievements, such as the "traffic light" sensor are shown.

Słowa kluczowe: luminescencja, metaloporfiryny, kompleksy europu, sensory tlenu, sensory ciśnienia, sensory temperatury

Keywords: luminescence, metalloporphyrins, europium complexes, oxygen sensors, pressure sensors, temperature sensors

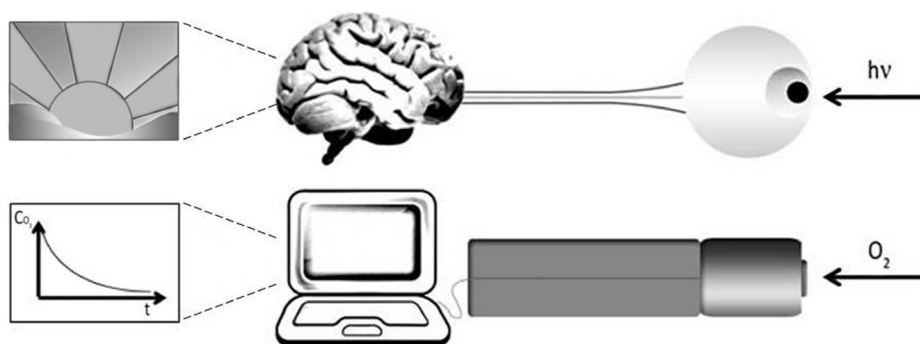
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

CP	– koproporfiryna
CCD	– matryca CCD (ang. <i>charge coupled device</i>)
D2	– 1,10-fenantrolina-tris[3-(3-fenantrolino)-1-(9-fenantrolino)propan-1,3-dion]
DAPM	– diantypyrydylopropylometan
DAPhM	– diantypyrydylofenylometan
DATP	– tris(dibenzoilometan)mono(5-amino-1,10-fenantrolina)
DL-PSP	– podwójnie luminoforowa farba czuła na ciśnienie (ang. <i>dual luminophore pressure sensitive paint</i>)
DPBT	– 2-(4-dietyloamino-fenyl)-4,6-bis(3,5-dimetylopirazylo-1-yl)-1,3,5-triazyna
DPP	– 4,7-difenyl-1,10-fenantrolina
EC	– etyloceluloza
FIB	– polimer fluoroakrylowy
L	– 1,3,5-tri(2-pirydylo)benzen
LED	– dioda elektroluminescencyjna (ang. <i>light-emitting diode</i>)
MAX	– A-poliwęglan dimetylosiloksanu-bisfenolu
OEP	– oktaetyloporfiryna
OLED	– organiczna dioda elektroluminescencyjna (ang. <i>organic light-emitting diode</i>)
PBMA	– poli(metakrylan butylu)
PCA	– główna analiza składu (ang. <i>principal component analysis</i>)
PDMS	– poli(dimetylosiloksan)
PMMA	– poli(metakrylan metylu)
PS	– poli(styren)
PSAN	– poli(styren-co-akrylonitryl)
PSL	– luminofor czuły na ciśnienie (ang. <i>pressure sensitive luminophore</i>)
PSP	– farba czuła na ciśnienie (ang. <i>pressure sensitive paint</i>)
PVC	– poli(chlorek winylu)
SB	– zasada Schiffa (ang. <i>Schiff-base group</i>)
TBP	– tetra(benzeno)porfiryna
TFC	– tris[3-(trifluorometylohydroksymetyleno)-(+)-kamforan]
TFPL	– 5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorofenyl)porfolakton
TFPP	– 5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorofenyl)porfiryna
TMHPP	– tetra(3-metoksy-4-hydroksyfenyl)porfiryna

TPP	- tetra(fenylo)porfiryra
TSL	- luminofor czuły na temperaturę (ang. <i>temperature sensitive luminophore</i>)
TSP	- farba czuła na temperaturę (ang. <i>temperature sensitive paint</i>)
TTA	- tiofenotrifluoroaceton

WPROWADZENIE

W ostatnich latach specjalistyczne sensory¹ stanowią jeden z głównych kierunków rozwoju chemii analitycznej. Działanie sensorów można porównać do działania zmysłów (Rys. 1). Oko odbiera bodźce świetlne ze środowiska, układ nerwowy przesyła impuls do mózgu, który przetwarza ten sygnał w obraz. W przypadku sensora okiem jest receptor, który pobiera informację chemiczną oraz przetwornik, który konwertuje tę informację w elektryczny sygnał użyteczny analitycznie. Ten sygnał następnie trafia do komputera, który przetwarza otrzymane informacje na podstawie wprowadzonych wcześniej algorytmów.



Rysunek 1. Schemat porównujący działanie zmysłu wzroku z pracą sensora optycznego.
Figure 1. Scheme comparing function of sight to the work of an optical sensor.

Sensory powinny szybko odpowiadać, pracować w sposób ciągły lub tylko w czasie przeprowadzania pomiaru. Powinny posiadać niewielkie rozmiary oraz być stosunkowo tanie [1]. Większość tych wymagań spełniają sensory luminescencyjne i z tego powodu szybko znalazły szerokie zastosowanie [2].

Stężenie tlenu, ciśnienie i temperatura są jednymi z najczęściej wyznaczanych parametrów. Pomiary chemiczne i biochemiczne ograniczają się przeważnie do zbierania danych jednopunktowych, które w pewnych przypadkach okazują się niewystarczające. Pojęcie klasycznego sensora chemicznego poszerzają optyczne

¹ Stosuje się równolegle dwie nazwy – sensory i czujniki; w dalszym ciągu pracy stosowana jest nazwa sensory.

sensory chemiczne, przedstawiające wyniki w postaci dwuwymiarowej (2D) lub trójwymiarowej (3D). Optyczne sensory chemiczne mogą oznaczać parametry na obiektach zarówno w skali mikro jak i makro bez potrzeby używania dużych ilości sprzętu elektronicznego.

Przedstawiona praca przeglądowa nie obejmuje w całości tak szerokiego zagadnienia jakim są mono- i bifunkcjonalne sensory chemiczne. Autorzy skupili się głównie na sensorach konstruowanych na bazie pochodnych porfiryn i związków kompleksowych europu, służących do wykrywania i obrazowania w postaci 2D i 3D stężenia tlenu, jak również określania ciśnienia oraz temperatury.

1. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I WYBRANE ZASTOSOWANIA ANALITYCZNE PORFIRYN

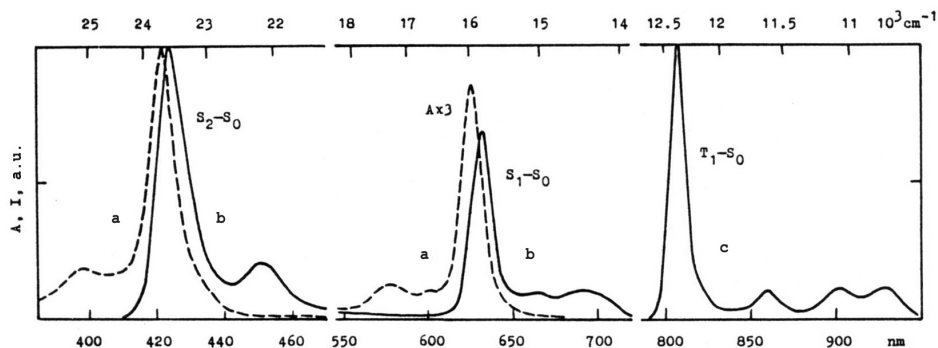
Porfiryny znajdują szerokie zastosowanie jako czułe substancje sensorowe, są to unikatowe, płaskie związki heteroaromatyczne, ulegające wielu przemianom, np. reakcjom utleniania, redukcji, koordynacji, agregacji i polimeryzacji [3, 4]. Porfiryny mogą być modyfikowane poprzez wprowadzanie podstawników organicznych do zewnętrznej części pierścienia porfirynowego lub poprzez wprowadzanie jonu metalu do wewnętrznej części tego pierścienia. W tym drugim przypadku powstaje związek kompleksowy, w którym porfiryne jest ligandem [3].

Obecność podstawników organicznych oraz jonów metali silnie zmienia właściwości porfiryn. W procesie koordynacji, jon centralny o odpowiednim rozmiarze zajmuje pozycję wewnątrz pierścienia porfirynowego. Jeżeli natomiast jon centralny ma większą średnicę, wówczas znajduje się poza płaszczyzną cząsteczki, która dalej pozostaje płaska i stabilna [4]. Porfiryny odgrywają bardzo ważną rolę w procesach życiowych, ponieważ występują w hemoglobinie u zwierząt i w chlorofilu u roślin [3].

Charakterystycznymi właściwościami spektroskopowymi porfiryn są: (i) silne pasmo absorpcji (390–425 nm) na granicy między UV a VIS o wysokim molowym współczynniku absorpcji (ϵ rzędu 10^5), (ii) kilka dobrze określonych pasm absorpcji o mniejszej intensywności w zakresie widzialnym, (iii) zdolność do fotoluminescencji oraz (iv) wysoka kwantowa wydajność przejść w stan trypletowy [3]. Wszystkie te właściwości są istotne w doborze materiałów wykorzystywanych w sensorach luminescencyjnych. Dzięki wysokiej wartości molowego współczynnika absorpcji porfiryny znalazły zastosowanie jako odczynniki chromoforowe do oznaczania jonów metali [4]. Inne zastosowania analityczne porfiryn związane są z elektroforezą kapilarną, chromatografią cieczową [4,5] oraz z funkcją chromoforów do oznaczania albumin, cyjanoków, aminokwasów i jonu azotanowego(V) [4].

Pasma absorpcji i emisji związku kompleksowego gadolinu z tetra(benzeno)porfiryne (GdTBP) przedstawia Rysunek 2 [6]. Widoczne są tu dwa pasma fluorescencyjne ($S_2 \rightarrow S_0$ i $S_1 \rightarrow S_0$) oraz jedno fosforescencyjne ($T_1 \rightarrow S_0$). Jedynie w przy-

padku metalokompleksów tetra(benzeno)porfiryn (TBP) oraz tetra(fenylo)porfiryn (TPP) występuje zjawisko „podwójnej fluorescencji”.



Rysunek 2. Widmo absorpcji (293 K) (a); widmo fluorescencji (293 K) (b) i widmo fosforescencji (77 K) (c) związku kompleksowego tetra(benzeno)porfiryny gadolinu (GdTBP) w etanolu. Oznaczenia: A – absorbanca; I – intensywność emisji [względna liczba fotonów/nanometr] [6].

Figure 2. Absorption spectrum (293 K) (a); fluorescence spectrum (293 K) (b) and phosphorescence spectrum (77 K) (c) of Gd tetrabenzenoporphyrin complex (GdTBP) in ethanol. A – absorbance; I – emission intensity in relative number of quanta per nanometer [6].

Interesującą z punktu widzenia metod elektroanalitycznych była idea skonstruowania „elektronicznego zmysłu smaku” i „elektronicznego nosa”. Dalszy rozwój tego kierunku badań dał początek sensorom multifunkcyjnym, czyli sensorom czującym jednocześnie na wiele związków chemicznych. „Elektroniczne zmysły” zostały zaprojektowane w oparciu o matryce elektrod zawierających pochodne porfiryny. Matryca elektrod „elektronicznego zmysłu smaku” posiadała następujące związki kompleksowe z grupy tetra(3-metoksy-4-hydroksyfenylo)porfiryn (TMHPP): Mn(TMHPP)Cl, Fe(TMHPP)Cl, Co(TMHPP), Ni(TMHPP) oraz wolny ligand H₂(TMHPP). „Elektroniczny zmysł smaku” odróżniał pięć podstawowych smaków. Natomiast „elektroniczny nos” działał na podstawie elektrod wykorzystujących związki kompleksowe TPP. Oba „zmysły” posłużyły m.in. do odróżniania niektórych gatunków czerwonych win. „Elektroniczny nos” zastosowano do bezinwazyjnego wykrywania raka płuc na podstawie obecności charakterystycznych dla nowotworu płuc alkanów i związków aromatycznych [4].

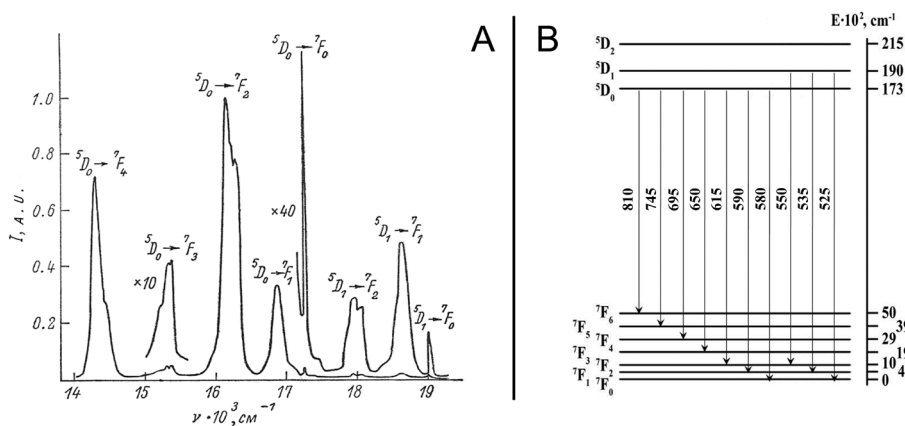
Porfiryny i ich związki kompleksowe z metalami służą m.in. do produkcji specyficznych barwników, półprzewodników oraz różnorodnych katalizatorów. Niektóre porfiryny pełnią rolę fotosensybilizatorów w terapii fotodynamicznej, znalazły zastosowanie w diagnostyce nowotworów, w leczeniu infekcji bakteryjnych i unieszkodliwieniu niektórych wirusów oraz grzybów [7]. Niektóre związki kompleksowe porfiryn z pewnymi paramagnetycznymi metalami, jak gadolin lub mangan wykazują zdolność do zwiększania kontrastu w tomografii jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR). Odpowiednie pochodne porfiryn wiążą się z kwasami nukleinowymi DNA i RNA; poprzez blokowanie fragmentów tych kwasów powodują ich

rozszczerpienie, a zatem są potencjalnymi czynnikami antywirusowymi [7]. Dzięki możliwości różnorodnych zastosowań, porfiryny stanowią w ciągu poprzednich dwóch dekad obiekt intensywnych badań.

2. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE I WYBRANE ZASTOSOWANIA ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH EUROPU

Lantanowce w postaci trójwartościowych jonów (Ln^{3+}) w kryształach lub w roztworze posiadają bardzo charakterystyczne widma absorpcji i emisji w zakresie bliskiego ultrafioletu, światła widzialnego i bliskiej podczerwieni. Widma są wynikiem przejść elektronowych w orbitalach 4f; takie przejścia f-f mają wąską szerokość spektralną i niskie wartości molowego współczynnika absorpcji ($\epsilon = 0,1 \div 10$).

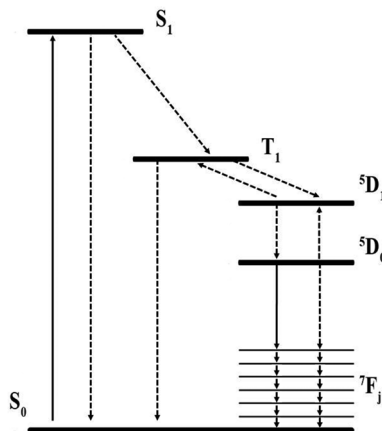
Trójładunkowo jonów lantanowców, z wyjątkiem La^{3+} i Lu^{3+} , wykazują zdolność emisji promieniowania ze stanów wzbudzonych. Wszystkie pasma luminescencji Eu^{3+} zostały przedstawione w formie widma i diagramu w Rysunku 3 [8]. Przejście w stan podstawowy może przebiegać w sposób promienisty lub bezpromienisty. Im większa różnica między poziomami energetycznymi stanu wzbudzonego i podstawowego, tym mniejsze prawdopodobieństwo przejścia bezpromienistego oraz intensywniejsza luminescencja o dłuższym czasie jej zaniku. Intensywność luminescencji lantanowców zależy od przyłączonego liganda oraz rozpuszczalnika i jest na ogół słabsza niż w przypadku fluoroforów organicznych [9]. Długość czasu zaniku luminescencji lantanowców też jest różna, np. dla Yb i Nd jest rzędu μs , a dla Eu i Tb rzędu ms [10].



Rysunek 3. Widmo luminescencji 1 M $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ w roztworze $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ ($\lambda_{\text{wzb}} = 465,7 \text{ nm}$), ilustrujące przejścia elektronowe jonu Eu^{3+} powodujące luminescencję (A) [8] wraz z diagramem stanów energetycznych (B).

Figure 3. Luminescence spectrum of 1M $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ solution ($\lambda_{\text{exc}} = 465,7 \text{ nm}$), showing electron transitions of Eu^{3+} ion causing luminescence (A) [8] along with the energy state diagram (B).

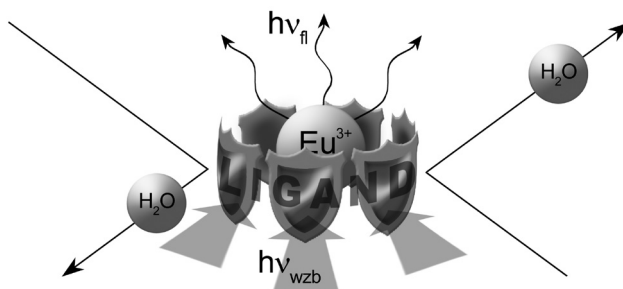
Właściwości luminescencyjne lantanowców można wzmocnić poprzez utworzenie związku kompleksowego jonu lantanowca z odpowiednim ligandem organicznym. W tych przypadkach ligand, którego molowy współczynnik absorpcji jest rzędu 10^4 , pełni rolę anteny absorbującej promieniowanie wzbudzące. Następnie energia wzbudzenia elektronowego liganda przenosi się na jon Ln^{3+} . Proces takiego wewnątrzcząsteczkowego bezpromienistego przeniesienia energii jest możliwy, gdy emisyjny poziom Ln^{3+} leży poniżej stanu trypletowego liganda (Rys. 4). Należy podkreślić, że rodzaj ligandów w związkach kompleksowych lantanowców ma duży wpływ na kwantową wydajność ich emisji.



Rysunek 4. Schemat poziomów energetycznych i przejść elektronowych dla organicznych związków kompleksowych Eu^{3+} .

Figure 4. Scheme of energy levels and electron transitions for Eu^{3+} organic complexes.

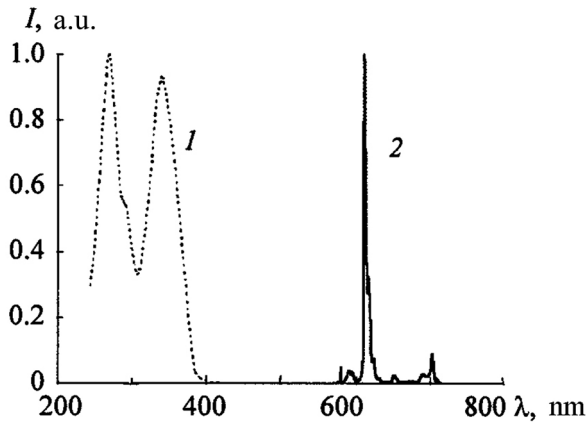
Ligandy osłaniają jon centralny związku kompleksowego przed wpływem środowiska zewnętrznego, szczególnie ważne jest to w przypadku działania wody, która ma właściwość wygaszania luminescencji lantanowca (Rys. 5).



Rysunek 5. Uproszczony schemat funkcji liganda, odbierający i przesyłający energię wzbudzenia ($h\nu_{wzb}$) na jon centralny Eu^{3+} oraz dodatkowo osłaniający stan wzbudzony ${}^5\text{D}_0$ ($h\nu_{fl}$) jonu przed wpływem środowiska zewnętrznego.

Figure 5. Simplified scheme of ligand functions, receiving and transferring excitation energy ($h\nu_{wzb}$) to Eu^{3+} central ion and shielding excited ion state ${}^5\text{D}_0$ ($h\nu_{fl}$) from outside environment.

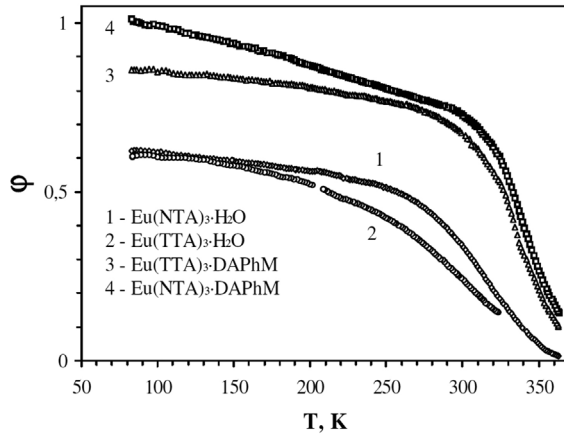
Związki kompleksowe Eu^{3+} oprócz długiego czasu zaniku luminescencji oraz bardzo dobrej kwantowej wydajności luminescencji (do około 0,6–0,8) wykazują znaczne przesunięcie między widmem absorpcji/wzbudzenia i emisji (Rys. 6) [11]. Przesunięcie jest na tyle duże (rzędu 250 nm), że do ich rozdzielenia wystarczy wykorzystanie odpowiedniego filtra optycznego.



Rysunek 6. Widma absorpcji/wzbudzenia (1) i luminescencji (2) tris(tiofenotrifluoroacetylo)(diantipirydylopropylometanu) europu ($\text{Eu}(\text{TTA})_3\cdot\text{DAPM}$) w PMMA [11].

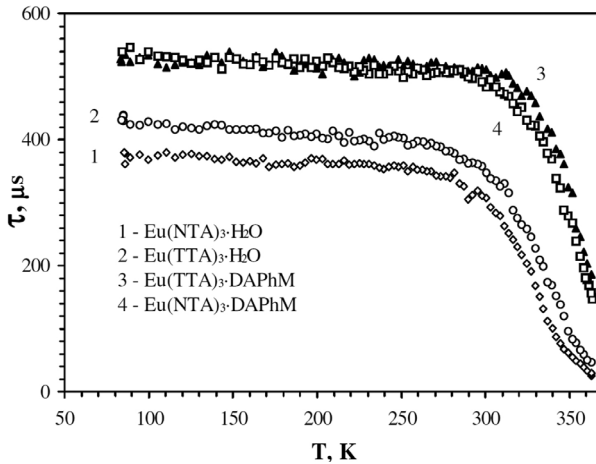
Figure 6. The absorption/excitation (1) and luminescence (2) spectra of europium tris(tenonitrifluoroacetate)-(diantipirydylopropylmethane) ($\text{Eu}(\text{TTA})_3\cdot\text{DAPM}$) in PMMA [11].

Dla związków kompleksowych europu kwantowa wydajność luminescencji φ i długość czasu zaniku luminescencji τ są zależne od temperatury. Na Rysunkach 7 i 8 przedstawiono zależności odpowiednio $\varphi(T)$ i $\tau(T)$. W obydwu przypadkach widoczny jest spadek wydajności luminescencji ze wzrostem temperatury. Różnice w kształtach krzywych $\varphi(T)$ i $\tau(T)$ w zakresie niskich temperatur są spowodowane faktem, iż na długość czasu zaniku luminescencji w przeważającej mierze ma wpływ bezpromieniste przejście z poziomu ${}^5\text{D}_0$, a na kwantową wydajność luminescencji bezpromieniste przejście ze wszystkich poziomów uczestniczących w zmniejszeniu wzbudzenia dla danego związku kompleksowego Eu^{3+} [12]. Długość czasu zaniku emisji oraz jej intensywność nie zależą od stężenia rozpuszczonego tlenu [10]. Wymienione powyżej elementy pozwalają na zastosowanie związków kompleksowych Eu^{3+} jako sensorów temperatury.



Rysunek 7. Zależność temperaturowa kwantowej wydajności luminescencji dla związków kompleksowych Eu^{3+} w warstwach PMMA [12].

Figure 7. Temperature dependence of luminescence quantum yield for Eu^{3+} complexes in PMMA films [12].



Rysunek 8. Zależność temperaturowa długości czasu zaniku luminescencji dla związków kompleksowych Eu^{3+} w warstwach PMMA [12].

Figure 8. Temperature dependence of luminescence lifetime for Eu^{3+} complexes in PMMA films [12].

Zjawisko emisji związków kompleksowych można również wykorzystać do określania stężenia jonów wodorowęglanowych (a tym samym pH) w roztworach wodnych [10]; tę zależność intensywności emisji od pH zaobserwowano dla związku kompleksowego Eu^{3+} z fenantrydyną. Intensywność emisji powyższego związku kompleksowego rośnie ze spadkiem pH, co wskazuje na słaby efekt przekazywania elektronów przez zewnętrzne podstawniki alkilowe i hamowanie pro-

cesu protonowania [10]. Istotny jest fakt, że długość czasu zaniku luminescencji Eu^{3+} jest niezależna od zmieniających się wartości pH [13].

Interesującym zastosowaniem związków kompleksowych Eu^{3+} z tris- β -diketonami w cienkich warstwach poli(metakrylanu metylu) (PMMA) jest konwerter luminescencyjny promieniowania UV. Jest on wykorzystywany w celu poszerzenia zakresu czułości fotodetektorów, m.in. takich jak w urządzeniach CCD (ang. *charge coupled device*). Grubość warstwy konwertera luminescencyjnego rzędu 2 μm jest znacznie mniejsza w porównaniu z wymiarami czułych elementów fotodetektora, wynoszącymi nie więcej niż 10 μm , co chroni je przed spadkiem zdolności rozdzielczej. Konwerter nie osłabia czułości fotodetektora w obszarze widma widzialnego kosztem zwiększenia czułości fotodetektora w ultrafiolecie [11]. Podobne konwertery można również stosować w celu powiększenia efektywności baterii słonecznych.

3. MONOFUNKCJONALNE SENSORY LUMINESCENCYJNE

Jednym z ważniejszych celów w mikroelektronice jest utworzenie elektronicznych przełączników, przewodników, tranzystorów i innych tego typu urządzeń, które działałyby na poziomie jednej cząsteczki [14]. Przykładem technologii, która swoim rozmiarem może się choć trochę zbliżyć do takich „cząsteczkowych urządzeń” są sensory luminescencyjne tlenu, ciśnienia i temperatury, które w literaturze często są nazywane farbami (ang. *paint*) ze względu na nanoszenie ich na modele w badaniach aerodynamicznych w postaci malowania lub rozpylania [2].

Barwniki (luminofory, substancje sensorowe), pozwalające na badanie zmian stężeń tlenu i zmian ciśnienia (ang. *pressure sensitive luminophore*, PSL), bądź tylko zmian temperatury (ang. *temperature sensitive luminophore*, TSL), są wprowadzane do matryc, najczęściej polimerowych [15]. Rodzaj matrycy powinien zostać odpowiednio dobrany do luminoforu, np. PMMA jest stosowany do sensorów temperatury, podczas gdy do sensorów ciśnienia jest on nieodpowiedni [16]; wówczas taki kompozyt nazywany jest farbą. Pojęcie farby jest używane dla monofunkcyjnych sensorów luminescencyjnych, czułych na jeden parametr oraz dla bifunkcyjnych sensorów luminescencyjnych, czułych na dwa parametry.

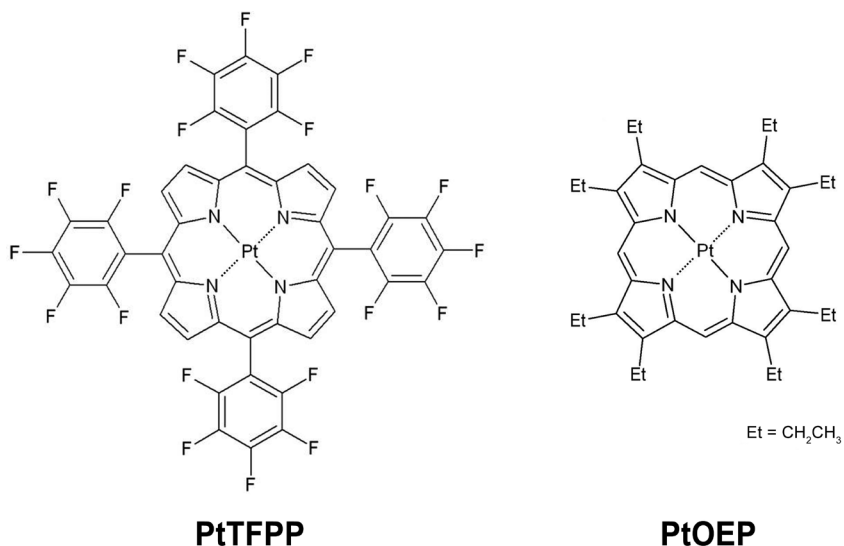
Po wprowadzeniu właściwych luminoforów do matrycy można uzyskać farbę czułą na odpowiedni bodziec, wtedy mówi się o farbie czułej na stężenie tlenu oraz ciśnienie (ang. *pressure sensitive paint*, PSP), bądź o farbie czułej na temperaturę (ang. *temperature sensitive paint*, TSP) [17].

Syntetyczne metaloporfiry wykorzystuje się głównie jako PSL [15], natomiast związki kompleksowe Eu^{3+} pełnią często rolę TSL [2, 18].

3.1. FARBY CZUŁE NA STĘŻENIE TLENU I CIŚNIENIE

Sensory luminescencyjne tlenu i ciśnienia są szeroko wykorzystywane do tworzenia cyfrowych map rozkładu ciśnień powietrza o wysokiej rozdzielczości na powierzchniach modelu w tunelu aerodynamicznym [2, 15]. Stężenie tlenu wewnątrz warstwy sensora luminescencyjnego stanowi odzwierciedlenie ciśnienia tlenu nad warstwą sensora. Obecność tlenu wewnątrz warstwy sensora luminescencyjnego powoduje wygaszanie emisji luminoforu PSL proporcjonalnie do stężenia tlenu, co zostało wykorzystane w badaniach aerodynamicznych [18].

Porfiryny zawierające jony platyny lub palladu były pierwotnie wykorzystywane jako substancje sensorowe czułe na tlen z powodu ich wysokiej kwantowej wydajności fosforescencji w temperaturze pokojowej, przy stosunkowo krótkiej długości czasu jej zaniku (kilkadziesiąt do kilkaset μs) [19]. Poważną wadą pierwszych sensorów luminescencyjnych powstałych na bazie Pt- i PdOEP (Pt(II)-oktaetyloporfiryna) była podatność na rozkład pod wpływem światła wzbudzenia (Rys. 9) [20]; syntezowane w dalszym etapie badań metaloporfiryny, zawierające układy ketonowe, były fotochemicznie stabilniejsze [21, 22].



Rysunek 9. Struktury cząsteczek Pt(II)-5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorofenyl)porfiryny (PtTFPP) oraz Pt(II)-oktaetyloporfiryny (PtOEP).

Figure 9. Molecular structures of Pt(II)-5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)porphyrin (PtTFPP) and Pt(II)-octaethylporphyrin (PtOEP).

Dodatkowe zwiększenie stabilności luminoforów czułych na ciśnienie jest możliwe poprzez zastąpienie w ligandzie atomów wodoru fluorem [18, 23]. W ten sposób powstał najpowszechniej stosowany i najbardziej fotostabilny luminofor czuły na ciśnienie do użytku w badaniach aerodynamicznych – 5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorofenyl)porfiryna platyny(II), czyli w skrócie

PtTFPP (Rys. 9) [18]. Sensor luminescencyjny, zawierający PtTFPP w PSAN (poli(styren-co-akrylonitryl)) może pracować w zasięgu ciśnień 0,5–2,0 bar z dokładnością aż do $3,5 \cdot 10^{-3}$ bar [2]. Jednak tego typu sensory wykazują niekorzystną zależność intensywności luminescencji od temperatury [18, 24, 25]; efekt ten można zmniejszyć zastępując PSAN polimerem FIB (polimer fluoroakrylowy) [18].

Czas odpowiedzi sensora luminescencyjnego zawierającego PtTFPP/FIB wynosi około 0,6 s, co jest zadowalającym wynikiem dla badań aerodynamicznych. Wykorzystując 1 litr PSP można nią pokryć powierzchnię 2,6 m² przy grubości pokrycia 10–12 μm [26]. Zwiększenie intensywności luminescencji PSP osiąga się poprzez dołączenie dodatkowej dolnej silikonowej warstwy z dodatkiem TiO₂, która charakteryzuje się wysoką zdolnością odbijania światła [2].

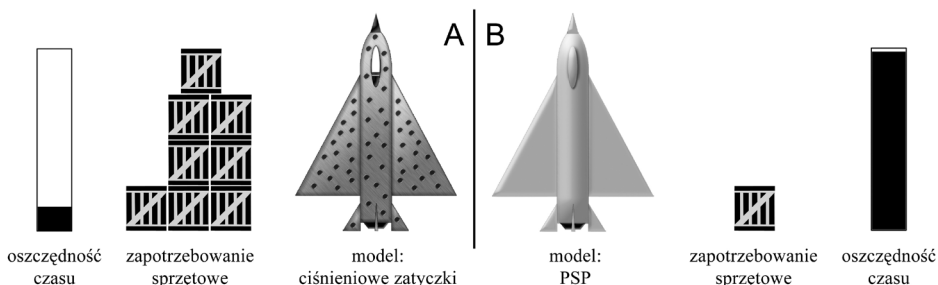
Innym utrudnieniem przy optymalizacji właściwości luminescencyjnych PSP jest proces samowygaszania (wygaszanie stężeniowe) luminescencji, który może pojawić się przy wyższym stężeniu niż 1 g luminoforu na 60 g polimeru; wówczas odległość między sąsiednimi luminoforami wynosi mniej niż 40,5 Å. Stwierdzono, że porfiryny typu TFPP wykazują znacznie mniejsze skłonności do samowygaszania stężeniowego w porównaniu do porfiryn typu OEP. Wpływ samowygaszania stężeniowego na intensywność emisji dla PtTFPP w A-poliwęglanie dimetylosi-loksanu-bisfenolu (MAX) w funkcji stężenia luminoforu w polimerze przedstawia Tabela 1 [27].

Tabela 1. Przykład autowygaszania luminescencji spowodowane wysokim stężeniem luminoforu PtTFPP w polimerze MAX [27].

Table 1. The example of self-quenching luminescence resulting from high concentration of the PtTFPP luminophore in the MAX polymer [27].

Stężenie (g polimeru / g luminoforu)	Intensywność emisji (a.u.)
600 : 1	650
60 : 1	600
6 : 1	420

Mimo tego, że idealnie pracujące pokrycie luminoforowe nie istnieje, PSP stanowi pewien rodzaj konkurencji dla konwencjonalnie stosowanych ciśnieniowych zatyczek [17, 28]. Wykorzystanie ciśnieniowych zatyczek polega na konstrukcji modelu, w którym małe otwory zwane ciśnieniowymi zatyczkami, połączone z rurkami przetworników ciśnienia służą do określania kształtu samolotów, samochodów i innych ruchomych obiektów. Taki model jest bardzo drogi i przygotowanie go jest czasochłonne [29]. Zastosowanie PSP w porównaniu z zastosowaniem ciśnieniowych zatyczek jest tańsze i pozwala uzyskać więcej danych pomiarowych w krótszym czasie [26]. Używając PSP otrzymuje się mapę 1000×1000 pikseli przy użyciu znacznie mniejszej ilości urządzeń niż w przypadku ciśnieniowych zatyczek, zbierających informacje z tego samego obszaru (Rys. 10). Dodatkowo PSP daje wyniki z obszarów, gdzie zainstalowanie ciśnieniowych zatyczek jest niemożliwe, np. na bardzo cienkich częściach skrzydeł [29].



Rysunek 10. Porównanie ciśnieniowych zatyczek (A) i farby czulej na ciśnienie (PSP) (B) pod względem zapotrzebowania sprzętowego oraz oszczędności czasu w trakcie instalacji.

Figure 10. A comparison of pressure taps (A) and pressure sensitive paint (PSP) (B) in equipment requirement and time saving during installation.

Do oznaczeń tlenu można zastosować związki kompleksowe Ru(II), np. RuDPP (DPP oznacza 4,7-difenylo-1,10-fenantrolinę), które również wykazują silną czerwoną luminescencję w temperaturze pokojowej, podobnie jak porfiryne platynowców [30]. Związki kompleksowe Ru(II) nie stanowią jednak dla porfiryn platyny(II) poważnej konkurencji przy mierzeniu stężeń tlenu w układach biologicznych [31]. Z reguły pierwiastki ziem rzadkich nadają się tylko do stosowania w prekursorach luminoforów czułych na temperaturę i nie wykazują odpowiednich cech do wykorzystania ich jako luminoforów czułych na tlen. Jednak w połączeniu ze specyficznymi ligandami, związek kompleksowy lantanowca, np. europu może zyskać odpowiednie właściwości umożliwiające wykorzystanie go jako luminoforu czułego na tlen [32].

3.2. FARBY CZUŁE NA TEMPERATURĘ

Wartości ciśnienia i stężenia tlenu wykazują pewną zależność od temperatury podczas pomiarów w tunelach aerodynamicznych. Innymi słowy temperatura ma wpływ na pracę PSP, czego konsekwencją była konieczność stworzenia TSP. Należy podkreślić, że w pomiarach aerodynamicznych stosuje się w równej mierze PSP i TSP [33].

Najpowszechniejszymi luminoforami służącymi do konstrukcji TSP są związki kompleksowe lantanowców. Związki kompleksowe Eu^{3+} charakteryzują się trzema ważnymi właściwościami: (i) kwantowa wydajność luminescencji i długość czasu zaniku luminescencji zależy od temperatury [2], (ii) długość czasu zaniku emisji jest stosunkowo duża oraz (iii) czułość tych związków na zmiany temperatury pozwala określić temperaturę w stosunkowo szerokim zakresie skali [34]. Z powodu wyżej wymienionych właściwości związki kompleksowe europu są najczęściej używane jako luminofory czułe na temperaturę. Ponadto na uwagę zasługuje fakt, że związki te znalazły zastosowanie w fizjologicznych pomiarach temperatury. Zawdzięczają to swojej wysokiej kompatybilności ze środowiskiem biologicznym poprzez enkapsulację.

sulację, fotostabilność oraz możliwość ich wzbudzenia z zakresu światła widzialnego (400 nm). Sensory luminescencyjne temperatury znalazły także zastosowanie m.in. w hipertermii i terapii fotodynamicznej nowotworów, ponieważ znajomość temperatury tkanki docelowej ma ogromne znaczenie w osiągnięciu zamierzonego efektu terapeutycznego [34].

Sensory luminescencyjne temperatury na bazie związków kompleksowych europu mogą sprawnie pracować nie tylko w zakresie fizjologicznych temperatur, lecz również nawet w temperaturze 4,2 K [35].

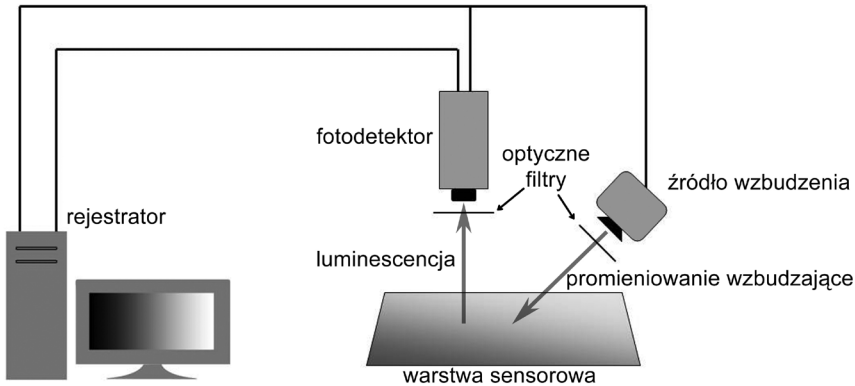
Szeroko używanymi luminoforami czułymi na temperaturę są tris- i tetrakis- β -diketony europu. Związki te są łatwe do uzyskania i wykazują intensywną emisję, silnie malejącą ze wzrostem temperatury. Należy zwrócić uwagę na proporcje między substancją sensorową a matrycą polimerową podczas tworzenia TSP, ponieważ, podobnie jak w przypadku PSP, może tutaj również wystąpić efekt samowygazania emisji [36].

3.3. MECHANIZM WYGASZANIA LUMINESCENCJI

Zasada działania sensorów luminescencyjnych czułych na stężenie tlenu polega na wygaszaniu luminescencji spowodowanym tlenem cząsteczkowym. Warstwa sensorowa jest wzbudzana diodami elektroluminescencyjnymi (LED) lub diodami laserowymi (Równ. 1), po czym następuje dezaktywacja stanu wzbudzonego luminoforów sensora działaniem tlenu (Równ. 2).

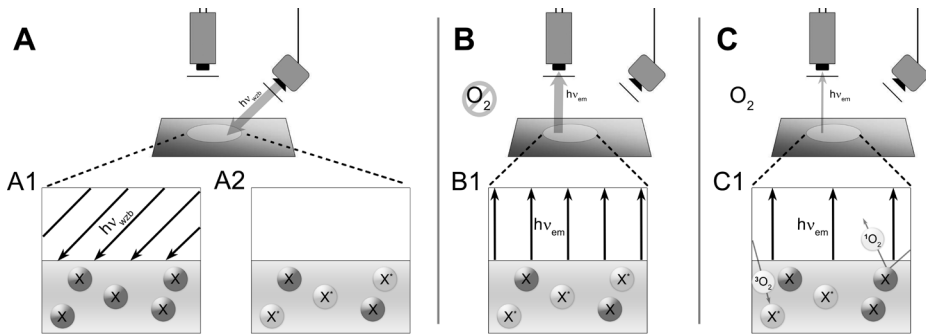


Przed kontaktem z luminoforem tlen dyfunduje przez matrycę. Czas dyfuzji silnie zależy od rodzaju zastosowanych polimerów, w których znajdują się luminofory [2]. Wygaszana luminescencja jest następnie rejestrowana przy użyciu fotodetektora (głównie matryca CCD) ustawionego w pobliżu świecącego pokrycia (Rys. 11 i 12).



Rysunek 11. Schemat sprzętu do pomiarów luminescencji z warstwy sensora.

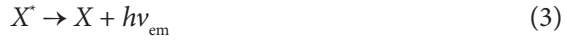
Figure 11. Apparatus scheme for measurements of luminescence from the sensor layer.



Rysunek 12. Schemat wygaszania luminescencji tlenem w sensorach luminescencyjnych. Etap wzbudzenia (A): promieniowanie wzbudzające oświetla warstwę sensora (A1), wzbudzenie luminoforów (A2). Luminescencja warstwy sensorowej w warunkach beztlenowych (B1) oraz w warunkach tlenowych – wygaszanie luminescencji tlenem z wydzielaniem tlenu singletowego (C1).

Figure 12. Oxygen quenching scheme of luminescence in luminescent sensors. Excitation stage (A): exciting radiation illuminates the sensor layer (A1), excitation of luminophores (A2). Sensor layer luminescence under oxygen-free conditions (B1) and under oxygen conditions – oxygen luminescence quenching with the singlet oxygen emission (C1).

Zgodnie z przedstawionymi wyżej równaniami, we wzbudzonej warstwie sensorowej może nastąpić emisja, czyli promieniste przejście do stanu podstawowego (Równ. 3), bezpromieniste przejście do stanu podstawowego w postaci ciepła (Równ. 4) lub bezpromieniste przeniesienie energii wzbudzenia na cząsteczkę tlenu (Równ. 2). Ta ostatnia reakcja (Równ. 2) rywalizuje z wcześniej wymienionymi sposobami (Równ. 3 i 4) dezaktywacji wzbudzonych luminoforów. Reakcja z Równania 2 stanowi podstawę dla zastosowania luminescencji w badaniach z użyciem tunelu aerodynamicznego.



Podczas badań aerodynamicznych zawsze istnieje ryzyko pojawienia się pewnych komplikacji, m.in. w postaci fotochemicznych przejść luminoforu X^* w inną cząsteczkę (Równ. 5) lub w postaci niszczenia luminoforu działaniem tlenu single-towego (Równ. 6 i 7).



W celu określenia zależności między intensywnością (lub długością czasu zaniku) emisji sensora luminescencyjnego a ciśnieniem powietrza (bądź stężenia tlenu) na powierzchni modelu pokrytego sensorem, używa się kalibracji opartej na równaniach Sterna-Volmera [15]. Równania Sterna-Volmera przedstawiają zależność intensywności luminescencji, bądź długości czasu jej zaniku, w funkcji stężenia tlenu (Równ. 8) lub w funkcji ciśnienia (Równ. 9),

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{s-v} \cdot [O_2] \quad (8)$$

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{s-v} \cdot P_{O_2} \quad (9)$$

gdzie I_0 – intensywność luminescencji w nieobecności tlenu, I – intensywność luminescencji w obecności tlenu, τ_0 – długość czasu zaniku luminescencji w nieobecności tlenu, τ – długość czasu zaniku luminescencji w obecności tlenu, K_{s-v} – stała Sterna-Volmera, $[O_2]$ – stężenie tlenu, P_{O_2} – miejscowe cząstkowe ciśnienie tlenu. Stała Sterna-Volmera (K_{s-v}) odzwierciedla czułość warstwy sensorowej na wygaszanie tlenem. Wartość K_{s-v} oblicza się z kalibracji, do której I_0 i I lub τ_0 i τ otrzymuje się z pomiarów wygaszania luminescencji. Dzięki uzyskanym wartościom można obliczyć, korzystając z Równania 8, stężenie tlenu we wnętrzu warstwy sensora luminescencyjnego. Wiedząc, że istnieje bezpośrednia zależność między stężeniem i ciśnieniem tlenu opisana prawem Henry'ego (Równ. 10), zakładając, że stężenie tlenu w pokryciu warstwy PSP jest w równowadze z ciśnieniem tlenu powyżej tej warstwy, można uzyskać poszukiwane wartości ciśnień wywieranych na model,

$$c = \sigma \cdot P \quad (10)$$

gdzie c – stężenie molowe tlenu w pokryciu farby, P – ciśnienie tlenu znad pokrycia, σ – stała Henry'ego.

3.4. KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH MONOFUNKCJONALNYCH SENSORÓW LUMINESCENCYJNYCH WRAZ Z SENSOREM „RUCHOMEGO ŚWIATŁA”

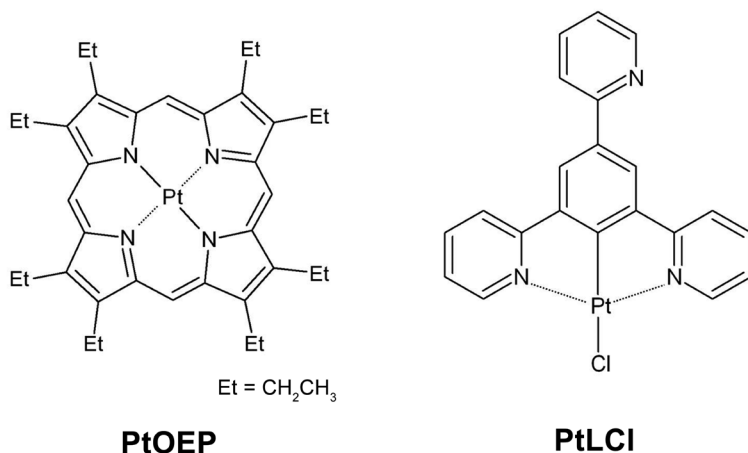
Sensory luminescencyjne tlenu można stosować również w innych ośrodkach niż jedynie powierzchnie modeli do badań aerodynamicznych. Związki kompleksowe kationowych porfiryn platynowców są używane do określania zawartości tlenu w środowiskach wodnych, ponieważ ich fosforescencja w wodnych rozpuszczalnikach jest efektywnie wygaszana działaniem tlenu. Matrycą sensora w tym przypadku jest fluorowany polimer Nafion, sensor ten wykazuje pełną odwracalność odpowiedzi względem tlenu [37]. Podobną odwracalność odpowiedzi posiada sensor oparty o pochodną porfiryny kobaltu(II). Związek ten jest barwy czerwonej, która gwałtownie zmienia się przy wiązaniu i odłączaniu tlenu [38].

W ostatnich latach obok sensorów luminescencyjnych, czułych jedynie na zmiany stężenia tlenu, ciśnienia i temperatury, pojawiły się również sensory czułe na inne bodźce. Przykładem jest porfirynowy sensor, czuły na jony Hg^{2+} zawarty w membranie wykonanej z poli(chlorku winylu) (PVC); działa on na zasadzie wymiany wodoru na jony rtęci(II) w środowiskach wodnych, odpowiadając zmianą intensywności fluorescencji [39].

Interesującą właściwością porfiryn lutetu i gadolinu jest ich fosforescencja, bardziej przesunięta w obszar podczerwieni niż w przypadku porfiryn platyny i palladu, a zatem mogą one służyć jako podstawowa substancja dla sensorów fosforyzujących w bliskiej podczerwieni [40].

Nowatorskim przykładem monofunkcjonalnych sensorów luminescencyjnych jest sensor „ruchomego światła”. W porównaniu z klasycznymi monofunkcjonalnymi sensorami, odpowiadającymi zmianą intensywności lub długości czasu zaniku emisji, sensor „ruchomego światła” odpowiada zmianą barwy emisji [41].

Sensor ten składa się z dwóch luminoforów o różnych stopniach czułości na tlen, emitujących w odmiennych barwach. Są nimi: związek kompleksowy chlorku platyny(II) z 1,3,5-tri(2-pirydylo)benzenem (PtLCl) oraz oktaetyloporfiryne platyny(II) (PtOEP) (Rys. 13). Obydwa luminofory wprowadza się do etylocelulozy (EC). Luminofor PtLCl wykazuje emisję w zielonym zakresie widma, podczas gdy luminofor PtOEP odznacza się emisją w zakresie czerwieni [41].



Rysunek 13. Struktury cząsteczek luminoforów sensora „ruchomego światła”: Pt(II)-oktaetyloporfiryny (PtOEP) oraz związku kompleksowego chlorku Pt(II) z 1,3,5-tri(2-pirydylo)benzenem (PtLCl).

Figure 13. Molecular structures of the „traffic light” sensor luminophores: Pt(II)-octaethylporphyrin (PtOEP) and Pt(II)-chloride complex of 1,3,5-tri(2-pyridyl)benzene (PtLCl).

W nieobecności tlenu występuje niezależna emisja obydwu luminoforów. Emisja z warstwy PtOEP jest dominująca z powodu jej znacznie wyższej wartości molowego współczynnika absorpcji przy długości fali wzbudzenia 366 nm. W konsekwencji przy niskiej zawartości tlenu dominuje czerwień [41].

Wygaszanie emisji PtOEP ze wzrostem stężenia tlenu jest silniejsze niż wygaszanie emisji PtLCl, a zatem ze wzrostem stężenia tlenu można zaobserwować przejście emisji do fal krótszych. Wówczas odpowiedź opisywanego sensora stanowią serie zmieniającej się czerwono-pomarańczowo-zielonej barwy; jest to analogiczne do drogowej sygnalizacji świetlnej „ruchomego światła” [41].

3.5. SENSORY LUMINESCENCYJNE WYKRYWAJĄCE TLLEN W UKŁADACH BIOLOGICZNYCH

Poziom tlenu wewnątrzkomórkowego i jego stopień pochłaniania jest wskaźnikiem jakości pracy komórki [42, 43]. Do podstawowych luminoforów, obecnie używanych do konstrukcji materiałów czułych na tlen w zastosowaniach biologicznych należą porfiryny Pt(II) lub Pd(II) [44, 45], a także porfiryny Ru(II) [46], Ir(III) [47] lub Os(II) [48]. Głównymi wymaganiami sensora tlenu wewnątrzkomórkowego są: (i) konieczność prostego i efektywnego osadzenia tego sensora we wnętrzu komórki, (ii) emitowanie dostatecznie intensywnych sygnałów optycznych, będących odpowiedzią sensora, (iii) fotostabilność, (iv) optymalna czułość na tlen oraz (v) możliwie najmniejsza cytotoksyczność [43].

Sensor makromolekularny MitoXpress™ jest sensorem tlenu wewnątrzkomórkowego, opartym na koproporfirynie platyny(II) (PtCP) z nośnikiem polipeptydowym.

wym. Ograniczeniem tego sensora jest długi czas (do 48 godzin) i niska efektywność osadzenia w komórce [31].

Zauważono, że modyfikacja zewnętrznych grup karboksylowych w cząsteczce PtCP tworzy dodatnio naładowaną cząsteczkę, lepiej penetrującą błony komórkowe [49]. Natomiast sensorem wewnątrzkomórkowym o najlepszych właściwościach wydaje się być sensor wykorzystujący PtCP-NH₂; wykazuje on wyższą skuteczność osadzenia, odbywającą się w krótszym czasie (12–24 godziny) w porównaniu z PtCP. Dodatkowo PtCP-NH₂ charakteryzuje się bardzo dobrym odzwierciedleniem przewidywanych wartości stężeń tlenu wewnątrzkomórkowego [31]. Jednak należy zauważyć, że mimo zalet PtCP-NH₂ oraz łączenia sensorów z elementami polimerowymi bądź zol-żelowymi [50], dotychczas nie utworzono jeszcze sensora tlenu wewnątrzkomórkowego, który po wprowadzeniu do komórki nie zakłócałby jej normalnych funkcji.

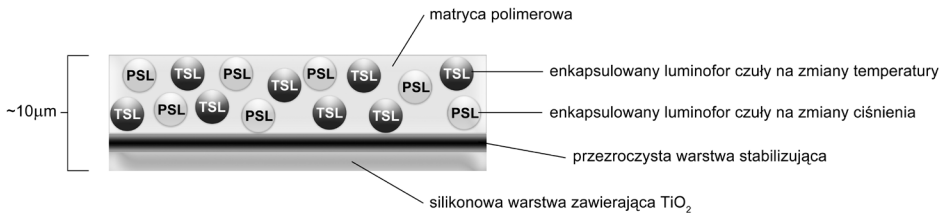
Pojawienie się organicznych diod elektroluminescencyjnych (OLED) współpracujących ze sensorami tlenu wewnątrzkomórkowego znacznie ułatwiło badania stężenia tlenu za pomocą sensorów wewnątrzkomórkowych [51, 52]. Zaletami diod OLED są: (i) tania produkcja, (ii) możliwość tworzenia różnych kształtów, (iii) elastyczność oraz (iv) wytwarzanie małej ilości ciepła. Zintegrowanie ze sensorami tlenu wewnątrzkomórkowego daje pewność bezpieczeństwa w zastosowaniach fizjologicznych.

4. BIFUNKCJONALNE SENSORY LUMINESCENCYJNE

Wiadomo, że istotnym problemem przy zastosowaniu farby PSP jest fluktuacja intensywności jej emisji pod wpływem temperatury. W celu skorygowania zmian wywołanych temperaturą, do warstwy sensorowej PSP, zawierającej luminofor czuły na ciśnienie (PSL), dołącza się zwykle drugi luminofor czuły tylko na zmiany temperatury (TSL). Wówczas mówi się o podwójnie luminoforowej farbie czułej na ciśnienie (ang. *dual luminophore pressure sensitive paint*, DL-PSP) [15], nazywanej również sensorem multifunkcyjnym [53]. Obydwa luminofory powinny zostać rozproszone we wspólnej matrycy polimerowej [15]. Dobranie kompatybilnych luminoforów, nie ingerujących z sobą we wspólnej warstwie polimerowej jest trudne, ale nie jest niemożliwe [18]; stanowi to jeden z głównych celów przy konstruowaniu bifunkcyjnych sensorów luminescencyjnych.

Pierwszym sposobem tworzenia bifunkcyjnych sensorów luminescencyjnych jest bezpośrednio mieszanie luminoforów we wspólnej matrycy [18]. Kolejnym sposobem jest nakładanie osobnych warstw sensorowych jednej na drugą [41, 54], ta metoda w szerszym zastosowaniu wykazuje jednak pewne ograniczenia [54]. Trzecią najdogodniejszą metodą jest wprowadzanie luminoforów w polimerowe mikro kapsuły sferyczne, czyli enkapsulacja oraz rozproszenie ich we wspólnej matrycy polimerowej (Rys. 14). Powyższy zabieg dodatkowo (i) minimalizuje interferencję emisji tych luminoforów, (ii) zapewnia dostateczną rozpuszczalność luminoforów w matrycy,

(iii) chroni przed możliwym przesyłaniem energii wzbudzenia między dwoma luminoforami oraz (iv) zapewnia przygotowanie homogenicznego jednowarstwowego pokrycia podwójnie luminoforowego [2].



Rysunek 14. Przekrój warstwy bifunkcyjnego sensora luminescencyjnego.

Figure 14. Section of the bifunctional luminescent sensor layer.

Dla pewnych DL-PSP pojawiają się trudności, wynikające m.in. z niewłaściwie dobranej polarności matrycy względem sensora oraz zmiennej przepuszczalności tlenu przez matrycę [55]. Innym problemem DL-PSP jest nieprawidłowa kompatybilność, objawiająca się agregacją sensora w skali mikro i nano [56]. W celu zwiększenia kompatybilności wykorzystuje się substancje luminoforowe i polimerowe, wiążące się w sposób kowalencyjny [57], lub stosuje się matrycę opartą o technologię zolo-żelową [58, 59]. Dodatkowa modyfikacja krzemianów pochodzących z zol-żelu ulepsza odpowiedź sensora unieruchomionego w takiej matrycy [60–62].

Podczas pomiarów z wykorzystaniem DL-PSP występują komplikacje w postaci interferencji emisji obydwu luminoforów, dlatego dla lepszej czytelności wyników emisja DL-PSP powinna zostać rozdzielona. Do rozdzielenia nałożonych na widmie sygnałów luminescencyjnych, oprócz wykorzystania optycznych urządzeń i/lub filtrów można posłużyć się dwiema metodami. Pierwsza jest oparta o kalibrację współczynnika intensywności, wykorzystująca obrazy luminescencji zebrane przy dwóch długościach fali. Jedna długość fali odpowiada emisji TSL, druga emisji PSL. W drugiej metodzie stosuje się główną analizę składu (ang. *principal component analysis*), czyli w skrócie PCA, używając obrazów luminescencji otrzymanych przy czterech długościach fali z zakresu widm emisji obu luminoforów. Metoda PCA silnie eliminuje problem związany z nakładaniem widm emisji TSL i PSL, pozwalając na większą dokładność oraz precyzję wyników w porównaniu z pierwszą metodą. Metoda PCA nadaje się do pracy z sensorami luminescencyjnymi zawierającymi jednocześnie nawet trzy luminofory [15].

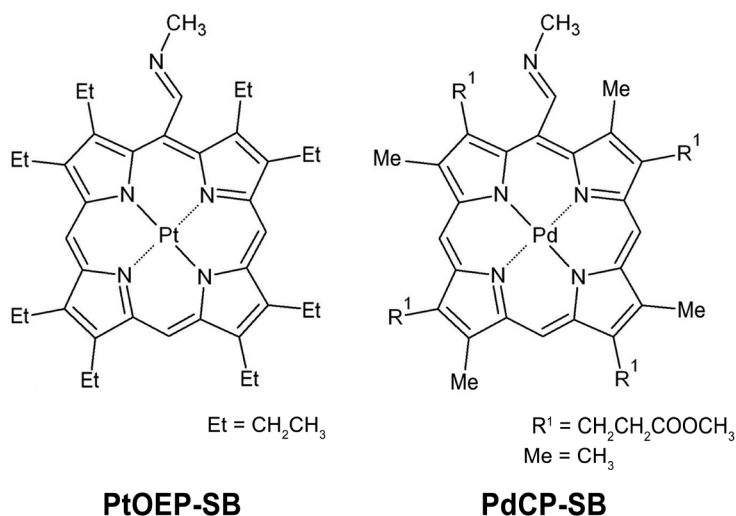
Mapowanie długości czasu zaniku emisji w funkcji stężenia tlenu, ciśnienia lub temperatury byłoby bardzo drogie, czasochłonne i stosunkowo skomplikowane, dlatego mapowanie tych trzech parametrów wykonuje się najczęściej wykorzystując intensywność emisji. Mapowanie długości czasu zaniku emisji stosuje się zazwyczaj przy pomiarach stężenia tlenu w środowiskach wodnych [37].

4.1. KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH BIFUNKCJONALNYCH SENSORÓW LUMINESCENCYJNYCH

Przykładem jednego z prawidłowo pracujących bifunkcjonalnych sensorów luminescencyjnych jest sensor, złożony z (a) tetra(pentafluorofenylo)porfolaktonu platyny(II) (PtTFPL), będącego luminoforem czułym na ciśnienie (i stężenie tlenu) oraz z (b) 1,10-fenantrolina-tris[3-(3-fenantrolino)-1-(9-fenantrolino)propan-1,3-dionu] europu (EuD2), będącego luminoforem czułym na temperaturę. Powyższy sensor wykazuje dobrze rozdzielone pasma emisji poszczególnych luminoforów przy odpowiednio 740 nm i 615 nm [18].

Kolejny bifunkcjonalny sensor luminescencyjny jest złożony z (a) 5,10,15,20-tetra(2,3,4,5,6-pentafluorofenylo)porfiryryny platyny(II) (PtTFPP), będącej luminoforem czułym na ciśnienie (i stężenie tlenu) oraz z (b) tris(tiofenotrifluoroacetylo)-(2-(4-dietyloamino-fenylo)-4,6-bis(3,5-dimetylopirazylo-1-yl)-1,3,5-triazyny europu (Eu(TTA)₃(DPBT)), będącej luminoforem czułym na temperaturę. Luminofory są enkapsulowane wewnątrz sferycznych mikrokapsuł wykonanych z PSAN dla luminoforu czułego na ciśnienie oraz PVC dla luminoforu czułego na temperaturę. Powyższy sprawnie działający bifunkcjonalny sensor luminescencyjny charakteryzuje się stabilnością oraz wysoką jakością pracy zarówno po dziesięciokrotnej kalibracji, jak i po trzech miesiącach składowania w magazynie [2].

Stosunkowo niedawno pojawiły się bifunkcjonalne sensory, umożliwiające w sposób ciągły i jednoczesny określać stężenia tlenu i poziom pH [53, 63, 64]. Do tej grupy zalicza się bifunkcjonalny, lecz jednoluminoforowy sensor zawierający PtOEP-SB lub PdCP-SB jako luminofor; obydwie te luminofory mają dodatkowy fragment, reagujący na zmiany pH, jest to zasada Schiffa (ang. *Schiff-base group*, SB) (Rys. 15). Protonizacja atomu azotu w zasadzie Schiffa powoduje zmianę widma absorpcji luminoforu oraz jednocześnie zmniejsza intensywność jego emisji, nie wpływając na długość czasu jej zaniku. Do zastosowań fizjologicznych sensory czułe na zmiany pH i stężenie tlenu są umieszczane w matrycach polimerowych [65].



Rysunek 15. Struktury cząsteczek Pt(II)-oktaetyloporfiryny (PtOEP) oraz Pd(II)-koproporfiryny (PdCP) z zasadą Schiffa (SB).

Figure 15. Molecular structures of Pt(II)-octaethylporphyrin (PtOEP) and Pd(II)-coproporphyrin (PdCP) with Schiff-base group (SB).

Osobna grupa bifunkcyjnych sensorów powstała w celu jednoczesnego pomiaru stężenia tlenu i temperatury [30, 66–68]. Do tej grupy zalicza się sensor, złożony z (a) 4,7-difenylo-1,10-fenantroliny rutenu (RuDPP), będącej luminoforem czułym na stężenie tlenu oraz z (b) tris(dibenzoilometan) mono(5-amino-1,10-fenantroliny) europu (EuDATP), będącej luminoforem czułym na temperaturę. Związek kompleksowy Eu^{3+} jest umieszczany w polimerach nieprzepuszczalnych dla tlenu, ponieważ jego emisja posiada dodatkową czułość na tlen [30].

Rozdzielenie emisji obu luminoforów wspomnianego sensora przedstawionymi wcześniej metodami jest niemożliwe ze względu na całkowite nałożenie się widm emisji luminoforów. Wyraźny rozdział nałożonych emisji uzyskano przy zastosowaniu częstotliwościowej (ang. *frequency domain technique*) i czasowej (ang. *time domain technique*) metody rozdziału; obydwie te metody wykorzystują pomiar długości czasu zaniku luminescencji (1 μs dla RuDPP oraz 280 μs dla EuDATP) [30].

Porównanie wybranych mono- i bifunkcyjnych sensorów pod względem rodzaju używanych luminoforów, rodzaju matrycy, długości fali wzbudzenia, długości fali emisji oraz zasięgu pracy przedstawiają odpowiednio Tabela 2 i Tabela 3.

Tabela 2. Porównanie właściwości wybranych monofunkcyjnych sensorów luminescencyjnych.
Table 2. Comparison of properties of selected monofunctional luminescent sensors.

Luminofor czuły na ciśnienie (tlen)	Luminofor czuły na temperaturę	Matryca	λ_{wzb} [nm]	λ_{em} [nm]	Zasięg pracy (wykrycia)	Piśmiennictwo
PtTFPP		PS	400	650	0–21 % O ₂	[69]
		FIB	400	650	0–21 % O ₂	[69]
		MAX	390	645	0–1 atm	[27]
PtOEP		Genesee-197*	380	650	0–1 atm	[29]
	EuTTA	PMMA	350	612	5–90°C	[35, 36]
	EuTFC	PBMA	365	612	–268,8–(–23,3)°C	[35]

* handlowa mieszanka, składniki: (i) polimer: poli(dimetylosiloksan) (PDMS); (ii) rozpuszczalnik trichloroetan.

Tabela 3. Porównanie właściwości wybranych bifunkcyjnych sensorów luminescencyjnych.
Table 3. Comparison of properties of selected bifunctional luminescent sensors.

Luminofor czuły na ciśnienie (tlen)	Luminofor czuły na temperaturę	Matryca	λ_{wzb} [nm]	λ_{em} [nm]	Zasięg pracy (wykrycia)	Piśmiennictwo
PtTFPL*	EuD2*	FIB	390	740	0–1 atm	[18]
			370	615	5–45°C	
Ru(DPP)**		silikon	415	615	0–21% O ₂	[30]
	Eu(DATP)**	PMMA	480	615	10–70°C	
PtLC]***§		EC	380	506	0–100% O ₂	[41]
PtOEP***§		EC	380	646		
PtTFPP/PSAN***	Eu(TTA) ₃ (DPBT)/PVC***	hydrożel	405	645	0,5–2,0 atm	[2]
			405	615	0–47°C	

* luminofory bezpośrednio wymieszane we wspólnej matrycy.

** warstwa luminoforu zawartego w matrycy nałożona na drugą warstwę innego luminoforu zawartego w innej matrycy.

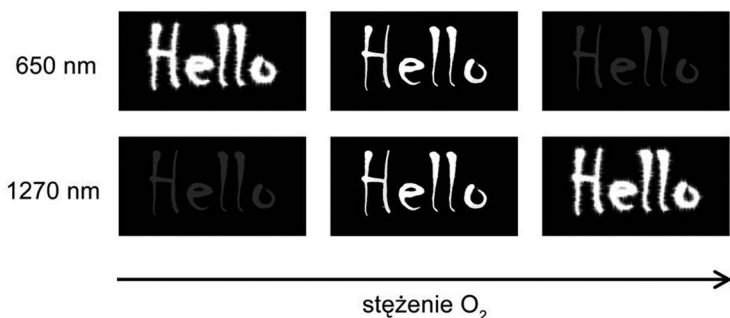
§ monofunkcyjny sensor luminescencyjny, zawierający dwa luminofory.

*** luminofory enkapsulowane polimerowymi mikrokapsułami sferycznymi i rozproszone we wspólnej matrycy.

4.2. LUMINESCENCJA TLENU SINGLETOWEGO SENSIBILIZOWANA PORFIRYNĄ

Metoda pomiaru luminescencji tlenu singletowego sensybilizowanej PtTFPP (1270 nm) stanowi alternatywę klasycznej metody pomiaru luminescencji PtTFPP (650 nm). Luminescencje przy obydwu długościach fali (650 nm i 1270 nm) uzupełniają się wzajemnie podczas przeprowadzania pomiarów stężenia tlenu (Rys. 16). Tlen singletowy powstaje poprzez wygaszanie emisji porfiryn tlenem trypletowym

(Równ. 2), a zatem przy wzroście stężenia tlenu intensywność pasma luminescencji PSL (650 nm) maleje, a intensywność pasma luminescencji $^1\text{O}_2$ (1270 nm) wzrasta. Jako sensybilizatory tlenu singletowego wykorzystuje się związki z rodziny tetra-(pentafluorofenylo)porfiryn: PtTFPP, MgTFPP oraz H_2TFPP [69].



Rysunek 16. Intensywność luminescencji PtOEP (650 nm) oraz tlenu singletowego (1270 nm) w funkcji stężenia tlenu.

Figure 16. Luminescence intensity of PtOEP at 650 nm and singlet oxygen at 1270 nm as a function of oxygen concentration.

Stężenie tlenu nad powierzchnią warstwy sensorowej i mapowanie ciśnienia na powierzchni modelu można osiągnąć zarówno przez pomiar wygaszania luminescencji PSL jak też poprzez pomiar luminescencji tlenu singletowego [69].

Proces tworzenia $^1\text{O}_2$ charakteryzuje się wysoką wydajnością reakcji, natomiast luminescencja tlenu singletowego (istotna z punktu widzenia pomiaru) posiada bardzo niskie wartości wydajności kwantowej. Powyższy fakt stanowi główne utrudnienie praktycznego użycia tej metody [69], a zatem jej zastosowanie na szerszą skalę wydaje się być nadal nieopłacalne.

PODSUMOWANIE

Makrocycyl porfirynowy jest bardzo dobrym fundamentem, wykorzystywanym do syntezy setek różnych związków chemicznych; stanowi on podstawę dla rozwoju zarówno klasycznych dziedzin chemii (organicznej i koordynacyjnej) jak i współczesnych kierunków chemii (chemia supramolekularna i elektronika molekularna). Drugą ważną grupą związków o unikatowych właściwościach luminescencyjnych są organiczne związki kompleksowe lantanowców. W ostatnich latach nastąpił szybki rozwój tych dwóch grup związków; obecnie obserwuje się silny wzrost ich zastosowań.

Mono- i bifunkcjonalne sensory luminescencyjne stężenia tlenu, ciśnienia i temperatury pozwalają na przedstawienie otrzymanych wyników w postaci 2D lub 3D oraz nie wymagają użycia dużych ilości sprzętu elektronicznego. Jako pierwsze pojawiły się monofunkcjonalne sensory luminescencyjne, określające zmianę

tylko jednego parametru. Dalszy rozwój tych sensorów dał początek bifunkcyjnym sensorom luminescencyjnym, czującym jednocześnie na dwa parametry. Wadą bifunkcyjnego sensora luminescencyjnego jest trudny dobór odpowiednich luminoforów do jego prawidłowej pracy oraz niedogodność związana z interferencją emisji poszczególnych jego luminoforów; trudności te omija się stosując odpowiednie techniki.

Proces rozwoju bifunkcyjnych sensorów luminescencyjnych wciąż trwa, dając początek sensorom czującym nie tylko na stężenie tlenu, ciśnienie i temperaturę, lecz również na inne bodźce.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy pragną podziękować za wsparcie finansowe badań przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant NN313 442737) oraz dr E. Mandowskiej za cenne uwagi i komentarze.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W. Szczepaniak, *Metody Instrumentalne w Analizie Chemicznej*, PWN, Warszawa, 2002.
- [2] M.I.J. Stich, S. Nagl, O.S. Wolfbeis, U. Henne, M. Schäferling, *Adv. Funct. Mater.*, 2008, **18**, 1399.
- [3] J. Dargiewicz-Nowicka, S. Radzki, *Acta Bio-Optica et Informatica Medica*, 2002, **8**, 119.
- [4] K. Kilian, K. Pyrzyńska, *Wiad. Chem.*, 2004, **58**, 965.
- [5] E. Zaider, D.R. Bickers, *Clinics in Dermatology*, 1998, **16**, 277.
- [6] M.P. Tsvirko, G.F. Stelmakh, V.E. Pyatosin, K.N. Solovyov, T.F. Kachura, A.S. Piskarskas, R.A. Gado-nas, *Chem. Phys.*, 1986, **106**, 467.
- [7] M. Trytek, M. Makarska, K. Polska, S. Radzki, J. Fiedurek, *Biotechnologia* 4, 2005, **71**, 109.
- [8] A.G. Svetashev, A.N. Sevchenko, M.P. Tsvirko, *Opt. Spectr.*, 1979, **46**, 285.
- [9] S. Lis, *Metody Badania Mechanizmów Reakcji Fotochemicznych*, B. Marciniak red., UAM, Poznań, 1999.
- [10] D. Parker, *Coord. Chem. Rev.*, 2000, **205**, 109.
- [11] V. Ya. Venchikov, M.P. Tsvirko, *J. Appl. Spectroscopy*, 2001, **68**, 1036.
- [12] M. Tsvirko, V. Venchikov, *Chemia i Ochrona Środowiska*, 2005, **10**, 71.
- [13] D. Parker, P.K. Senanayake, J.A.G. Williams, *J. Chem. Soc.*, 1998, *Perkin Trans.* **2**, 2129.
- [14] K.S. Suslick, N.A. Rakow, M.E. Kosal, J.H. Chou, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2000, **4**, 407.
- [15] M.E. Köse, A. Omar, C.A. Virgin, B.F. Carroll, K.S. Schanze, *Langmuir*, 2005, **21**, 9110.
- [16] J. Gallery, M. Gouterman, J. Callis, G. Khalil, B. McLachlan, *J. Bell, Rev. Sci. Instrum.*, 1994, **65**, 712.
- [17] O.S. Wolfbeis, *Adv. Mater.*, 2008, **20**, 3759.
- [18] B. Zelelow, G.E. Khalil, G. Phelan, B. Carlson, M. Gouterman, J.B. Callis, L.R. Dalton, *Sens. Actuators B*, 2003, **96**, 304.
- [19] D. Eastwood, M. Gouterman, *J. Mol. Spectr.*, 1970, **35**, 359.
- [20] G. DiMarco, M. Lanza, *Sens. Actuators B*, 2000, **63**, 42.
- [21] D.B. Papkovsky, G.V. Ponomarev, W. Trettnak, P. O'Leary, *Anal. Chem.*, 1995, **67**, 4112.
- [22] P. Hartmann, W. Trettnak, *Anal. Chem.*, 1996, **68**, 2615.

- [23] G.E. Khalil, C. Costin, J. Crafton, G. Jones, S. Grenoble, M. Gouterman, J.B. Callis, L.R. Dalton, *Sens. Actuators B*, 2004, **97**, 13.
- [24] L.M. Coyle, D. Chapman, G. Khalil, E. Schibili, M. Gouterman, *J. Lumin.*, 1999, **82**, 33.
- [25] L.M. Coyle, M. Gouterman, *Sens. Actuators B*, 1999, **61**, 92.
- [26] E. Puklin, B. Carlson, S. Gouin, C. Costin, E. Green, S. Ponomarev, H. Tanji, M. Gouterman, *J. Appl. Polymer Science*, 2000, **77**, 2795.
- [27] S. Grenoble, M. Gouterman, G. Khalil, J. Callis, L. Dalton, *J. Lumin.*, 2005, **113**, 33.
- [28] Y. Le Sant, M.C. Mérienne, *Aerospace Sci. Technol.*, 2005, **9**, 285.
- [29] M. Gouterman, *J. Chem. Education*, 1997, **74**, 697.
- [30] H. Lam, G. Rao, J. Loureiro, L. Tolosa, *Talanta*, 2011, **84**, 65.
- [31] A. Fercher, G.V. Ponomarev, D. Yashunski, D. Papkovsky, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, **396**, 1793.
- [32] Y. Amao, I. Okura, T. Miyashita, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 2000, **73**, 2663.
- [33] J.J. Lee, J.C. Dutton, A.M. Jacobi, *J. Mech. Sci. Technol.*, 2007, **21**, 1253.
- [34] H. Peng, M.I.J. Stich, J. Yu, L. Sun, L.H. Fischer, O.S. Wolfbeis, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 716.
- [35] Ø. Haugen, T.H. Johansen, *J. Lumin.*, 2008, **128**, 1479.
- [36] G.E. Khalil, K. Lau, G.D. Phelan, B. Carlson, M. Gouterman, J.B. Callis, L.R. Dalton, *Rev. Sci. Instrum.*, 2004, **75**, 192.
- [37] V. Vasil'ev, S. Borisov, *Sens. Actuators B*, 2002, **82**, 272.
- [38] S. Rössli, E. Pretsch, W.E. Morf, E. Tsuchida, H. Nishide, *Anal. Chim. Acta*, 197, **338**, 119.
- [39] Z. Fang, B. Liu, *Tetrahedron Lett.*, 2008, **49**, 2311.
- [40] V.E. Pyatosin, M.P. Tsvirko, *Opt.Spectr.*, 1991, **70**, 379.
- [41] R. Evans, P. Douglas, J. Williams, D. Rochester, *J. Fluor.*, 2006, **16**, 201.
- [42] J. Aragones, P. Fraisl, M. Baes, P. Carmeliet, *Cell Metabolism*, 2009, **9**, 11.
- [43] T.C. O'Riordan, K. Fitzgerald, G.V. Ponomarev, J. Mackrill, J. Hynes, C. Taylor, D.B. Papkovsky, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2007, **292**, R1613.
- [44] J. Hynes, S. Floyd, A.E. Soini, R. O'Connor, D.B. Papkovsky, *J. Biomol. Screen.*, 2003, **8**, 264.
- [45] T.C. O'Riordan, A.E. Soini, D.B. Papkovsky, *Anal. Biochem.*, 2001, **290**, 366.
- [46] F.N. Castellano, J.R. Lakowicz, *Photochem. Photobiol.*, 1998, **67**, 179.
- [47] S.M. Borisov, I. Klimant, *Microchim. Acta*, 2009, **164**, 7.
- [48] W. Xu, K.A. Kneas, J.N. Demas, B.A. DeGraff, *Anal. Chem.*, 1996, **68**, 2605.
- [49] U. Neugebauer, Y. Pellegrin, M. Devocelle, R.J. Forster, W. Signac, N. Moran, T.E. Keyes, *Chem. Commun.*, 2008, **42**, 5307.
- [50] S.M. Buck, H. Xu, M. Brasule, M.A. Philbert, R. Kopelman, *Talanta*, 2004, **63**, 41.
- [51] V. Savvat'ev, Z. Chen-Esterlit, J.W. Aylott, B. Choudhury, C.H. Kim, J.H. Friedl, R. Shinar, J. Shinar, R. Kopelman, *Appl. Physics Lett.*, 2002, **81**, 4652.
- [52] B. Choudhury, R. Shinar, J. Shinar, *Proc. SPIE*, 2004, **5214**, 64.
- [53] N. Borchert, G. Ponomarev, J. Kerry, D. Papkovsky, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 18.
- [54] C. Baleizão, S. Nagl, M. Schäferling, M.N. Berberan-Santos, O.S. Wolfbeis, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 6449.
- [55] P. Douglas, K. Eaton, *Sens. Actuators B*, 2002, **82**, 200.
- [56] D. Bimbaum, S. Kook, R. Kopelman, *J. Phys. Chem.*, 1993, **97**, 3091.
- [57] Z. Wang, A.R. McWilliams, C.E.B. Evans, X. Lu, S. Chung, M.A. Winnik, I. Manners, *Adv. Funct. Mater.*, 2002, **12**, 415.
- [58] N.A. Watkins, B.R. Wenner, J.D. Jordan, W. Xu, J.N. Demas, F.V. Bright, *J. Appl. Spectroscopy*, 1998, **52**, 750.
- [59] C. McDonagh, C. Kolle, A.K. McEvoy, D.L. Dowling, A.A. Cofolla, S.J. Cullen, B.D. MacCraith, *Sens. Actuators B*, 2001, **74**, 124.
- [60] X. Chen, Z. Zhong, Z. Li, Y. Jiang, X. Wang, K. Wong, *Sens. Actuators B*, 2002, **87**, 233.

-
- [61] M.T. Murtagh, M.R. Shahriari, M. Krihak, *Chem. Mater.*, 1998, **10**, 3862.
- [62] I. Klimant, F. Ruckruh, G. Liebsch, A. Stangelmayer, O.S. Wolfbeis, *Microchim. Acta*, 1999, **131**, 35.
- [63] C.R. Schröder, L. Polerecky, I. Klimant, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 60.
- [64] G.S. Vasylevska, S.M. Borisov, C. Krause, O.S. Wolfbeis, *Chem. Mat.*, 2006, **18**, 4609.
- [65] C. McDonagh, C.S. Burke, B.D. McCraith, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 400.
- [66] M.E. Köse, J.M. Bedlek-Anslow, J.P. Hubner, B.F. Carroll, K.S. Schanze, *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, 2005, **9**, 285.
- [67] S.M. Borisov, A.S. Vasylevska, C. Krause, O.S. Wolfbeis, *Adv. Funct. Mater.*, 2006, **16**, 1536.
- [68] M. Borisov, O.S. Wolfbeis, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 5094.
- [69] G. Khalil, A. Chang, M. Gouterman, J. Callis, L. Dalton, N. Turro, S. Jockusch, *Rev. Sci. Instrum.*, 2005, **76**, 054101.

Praca wpłynęła do Redakcji 14 kwietnia 2011

