



# UMCS

UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ  
W LUBLINIE

Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych

Dziedzina: **nauki ścisłe i przyrodnicze**

Dyscyplina: **nauki fizyczne**

**Magdalena Goździuk- Gontarz**

nr albumu: 299689

## **Pozyt w nanoobjętościach polimerów Positronium in polymers nanovolumes**

Rozprawa doktorska przygotowywana pod kierunkiem naukowym  
dr hab. Bożeny Zgardzińskiej, prof. UMCS

w Katedrze Fizyki Materiałowej Instytutu Fizyki  
UMCS

LUBLIN, 2023

## ***Podziękowania***

*Chciałabym podziękować Pani dr hab. Bożenie Zgardzińskiej prof. UMCS za opiekę naukową, cierpliwość, wyrozumiałość, cenne rady, wszelką pomoc i sugestie pozwalające na wytyczenie ścieżek badawczych. Dziękuję także za pomoc w interpretacji wyników i formułowaniu wniosków.*

*Panu dr Markowi Gorgolowi dziękuję za pomoc, cierpliwość, miłą atmosferę, cenne uwagi i przekazanie wiedzy dotyczącej sposobu działania aparatury PALS.*

*Panu mgr inż. Arturowi Błażewiczowi dziękuję za życzliwość, miłą atmosferę i pomoc w uruchomieniu aparatury do pomiarów elektrochemicznych i uzupełnianie poziomu ciekłego azotu podczas prowadzonych przeze mnie pomiarów.*

*Panu dr hab. Markowi Pietrowowi dziękuję za życzliwość i pomoc w uruchomieniu aparatury do pomiarów elektrochemicznych.*

*Pragnę podziękować również naukowcom z Ukrainy prof. Tarasowi Kavetskyy za udostępnienie próbek, pomoc w interpretacji wyników i współpracę naukową. Dziękuję również dr Olehowi Smutok za przekazanie wiedzy dotyczącej pomiarów elektrochemicznych, pomoc i cierpliwość.*

*Dziękuję mojej mamie za okazane wsparcie.*

*Chciałabym szczególnie podziękować mojemu mężowi Patrykowi Gontarzowi za pomoc, cierpliwość, wyrozumiałość, wsparcie i motywację do pracy.*

## SPIS TREŚCI

<b>1.</b>	<b>WSTĘP</b> .....	<b>5</b>
<b>2.</b>	<b>POZYTONY</b> .....	<b>6</b>
2.1.	HISTORIA ODKRYCIA.....	6
2.2.	ŹRÓDŁA I WŁAŚCIWOŚCI POZYTONÓW .....	7
2.3.	ANIHILACJA POZYTONÓW W MATERII.....	8
2.4.	ZASTOSOWANIA ZJAWISKA ANIHILACJI.....	9
<b>3.</b>	<b>ATOM POZYTU</b> .....	<b>13</b>
3.1.	WŁAŚCIWOŚCI ATOMU POZYTU .....	13
3.2.	MODELE POWSTAWANIA POZYTU W MATERII .....	16
3.2.1.	<i>Model szczeliny Øre</i> .....	16
3.2.2.	<i>Model reakcji gniazdowych</i> .....	17
3.2.3.	<i>Pozyt w wolnych objętościach</i> .....	20
3.2.4.	<i>Proces pick-off</i> .....	21
3.2.5.	<i>Model Tao-Eldrupa</i> .....	22
3.2.6.	<i>Model pęcherzykowy</i> .....	25
3.3.	ANIHILACJA POZYTU I KONWERSJA ORTO-PARA .....	25
3.4.	IZOTOPY PROMIENIOTWÓRCZE EMITUJĄCE POZYTONY .....	28
<b>4.</b>	<b>METODY EKSPERYMENTALNE BADANIA ZJAWISKA ANIHILACJI</b> .....	<b>29</b>
4.1.	POMIAR ROZKŁADÓW KĄTOWYCH KWANTÓW ANIHILACYJNYCH .....	29
4.2.	POMIAR POSZERZENIA DOPPLEROWSKIEGO LINII ANIHILACYJNEJ 511 KEV .....	30
4.3.	POMIAR NATĘŻENIA ANIHILACJI TRÓJKWANTOWEJ .....	32
4.4.	SPEKTROSKOPIA CZASÓW ŻYCIA POZYTONÓW .....	33
4.4.1.	<i>Spektrometr fast-fast</i> .....	33
4.4.2.	<i>Spektrometr fast-slow</i> .....	34
4.4.3.	<i>Spektrometr cyfrowy PALS</i> .....	38
4.4.4.	<i>Projekt interfejsu graficznego spektrometru cyfrowego PALS</i> .....	43
4.4.5.	<i>Analiza widma PALS</i> .....	49
<b>5.</b>	<b>TECHNIKI ELEKTROCHEMICZNE</b> .....	<b>53</b>
5.1.	WOLTAMPEROMETRIA CYKLICZNA .....	53
5.2.	CHRONOAMPEROMETRIA .....	55
<b>6.</b>	<b>BIOSENSORY, ICH PODZIAŁ I ZASTOSOWANIE</b> .....	<b>56</b>
6.1.	KONSTRUKCJA BIOSENSORÓW .....	58
6.2.	BIOSENSORY ENZYMATYCZNE Z TRANSDUKTOREM AMPEROMETRYCZNYM .....	60

<b>7. ENZYM LAKAZA .....</b>	<b>62</b>
7.1. WYKORZYSTANIE LAKAZY W OCZYSZCZANIU ZBIORNIKÓW WODNYCH .....	63
<b>8. PARAMETRY BIOSENSORÓW .....</b>	<b>64</b>
8.1. LINIOWOŚĆ .....	64
8.2. CZUŁOŚĆ.....	64
8.3. POZORNA STAŁA MICHAELISA- MENTEN .....	64
<b>9. KSENOBIOTYKI .....</b>	<b>65</b>
<b>10. ZASTOSOWANIE TECHNIKI PALS W BADANIACH NANOSTRUKTURY POLIMERÓW .</b>	<b>67</b>
10.1. OGÓLNY PODZIAŁ POLIMERÓW .....	67
10.2. BIOPOLIMERY .....	68
10.3. WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI POLIMERÓW I BIOPOLIMERÓW NA POZIOMIE ICH NANOSTRUKTURY .....	68
10.4. MATRYCE POLIMEROWE .....	70
<b>11. HIPOTEZA I CEL BADAŃ .....</b>	<b>72</b>
<b>12. BADANE MATRYCE BIOPOLIMEROWE .....</b>	<b>73</b>
<b>13. PRZYGOTOWANIE POMIARÓW .....</b>	<b>77</b>
13.1. METODYKA POMIARÓW PALS .....	77
13.2. METODYKA POMIARÓW ELEKTROCHEMICZNYCH .....	81
<b>14. WYNIKI POMIARÓW I ICH ANALIZA .....</b>	<b>83</b>
14.1. STABILNOŚĆ MATRYC BIOPOLIMEROWYCH W WYBRANYCH TEMPERATURACH .....	83
14.2. POMIARY MATRYC BIOPOLIMEROWYCH W FUNKCJI TEMPERATURY .....	87
14.3. POMIARY SORPCJI/DESORPCJI.....	106
14.4. POMIARY ELEKTROCHEMICZNE .....	118
<b>15. WNIOSKI .....</b>	<b>125</b>
<b>LITERATURA.....</b>	<b>127</b>

# 1. WSTĘP

Spektroskopia Czasów Życia Pozytonów (ang. *Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy*, PALS) jest nieinwazyjną techniką umożliwiającą badanie nanostruktury wielu rodzajów materiałów, w tym polimerów. Szczególną grupę tej rodziny materiałów stanowią biopolimery, które są syntetyzowane z materiałów pochodzenia naturalnego. Ich cechą charakterystyczną jest biodegradowalność oraz brak szkodliwości dla środowiska naturalnego. Znajdują one zastosowania m.in. w medycynie np. do produkcji nowoczesnych materiałów opatrunkowych oraz przemyśle, np. do produkcji jednorazowych opakowań.

W niniejszej pracy skupiono się na badaniu biopolimerów, które mają pełnić rolę matrycy w konstrukcji biosensorów do detekcji śladowych zanieczyszczeń wód ksenobiotykami. Substancje z tej grupy związków chemicznych wykazują wysoką toksyczność oraz onkogenność dla organizmów żywych. Ponadto, są poważnym problemem jako zanieczyszczenia środowiska. Ważne jest zatem skonstruowanie urządzenia prostego w obsłudze, niewielkich rozmiarów i przenośnego, o wysokiej czułości i selektywności, które będzie wykrywało zanieczyszczenia ksenobiotykami. Urządzeniami spełniającymi powyższe kryteria są biosensory. Mechanizm detekcyjny konstruowanych urządzeń bazuje na detekcji amperometrycznej, a układy te wykorzystują enzym lakazę jako bioreceptor.

Analiza nanostruktury pozwala określić aplikacyjność badanych matryc biopolimerowych, które zostały zsyntezowane na bazie olejów sojowego i lnianego. Taka matryca musi mieć dobre właściwości sorpcyjne oraz unieruchamiać enzym na powierzchni bioczułnika. W ramach niniejszej pracy zostały wykonane badania termiczne matryc w celu obserwacji reakcji na zmiany temperatury, określenia stabilności matryc oraz określenia temperatur przejść fazowych. Na podstawie uzyskanych danych eksperymentalnych wyznaczone zostały rozmiary wolnych objętości w badanych próbkach za pomocą modelu Tao-Eldrupa. Po raz pierwszy zostały wykonane pomiary PALS matryc tego typu w zadanych warunkach wilgotności. Badano sorpcję czystej wody, roztworu soli fizjologicznej oraz zanieczyszczonej wody pobranej ze zbiornika wodnego. Wykonano również pomiary desorpcji wody z matryc i wyznaczono stałe czasowe procesów. Badania obejmowały również techniki elektrochemiczne takie jak woltamperometria cykliczna i chronoamperometria w celu wyznaczenia parametrów detekcyjnych biosensorów powstałych na bazie wybranych matryc polimerowych różniących się na poziomie nanoskali.

Celem badań była weryfikacja postawionej hipotezy badawczej wskazującej na istnienie korelacji pomiędzy właściwościami matryc w nanoskali, a otrzymaną odpowiedzią układu podczas badań chronoamperometrycznych.

W pracy opisano dotychczasowy stan wiedzy z zakresu anihilacji pozytonów, modeli anihilacji i wykorzystywanych metod doświadczalnych do badania tego zjawiska. Przedstawiono podstawy technik elektrochemicznych, opisano podstawowe zagadnienia z zakresu konstrukcji biosensorów i ich zastosowania oraz parametrów biosensorów, które są kluczowe w konstrukcji takich urządzeń przeznaczonych do detekcji zanieczyszczeń wód. W pracy zaprezentowano wyniki badań nanostruktury matryc oraz parametrów detekcyjnych biosensorów.

## 2. POZYTONY

### 2.1. HISTORIA ODKRYCIA

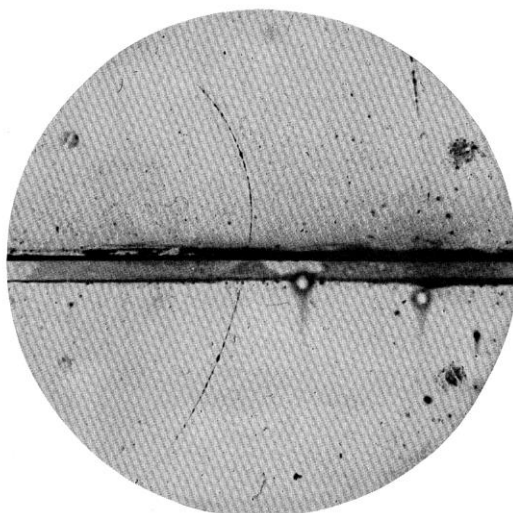
Pozyton jest antycząstką elektronu i pierwszą odkrytą cząstką antymaterii. Istnienie tej cząstki zostało zapostulowane przez brytyjskiego fizyka Paula Adriana Maurice'a Diraca w roku 1928, który w swojej pracy „*The Quantum Theory of the Electron*” [1],[2] przedstawił równanie opisujące funkcję falową elektronu:

$$E = \pm\sqrt{m_e^2c^4 + p^2c^2}, \quad (1)$$

gdzie:  $E$  to energia elektronu,  $m_e$  to masa spoczynkowa elektronu,  $p$  oznacza pęd elektronu, a  $c$  to prędkość światła w próżni. Równanie to ma dwa rozwiązania.

Rozwiązania tego równania przewidują istnienie dwóch obszarów energii elektronów:  $E \geq m_e c^2$  oraz  $E \leq -m_e c^2$ , które są od siebie oddzielone przerwą energetyczną o wartości  $2 m_e c^2$ . Początkowo ujemnemu rozwiązaniu równania przypisywano znane już wówczas protony. Okazało się jednak, że proton ma za dużą masę. Jako wytłumaczenie istnienia obszaru o ujemnej energii, Dirac zapostulował istnienie morza elektronów w próżni, znanego obecnie jako morze Diraca [3],[4]. Cząstki w takim morzu miałyby uniemożliwiać zajmowanie przez elektrony stanów o ujemnej energii, co jest zgodne z zakazem Pauliego. Energia fotonu potrzebnego do wzbudzenia elektronu z morza Diraca jest większa lub równa  $2 m_e c^2$ . Taki elektron wówczas przechodzi z obszaru energii ujemnych do obszaru energii dodatnich. W pierwszym obszarze powstanie „dziura”, którą będzie cechować zachowanie spodziewane dla elektronu o dodatnim ładunku. Taka cząstka została przez Diraca nazwana pozytonem.

Pierwszym doświadczalnym dowodem na istnienie pozytonów były wyniki eksperymentu przeprowadzonego w roku 1932 przez Carla Davida Andersona. Badał on promieniowanie kosmiczne za pomocą komory mgłowej. Podczas badań cząstki były umieszczone w silnym polu magnetycznym, pod wpływem którego ich tory ulegały odchyleniu w zależności od posiadanego ładunku. W swojej pracy Anderson napisał, że na 1300 zdjęć wykonanych w komorze na 15 spośród nich widać ślady cząstek o ładunku dodatnim, jednak o masie mniejszej niż proton [5]. Jedno z wykonanych zdjęć przedstawia Rys. 1, na którym można zobaczyć ślad cząstki poruszającej się z dołu do góry. Tor cząstki jest zakrzywiony, ponieważ jej ładunek oddziałuje z prostopadłym do płaszczyzny zdjęcia polem magnetycznym, którego indukcja wynosiła ok. 1,5 T. Cząstka porusza się z dołu ku górze w płaszczyźnie kartki i przechodząc przez 6 mm płytkę ołowianą („zaciemniona linia” na środku zdjęcia) wytraca część swojej energii, co jest powodem zmniejszenia promienia krzywizny toru cząstki na obszarze powyżej płytki.



**Rys. 1.** Zdjęcie z komory mgłowej, które jest doświadczalnym dowodem na istnienie pozytonu [5].

Odkrycie Andersona umożliwiło stwierdzenie, że masa zidentyfikowanej cząstki jest nie większa niż 20 mas elektronu i cząstka ta jest naładowana dodatnio. Początkowo Anderson nie zidentyfikował tych cząstek jako pozytony, niemniej jednak w roku 1936 otrzymał za swoje odkrycie Nagrodę Nobla z fizyki.

Rok po eksperymencie Andersona dwaj naukowcy, Patrick Blackett oraz Giuseppe Occhialini [6] przeprowadzili analogiczny eksperyment, jednak w udoskonalonym modelu komory mgłowej. Oni jako pierwsi powiązali nowo odkrytą cząstkę z postulowanym przez Diraca pozytonem, jednocześnie doświadczalnie potwierdzając jego istnienie.

## 2.2. ŹRÓDŁA I WŁAŚCIWOŚCI POZYTONÓW

Pozyton, podobnie jak inne cząstki można opisywać za pomocą różnych parametrów np. masa, ładunek czy liczby kwantowe. Zważając na fakt, że pozyton jest antycząstką elektronu część z tych parametrów jest taka sama dla obydwu cząstek, a część różni się tylko znakiem. W tabeli 1 zestawiono porównanie własności elektronu i pozytonu.

**Tabela 1.** Porównanie wartości opisujących elektron i pozyton.

Wartość	Elektron	Pozyton
Masa/ energia	511 keV	
Ładunek	$-1,602\ 176\ 6208(98) \cdot 10^{-19}\text{ C}$	
Liczba barionowa	0	
Liczba leptonowa	+1	-1
Spin	$\frac{1}{2}$	
Moment magnetyczny	$\mu = \frac{1}{2} \cdot \hbar \frac{e}{m_e}$	$\mu = -\frac{1}{2} \cdot \hbar \frac{e}{m_e}$

Pozytony mogą powstawać w wyniku kilku procesów. Pierwszym z nich jest rozpad niektórych cząstek elementarnych, zwłaszcza mionu:

$$\mu^+ \rightarrow e^+ + \nu_e + \tilde{\nu}_\mu. \quad (2)$$

W takim rozpadzie powstaje pozyton ( $e^+$ ) wraz z neutrinem elektronowym ( $\nu_e$ ) i antyneutrinem mionowym ( $\tilde{\nu}_\mu$ ). Procesowi towarzyszy bozon pośredniczący  $W^+$ . Rozpad ten jest dowodem występowania oddziaływań słabych.

Rozpad  $\beta^+$  jest charakterystyczny dla jąder neutronodeficytowych, gdzie nadmiarowy proton w jądrze ulega przemianie w neutron i dochodzi do emisji z jądra pierwotnego ( ${}^A_ZX$ ) pozytonu ( $e^+$ ) i neutrina elektronowego ( $\nu_e$ ). Powstaje wówczas jądro pochodne  $Y$  z taką samą liczbą masową  $A$  i zmniejszoną o 1 liczbą atomową  $Z$ :

$${}^A_ZX \rightarrow {}^A_{Z-1}Y + e^+ + \nu_e. \quad (3)$$

Pozytony uzyskane poprzez rozpad  $\beta^+$  charakteryzują się ciągłym rozkładem widma energetycznego.

Po raz pierwszy jądra neutronodeficytowe uzyskali Irene Joliot- Curie wraz z mężem Fryderykiem Joliotem podczas badań nad sztuczną promieniotwórczością. Za swoje osiągnięcia z tej dziedziny otrzymali Nagrodę Nobla w roku 1935.

Kreacja par jest zjawiskiem, w którym tworzy się para cząstka-antycząstka (elektron-pozyton). Zjawisko zachodzi, gdy kwant promieniowania  $\gamma$  o energii  $h\nu$  większej od dwukrotności energii spoczynkowej elektronu  $2m_e c^2 = 1022 \text{ keV}$  ulega konwersji w parę cząstka-antycząstka. Aby mogło wystąpić to zjawisko część pędu musi jednak zostać przejęta przez inny obiekt np. jądro atomowe, co wynika z zasad zachowania energii i pędu. Wartość energii progowej koniecznej do stworzenia pary elektron-pozyton można zapisać następująco:

$$E_{\text{graniczna}} = 2m_e c^2 \left(1 + \frac{m_e}{M}\right), \quad (4)$$

gdzie  $M$  to masa centrum, na którym zachodzi tworzenie pary cząstek. W przypadku gdy foton  $\gamma$  ma energię wyższą od energii granicznej, powstała para cząstka- antycząstka obok pewnej energii spoczynkowej ma również niezerową energię kinetyczną.

### 2.3. ANIHILACJA POZYTONÓW W MATERII

Anihilacja jest zjawiskiem odwrotnym do kreacji par i polega na zmianie energii cząstki i antycząstki (która ma postać energii kinetycznej i spoczynkowej obu cząstek) na energię fotonów (kwanty  $\gamma$ ). W tym procesie spełnione są zasady zachowania: pędu, energii, momentu pędu, ładunku i parzystości. Gdy pozyton trafi do ośrodka zaczyna wytracać swoją energię poprzez jonizację i wzbudzanie cząsteczek ośrodka. Wartość przekroju czynnego na jonizację cząsteczek ośrodka jest 5 razy większa niż na anihilację. Wynika z tego, że pozyton tuż po trafieniu do ośrodka ma za dużą energię ( $E_{\text{kin}} \approx 0,1 - 1 \text{ MeV}$ ), aby doszło do jego anihilacji. Prawdopodobieństwo wystąpienia procesu jonizacji pozostaje większe od prawdopodobieństwa anihilacji dopóki energia pozytonu nie spadnie do poziomu energii jonizacji (poniżej 0,1 eV). Sam proces utraty energii przez pozyton nosi nazwę termalizacji. Przy najwyższych wartościach energii głównym sposobem utraty energii przez pozyton jest jonizacja, przy niższych energiach zaczynają dominować wzbudzenia elektron-dziura, na ostatnim zaś etapie większość utraty energii zachodzi poprzez rozpraszanie fononów. Ostatecznie pozytony osiągają równowagę termiczną z ośrodkiem, utrzymywaną dzięki emisji i absorpcji fononów. Proces termalizacji trwa zwykle kilka pikosekund. Następnie zachodzi proces dyfuzji pozytonu w ośrodku [7],[8].

Podczas anihilacji może dojść do emisji dowolnej liczby  $n$  kwantów  $\gamma$ :

$$e^+ + e^- = n\gamma. \quad (5)$$



Jednak mając na uwadze zasady zachowania, które są spełnione podczas procesu anihilacji, przypadek z emisją tylko jednego kwantu  $\gamma$  jest możliwy tylko wtedy, gdy inne ciało przejmie pęd odrzutu. Natomiast anihilacja bezfotonowa zachodzi tylko i wyłącznie w obecności dwóch innych ciał. Dlatego też prawdopodobieństwo zajścia tych zjawisk jest bardzo małe. Przekrój czynny na anihilację jednofotonową  $\sigma_{1\gamma}$  można zapisać jako:

$$\sigma_{1\gamma} = 4\pi \cdot r_0^2 \cdot Z^5 \cdot \frac{v}{3c} \cdot \alpha^4, \quad (6)$$

gdzie  $Z$  to liczba porządkowa jądra, w którym zachodzi zjawisko anihilacji,  $r_0 = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 m_e c^2} = 2,8 \cdot 10^{-15} m$  to klasyczny promień elektronu,  $\epsilon_0$  to przenikalność elektryczna próżni,  $v$  jest prędkością względną elektronu i pozytonu, zaś  $\alpha = \frac{1}{137}$  to stała struktury subtelnej.

Po raz pierwszy promieniowanie anihilacyjne zaobserwował Otto Klemperer [9] i na podstawie badań wywnioskował, że anihilacja zachodzi najczęściej z emisją dwóch lub więcej kwantów  $\gamma$ . Najbardziej prawdopodobnym procesem jest anihilacja dwukwantowa. Przekrój czynny na to zjawisko  $\sigma_{2\gamma}$  został podany przez Diraca w postaci [1],[3]:

$$\sigma_{2\gamma} = \frac{\pi \cdot r_0^2}{\gamma+1} \cdot \left[ \frac{\gamma^2+4\gamma+1}{\gamma^2-2} \cdot \ln\left(\gamma + \sqrt{\gamma^2-1}\right) - \frac{\gamma+3}{\sqrt{\gamma^2-1}} \right], \quad (7)$$

gdzie  $\gamma = \frac{1}{\sqrt{1-\frac{v^2}{c^2}}}$  jest czynnikiem relatywistycznym. W przypadku nierelatywistycznej prędkości pozytonu ( $\frac{v}{c} \ll 1$ ) wzór (7) można uprościć:

$$\sigma_{2\gamma} = \pi \cdot r_0^2 \cdot \frac{c}{v}. \quad (8)$$

Prawdopodobieństwo anihilacji dwufotonowej w jednostce czasu można zapisać:

$$\lambda_{2\gamma} = \sigma_{2\gamma} \cdot v \cdot n_e = \pi \cdot r_0^2 \cdot c \cdot n_e, \quad (9)$$

gdzie  $n_e$  to gęstość elektronowa ośrodka, w którym zachodzi anihilacja. Takie prawdopodobieństwo jest proporcjonalne do gęstości elektronów w miejscu anihilacji. Odwrotnością stałej zaniku  $\lambda$  jest średni czas życia pozytonów  $\tau$ :

$$\tau = \frac{1}{\lambda}. \quad (10)$$

Przekrój czynny na anihilację trójkwantową  $\sigma_{3\gamma}$  można zapisać następującym wzorem [10]:

$$\sigma_{3\gamma} = \frac{4}{3} (\pi^2 - 9) \cdot r_0^2 \cdot \frac{c}{v} \cdot \alpha. \quad (11)$$

Stosunek przekroju czynnego anihilacji trójkwantowej do dwukwantowej jest rzędu stałej struktury subtelnej:

$$\frac{\sigma_{3\gamma}}{\sigma_{2\gamma}} = \frac{1}{372}. \quad (12)$$

Prawdopodobieństwo emisji większej liczby kwantów maleje wraz z liczbą kwantów emitowanych:

$$\sigma_{n\gamma} \approx \alpha^{n-2} \sigma_{2\gamma}, \dots \quad (13)$$

Największe prawdopodobieństwo ma anihilacja z emisją dwóch kwantów  $\gamma$ , gdzie energia każdego z nich wynosi 511 keV.

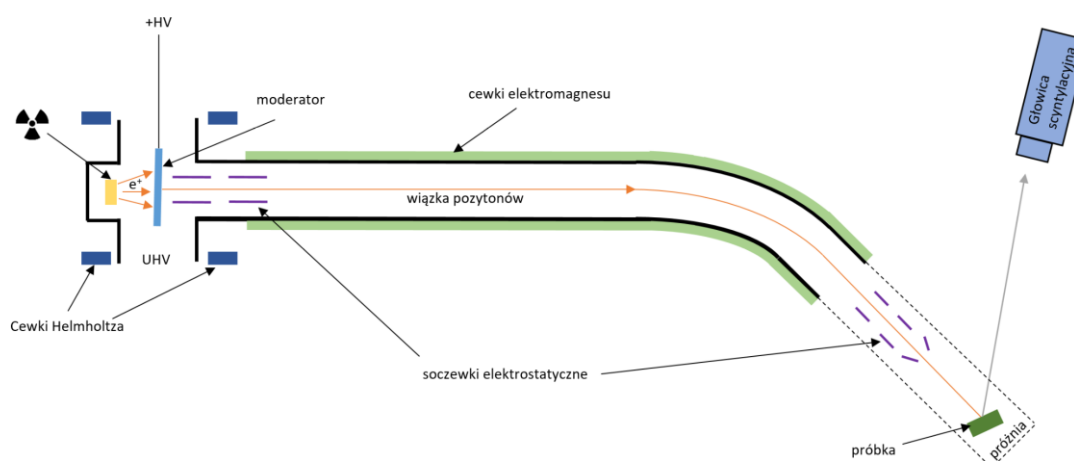
## 2.4. ZASTOSOWANIA ZJAWISKA ANIHILACJI

Od lat 70 XX wieku pozyton jest wykorzystywany jako próbnik w badaniach nanostruktury materiałów. Techniki badawcze z wykorzystaniem pozytonów pozwalają na badania w nanoskali, co dostarcza wielu cennych informacji dotyczących własności danego materiału

zarówno w nano- jak i w makroskali. Jako źródła pozytonów wykorzystywane są radioizotopy emitujące promieniowanie  $\beta^+$ .

W praktyce eksperymentalnej oznacza to wykorzystanie zamkniętego źródła promieniotwórczego, które umieszczone jest razem z próbką w komorze pomiarowej. Pozytony emitowane są do próbki i anihilują z elektronami próbki. Takie źródło ma postać „koperty” z zamkniętym radioizotopem wewnątrz, a warstwą okalającą/izolującą jest cienka folia o grubości rzędu mikrometrów, przez którą większość pozytonów może przedostać się do próbki.

Innym sposobem dostarczania próbnika pozytonowego do próbki jest wykorzystanie wiązki powolnych pozytonów, której energia mieści się w zakresie od kilku eV do kilkudziesięciu keV. W tym przypadku pozytony emitowane z radioizotopu na początku są implantowane do tzw. moderatora (Rys. 2), gdzie w procesie termalizacji ulegają spowolnieniu do energii termicznej, a następnie większość z nich jest wyrzucana na zewnątrz z moderatora, gdy w ruchu dyfuzyjnym zbliżają się do powierzchni. Takim moderatorem może być cienka folia wolframowa, w której pozytony mają ujemną pracę wyjścia. Następnie pozytonom poprzez przyłożenie napięcia elektrycznego nadaje się pożądaną energię. Ostatnim etapem jest tworzenie i ogniskowanie wiązki za pomocą pola magnetycznego. Cały proces odbywa się w próżni [11]-[14].



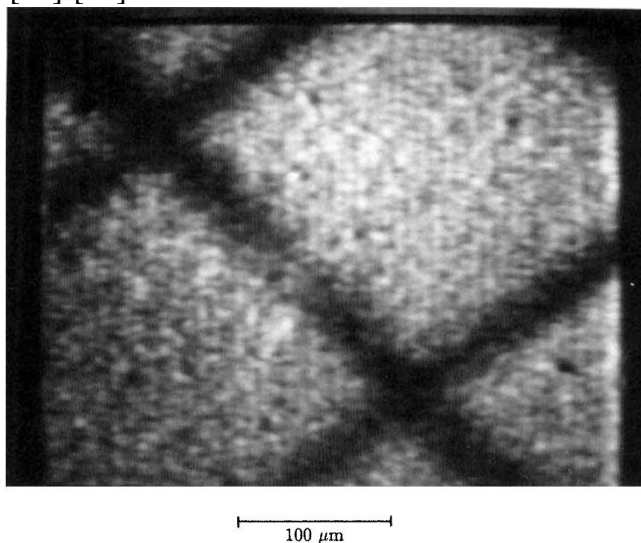
Rys. 2. Schemat stanowiska do tworzenia wiązki powolnych pozytonów.

Kolejny przykład praktycznego zastosowania zjawiska anihilacji to mikroskopia pozytonowa. W odróżnieniu do popularnych mikroskopów elektronowych, w takich mikroskopach wykorzystuje się wiązkę pozytonów do uzyskiwania obrazów próbek w dużych powiększeniach. Ze względu na sposób uzyskiwania obrazu wyróżnia się następujące rodzaje mikroskopii pozytonowej: Transmisyjna Mikroskopia Pozytonowa (TPM) oraz Reemisyjna Mikroskopia Pozytonowa (PRM).

W Transmisyjnej Mikroskopii Pozytonowej (TPM, ang. *Transmission Positron Microscopy*) zasada działania jest przybliżona do Transmisyjnego Mikroskopu Elektronowego (TEM, ang. *Transmission Electron Microscopy*) [15], jednak zamiast elektronów wykorzystuje się w nich pozytony. Pierwszy taki mikroskop został skonstruowany w roku 1988 przez Jamesa Van House'a oraz Arthura Rich'a, którzy uzyskali 55-krotne powiększenie polimeru VYNS [16]. Uzyskiwany kontrast obrazów z TPM może być w niektórych przypadkach lepszy niż z TEM z uwagi na dodatni ładunek  $e^+$ . W mikroskopie pozytonowym cząstki są odpychane przez jony i wewnętrzne powłoki atomów, dzięki czemu rozpraszanie pozytonów jest mniejsze niż w przypadku elektronów. Zaletą takiego rozwiązania w porównaniu z obserwacjami

prowadzonymi z wykorzystaniem elektronów jest też możliwość badania grubszych próbek. Zaletą mikroskopów pozytonowych jest fakt redukcji uszkodzenia próbek za pomocą pozytonów. Mikroskopy TPM świetnie nadają się do badania związków organicznych lub biomateriałów. W celu zwiększenia kontrastu na takie próbki nanosi się jony metali [17],[18].

W przypadku Reemisyjnej Mikroskopii Pozytonowej (PRM, ang. *Positron Reemission Microscopy*) wykorzystuje się zjawisko spontanicznej reemisji niskoenergetycznych (kilka eV) pozytonów z powierzchni badanej próbki. Pozytony są następnie przyspieszane i skupiane na detektorze w celu utworzenia obrazu. Podobnie jak w przypadku TPM, w technice RPM również można wykorzystywać grubsze próbki do badań. Ta technika obrazowania jest nieniszcząca, więc można wykonywać obrazowanie pomiędzy poszczególnymi etapami przygotowania próbki. Pierwszy obraz wykonany tą techniką uzyskali James Van House oraz Arthur Rich w roku 1988. Widoczna jest na nim miedziana siatka położona na wyżarzonej folii polikrystalicznej (Rys. 3). Ciemne linie oznaczają obszary o niskiej reemisji pozytonów, zaś jasne o wysokiej reemisji [19]-[22].

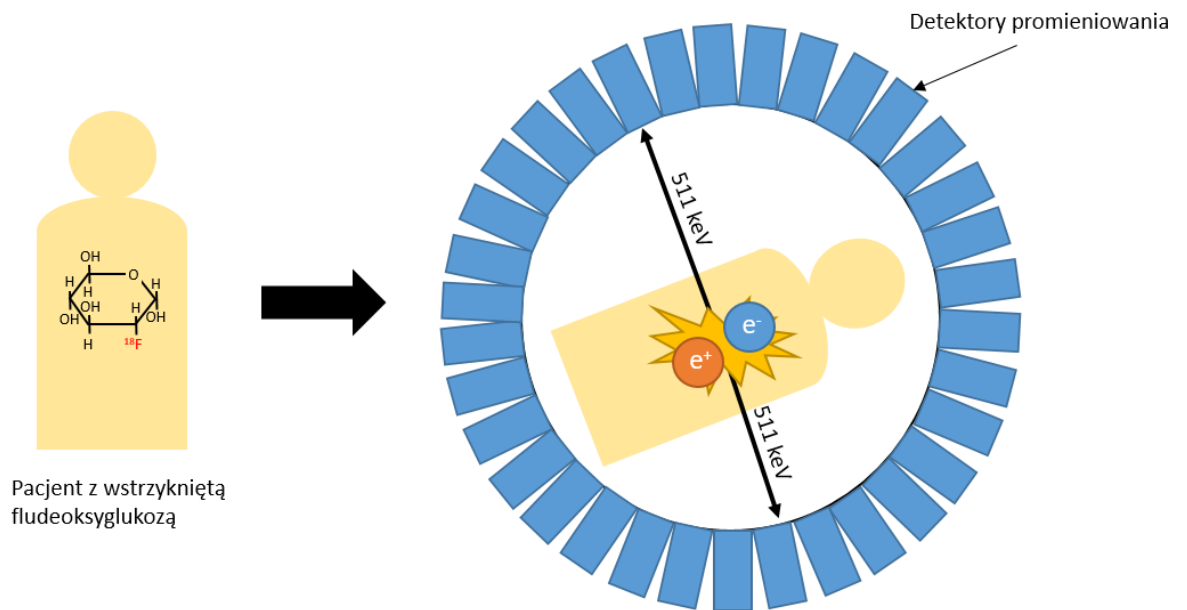


**Rys. 3.** Pierwszy obraz uzyskany techniką Reemisyjnej Mikroskopii Pozytonowej [20].

Ze względu na swój wysoki kontrast podczas obserwacji defektów oraz brak niszczącego wpływu na próbki mikroskopia PRM może być zastosowana do badań materiałów, obserwacji katalizy powierzchniowej i w elektronice półprzewodnikowej. Ta technika pozwala na obserwację domen krystalicznych w próbce, co wynika z zależności szybkości reemisji pozytonów od orientacji kryształu (widoczny duży kontrast na obrazie). Zaletą tego rodzaju mikroskopii jest możliwość obserwacji grubych próbek, w przeciwieństwie do mikroskopii elektronowej, gdzie próbka musi być cienka. Tę technikę można również wykorzystać do obrazowania struktur biologicznych, ponieważ ma ona duże znaczenie dla badań ścian komórkowych ze względu na wysoki kontrast pomiędzy lipidami, a białkami występującymi na błonie (wynika z tego brak konieczności stosowania barwników lub znaczników). Interesującym zastosowaniem jest badanie receptorów białkowych i zmian w nich zachodzących co czyni tę technikę obiecującą w diagnostyce medycznej [21],[22].

Zjawisko anihilacji jest również wykorzystywane w diagnostyce medycznej do obrazowania Pozytonową Tomografią Emisyjną (PET, ang. *Positron Emission Tomography*). Wykorzystuje się ją do diagnostyki nowotworów, wykrywania chorób mózgu i układu nerwowego, serca oraz stanów zapalnych o nieznanym pochodzeniu. Takie zmiany chorobowe powodują zmiany metabolizmu cukrów, co jest zjawiskiem wykorzystywanym w tomografii PET. Przed badaniem pacjentowi najczęściej wstrzykuje się znaczoną izotopem promieniotwórczym fludeoksyglukozę (FDG), która jest pochodną glukozy z zastąpioną jedną

grupą hydroksylową atomem radioizotopu fluoru-18 (czas połowicznego rozpadu wynosi 110 minut). FDG jest konsumowany w większej ilości w tkankach zmienionych nowotworowo i przechodzących stan zapalny, co prowadzi do większej akumulacji izotopu promieniotwórczego w tych właśnie obszarach organizmu.

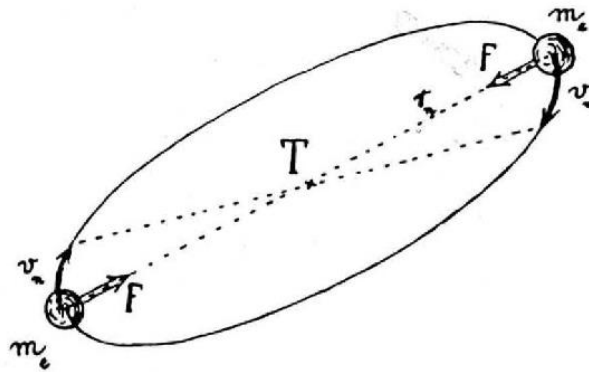


**Rys. 4.** Uproszczony schemat działania tomografii PET.

Za pomocą detektorów ułożonych w kształt pierścienia (Rys. 4) wykrywane są kwanty  $\gamma$  powstałe wskutek anihilacji pozytonów pochodzących z rozpadu  $\beta^+$  izotopu  $^{18}\text{F}$  z elektronami pochodzącymi z tkanek pacjenta. Dzięki obserwacjom natężenia zjawiska anihilacji można wnioskować o przyswajaniu cukru przez organizm i lokalizować na tej podstawie stany patologiczne. Jest to obecnie najskuteczniejsza technika w diagnostyce onkologicznej [23]-[26].

### 3. ATOM POZYTU

Pozyt (Ps) jest quasistabilnym stanem związanym elektronu i pozytonu, zaliczanym – ze względu na swoją budowę – do atomów egzotycznych. Istnienie pozytu przewidywał chorwacki fizyk Stjepan Mohorovičić w roku 1934. Zapostulowaną przez siebie strukturę nazwał „elektrum” (Rys. 5). Był to układ dwóch cząstek o takiej samej masie, które krążyły wokół wspólnego środka masy [27].



Rys. 5. Szkic Mohorovičića przedstawiający „elektrum” [27].

Nazwy „pozyt” (z angielskiego- „positronium”) w odniesieniu do stanu związanego elektronu i pozytonu po raz pierwszy użył Arthur E. Ruark w roku 1945 [28]. Ruark przeprowadził obliczenia bazujące na teorii modelu atomu Bohra, porównujące pozyt do atomu wodoru. Energie stanów pozytu ( $E_n^{Ps}$ ) są 2 razy mniejsze niż atomu wodoru ( $E_n^H$ ):

$$E_n^{Ps} = \frac{1}{2} E_n^H = -\frac{\frac{m_e}{2} \cdot e^4}{8 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot h^2} \cdot \frac{1}{n^2} = -6,803 \cdot \frac{1}{n^2} [eV], \quad (14)$$

gdzie  $n$  oznacza główną liczbę kwantową. W analogiczny sposób można wyznaczyć prawdopodobną średnicę pozytu ( $r_n^{Ps}$ ). Odległość pomiędzy elektronem i pozytonem jest dwukrotnie większa od promienia atomu wodoru ( $r_n^H$ ):

$$r_n^{Ps} = 2r_n^H = 2 \cdot \frac{\varepsilon_0 \cdot h^2}{\pi \cdot m_0 \cdot e^2} \cdot n^2 = 1,06 \cdot n^2 [\text{Å}]. \quad (15)$$

Eksperyment potwierdzający istnienie pozytu przeprowadził Martin Deutsch w roku 1951 [29]. W swoich badaniach wykorzystywał izotop  $^{22}\text{Na}$  jako źródło pozytonów i analizował ich zachowanie w obecności gazów (np.  $\text{N}_2$ ). Zaobserwował on zjawisko anihilacji trójkwantowej (składowa widma o średnim czasie życia wynoszącym ok. 100 ns). Czas życia swobodnych pozytonów poza próżnią zazwyczaj jest znacznie krótszy, zatem musiała powstać struktura o spinach równoległych. Było to doświadczalnym potwierdzeniem powstania atomu pozytu w badanym ośrodku.

#### 3.1. WŁAŚCIWOŚCI ATOMU POZYTU

Opisu kwantowomechanicznego atomu pozytu można dokonać zapisując funkcję falową pozytu. W nierelatywistycznym przybliżeniu dla stanu podstawowego ( $n=1$ ) przyjmuje ona postać:

$$\Psi_{n=1}(r) = \frac{1}{\sqrt{\pi(r_{n=1}^{Ps})^3}} \cdot \exp\left(-\frac{r}{r_{n=1}^{Ps}}\right). \quad (16)$$

Orientacja spinów elektronu i pozytonu w pozycie może być antyrównoległa ( $\uparrow\downarrow$ ) lub równoległa ( $\uparrow\uparrow$ ). W przypadku orientacji antyrównoległej całkowity spin pozytu wynosi 0, a magnetyczna liczba kwantowa  $m$  może przyjmować tylko wartość 0. Jest to stan singletowy noszący nazwę *para*-pozytu ( $p$ -Ps). Z kolei w przypadku konfiguracji równoległej całkowity spin wynosi 1 i wówczas magnetyczna liczba kwantowa może przyjmować wartości: -1, 0, 1. Jest to stan tripletowy, nazywany *orto*-pozytem ( $o$ -Ps). Ze względu na wartości magnetycznej liczby kwantowej stosunek prawdopodobieństwa utworzenia *para*-pozytu do *orto*-pozytu wynosi 1:3. W tabeli 2 przedstawiono porównanie własności *para*-pozytu i *orto*-pozytu.

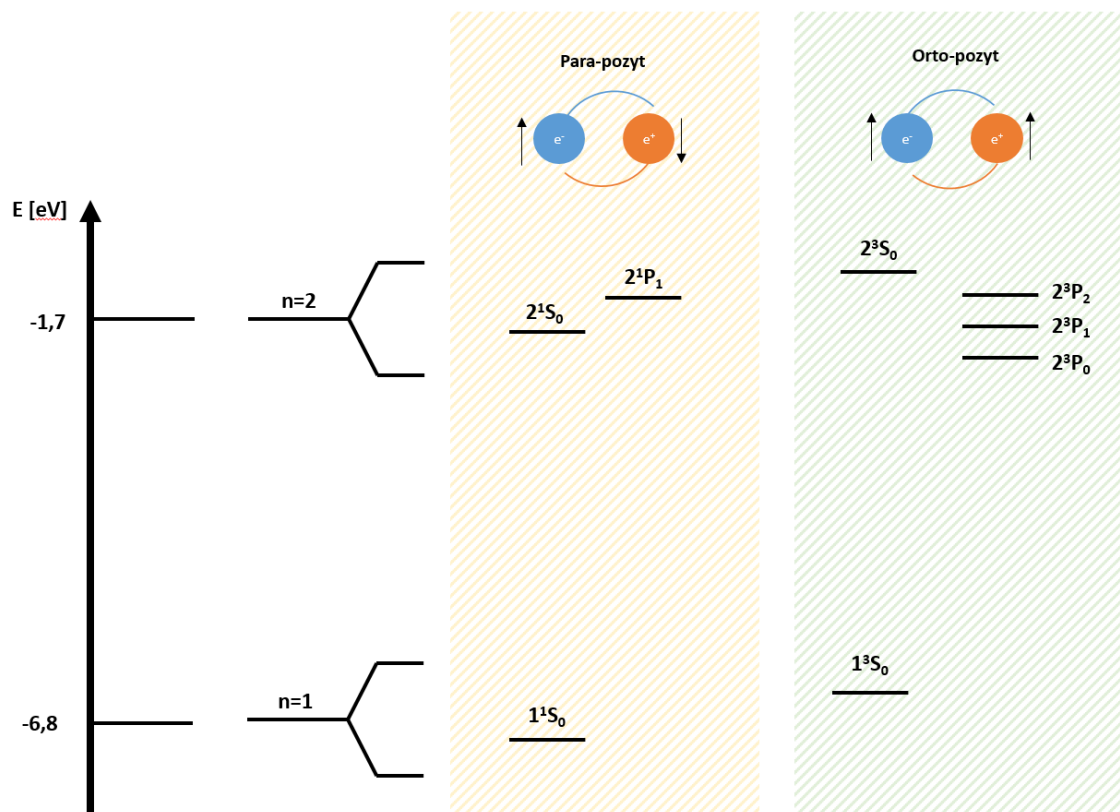
**Tabela 2.** Porównanie własności *para*-pozytu i *orto*-pozytu.

Własność	<i>Para</i> -pozyt ( $p$ -Ps)	<i>Orto</i> -pozyt ( $o$ -Ps)
Wzajemna orientacja spinu	Antyrównoległa ( $\uparrow\downarrow$ )	Równoległa ( $\uparrow\uparrow$ )
Całkowity spin	stan singletowy $1^1S_0$	stan tripletowy $1^3S_0$
	Dla stanu podstawowego:	
Całkowity moment pędu	$J_s = 0$	$J_t = 1$
Magnetyczna liczba kwantowa	$m = 0$	$m = -1, 0, 1$
Liczba kwantów emitowanych podczas anihilacji	parzysta	nieparzysta

Na Rys. 6 przedstawiony został układ poziomów energetycznych dla *para*-pozytu i *orto*-pozytu w stanach o  $n=1$  i 2. Zastosowano notację spektroskopową do opisu poziomów:

$$n^{2s+1}L_j, \quad (17)$$

gdzie  $n$  oznacza główną liczbę kwantową,  $s$  to całkowity spin układu,  $L$  zaś jest orbitalnym momentem pędu, a  $j$  jest całkowitym momentem pędu.



**Rys. 6.** Układ poziomów energetycznych dla para-pozytu i orto-pozytu w stanach o  $n=1$  i 2.

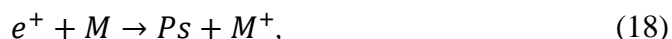
Dwa atomy pozytu mogą utworzyć cząsteczkę dipozytu ( $\text{Ps}_2$ ). Istnienie tej cząsteczki przewidział John A. Wheeler w roku 1946 [30], a doświadczalnie została otrzymana przez Allena Millsa i Davida Cassidy'ego w roku 2007 [31]. Amerykańscy naukowcy wstrzelili pozytony do cienkiej warstwy krzemionki, gdzie z elektronami tworzyły one pozyt. Jednak atomy pozytu przylegały do wewnętrznych powierzchni porów w krzemionce, co wydłużało ich czas życia na tyle długo, że mogły oddziaływać między sobą. W ten sposób wytworzono dipozyt.

Istnieje również jon pozytu  $\text{Ps}^-$  składający się z dwóch elektronów i pozytonu, który po raz pierwszy został otrzymany przez Allena Millsa w roku 1981 [32].

## 3.2. MODELE POWSTAWANIA POZYTU W MATERII

### 3.2.1. Model szczeliny $\text{\Ore}$

W roku 1935 Aadne  $\text{\Ore}$  [33] zaproponował jednoetapowy model tworzenia pozytu. Pozyton, gdy przedostanie się do próbki, zderza się z cząsteczkami ośrodka i może je jonizować oraz wywoływać wzbudzenia elektronowe. Model ten zakłada, że pozyt może powstać wskutek napotkania elektronu oderwanego od molekuly z powodu jonizacji przez wysokoenergetyczny pozyton. Reakcja przebiega następująco:



gdzie  $M$  oznacza molekulę substancji, a  $M^+$  zjonizowaną molekulę. Ważne są wartości energii jonizacji ( $E_j$ ) oraz wzbudzeń elektronowych ( $E^*$ ), aby powstał pozyt. Na początku musi dojść do oderwania elektronu od molekuly. Energia wiązania pozytu wynosi  $-6,8$  eV, zatem minimalna energia jaką musi mieć pozyton wynosi  $E_j - 6,8$  eV. W sytuacji gdy energia pozytonu jest większa niż energia wzbudzeń elektronowych  $E^*$  dochodzi do wzbudzenia elektronów i pozyt nie powstanie. Aby powstał pozyt energia pozytonu ( $E$ ) musi mieścić w następującym przedziale:

$$E_j - 6,8 \text{ eV} < E < E^*. \quad (19)$$

Przedział ten nazywany jest szczeliną  $\text{\Ore}$ . Przy założeniu, że wszystkie pozytony będą miały energię z przedziału  $\text{\Ore}$  i utworzą pozyt możliwe jest wyznaczenie prawdopodobieństwa utworzenia pozytu ( $P_{\text{\Ore}}$ ):

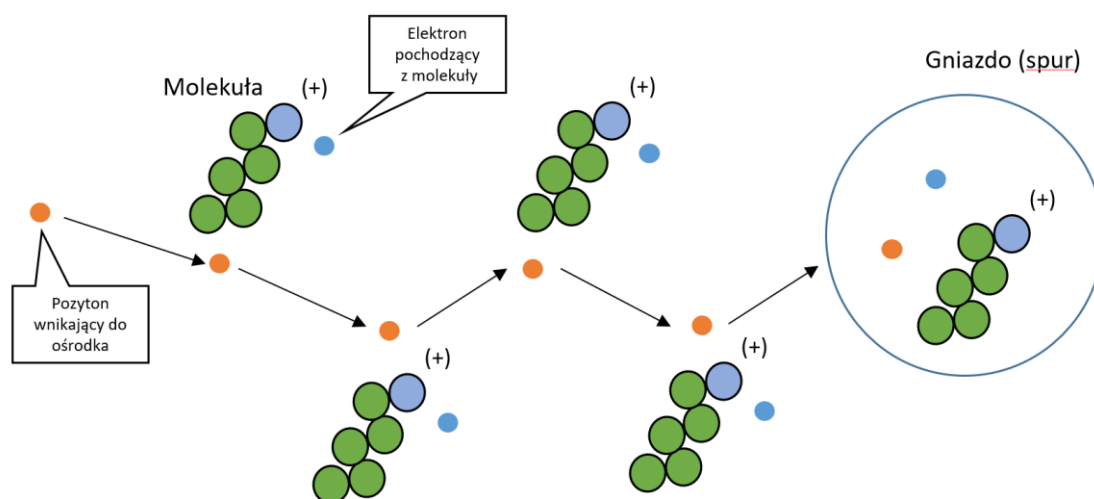
$$P_{\text{\Ore}} = \frac{E^* - (E_j - 6,8 \text{ eV})}{E_j}. \quad (20)$$

Model ten znajduje zastosowanie podczas analizy zjawiska anihilacji w gazach, jednak ze względu na zachodzenie procesów, które zwiększają energię dolnej granicy szczeliny  $\text{\Ore}$  (m.in. pułapkowanie, elastyczne rozpraszanie pozytonów) nie może być on stosowany do opisu anihilacji pozytu w ośrodkach skondensowanych.



### 3.2.2. Model reakcji gniazdowych

W roku 1974 Ole Mogensen [34] i Vsevolod Byakov [35] zaproponowali model tworzenia pozytu w ośrodkach skondensowanych. Nazywany jest on modelem reakcji gniazdowych, a schematycznie przebieg procesu ilustruje Rys. 7. Model zakłada, że wysokoenergetyczny pozyton po wniknięciu do ośrodka zderza się z jego molekułami, jednocześnie tracąc energię i jonizując te molekuły.



**Rys. 7.** Schemat przedstawiający model reakcji gniazdowych.

W ostatnim punkcie toru pozytonu znajdują się: elektron, pozyton, zjonizowana molekuła oraz produkty o charakterze rodnikowym (tzw. zmiatacze, które są aktywnymi akceptorami cząstek mających ładunek lub wolnych rodników, czyli cząstek zawierających niesparowane elektrony). Obszar, w którym znajdują się produkty reakcji jonizacji, a ich odległość jest na tyle mała, że jest duże prawdopodobieństwo wzajemnej rekombinacji, nazywany jest gniazdem (ang. „spur”). W takim gnieździe możliwe są następujące scenariusze: powstanie pozytu, anihilacja pozytonu z elektronem lub rekombinacja elektronu ze zjonizowaną molekułą. Kluczowymi parametrami dla utworzenia pozytu są odległość pomiędzy elektronem i pozytonem w gnieździe oraz promień kuli Onsagera  $r_c$ , który można zdefiniować jako odległość dwóch elementarnych ładunków, dla których energia oddziaływań kulombowskich jest równa średniej energii ruchów termicznych  $kT$ :

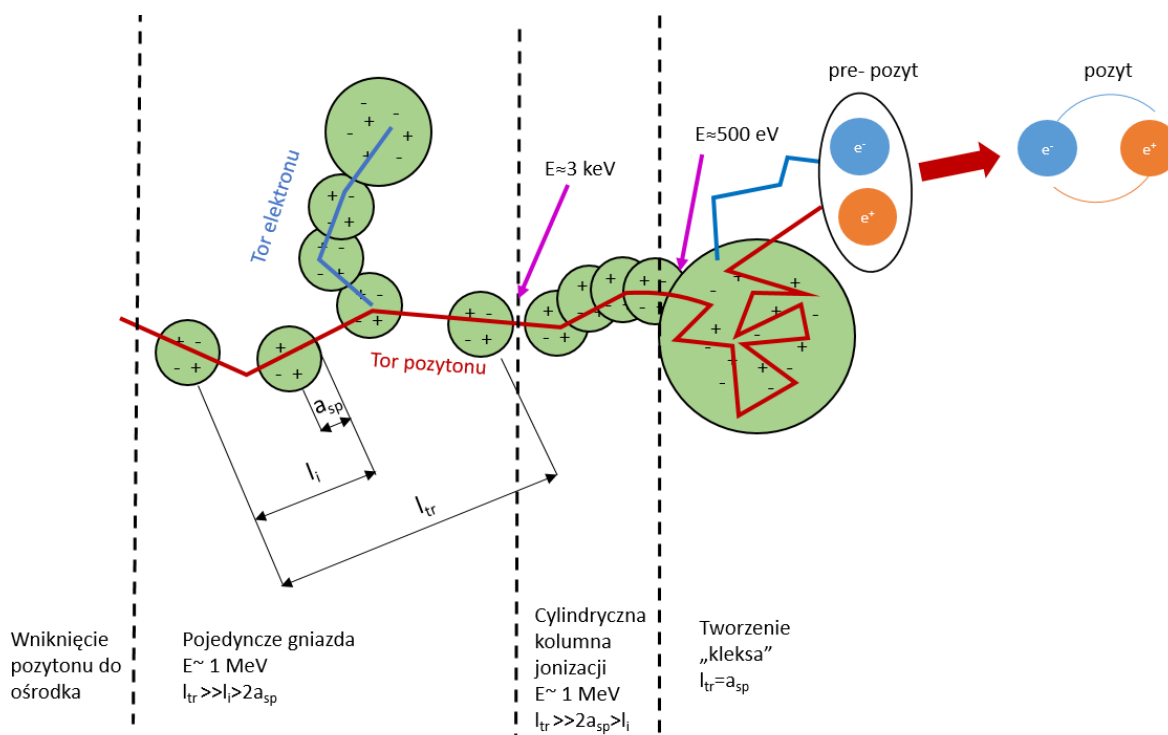
$$r_c = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon \cdot kT}, \quad (21)$$

gdzie  $\epsilon_0$  oznacza przenikalność dielektryczną próżni, a  $\epsilon$  oznacza przenikalność dielektryczną ośrodka, z kolei  $k$  to stała Boltzmanna. Jeżeli odległość elektronu i pozytonu będzie niższa od wartości  $r_c$ , może powstać atom pozytu. Prawdopodobieństwo powstania pozytu w gnieździe można zapisać jako:

$$P = \frac{n}{1+n} \cdot \left[ 1 - \exp\left(-\frac{r_c}{d}\right) \right] \cdot \exp(-\lambda_{e^+}\tau_{PS}), \quad (22)$$

gdzie  $n$  to początkowa liczba par elektron-pozyton w gnieździe jonizacyjnym,  $d$  oznacza odległość pomiędzy elektronem i pozytonem,  $\lambda_{e^+}$  to szybkość anihilacji swobodnych pozytonów, a  $\tau_{PS}$  to czas potrzebny do utworzenia pozytu (około kilku pikosekund).

Ten model jednak jest bardzo uproszczony i nie uwzględnia powstawania wielu produktów jonizacji na ostatnim etapie drogi pozytonu w ośrodku, co zachodzi w warunkach rzeczywistych. Rozszerzenie modelu opisującego anihilację w ośrodkach skondensowanych zostało zaproponowane przez Vsevoloda Byakova i Serge Stepanova [36],[37] (Rys. 8).



**Rys. 8.** Schemat przedstawiający rozszerzenie modelu reakcji gniazdowych.

Po wniknięciu do ośrodka wysokoenergetyczny pozyton (o początkowej energii ok. 1 MeV) wytraca około połowy swojej energii kinetycznej. W wyniku zderzeń z cząsteczkami tego ośrodka, dochodzi też do wybijania elektronów, których ślady jonizacyjne stanowią „odgałęzienia” od toru pozytonu. Średnia strata energii pozytonu w wyniku zderzenia wynosi ok. 30-50 eV, a maksymalnie może wynosić nawet 100 eV. Na początku procesu wytwarzają się gniazda o promieniu  $a_{sp}$  zawierające w sobie kilka produktów jonizacji. Pomiedzy gniazdami odległość  $l_i$  jest większa od rozmiaru samego gniazda. Jednocześnie odległość między gniazdami jest mniejsza od średniej drogi transportu pozytonu  $l_{tr}$  i wówczas tor pozytonu jest quasi-prostą linią. W początkowej fazie gniazda są w pewnej odległości od siebie. Gdy wskutek zderzeń energia pozytonu spadnie do wartości ok. 3 keV powstaje tzw. cylindryczna kolumna jonizacji, w której powstałe gniazda nakładają się na siebie, ale średnia droga transportu pozytonu nadal pozostaje większa od rozmiaru pojedynczego gniazda. Kiedy energia pozytonu zmaleje do ok. 500 eV zaczyna się formować tzw. „kleks”, wewnątrz którego pozyton porusza się ruchem dyfuzyjnym. Powoduje to powstanie kilkudziesięciu par elektron-jon w jednym miejscu (energia potrzebna do powstania takiej pary wynosi 16-22 eV). Rozmiar takiego kleksa wynosi kilka nanometrów. Wewnątrz występują silne oddziaływania kulombowskie pomiędzy elementami tworzącymi kleks, zatem dyfuzja elektronów do ośrodka jest bardzo rzadka. Jednocześnie stała dyfuzji pozostałych produktów jest w przybliżeniu równa podwojonej wartości stałej dyfuzji jonów. Wynika z tego, że wielkość kleksa nie ulega zmianie podczas tworzenia pozytu. Kleks jest elektrycznie obojętny i nie ma oddziaływania kulombowskiego pomiędzy kleksem, a pozytonem, więc możliwe jest opuszczenie kleksa przez pozyton. Pozyt może powstać tylko, gdy pozyton powróci do kleksa i przechwyci jeden z elektronów znajdujących się w nim. W przeciwnym razie zanihiluje swobodnie. Kleks istnieje

bardzo krótko, ponieważ szybko dochodzi do dyfuzji i rekombinacji poszczególnych jego elementów, ale w jego obrębie może pozostać para elektron-pozyton, którą będzie cechować oddziaływanie kulombowskie.

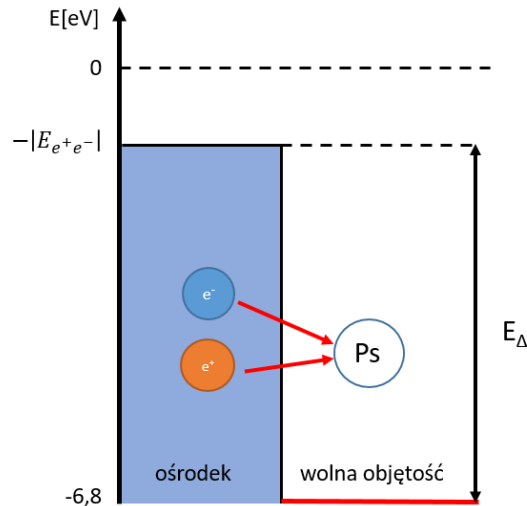
Kryterium decydującym o powstaniu pozytu jest odległość, która musi być porównywalna z odległościami pomiędzy poszczególnymi elementami kleksa i wynosi w przybliżeniu 2 nm. Taka lub mniejsza odległość musi być pomiędzy elektronem i pozytonem, aby mógł powstać kwazistabilny stan o nazwie *pre-pozyt*. Energia wiązania *pre-pozytu* wynosi 0,1 eV, zatem elektron i pozyton muszą być stermalizowane, aby ta struktura była stabilna. Energia kinetyczna obu cząstek musi być niższa od energii wiązania, w przeciwnym razie nie powstanie pozyt. W stanie podstawowym pozyt ma niższą energię od *pre-pozytu*, a energia *pre-pozytu* wzrasta wraz ze zmniejszaniem się dystansu pomiędzy parą cząstek. Jeżeli jedna z cząstek wytworzy kwant energii drgań sieci krystalicznej (fonon), wówczas energia *pre-pozytu* spada. Następstwem tego procesu jest, zgodnie z zasadą zachowania pędu, wzrost pędu środka masy tej struktury. Po przebyciu odległości 5-10 nm dochodzi do pseudotermalizacji. Energia kinetyczna pozytu ( $E_{kin}^{Ps}$ ) jest równa różnicy energii stanów podstawowych w próżni i w ośrodku:

$$E_{kin}^{Ps} = 6,8 \text{ eV} - |E_{e^+e^-}|. \quad (23)$$

Aby *pre-pozyt* stał się stabilny musi obniżyć swoją energię. W ciałach stałych dzieje się to poprzez ulokowanie się w wolnej objętości.

### 3.2.3. Pozyt w wolnych objętościach

W przypadku, gdy para elektron-pozyton znajduje się na granicy ośrodek-próżnia korzystne jest dla niej przejście do próżni i utworzenie pozytu. Taką granicę ośrodek-próżnia nazywa się schodkiem potencjału (Rys. 9), a jego energia potencjalna wynosi  $E_{\Delta}$ . Wolną objętość w ośrodku, otoczoną ze wszystkich stron ośrodkiem, można potraktować jako próżnię (a dokładniej obszar o obniżonej gęstości elektronowej), a zatem będzie to studnia potencjału.

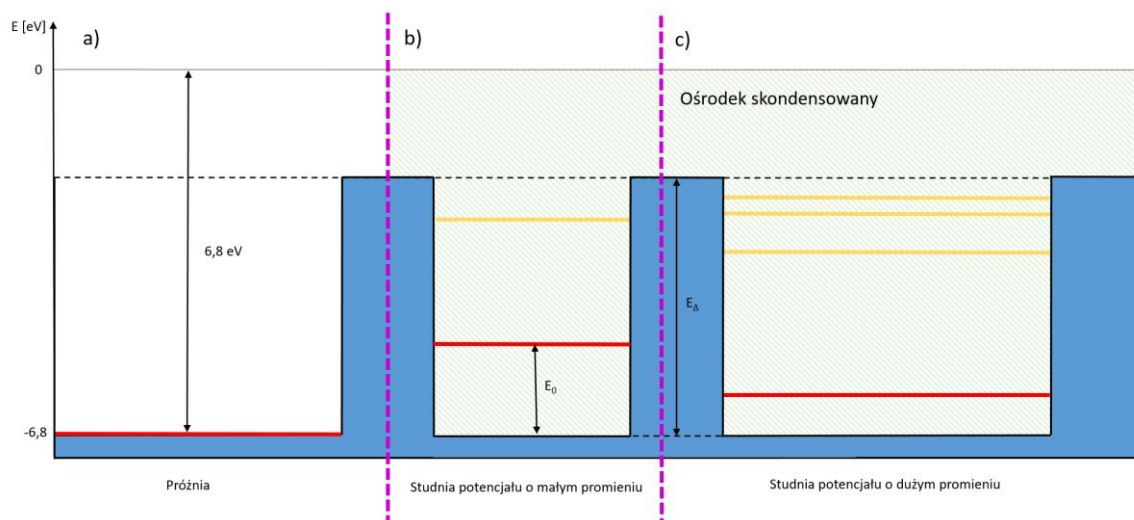


**Rys. 9.** Schemat przedstawiający granicę ośrodek-próżnia (schodek potencjału).

Gdy studnia potencjału ma mały promień  $R$  występuje tylko jeden poziom energetyczny o energii  $E_0$ . Minimalny promień  $R_{min}$  jaki musi mieć kulista studnia, aby pozyt mógł zostać wewnątrz niej spułapkowany wynosi:

$$R_{min} = \frac{\pi\hbar}{4\sqrt{m_0V_0}}, \quad (24)$$

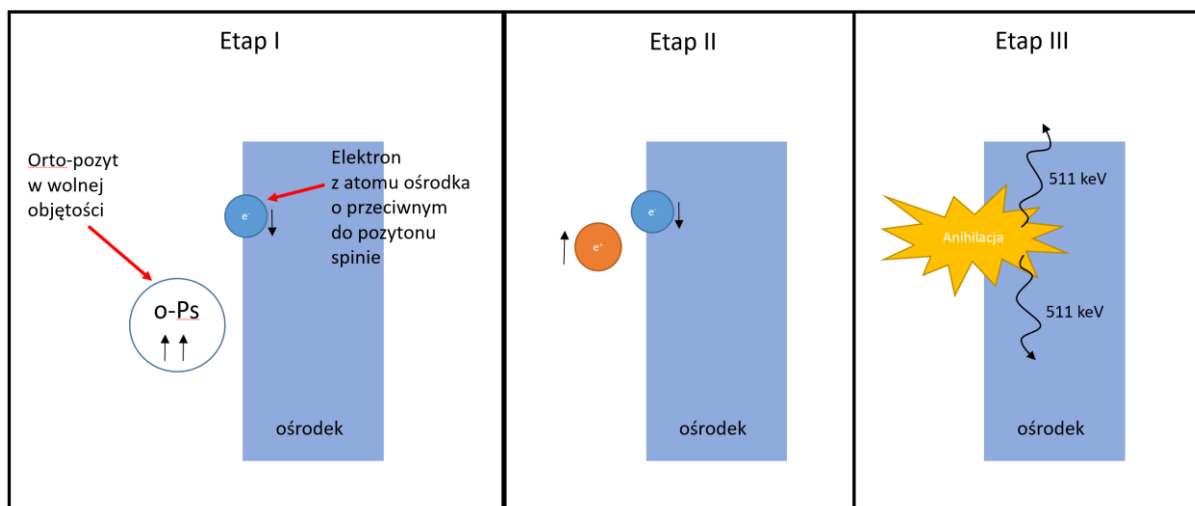
gdzie  $V_0$  to głębokość studni. Jeżeli ten warunek nie jest spełniony, wówczas w studni nie istnieje żaden poziom energetyczny dostępny dla pozytu. W ośrodkach skondensowanych, gdzie wysokość bariery potencjału wynosi około kilku eV, wartość minimalnego promienia studni potencjału wynosi  $0,1 \div 0,2$  nm. Gdy promień studni ulega zwiększeniu, zaczynają istnieć kolejne stany energetyczne, które pozyt może obsadzić. Na Rys. 10 przedstawiono schematycznie porównanie poziomów energetycznych dla próżni oraz ośrodków skondensowanych o małych i dużych promieniach studni potencjału.



**Rys. 10.** Schematyczne przedstawienie poziomów energetycznych dostępnych dla pozytu w: próżni (a) oraz w ośrodkach skondensowanych dla studni potencjału o małym (b) i dużym (c) promieniu. Na czerwono oznaczono poziomy podstawowe, a na pomarańczowo poziomy wzbudzone.

### 3.2.4. Proces pick-off

Anihilacja „pick-off” to proces zachodzący w ośrodkach, podczas którego pozyton z atomu Ps nie anihiluje z elektronem, z którym jest związany, a z elektronem z ośrodka o przeciwnym spinie. Dotyczy to stanu tripletowego, czyli *orto*-pozytu, którego czas życia ulega skróceniu, a podczas anihilacji dochodzi do emisji dwóch kwantów  $\gamma$  (Rys. 11). Proces ten zachodzi często w ośrodkach molekularnych [38]. Anihilacja tego typu może zajść tylko gdy pozyton znajdzie się poza studnią potencjału, ponieważ wewnątrz takiej studni stanowi obszar o zerowej gęstości elektronowej. *Pick-off* jest najistotniejszym procesem z punktu widzenia badań rozmiarów wolnych objętości w ośrodkach.



**Rys. 11.** Schemat przedstawiający przebieg procesu „pick-off”.

Stałą zaniku poprzez proces *pick-off* ( $\lambda_{po}$ ) można zapisać w następujący sposób:

$$\lambda_{po} = P \cdot \lambda_b, \quad (25)$$

gdzie  $P$  oznacza prawdopodobieństwo znalezienia pozytu poza wolną objętością (studnią potencjału), a  $\lambda_b$  to stała zaniku *pick-off* w ośrodku litym (bulk). Można ją zapisać w następujący sposób:

$$\lambda_b = \sigma_{2\gamma} \cdot v \cdot n \cdot Z_{ef} = \pi \cdot r_0^2 \cdot c \cdot n \cdot Z_{ef}, \quad (26)$$

gdzie  $v$  oznacza prędkość względną elektronu i pozytonu,  $n$  to liczba molekuł w danej jednostce objętości, zaś  $Z_{ef}$  to parametr wyznaczany empirycznie, opisujący liczbę elektronów w molekule, które są czynne podczas anihilacji [39]. Parametr  $Z_{ef}$  jest trudny do określenia, a zatem dotyczy to również wartości  $\lambda_b$ . Dlatego też przyjęto przedstawianie stałej  $\lambda_b$  jako stałej całkowitego zaniku pozytu, uśrednionej po orientacjach spinów:

$$\lambda_b = \frac{1}{4} \lambda_{p-PS} + \frac{3}{4} \lambda_{o-PS} \cong 2 \frac{1}{ns}, \quad (27)$$

gdzie kolejno stałe zaniku *para*-pozytu i *orto*-pozytu w próżni wynoszą:  $\lambda_{p-PS} = 8 \frac{1}{ns}$ ,  $\lambda_{o-PS} = 0,007 \frac{1}{ns}$ . Przy takim przedstawieniu wartość  $\lambda_b$  nie zależy od gęstości elektronowej ośrodka.

Prawdopodobieństwo znalezienia atomu pozytu na zewnątrz skończonej, prostokątnej studni potencjału o głębokości  $V_0$  i promieniu  $R$  wynosi:

$$P = 4\pi \int_R^\infty |\Psi_{zewn}(r)|^2 r^2 dr, \quad (28)$$

gdzie  $\Psi_{zewn}(r)$  to funkcja falowa pozytu na zewnątrz studni.

Stany wewnątrz studni potencjału o kulistym kształcie i prostokątnym potencjale opisuje się radialnymi funkcjami falowymi, które są funkcjami Bessela 1-go rodzaju:

$$j_l(r) = (-r)^l \left( \frac{d}{r dr} \right)^l \frac{\sin r}{r}. \quad (29)$$

Stany na zewnątrz studni potencjału opisuje się z wykorzystaniem funkcji Hankela, które są zespolonymi funkcjami specjalnymi, określonymi za pomocą funkcji Bessela 1-go i 2-go rodzaju.

Funkcja falowa dla poziomu podstawowego wewnątrz studni potencjału jest opisywana w następującej postaci:

$$\Psi_{wewn}(r) = A \frac{\sin(kr)}{r}, \quad (30)$$

gdzie  $k = \sqrt{\frac{4m_e E}{\hbar^2}}$  ( $m_e$  to masa spoczynkowa elektronu, zaś  $E$  to energia stanu pozytu w studni).

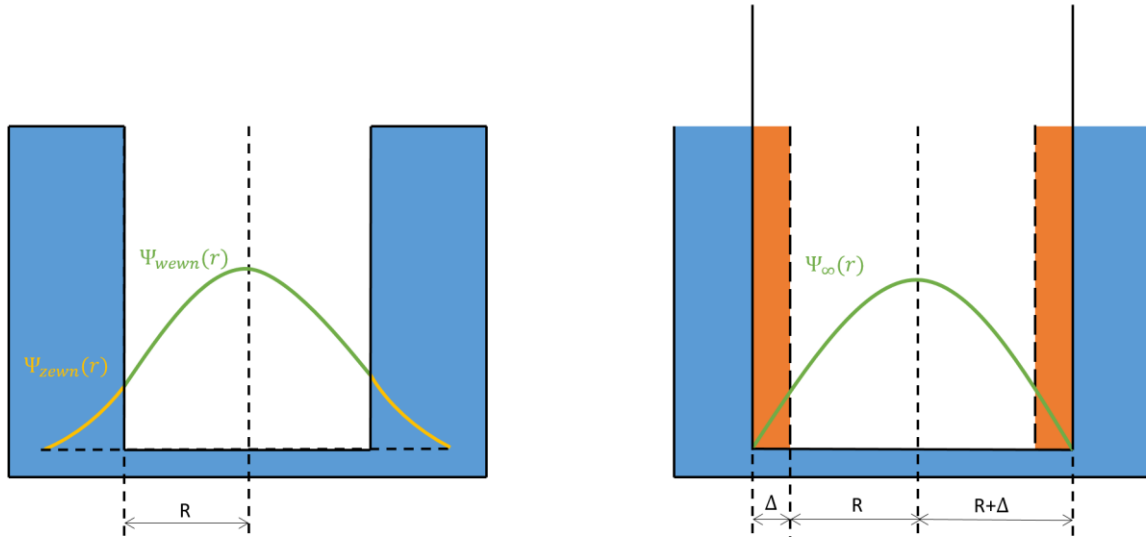
Funkcja na zewnątrz studni opisana jest następująco:

$$\Psi_{zewn}(r) = B \frac{\exp(-\kappa r)}{r}, \quad (31)$$

gdzie  $\kappa = \sqrt{\frac{4m_e(V_0 - E)}{\hbar^2}}$  i jest odwrotnością średniej głębokości wnikania funkcji falowej pozytu do ośrodka, a  $V_0$  oznacza głębokość studni potencjału.

### 3.2.5. Model Tao-Eldrupa

Model Tao-Eldrupa jest modelem teoretycznym upraszczającym wyznaczanie funkcji falowej pozytu, w którym został rozwiązany problem zszywania funkcji falowej na krawędzi studni. Model ten w roku 1971 zaproponował Si-Jing Tao [40],[41]. Skończona studnia potencjału została zastąpiona nieskończoną, ale poszerzoną, dzięki czemu funkcja na zewnątrz studni zeruje się (Rys. 12).



**Rys. 12.** Schematyczne przedstawienie zamiany skończonej studni potencjału o promieniu  $R$  na studnię nieskończoną o promieniu  $R+\Delta$ .

Wartość parametru  $\Delta$  musi być dobrana w taki sposób, aby prawdopodobieństwa znalezienia pozytu na zewnątrz rzeczywistej studni skończonej oraz w części poszerzonej nieskończonej studni potencjału były sobie równe:

$$\int_R^\infty |\Psi_{zewn}(r)|^2 r^2 dr = \int_R^{R+\Delta} |\Psi_\infty(r)|^2 r^2 dr, \quad (32)$$

gdzie  $\Psi_\infty$  oznacza funkcję falową wewnątrz nieskończonej studni.

Promień obszaru o zerowej gęstości elektronowej pozostaje taki sam jak w przypadku studni skończonej, jednak nieskończona studnia ma promień  $R+\Delta$ , uwzględniający przyjęte w modelu uproszczenia.

Wyliczone przez Mortena Eldrupa w roku 1981 [42] prawdopodobieństwo  $P$  znalezienia cząstki na zewnątrz nieskończonej studni i dla stanu podstawowego przedstawia się następująco:

$$P = \frac{\int_R^{R+\Delta} |\psi(r)|^2 r^2 dr}{\int_0^{R+\Delta} |\psi(r)|^2 r^2 dr} = \frac{\int_0^\pi j_0^2(r) r^2 dr}{\int_0^\pi j_0^2(r) r^2 dr} = 1 - \frac{R}{R+\Delta} + \frac{1}{2\pi} \sin\left(\frac{2\pi R}{R+\Delta}\right). \quad (33)$$

Po obliczeniach na podstawie równań (27) i (33) stałą zaniku  $o$ -Ps można opisać poniższą zależnością:

$$\lambda_{po} = \frac{1}{\tau_3} = 2 \cdot \left[ 1 - \frac{R}{R+\Delta} + \frac{1}{2\pi} \sin\left(\frac{2\pi R}{R+\Delta}\right) \right]. \quad (34)$$

Wartość  $\Delta$  zaproponowana przez Eldrupa dla plastycznych kryształów molekularnych wynosiła 0,17 nm. W niniejszej pracy wykorzystywana jest wartość stałej empirycznej  $\Delta=0,166$  nm [43]. Po odpowiednich przekształceniach otrzymuje się zależność, z której wyznaczano rozmiary wolnych objętości w niniejszej pracy:

$$\tau_3 = \frac{1}{\lambda_b} \left[ 1 - \frac{R}{R+\Delta} + \frac{\sin\left(\frac{2\pi R}{R+\Delta}\right)}{2\pi} \right]^{-1}, \quad (35)$$

gdzie przyjęto wartość  $\lambda_b=2$  ns<sup>-1</sup>.

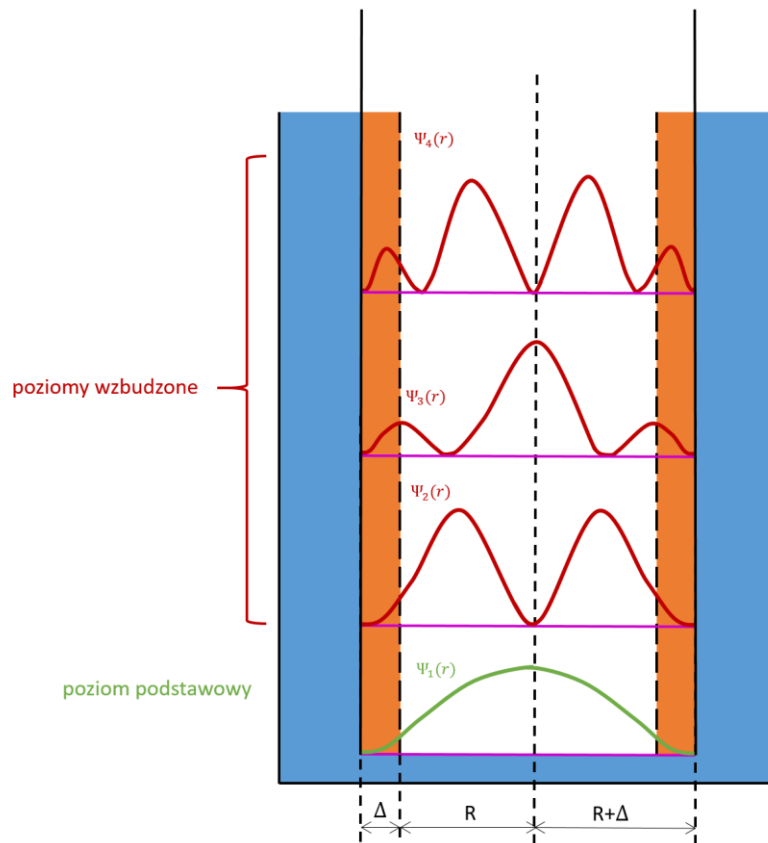
Model Tao-Eldrupa pozwala na obliczenie rozmiarów wolnych objętości na podstawie mierzonego czasu życia  $o$ -Ps.

Jednakże, zastosowanie tego modelu jest ograniczone tylko do małych rozmiarów wolnych objętości (wielkości do kilku Å) lub niskich temperatur, ponieważ zakłada obsadzenie tylko stanu podstawowego w studni potencjału. Ponadto w modelu przyjmuje się kulisty kształt wolnych objętości w ośrodku.

Dla wolnych objętości o większych rozmiarach, w których występują kolejne poziomy energii, oraz przy uwzględnieniu różnych kształtów wolnych objętości zaproponowano poprawki i rozszerzenia. Obsadzenie stanów wzbudzonych przez pozyt w studni potencjału zostało uwzględnione w poszerzonym modelu Tao-Eldrupa rozwiniętym przez Tomasza Goworka w roku 1997 [43],0. Energie poszczególnych poziomów można przedstawić następująco:

$$E_{nl} = \frac{\hbar^2}{4m_e} \left( \frac{X_{nl}}{R+\Delta} \right)^2 = 0.0019 \text{ eV} \cdot \text{nm}^2 \left( \frac{X_{nl}}{R+\Delta} \right)^2, \quad (36)$$

gdzie  $X_{nl}$  jest n-tym miejscem zerowym funkcji  $j_l(r)$ . Kształt funkcji falowej pozytu jest zależny od poziomu energetycznego zajmowanego w studni potencjału (Rys. 13). Jak można zauważyć im wyższy poziom wzbudzony tym większy fragment funkcji falowej pokrywa się z obszarem o szerokości  $\Delta$ , co powoduje wzrost prawdopodobieństwa anihilacji *pick-off*.



**Rys. 13.** Schematyczne przedstawienie funkcji falowej pozytu w nieskończonej studni potencjału dla stanu podstawowego oraz trzech kolejnych stanów wzbudzonych.

Wolne objętości mogą mieć różne kształty w zależności od budowy krystalicznej lub molekularnej ośrodka. Badania wykazały, że mogą przyjmować kształt nie tylko podobny do kuli, ale też elipsoidy, walca, sześcianu lub prostopadłościanu [45]-[47].



### 3.2.6. Model pęcherzykowy

Zaproponowany w roku 1957 przez Richarda A. Ferrella [48] model pęcherzykowy dotyczy zjawiska anihilacji w cieczech. Ferrell zaproponował model dla wyjaśnienia wydłużenia czasu życia pozytu obserwowanego w ciekłym helu. Gdy atom pozytu znajdzie się w obszarze, gdzie gęstość atomów jest niższa od średniej, odpycha pozostałe atomy i tworzy pęcherzyk w cieczy. Na zewnątrz zostaje wyprowadzone ciśnienie kinetyczne punktu zerowego pozytu, które ulega zrównoważeniu przez napięcie powierzchniowe pęcherzyka. Taki pęcherzyk stanowi sferyczną studnię potencjału.

Istnieje zależność pomiędzy czasem życia  $o$ -Ps, a wartością napięcia powierzchniowego pęcherzyka, w którym się znajduje. Krzywizna pęcherzyka zależy od napięcia powierzchniowego, które wzrasta wraz z wklęsłością, a maleje wraz z wypukłością. Za sprawą napięcia powierzchniowego wpływ na rozmiar pęcherzyka mają również temperatura i ciśnienie. Ponadto, istnieje korelacja pomiędzy ciśnieniem zewnętrznym, a rozmiarem pęcherzyka, jednak jego wpływ jest trzy rzędy wielkości mniejszy niż wpływ napięcia powierzchniowego i może zostać pominięty w analizach. Napięcie powierzchniowe zależy również od wzajemnego ułożenia molekuł dookoła pęcherzyka. Ten sam parametr na wpływ na promień powstającego pęcherzyka – im mniejsza wartość napięcia powierzchniowego, tym mniejszy jest pęcherzyk. Promień pęcherzyka odpowiada energii minimum energii [49]-[54]:

$$\frac{dE_{Ps}(R_p)}{dR_p} + \frac{d(4\pi\sigma R_p^2)}{dR_p} = 0, \quad (37)$$

gdzie  $E_{Ps}$  to energia pozytu mierzona od dna studni potencjału,  $\sigma$  oznacza napięcie powierzchniowe, zaś  $R_p$  to promień pęcherzyka.

Rozwinięcie modelu pęcherzykowego zakłada, że anihilacja *pick-off* przebiega poprzez penetrację na zewnątrz studni potencjału zależną od promienia i głębokości tejże studni. Ponadto, elektrony pochodzące z cząsteczek otaczających pęcherzyk częściowo przebywają wewnątrz studni potencjału, co prowadzi do anihilacji *pick-off* w warstwie o grubości  $\delta_p$  blisko granic pęcherzyka, ale wewnątrz niego [55]. Pozyt tworzy pęcherzyk pomiędzy molekułami cieczy ułożonymi w czworoscian dookoła pęcherzyka i wypycha te cząsteczki na zewnątrz do momentu, gdy poprzez minimalizację energii zostanie osiągnięty promień pęcherzyka zapewniający równowagę. Molekuły zmieniają swoje położenia tak, aby znaleźć się na pierwszej warstwie graniczącej z pęcherzykiem [56]. Podczas tworzenia pęcherzyka zachodzi tzw. lokalny efekt ogrzewania polegający na uwalnianiu energii cieplnej podczas rekombinacji jon-elektron. Ten efekt może wpływać na zmianę lepkości ośrodka, z czym się wiąże zmiana rozmiarów pęcherzyka [57],[58].

### 3.3. ANIHILACJA POZYTU I KONWERSJA ORTO-PARA

Anihilacja pozytonu i elektronu musi zachodzić zgodnie z zasadą zachowania parzystości  $P$ . Parzystość wyemitowanych podczas zjawiska anihilacji kwantów  $\gamma$  ( $P_\gamma^n$ ) można zapisać w następujący sposób:

$$P_\gamma^n = (-1)^n, \quad (38)$$

gdzie  $n$  oznacza parzystość kwantów.

Parzystość kwantów musi być równa wartości parzystości przestrzennej  $P_l$ :

$$P_l = (-1)^l, \quad (39)$$

gdzie  $l$  to orbitalny moment pędu.

Parzystość spinową układu  $P_s$  można zapisać następująco:

$$P_S = (-1)^{S+1}, \quad (40)$$

gdzie  $S$  oznacza całkowity spin układu.

Parzystość wewnętrzna układu cząstka-antycząstka wynosi:

$$P_i = (-1). \quad (41)$$

Wszystkie te typy parzystości określają parzystość wyemitowanych podczas anihilacji kwantów:

$$P_\gamma^n = P_l \cdot P_S \cdot P_i, \quad (42)$$

czyli:

$$(-1)^n = (-1)^l \cdot (-1)^{S+1} \cdot (-1). \quad (43)$$

Gdy anihilują elektron i pozyton o spinach antyrównoległych, gdzie  $l=0$  i  $S=0$  (stan singletowy):

$$P_S = (-1)^{0+1} = -1, \quad (44)$$

dochodzi do emisji parzystej liczby kwantów  $\gamma$ :

$$P_\gamma^n = 1. \quad (45)$$

W przypadku anihilacji pary elektron-pozyton o spinach równoległych, gdzie  $S=1$  (stan tripletowy) parzystość spinowa układu wynosi:

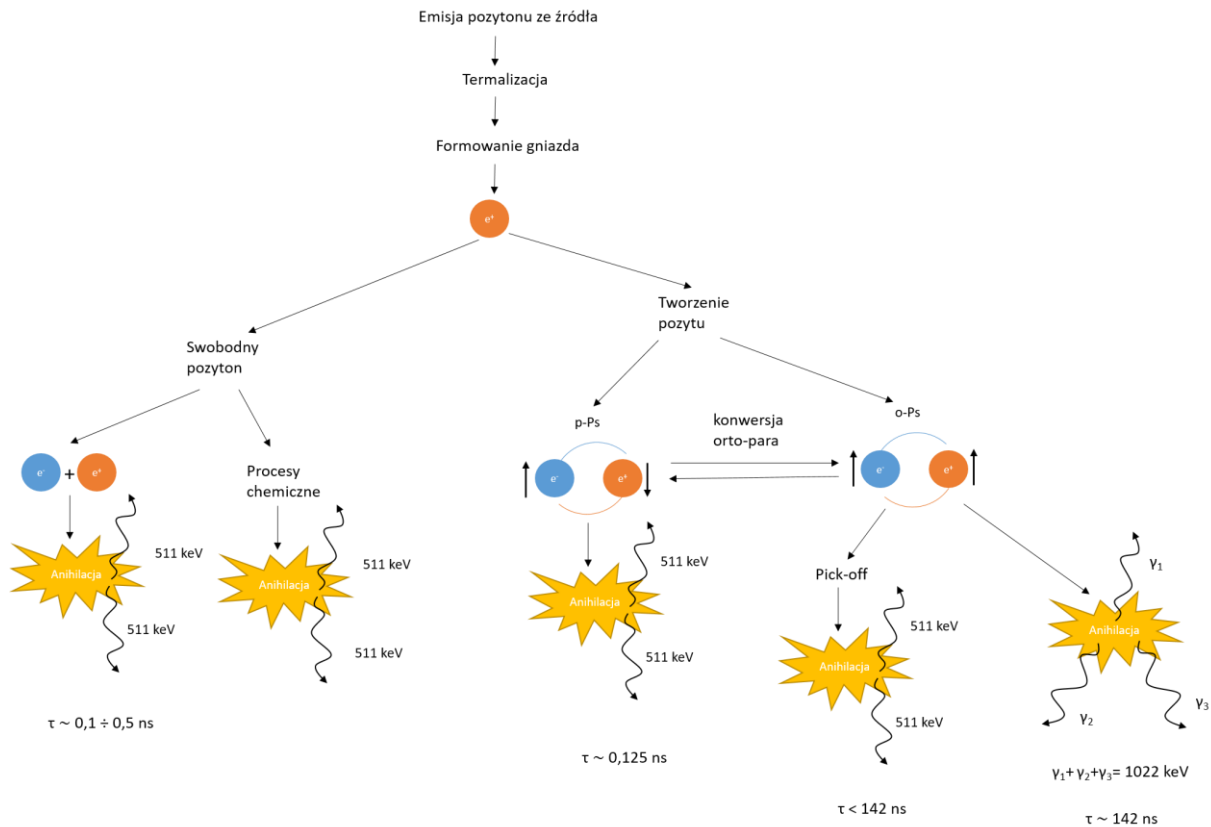
$$P_S = (-1)^{1+1} = 1, \quad (46)$$

zatem emitowana jest nieparzysta liczba kwantów:

$$P_\gamma^n = -1. \quad (47)$$

Średni czas życia w próżni wyznaczony dla *para*-pozytu wynosi 125 ps [59],[60], zaś dla *orto*-pozytu 142 ns [61],[62].

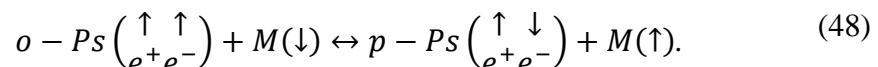
Pozyton w ośrodku może anihilować na kilka różnych sposobów. Ze względu na oddziaływania występujące pomiędzy pozytonem lub pozytem, a molekułami ośrodka dochodzi do zmiany wartości średnich czasów życia. Na Rys. 14 przedstawiono możliwe ścieżki anihilacji elektronu i pozytonu w ośrodku wraz z przykładowymi wartościami czasów życia.



**Rys. 14.** Schemat przedstawiający możliwe sposoby anihilacji elektronu i pozytonu w ośrodku ze wskazaniem przykładowych czasów życia [63].

Wyemitowany ze źródła pozyton może anihilować swobodnie bezpośrednio z elektronem lub poprzez procesy chemiczne. Możliwe jest również utworzenie atomu pozytonu. W takim przypadku może powstać *para*-pozyt (*p*-Ps) lub *orto*-pozytu (*o*-Ps). *Para*-pozyt zawsze anihiluje dwukwantowo, a *orto*-pozytu może anihilować trójkwantowo lub w procesie „*pick-off*” dwukwantowo.

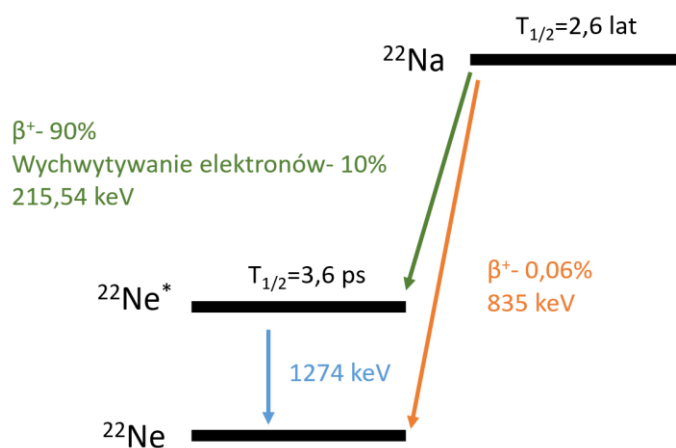
W sytuacji, gdy w ośrodku znajdują się molekuly paramagnetyczne (np. cząsteczka tlenu O<sub>2</sub>, tlenek azotu) może dojść do zamiany spinów pomiędzy elektronem w atomie pozytonu, a elektronem z molekuly paramagnetycznej o spinie przeciwnym. Proces ten nazywany jest zjawiskiem konwersji. Zmianie ulega nie tylko spin elektronu, ale również spin molekuly:



Możliwe są zjawiska konwersji *orto-para* i *para-orto*, jednak czas życia *o*-Ps jest o 3 rzędy wielkości dłuższy niż w przypadku *p*-Ps, a zatem znacznie częściej zachodzi konwersja *orto-para*, która prowadzi do skrócenia czasu życia *o*-Ps oraz zmniejszenia jego natężenia.

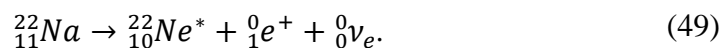
### 3.4. IZOTOPY PROMIENIOTWÓRCZE EMITUJĄCE POZYTONY

W badaniach nanostruktury wykorzystuje się radioizotopy, które charakteryzują się długim czasem połowicznego zaniku. Należą do nich:  $^{22}\text{Na}$ ,  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{64}\text{Cu}$  oraz  $^{68}\text{Ge}$ . Najczęściej wykorzystywanym źródłem w pomiarach PALS jest izotop  $^{22}\text{Na}$ , którego schemat rozpadu przedstawia Rys. 15.

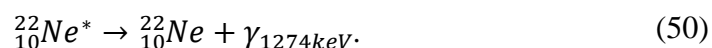


**Rys. 15.** Schemat rozpadu promieniotwórczego izotopu  $^{22}\text{Na}$ .

Izotop  $^{22}\text{Na}$  charakteryzuje się długim czasem połowicznego rozpadu wynoszącym 2,6 roku. Ponadto 90% jąder emituje pozyton wskutek rozpadu promieniotwórczego jednocześnie ulegając przemianie w jądro  $^{22}\text{Ne}^*$ . Wskutek takiego rozpadu powstaje również neutrino elektronowe:



Następnie wzbudzone jądro  $^{22}\text{Ne}^*$  przechodzi do stanu podstawowego:

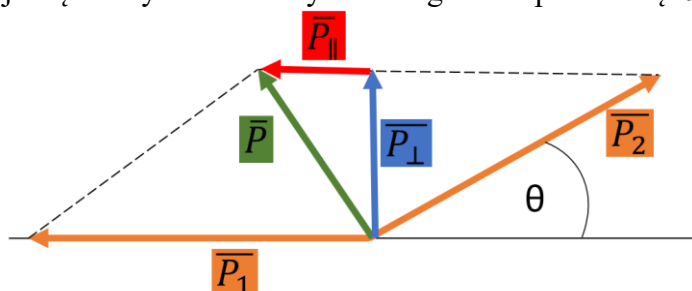


Czas pomiędzy przejściem jądra neonu ze stanu wzbudzonego do podstawowego wynosi 3,6 ps. Jest to bardzo krótki czas, zatem emisja kwantu 1274 keV towarzysząca temu przejściu jest uznawana za sygnał wskazujący na powstanie pozytonu w ośrodku.

## 4. METODY EKSPERYMENTALNE BADANIA ZJAWISKA ANIHILACJI

### 4.1. POMIAR ROZKŁADÓW KĄTOWYCH KWANTÓW ANIHILACYJNYCH

Pierwszą metodą wykorzystującą anihilację w badaniach nanostruktury był pomiar rozkładów kątowych kwantów anihilacyjnych (ACAR, ang. *Angular Correlation of Positron Annihilation Radiation*)[10]. Ta technika opiera się o detekcję kwantów anihilacyjnych o energii  $511 \text{ keV}$ , które w założeniu teoretycznym rozchodzą się w przeciwnych kierunkach. Jednak ze względu na niezerowy pęd anihilującej pary elektron-pozyton w laboratoryjnym układzie odniesienia obserwuje się odchylenie od antyrównoległości o pewien kąt  $\theta$  (Rys. 16).

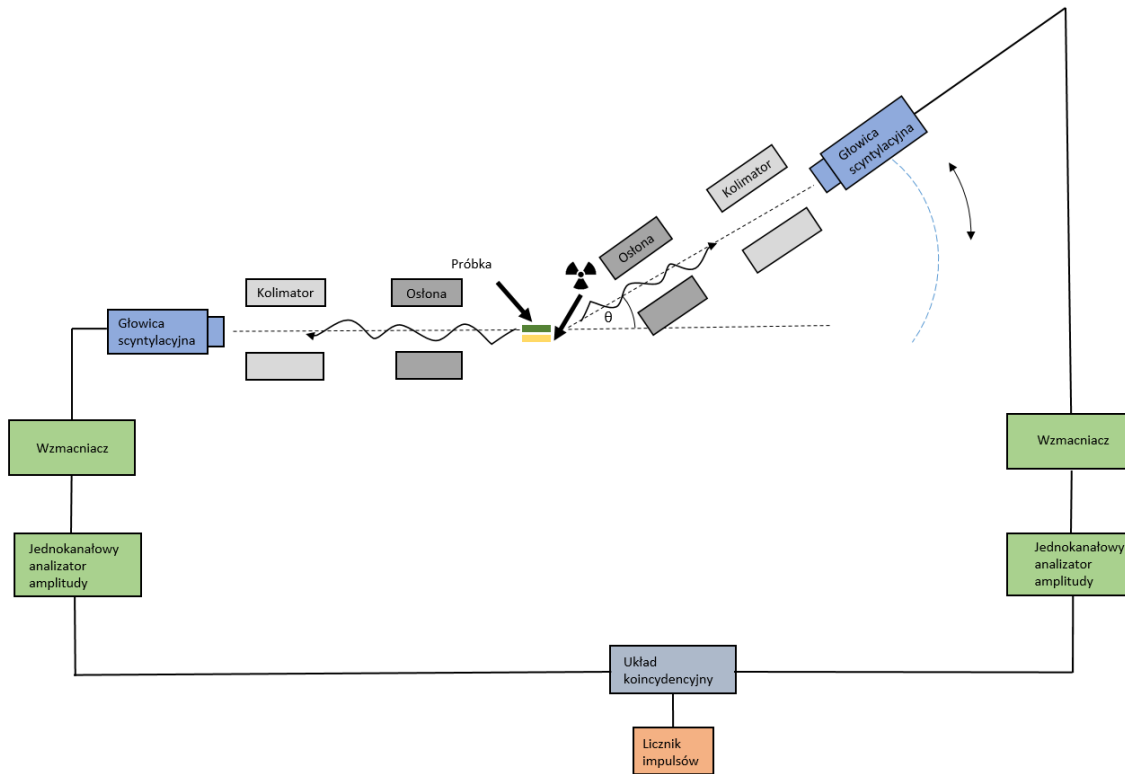


**Rys. 16.** Schemat przedstawiający rozkład pędów kwantów promieniowania  $\gamma$  podczas anihilacji dwufotonowej.  $\overline{P}_1$  i  $\overline{P}_2$  oznaczają pędy kwantów  $\gamma$ ,  $\overline{P}$  oznacza pęd środka masy anihilującej pary  $e^-e^+$ , zaś  $\overline{P}_\perp$  to składowa prostopadła, a  $\overline{P}_\parallel$  to składowa równoległa pędu. Kąt  $\theta \cong \frac{\overline{P}_\perp}{\overline{P}_2}$  to odchylenie od antyrównoległości.

Istnieje zależność pomiędzy wartością kąta  $\theta$ , a pędem anihilującej pary cząstka-antycząstka (wartość praktycznie równa pędowi elektronu):

$$\theta \cong \frac{P_\perp}{m_0 c}. \quad (51)$$

Do pomiarów techniką ACAR wykorzystuje się spektrometr korelacyjny, którego schemat przedstawia Rys. 17. W centralnej części znajduje się źródło promieniotwórcze wraz z badaną próbką. Kwanty anihilacyjne przechodzą przez układ szczelin, zanim trafią do detektora. Aparatura jest zbudowana z dwóch ramion o długości  $3 \div 4 \text{ m}$ , na których znajdują się detektory scyntylacyjne. Jedno z ramion jest nieruchome, drugie zaś może się poruszać wzdłuż osi  $z$ . Impuls elektryczny na wyjściu układu elektronicznego pojawia się po jednoczesnym zarejestrowaniu przez oba detektory kwantów o energii  $511 \text{ keV}$ , które następnie są przesyłane na układ koincydencyjny. Podczas takich pomiarów uzyskuje się zależność szybkości zliczeń impulsów elektrycznych od wartości kąta  $\theta$ , co stanowi odbicie gęstości prawdopodobieństwa pędu anihilującej pary cząstek dla jednej składowej. Otrzymywane podczas pomiarów wartości są rzędu kilku- kilkunastu miliradianów, zaś zdolność rozdzielcza aparatury to  $0,3 \div 0,5 \text{ mrad}$ .



**Rys. 17.** Schemat blokowy aparatury do pomiaru rozkładów kątowych kwantów anihilacyjnych.

#### 4.2. POMIAR POSZERZENIA DOPPLEROWSKIEGO LINII ANIHILACYJNEJ 511 KEV

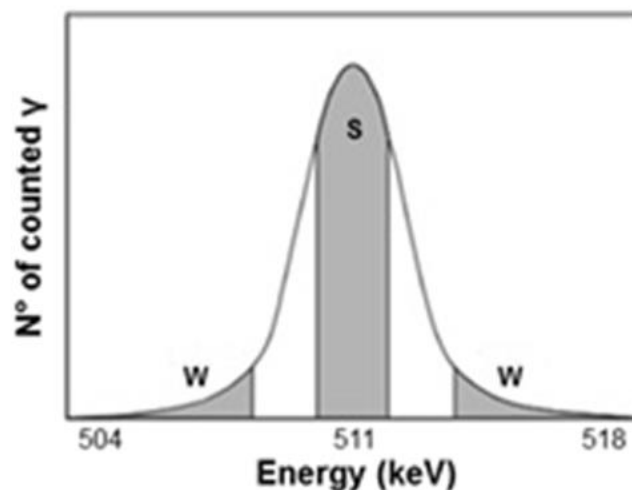
Anihilująca para  $e^-e^+$  porusza się, a zatem linia widmowa anihilacji dwukwantowej 511 keV jest poszerzona z powodu zjawiska Dopplera. Wartość przesunięcia wynikająca z tego zjawiska opisuje się poprzez składową podłużną pędu  $p_y$ . Przesunięcie energetyczne kwantu wynosi:

$$\Delta E = \frac{p_y \cdot c}{2}, \quad (52)$$

natomiast maksymalną wartość przesunięcia można opisać w następujący sposób:

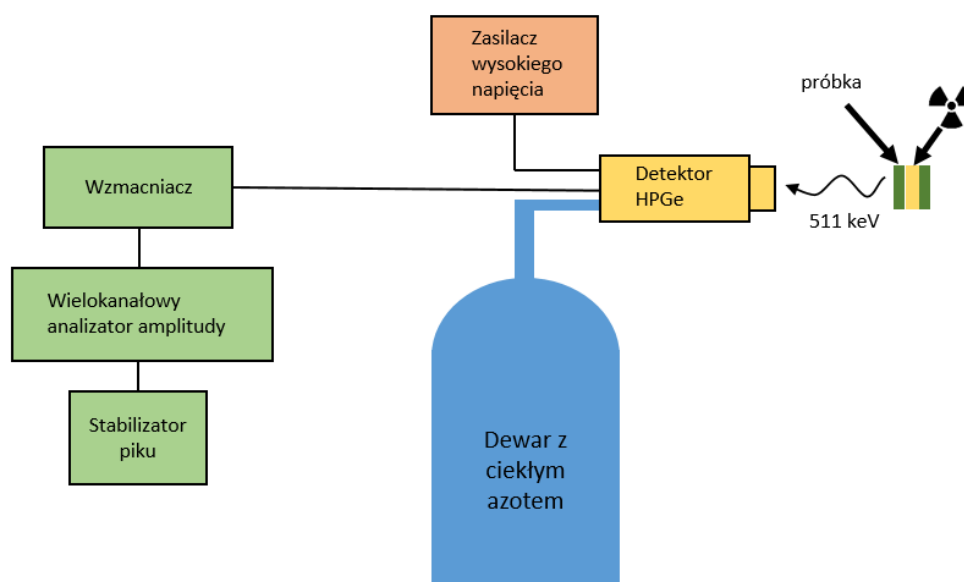
$$\Delta E_{max} = 506 \sqrt{E_{kin}} [eV]. \quad (53)$$

Pomiar poszerzenia dopplerowskiego linii anihilacyjnej (DBAR, ang. *Doppler Broadening of Annihilation Radiation*) jest odpowiednikiem techniki ACAR, jednak istnieje między nimi następująca różnica: w technice rozkładów kątowych analizuje się składową poprzeczną pędu, podczas gdy w technice DBAR analizuje się składową podłużną. W pomiarach tą techniką analizuje się parametry  $S$  i  $W$  (Rys. 18), które opisują powierzchnie fragmentów obszaru pod krzywą anihilacyjną. Parametr  $S$  odpowiada elektronom o małych pędach, zaś  $W$  opisuje elektrony o dużych pędach. Parametry są zazwyczaj dobierane tak, aby  $S$  było bliskie wartości 0,5, a  $W$  mniejsze od 0,1. Ta metoda badawcza umożliwia porównywanie i interpretowanie wyników zebranych w ramach jednej serii pomiarowej.



**Rys. 18.** Schematyczne przedstawienie widma uzyskanego metodą DBAR z zaznaczonymi obszarami definiującymi parametry *W* i *S* [64].

W spektrometrze DBAR (Rys. 19) wykorzystuje się detektory germanowe (np. HPGe), których zdolność rozdzielcza wynosi  $1,1 \div 1,2$  keV. Aparatura charakteryzuje się prostą budową, a pomiar trwa kilka minut. Ponadto, detektor jest umieszczony bardzo blisko źródła promieniotwórczego, zatem nie ma potrzeby używania źródeł o wysokiej aktywności. Detektor rejestruje kwant, który następnie przekształcany jest w impuls napięciowy. Amplituda takiego kwantu jest wprost proporcjonalna do energii elektronu wyemitowanego podczas absorpcji fotonu. Taki sygnał zostaje wzmacniony oraz przechodzi do wielokanałowego analizatora amplitudy. W celu zwiększenia dokładności pomiarowej stosuje się układy dwudetektorowe, które składają się z dwóch detektorów umieszczonych po obydwu stronach próbki. Rejestrowane są tylko sygnały wykryte jednocześnie przez obydwa detektory. W ten sposób uzyskuje się obniżenie wartości tła.



**Rys. 19.** Schemat blokowy aparatury do pomiaru poszerzenia dopplerowskiego linii anihilacyjnej.

### 4.3. POMIAR NATĘŻENIA ANIHILACJI TRÓJKWANTOWEJ

Natężenie anihilacji trójkwantowej w ośrodku jest zależne od rozmiarów wolnych objętości. Najmniejsza liczba takich anihilacji będzie w ośrodkach o małych rozmiarach wolnych objętości, ponieważ *o*-Ps będzie anihilował w procesie *pick-off* z emisją dwóch kwantów  $\gamma$ . Największe natężenie anihilacji trójkwantowej występuje w próżni. Natężenie anihilacji trójkwantowej można wyznaczyć w następujący sposób:

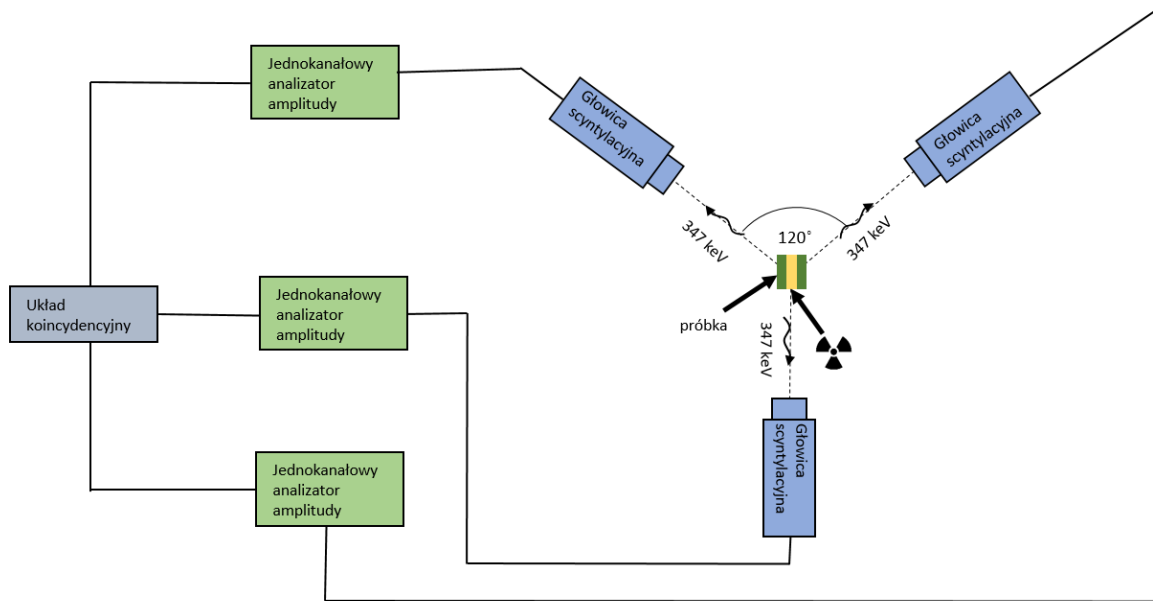
$$I_{3\gamma} = \frac{3}{4} \cdot P_{o-PS} \cdot \frac{\tau_3}{\tau_3^0} + \frac{\sigma_{3\gamma}}{\sigma_{2\gamma}} \cdot (1 - P_{o-PS}), \quad (54)$$

gdzie  $P_{o-PS}$  to prawdopodobieństwo utworzenia pozytu,  $\tau_3$  oznacza czas życia *o*-Ps, zaś  $\tau_3^0$  to czas życia *o*-Ps w próżni wynoszący 142 ns, a  $\frac{\sigma_{3\gamma}}{\sigma_{2\gamma}}$  to stosunek przekroju czynnego anihilacji trójkwantowej do dwukwantowej, który wynosi  $\frac{1}{372}$ .

Pierwszą metodą pomiaru anihilacji trójkwantowej jest umieszczenie próbki wraz ze źródłem pomiędzy trzema detektorami scyntylacyjnymi (Rys. 20), ustawionymi pod kątem  $120^\circ$  względem siebie, które wykrywają trzy kwanty, gdzie każdy ma energię:

$$E = \frac{1}{3} \cdot 2m_e c^2 = 347 \text{ keV}. \quad (55)$$

Po jednoczesnej rejestracji sygnałów przez wszystkie 3 detektory sygnały są przekazywane do jednokanałowych analizatorów amplitudy, a następnie wszystkie są podawane na układ koincydencyjny. W ten sposób uzyskuje się dane pomiarowe które następnie pozwalają na określenie natężenia anihilacji trójkwantowej.



**Rys. 20.** Schemat blokowy aparatury do pomiaru natężenia anihilacji trójkwantowej.

Innym sposobem wyznaczania natężenia anihilacji trójkwantowej jest określanie wartości względnej natężenia. Metoda ta polega na porównaniu widm energetycznych źródła promieniotwórczego uzyskanego dla badanego i wzorcowego materiału. Wzorcem są materiały, w których pozyt nie powstaje np. metale. Podczas analizy porównuje się stosunki natężeń anihilacji trójkwantowej uzyskanych w materiale wzorcowym i badanym pomniejszone o wartość tła.

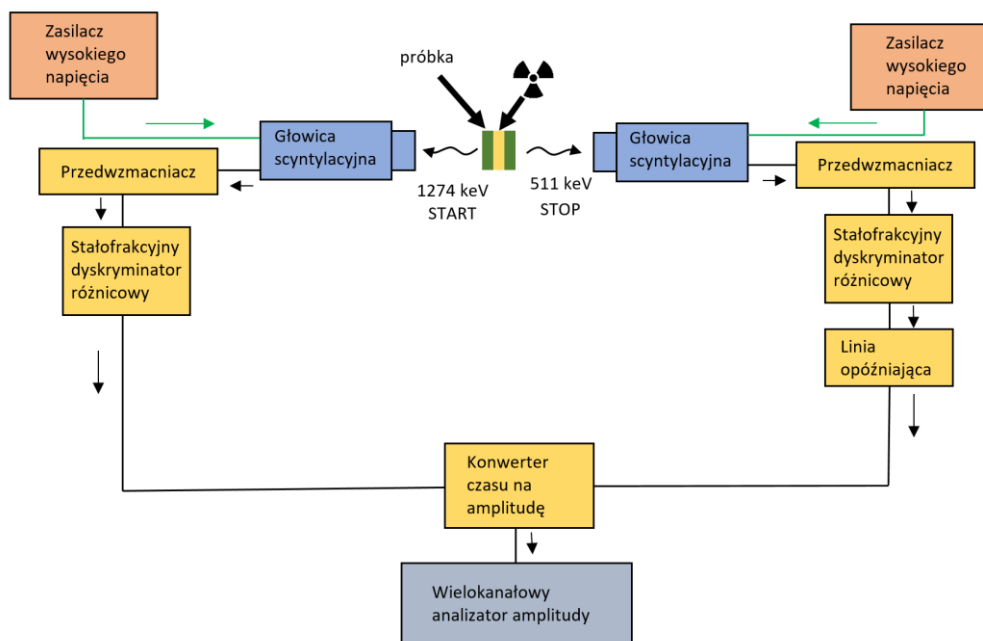


#### 4.4. SPEKTROSKOPIA CZASÓW ŻYCIA POZYTONÓW

Spektroskopia czasów życia pozytonów opiera się na badaniu odstępu czasu dzielącego wyemitowanie pozytonów od momentu ich anihilacji w ośrodku. Sygnałem startowym jest rejestracja kwantu o energii 1274 keV. Za sygnał kończący pomiar danego odstępu czasowego odpowiedzialny jest kwant, który wskazuje na anihilację pozytonu/ pozytu, a jego energia wynosi 511 keV dla anihilacji dwukwantowej. Czas pomiędzy sygnałami emisji pozytonu, a jego anihilacją określany jest jako czas życia pozytonu. Sygnały są rejestrowane poprzez przejście kwantu przez głowicę scyntylicyjną, w której znajduje się scyntylator oraz fotopowielacz.

##### 4.4.1. Spektrometr fast-fast

Najprostszym spektrometrem do pomiaru średniego czasu życia pozytonów jest spektrometr typu „fast-fast” (Rys. 21). Składa się on tylko z gałęzi mierzącej czas życia pozytonu w próbce. Dwie głowice scyntylicyjne rejestrują kwanty o energiach 1274 keV (emisja pozytonu ze źródła, sygnał „START”) oraz 511 keV (anihilacja, sygnał „STOP”). Najczęściej wykorzystuje się scyntylatory plastikowe, BaF<sub>2</sub>, LaBr lub LSO. Sygnały trafiają do stałofrakcyjnych dyskryminatorów różnicowych, które określają czas pojawienia się poszczególnych sygnałów oraz energie wykrytych kwantów i dokonują selekcji sygnałów wybierając tylko te, które odpowiadają powstaniu pozytonu i jego anihilacji. Następnie obydwie impulsy są przekazywane do konwertera czasu na amplitudę, przy czym sygnał „STOP” dodatkowo przechodzi przez linię opóźniającą, która przesuwawidmo PALS w stronę wyższych amplitud bez zmiany kształtu tego widma, co pozwala na zmniejszenie nieliniowości spektrometru, która zostanie opisana w dalszej części tego rozdziału. Konwerter zamienia odstęp czasu pomiędzy rejestracją sygnałów „START” i „STOP” na impuls o amplitudzie proporcjonalnej do tego odstępu. Sygnały z konwertera są przekazywane do wielokanałowego analizatora amplitudy. W ten sposób uzyskuje się zależność liczby zliczeń od średniego czasu życia pozytonów, czyli widmo PALS.



Rys. 21. Schemat blokowy spektrometru koincydencji opóźnionych typu fast-fast. Strzałki oznaczają kierunek przepływu sygnału.

#### 4.4.2. Spektrometr *fast-slow*

Do badań w niniejszej pracy został wykorzystany spektrometr koincydencji opóźnionych typu *fast-slow*, który umożliwia uzyskanie dokładniejszych wyników niż w przypadku spektrometru *fast-fast*. Badane były dwie serie próbek na dwóch różnych spektrometrach. Pierwszą serię próbek zbadano na spektrometrze analogowym typu *fast-slow*.

Analogowy spektrometr typu *fast-slow*, którego schemat znajduje się na Rys. 22 składa się z dwóch gałęzi: czasowej (szybkiej) i energetycznej (powolnej). Gałąź energetyczna spektrometru jest odpowiedzialna za wybór impulsów o energiach 1274 keV i 511 keV, które są odpowiednio sygnałami „*START*” i „*STOP*”. Sygnały wykryte przez głowice scyntylicyjne są przekazywane do przedwzmacniaczy, które dokonują wstępnej obróbki sygnału i formują impulsy napięciowe. Następnie do wzmacniaczy, które zwiększają amplitudę otrzymanych sygnałów. Zwiększa to dokładność selekcji zdarzeń odpowiadających emisji i anihilacji pozytonu w jednokanałowych analizatorach amplitudy, które odpowiadają za wybór okien energetycznych. Inną bardzo ważną rolą wzmacniaczy jest poprawa stosunku sygnału do szumu, co można zaobserwować podczas porównywania widm energetycznych uzyskanych za pomocą spektrometrów cyfrowego i analogowego – te drugie wyglądają znacznie lepiej i jest łatwiej znaleźć na nich piki energetyczne odpowiadające za emisję i anihilację pozytonu. Zadaniem gałęzi czasowej natomiast jest pomiar czasu pomiędzy sygnałami „*START*” i „*STOP*”. W przypadku tej gałęzi impulsy przechodzą z głowicy do dyskryminatorów stałofrakcyjnych, które kompensują rozrzuty czasowe powstające wskutek rozrzutów amplitud i czasów narastania sygnałów wejściowych. Dyskryminatory stałofrakcyjne określają również czas nadejścia impulsów, dzięki czemu konwerter czasu na amplitudę może mierzyć odstęp czasu między nimi.



niedoskonałości układów elektronicznych. Istnieją dwa rodzaje nieliniowości: różniczkowa i całkowita. Nieliniowość różniczkowa definiuje rozrzuty szerokości czasowej  $i$ -tego kanału względem wartości średniej:

$$L_i = \frac{|\Delta t_i - \Delta t_{sr}|}{\Delta t_{sr}} \cdot 100\%, \quad (57)$$

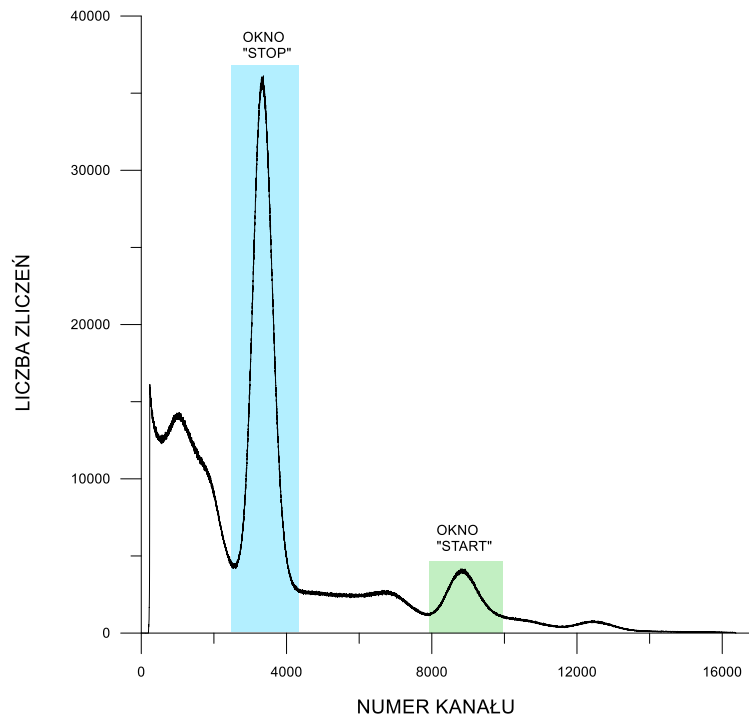
gdzie  $\Delta t_i$  oznacza szerokość czasową  $i$ -tego kanału, a  $\Delta t_{sr}$  to średnia szerokość czasowa kanału. Wartość nieliniowości różniczkowej podaje się w procentach i opisuje ona maksymalne odchylenie ceny kanału od wartości średniej.

Nieliniowość całkowita opisuje maksymalne odchylenie zależności ceny kanału od jego numeru, względem idealnej zależności liniowej. Oblicza się ją jako wartość średnią nieliniowości różniczkowej:

$$L_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n L_i. \quad (58)$$

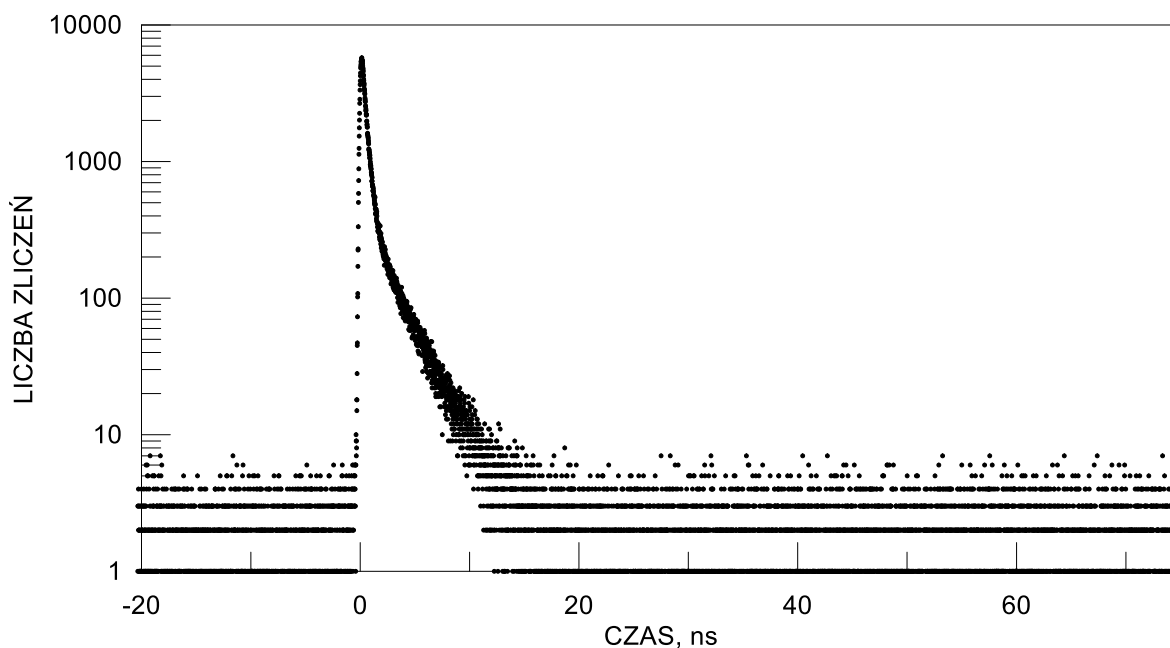
Innym parametrem opisującym spektrometr jest jego czasowa zdolność rozdzielcza definiowana jako szerokość połówkowa (ang. *FWHM, Full Width at Half Maximum*). Wpływ na tę wartość mają własności detektora oraz różnice czasowe w przelocie pomiędzy dynodami fotopowielaczy. Dochodzi również do rozrzutów czasowych z powodu użytych w spektrometrze dyskryminatorów stałofrakcyjnych oraz konwertera czasu na amplitudę. Ponadto, czas wyświecania scyntylatorów jest skończony. Czasową zdolność rozdzielczą spektrometru wyznacza się eksperymentalnie z wykorzystaniem radioizotopu  $^{60}\text{Co}$ , którego rozpadowi towarzyszy emisja kwantów o energiach 1,17 MeV oraz 1,33 MeV. Wykonuje się pomiar tzw. krzywej koincydencji natychmiastowych. Na wejścia konwertera podaje się sygnały, między którymi jest pomijalnie mały odstęp czasowy, który w przypadku  $^{60}\text{Co}$  wynosi 3,3 ps [65]. Wszelkie rozrzuty wynikają z charakterystyki i budowy danego spektrometru. Efektem takiego pomiaru jest otrzymanie wierzchołka z rozmyciem wynikającym z zastosowanej aparatury pomiarowej.

Przykładowe widmo energetyczne  $^{22}\text{Na}$  z zaznaczonymi oknami energetycznymi uzyskane za pomocą spektrometru analogowego przedstawia Rys. 23.



**Rys. 23.** Widmo energetyczne  $^{22}\text{Na}$  uzyskane za pomocą spektrometru analogowego z zaznaczonymi oknami energetycznymi- na niebiesko zaznaczono okno "STOP" odpowiadające energii 511 keV, a na zielono okno "START" odpowiadające energii 1274 keV.

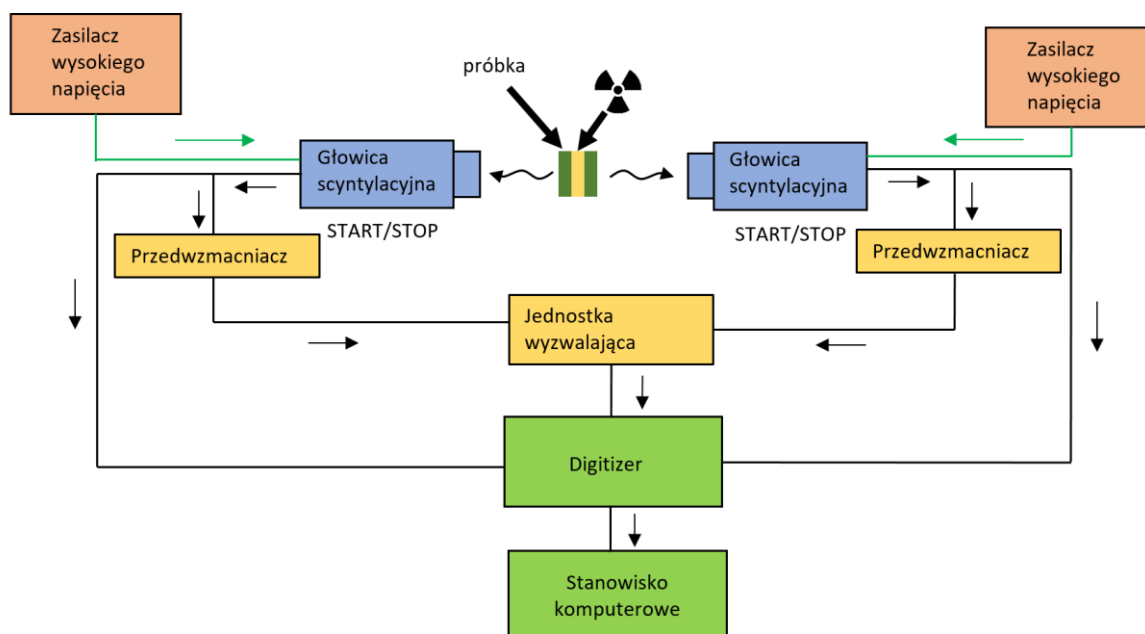
Dla stosowanego spektrometru analogowego określono parametry pracy: czasowa szerokość kanału wielokanałowego analizatora amplitudy wynosiła 11,9 ps, nieliniowość różniczkowa – 2,95%, nieliniowość całkowita 0,92%, FWHM – 0,23 ns. Rys. 24 przedstawia przykładowe widmo dla biopolimerowej matrycy uzyskane za pomocą spektrometru analogowego – oś pionowa określa liczbę zliczeń, zaś oś pozioma została wyskalowana w jednostkach czasu po uwzględnieniu ceny kanału wielokanałowego analizatora amplitudy.



Rys. 24. Przykładowe widmo PALS uzyskane za pomocą spektrometru analogowego.

#### 4.4.3. Spektrometr cyfrowy PALS

Wraz z rozwojem elektroniki pojawiły się cyfrowe spektrometry PALS, w których większość elementów analogowych została zastąpiona cyfrowymi (Rys. 25), co się wiąże ze znaczącym uproszczeniem budowy aparatury. Druga seria próbek badanych w niniejszej pracy została zbadana z wykorzystaniem spektrometru cyfrowego.



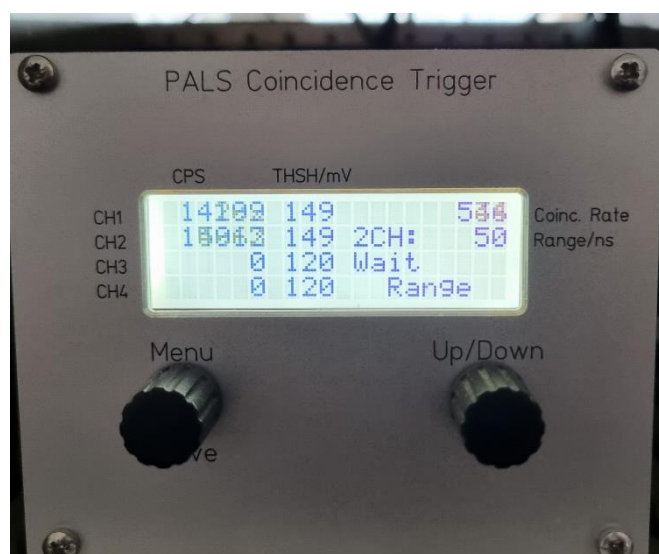
Rys. 25. Schemat blokowy spektrometru cyfrowego. Strzałki oznaczają kierunek przepływu sygnału.

Podobnie jak w przypadku spektrometru analogowego, wykorzystuje się detektory scyntylacyjne, jednak ich sygnał jest przesyłany jednocześnie do przedwzmacniaczy (elementy

analogowe) oraz digitizera. Istotną różnicą w stosunku do spektrometru analogowego jest rejestracja sygnałów zarówno startowych jak i stopowych w obu głowicach detekcyjnych, co prowadzi do uzyskiwania jednocześnie dwóch widm.

Przedwzmacniacze nie są niezbędne do wykonywania pomiarów, jednak są stosowane w celu zmniejszenia obciążenia digitizera. Istotną różnicą w stosunku do spektrometru analogowego jest rejestracja sygnałów zarówno startowych jak i stopowych w obu głowicach detekcyjnych, co prowadzi do uzyskiwania jednocześnie dwóch widm, co zostanie opisane w dalszej części rozdziału.

Przedwzmacniacze dokonują wstępnej obróbki sygnału i formują impulsy napięciowe. Są niezbędne do podłączenia triggera, który jest elementem analogowym. Sygnały są następnie przesyłane do jednostki wyzwalającej (triggera), która pełni funkcję układu koincydencyjnego (Rys. 26). Jego zadaniem jest filtrowanie sygnałów, aby odstęp pomiędzy nadejściem sygnałów "START" i "STOP" mieścił się w zadanym zakresie czasowym. Wykorzystanie triggera ma na celu odciążenie digitizera poprzez bramkowanie go. Podczas pomiarów wykonywanych w niniejszej pracy wykorzystywana jest baza czasowa 50 ns, która jest co najmniej 10-krotnie dłuższa od zaniku najdłuższej składowej anihilacyjnej. Zadana wartość bazy czasowej ma zapewnić widoczność długożyciowej składowej. Układ został skonstruowany na University Halle-Wittenberg [66]. Urządzenie wyświetla liczbę zliczeń w wybranych kanałach (rejestrowanych przez głowice), wartości progów wyzwalania podane w miliwoltach oraz łączną liczbę impulsów docierających do układu (koincydencji). Urządzenie wyświetla też wartość przyjętej bazy czasowej.

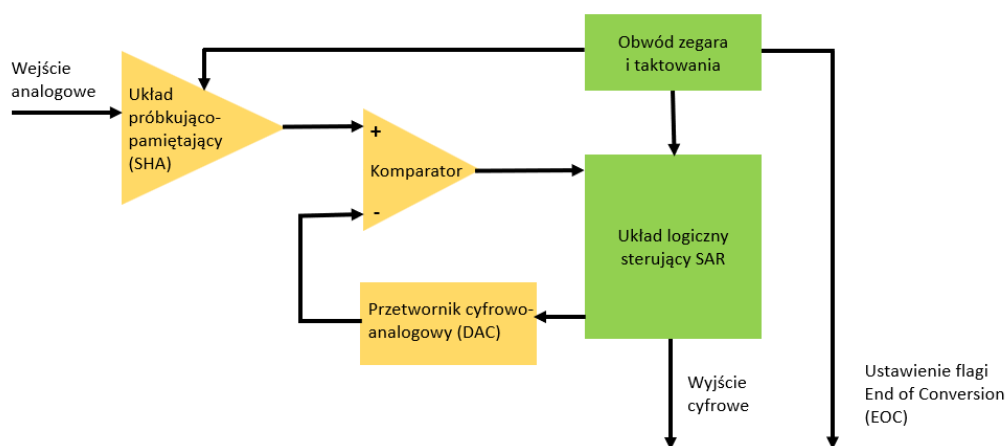


**Rys. 26.** Zdjęcie przedstawiające jednostkę wyzwalającą wykorzystywaną w spektrometrze cyfrowym.

Kolejnym elementem układu jest digitizer, którego zadaniem jest przekształcanie sygnału do postaci cyfrowej, nadającej się do dalszej obróbki przy pomocy oprogramowania komputerowego. Pozwala to m.in. na zmniejszenie wpływu rozrzutów aparaturowych na kształt analizowanego widma. W laboratorium wykorzystywany jest digitizer *Agilent U1065A* [67] w wersji DC252, który ma 2 kanały, a szybkość próbkowania wynosi 4 GS/s na kanał w przypadku podłączenia głowic scyntylacyjnych do dwóch kanałów lub 8 GS/s, gdy podłączony jest jeden kanał. Wykorzystywany w niniejszej pracy spektrometr posiada 2 digitizery i jest możliwość uzyskiwania prędkości 8 GS/s dla sygnałów z dwóch głowic. Daje to wysoką rozdzielczość uzyskiwanych wyników, a co z tego wynika również wysoką dokładność otrzymywanych widm. Wadą takiego rozwiązania jest długi czas pomiaru

wynikający z czasu przetwarzania impulsów. W wykorzystywanym spektrometrze obydwie głowice są podłączone do 1 digitizera, a sam spektrometr do zbierania widm wykorzystuje przetwornik o sukcesywnej aproksymacji (SAR, ang. *Successive Approximation Register*), którego schemat znajduje się na Rys. 27. Jest to specjalny rodzaj przetwornika analogowo-cyfrowego (ADC ang. *Analog to Digital Converter*), który jest jednym z najczęściej wykorzystywanych przy częstotliwości próbkowania poniżej 10 MS/s. Ten rodzaj przetwornika jest idealny przy zastosowaniu rozdzielczości pomiędzy 8-16 bitów. Przetwornik ADC SAR wykonuje następujące czynności dla każdej próbki:

1. Sygnał wejściowy (napięcie wejściowe) jest próbkowany i zatrzymywany;
2. Analogowy komparator napięcia porównuje napięcie wejściowe z wyjściem wewnętrznego przetwornika cyfrowo-analogowego i wysyła wynik porównania do układu logicznego rejestru sukcesywnej aproksymacji (SAR).
3. W rejestrze SAR przechowywana jest zdigitalizowana wartość napięcia mierzonego, będąca jej przybliżeniem.
4. Sygnał cyfrowy podawany jest na wyjście i jest ustawiana flaga będąca sygnałem zakończenia konwersji sygnału.



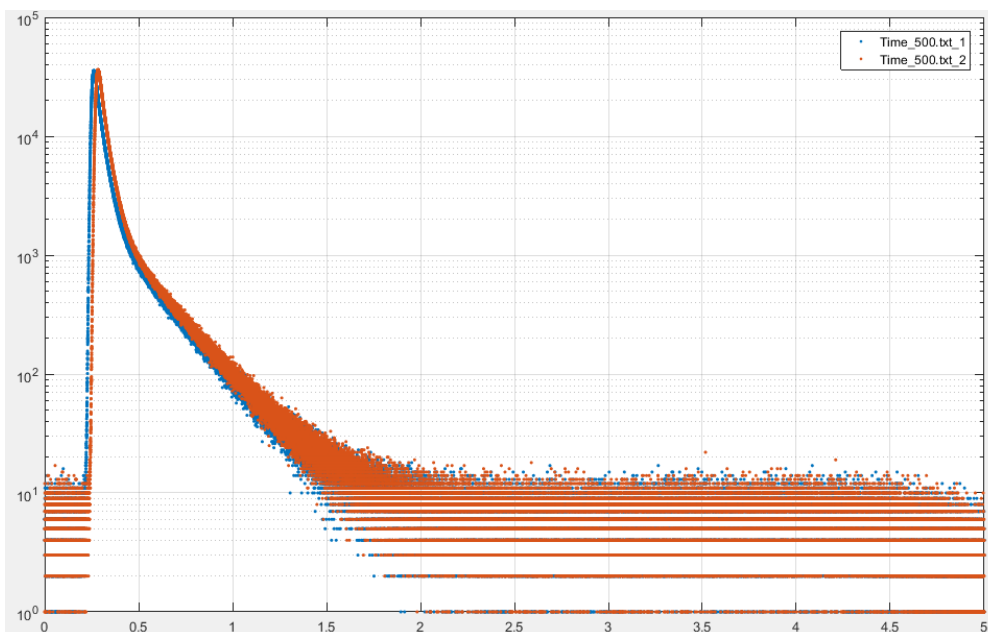
**Rys. 27.** Schemat blokowy przedstawiający układ elektroniczny przetwornika o sukcesywnej aproksymacji.

Za synchronizację pracy układu odpowiada obwód zegara i taktowania.

Wykorzystywana konfiguracja daje dwukrotnie niższą rozdzielczość, ale czas zebrania danej statystyki widma jest dwukrotnie krótszy.

W spektrometrze analogowym jedna z głowic scyntylacyjnych jest odpowiedzialna za detekcję kwantów  $1274 \text{ keV}$ , a druga wykrywa kwanty o energii  $511 \text{ keV}$ . W przypadku spektrometru cyfrowego każda głowica może wykrywać jednocześnie obydwa kwanty, co skutkuje w otrzymywaniu dwóch widm czasowych w ramach jednego pomiaru (Rys. 28). Ze względu na obróbkę sygnałów, m. in. czasy przesyłania i przetwarzania impulsów, dwa uzyskane widma mogą być nieznacznie przesunięte względem siebie na osi czasu. Przesunięcie to jest kompensowane na etapie analizy widma PALS.

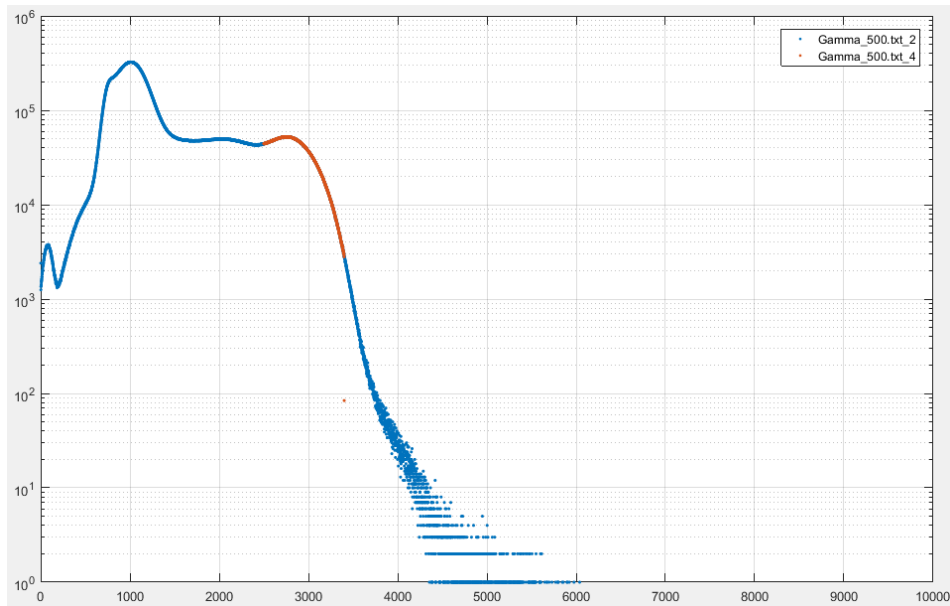




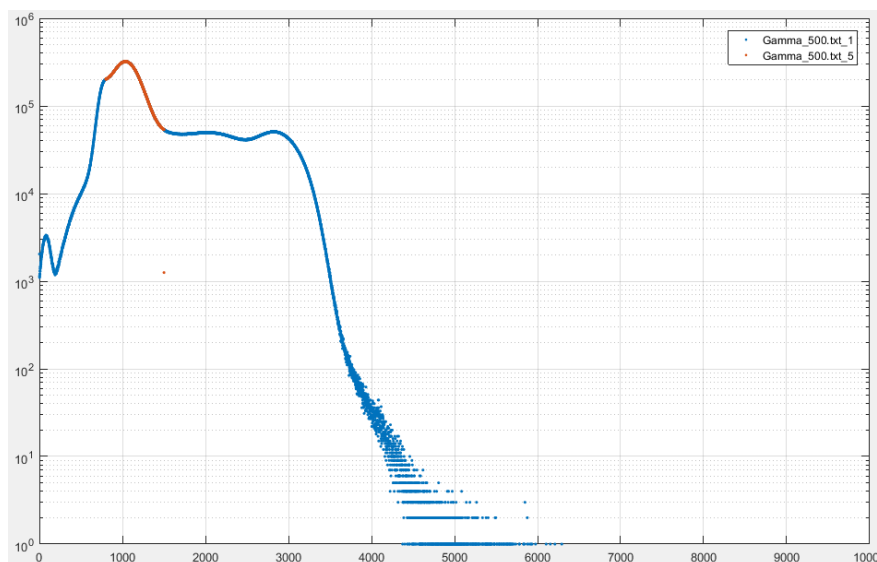
**Rys. 28.** Widma czasowe uzyskane za pomocą spektrometru cyfrowego PALS.

Uzyskane spektrometrem cyfrowym widma PALS są normowane względem czasu, a następnie sumowane do jednego widma.

Podobnie jak dla spektrometru analogowego, również za pomocą spektrometru cyfrowego uzyskuje się widmo gamma. Na Rys. 29 zaznaczono okno czasowe dla sygnału „START”, na Rys. 30 zaś okno dla sygnału „STOP”.



**Rys. 29.** Widmo gamma uzyskane za pomocą spektrometru cyfrowego PALS z zaznaczonym oknem czasowym sygnału "START".



**Rys. 30.** Widmo gamma uzyskane za pomocą spektrometru cyfrowego PALS z zaznaczonym oknem czasowym sygnału "STOP".

Podczas wszystkich pomiarów w niniejszej pracy wykorzystywano spektrometry wyposażone w dwie głowice scyntylacyjne Hamamatsu z kryształami BaF<sub>2</sub> ustawione względem siebie pod kątem 90°. Po zakończeniu pomiarów pierwszej grupy próbek zmieniono podłączenie głowic ze spektrometru analogowego na cyfrowy.

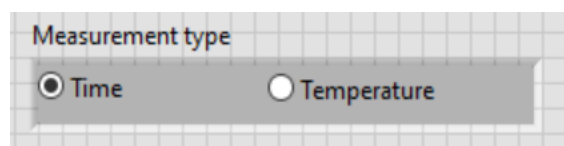
Wykorzystanie spektrometru cyfrowego do wykonywania pomiarów PALS daje możliwość wykonania dokładniejszych pomiarów niż w przypadku spektrometru analogowego. Porównanie wybranych parametrów pracy obu spektrometrów stosowanych podczas pomiarów w niniejszej pracy zawiera Tabela 3.

**Tabela 3.** Porównanie parametrów spektrometrów analogowego i cyfrowego (wykorzystywanych do pomiarów w niniejszej pracy).

Parametr	Spektrometr analogowy	Spektrometr cyfrowy
FWHM	~226÷240 ps	190-205 ps
Liczba zliczeń (taki sam czas zbierania widma)	N	2÷3 x N
Sygnal	zniekształcony analogową elektroniką	czyste sygnały z możliwością obróbki pod dowolnym kątem na etapie analizy widm
Baza	100 ns	50 ns
Liczba kanałów w wykorzystywanych spektrometrach	8192	50 000

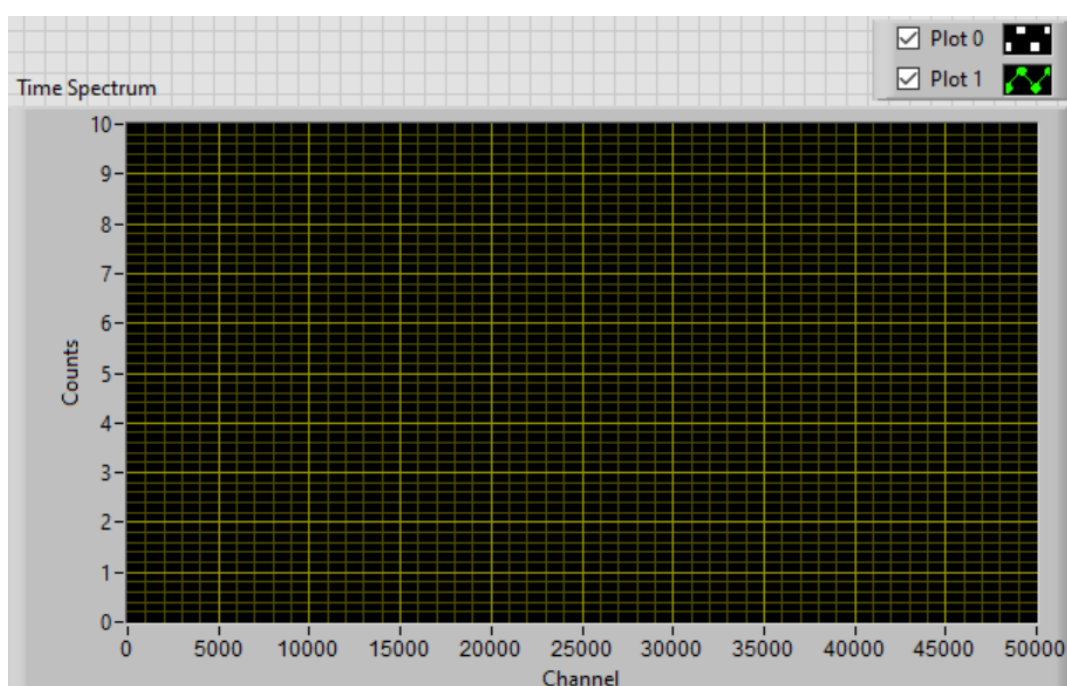


zaś tryb *Temperature* pozwala na zbieranie widm w zadanej temperaturze. W trybie tym możliwe jest wykonywanie pomiarów z regulacją temperatury; zmiana temperatury jest równoznaczna z rozpoczęciem pomiaru nowego widma.



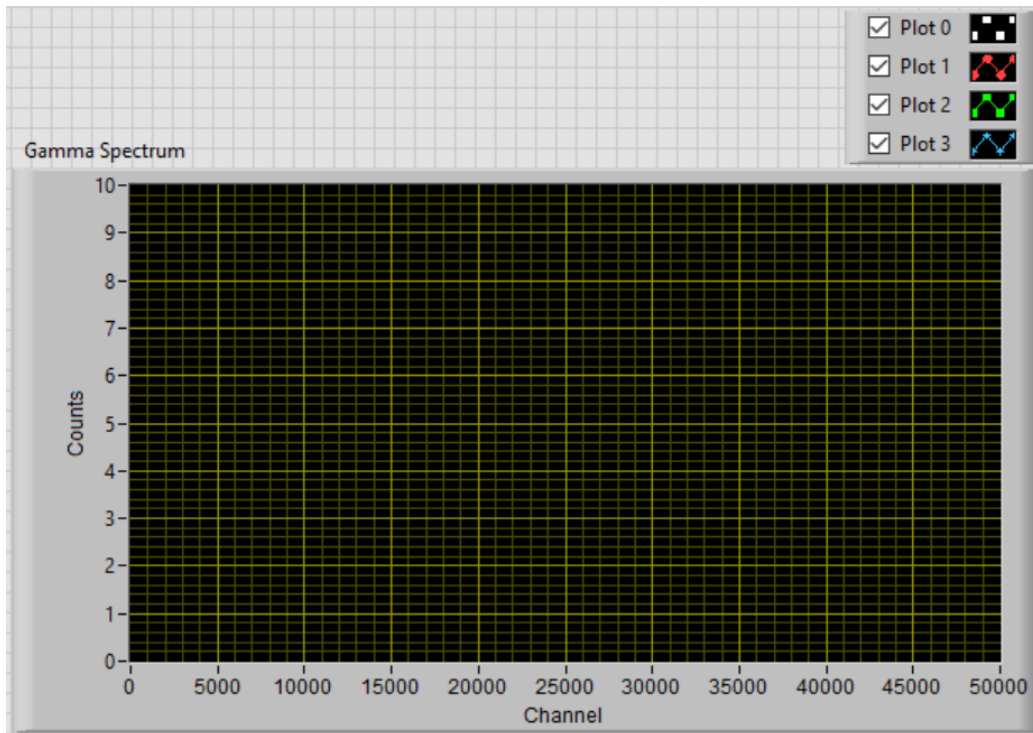
*Rys. 32. Blok wyboru trybu pomiaru.*

Blok B widoczny na Rys. 33 umożliwia podgląd widm czasowych zebranych przez spektrometr podczas pomiaru. Widma wyświetlane są w funkcji numeru kanału. Istnieje możliwość zmiany widoczności widm za pomocą checkboxa w prawej górnej części okna.



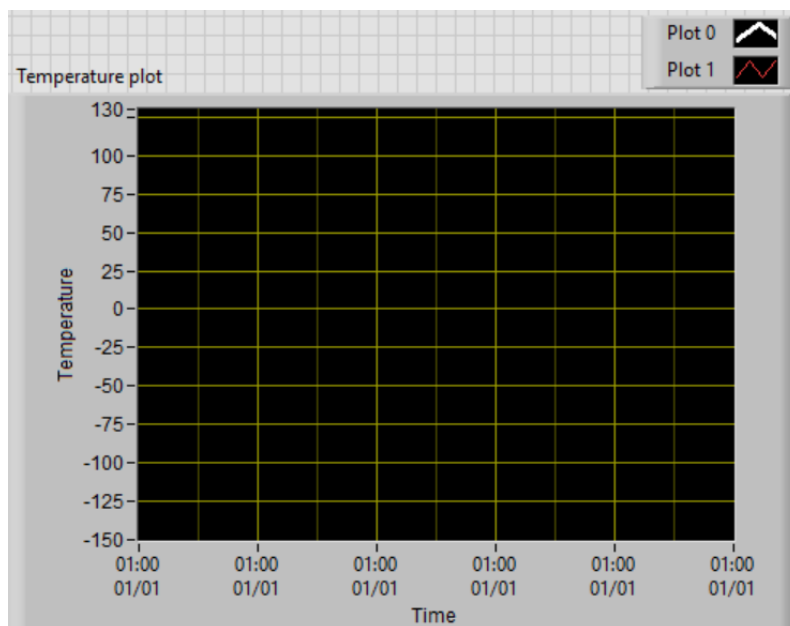
*Rys. 33. Okno do rysowania widma czasowych.*

Blok C przedstawiony na Rys. 34 projektowanego interfejsu służy do odczytu widm gamma aktualnie zbieranego widma, wraz z zaznaczeniem dobranych okien czasowych.



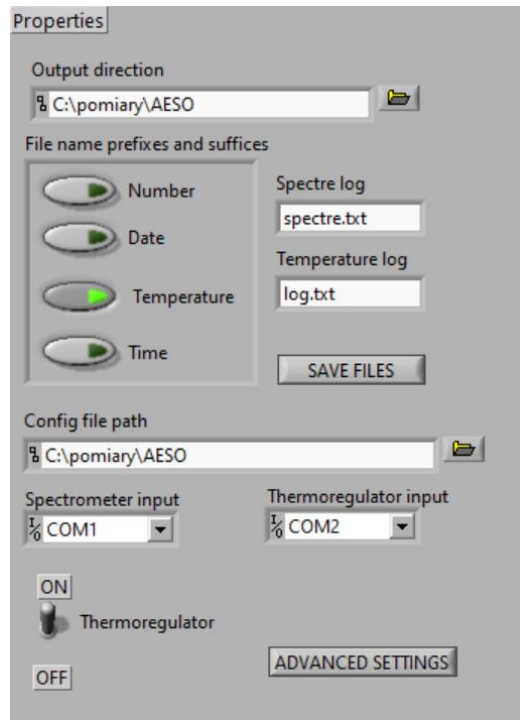
*Rys. 34. Okno do rysowania widma gamma.*

W trybie pracy *Temperature* aktywne są dodatkowo bloki D i E. Tryb pracy z wykorzystaniem termoregulatora wymaga odczytywania temperatur panujących w komorze. Stabilizacja i sterowanie temperaturą odbywa się za pośrednictwem układu termoregulatora z podpiętą grzałką. Do prezentacji temperatury służy blok D (Rys. 35) wyświetlający zarówno zadaną temperaturę pomiaru, jak i mierzoną w komorze temperaturę. Wykres pokazuje historię temperatur podczas pomiaru. Wykres można zobaczyć tylko, gdy w danej chwili trwa pomiar i nie jest zapisywany jako plik.



*Rys. 35. Wykres służący do śledzenia zmian temperatury podczas pomiaru.*

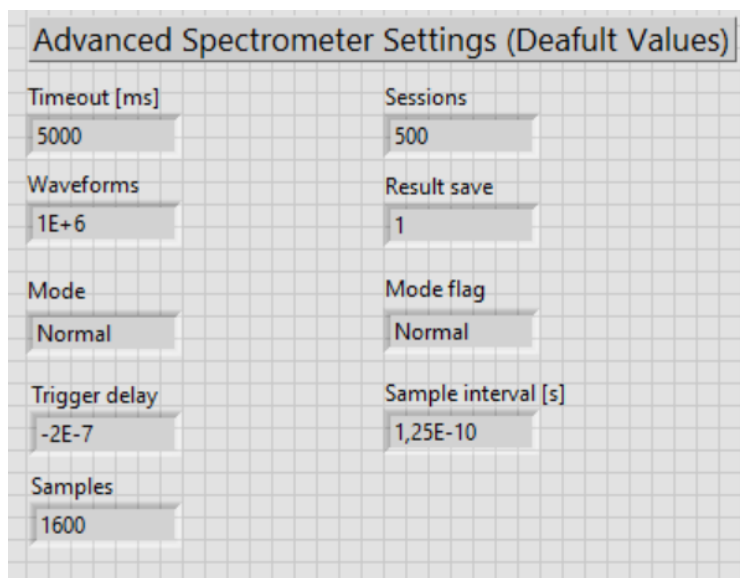




**Rys. 37.** Karta "Properties" w interfejsie spektrometru z przykładowymi danymi.

W tym oknie znajdują się takie parametry jak (Rys. 38):

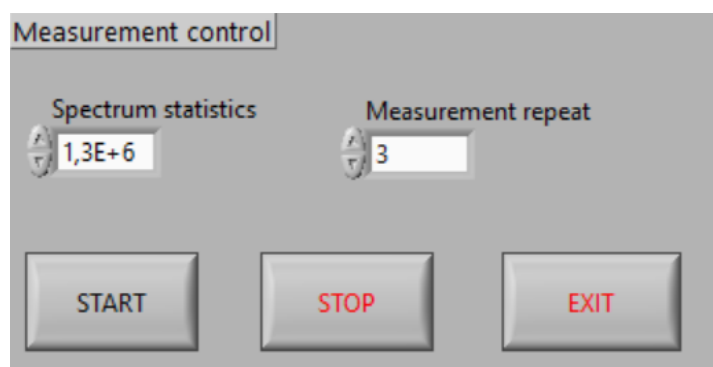
- "Timeout [ms]" - określa maksymalny dopuszczalny limit czasu pomiędzy kolejnymi uzyskanymi punktami pomiarowymi, podawany w milisekundach;
- "Sessions"- liczba sesji pomiarowych zbieranych w zakresie jednego pakietu danych;
- "Waveforms"- parametr określający liczbę danych zapisywanych w jednym pakiecie;
- "Result save"- opisuje ile pakietów danych jest zapisanych w jednym pliku.
- "Mode"- określa tryb pracy spektrometru;
- "Mode flag"- parametr odpowiedzialny za zapamiętanie stanu trybu pracy;
- "Trigger delay [s]"- opisuje maksymalne możliwe opóźnienie sygnału docierającej jednostki wyzwalającej (triggera), podawany w sekundach;
- "Sample interval [s]" - definiuje odstęp czasowy między zebranymi próbkami, czyli wartościami uzyskanymi wskutek kwantowania sygnału ciągłego zebranego podczas pomiaru;
- "Samples"- liczba zebranych próbek uzyskanych z sygnału ciągłego.



**Rys. 38.** Okno "Advanced Spectrometer Settings" w interfejsie spektrometru.

Kolejną częścią interfejsu jest okno znajdujące się w bloku G "measurement control" (Rys. 39) służące do ustawiania parametrów pomiaru. Daje ono możliwość ustawienia pożądanej statystyki widma oraz ilości powtórzeń danego pomiaru (opcja ma zastosowanie podczas pomiarów bez użycia termoregulatora). W tym oknie znajdują się również 3 przyciski:

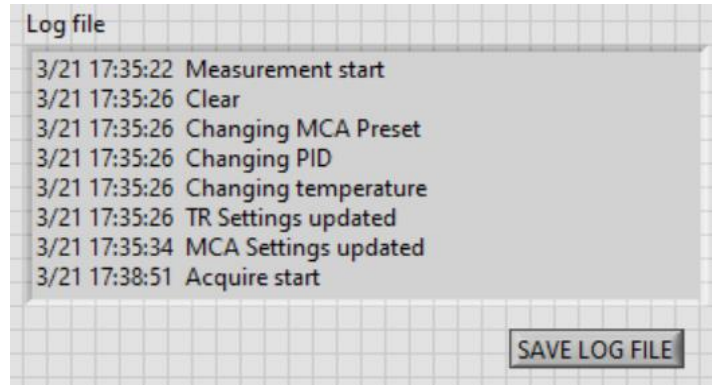
- "START" - zaczynający pomiar;
- "STOP" - kończący pomiar;
- "EXIT" - kończący pracę programu.



**Rys. 39.** Okno "measurement control" z przykładowymi danymi.

Ostatnim elementem jest blok H, w którym znajduje się okno z odczytami logów z termoregulatora Rys. 40. Plik ten można zapisać w dowolnym momencie.





**Rys. 40.** Okno z możliwością odczytu logów z termoregulatora.

#### 4.4.5. Analiza widma PALS

Zebrane widma poddaje się analizie numerycznej w celu określenia udziału poszczególnych składowych anihilacyjnych. Na podstawie tych danych można wnioskować o właściwościach badanego materiału w nanoskali w szczególności o zmianie rozmiarów wolnych nanoobjętości wynikających ze zmiany zadanych warunków panujących w komorze pomiarowej (temperatury, wilgotności). Pomiaru wykonane w ramach niniejszej pracy były w większości analizowane z wykorzystaniem programu LT 9.2 autorstwa dr Jana Kansęgo [68].

W widmo złożone z punktów doświadczalnych wpasowuje się krzywą eksponentialną  $A(t)$ :

$$A(t) = \sum_{i=1}^n \frac{I_i}{\tau_i} \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right), \quad (59)$$

gdzie  $I_i$  oznacza natężenie  $i$ -tej składowej i jest wyrażane w procentach, a  $\tau_i$  to czas życia  $i$ -tej składowej. Aparaturowa krzywa zdolności rozdzielczej  $R(t)$  przybliżana jest funkcją Gaussa:

$$R(t) = \sum_{i=0}^n \frac{C_i}{\sqrt{2\pi}\sigma_i} \exp\left(-\frac{(t-t_0-\Delta t_i)^2}{2(\sigma_i)^2}\right), \quad (60)$$

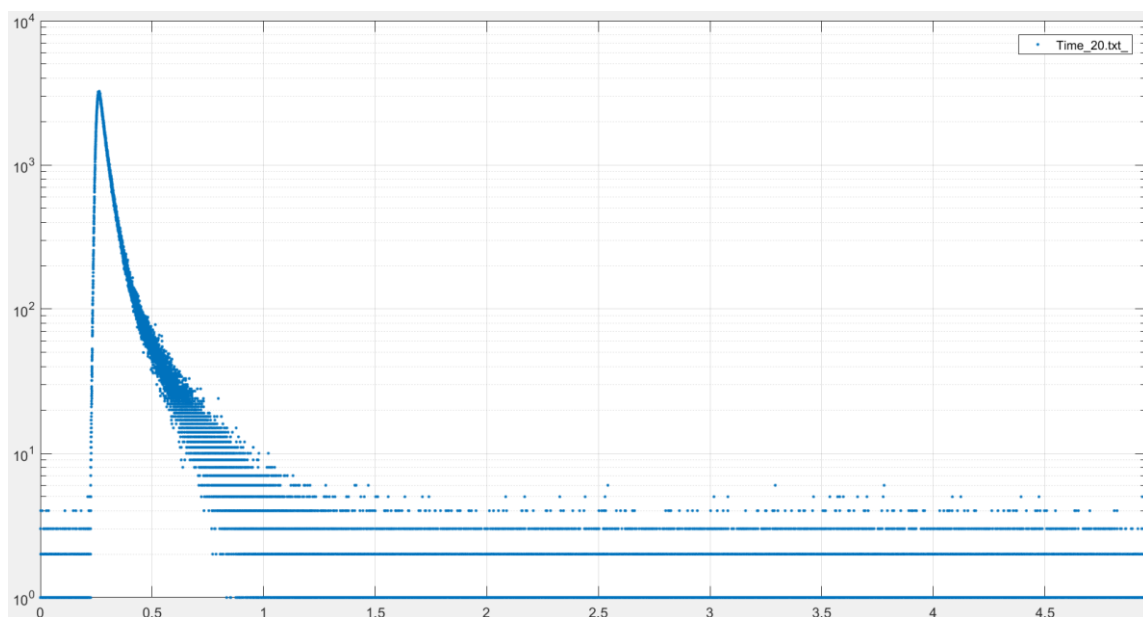
gdzie  $C_i$  oznacza procentowy udział  $i$ -tej funkcji Gaussa,  $\sigma_i$  to odchylenie standardowe  $i$ -tej funkcji Gaussa, które jest opisywane szerokością funkcji w połowie wysokości (FWHM) i wyraża się zależnością  $\sigma_i = \frac{FWHM}{2\sqrt{\ln 4}}$ ,  $t_0$  to położenia środka pierwszej krzywej Gaussa, a  $\Delta t_i$  oznacza przesunięcie środka ciężkości  $i$ -tej funkcji Gaussa względem  $t_0$ . Za pomocą zredukowanej wartości testu  $\chi^2$  program określa dopasowanie krzywej teoretycznej do punktów doświadczalnych:

$$\chi^2 = \frac{1}{k-p} \sum_{i=1}^k \frac{\Delta N_i^2}{\sigma_i^2}, \quad (61)$$

gdzie  $k$  oznacza liczbę punktów w analizowanym widmie,  $p$  to liczba dopasowywanych parametrów,  $\Delta N_i$  to odchylenie liczby zliczeń  $i$ -tego punktu doświadczalnego od wyznaczonej dla niego wartości teoretycznej w funkcji modelowej  $N(t)$ , a  $\sigma_i$  to wartość odchylenia standardowego wynosząca  $\sqrt{N_i}$ . Prawidłowa wartość testu  $\chi^2$  ma wartość przybliżoną do 1.

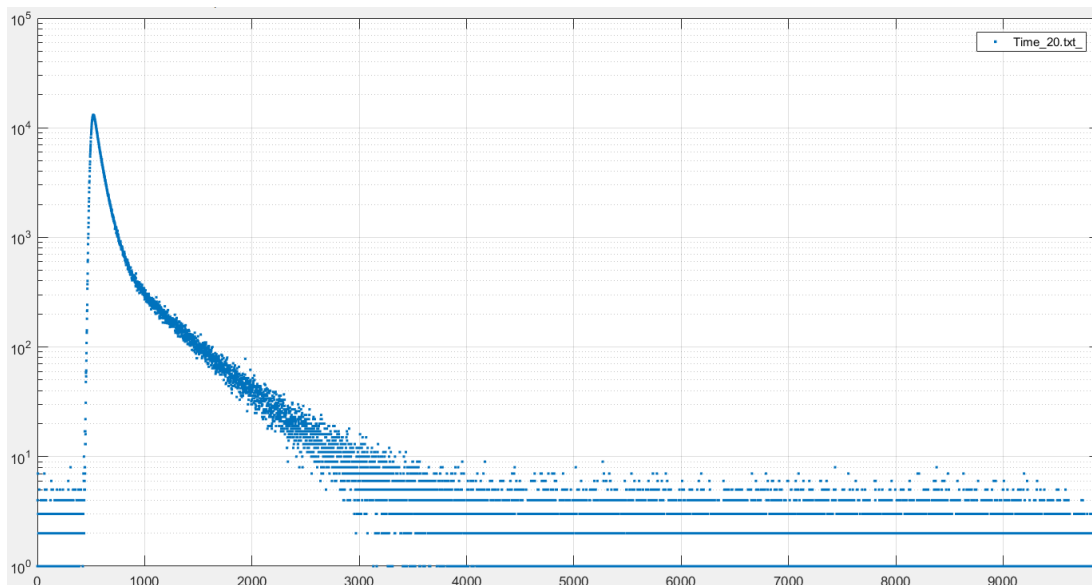
Program LT wpasowuje krzywe modelowe do rzeczywistego widma. Wadą programu LT jest możliwość analizy widm w ograniczonej liczbie kanałów (8192). W przypadku widm zebranych za pomocą spektrometru cyfrowego konieczna jest dodatkowa obróbka widm przez przeanalizowanie ich w programie. Widmo uzyskane w spektrometrze cyfrowym powstałe w wyniku sumowania dwóch widm prezentowane jest w funkcji liczby kanałów, jak to pokazano na Rys. 41. Narzędziem służącym do obróbki widma przed analizą numeryczną w programie

LT 9.2 jest program NOC zaprojektowany przez dr hab. Radosława Zaleskiego z Instytutu Fizyki UMCS.



**Rys. 41.** Przykładowe widmo czasowe będące sumą dwóch widm uzyskanych za pomocą cyfrowego spektrometru PALS unormowanych do zera skali czasu (kanałów) w programie NOC.

Za pomocą programu NOC ustalano cenę kanału na 0,005 ns (sumowane były wyniki liczby zliczeń z kolejnych 5 kanałów). Tak przetworzone widmo (Rys. 42) poddawano analizie w programie LT.



**Rys. 42.** Przykładowe widmo PALS uzyskane po ustaleniu czasowej ceny kanałów (w tym przypadku cena kanału wynosiła 0,005 ns) przygotowane do dalszej analizy w programie LT 9.2.

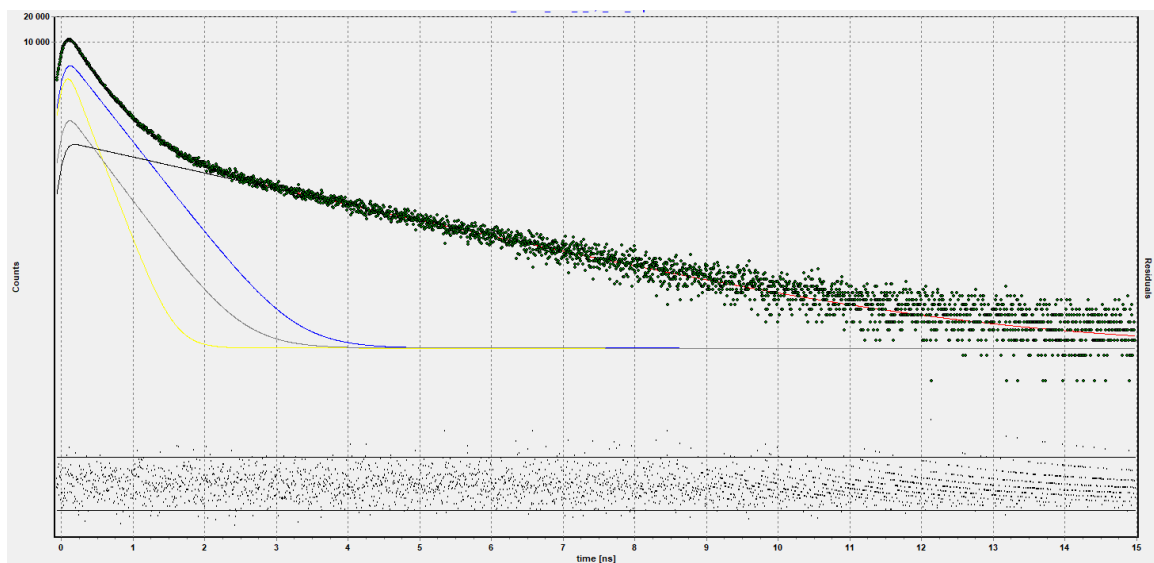
Widma ze spektrometru cyfrowego są zapisywane po osiągnięciu określonej liczby zliczeń w widmie, przy czym do każdego kolejno numerowanego widma dodawane jest widmo

poprzednie (liczba zliczeń w kolejnych widmach jest coraz większa). W konsekwencji analiza miejsce, gdy pomiar trwa dłuższy czas i chcemy uzyskać punkty pomiarowe z zadanego przedziału czasu lub też, gdy pomiar wykonywany jest w funkcji temperatury i widmo końcowe stanowi sumę widm zebranych w różnych temperaturach. Sekwencja zmian temperatury ustawiana jest w programie MasterCzif, który zapisuje bieżącą temperaturę w dokumencie log.exe Porównanie czasu zmiany temperatury z czasem zapisu kolejnych widm umożliwia wybór tych widm PALS, które zostały zmierzone w określonej temperaturze. Procedura ta istotnie wydłuża czas przetworzenia widm do dalszej analizy i stanowiła motywację do zaprojektowania nowej funkcjonalności w programie do obsługi i sterowania pomiarem. Czas pomiaru w zadanej temperaturze prowadzący do uzyskania widm o statystyce  $\sim 1,4 \cdot 10^6$  zliczeń wynosił 3 godziny.

Przykładowy wynik analizy numerycznej przeprowadzonej przy użyciu programu LT 9.2 przedstawia Rys. 43. W analizie uwzględniono udział 3 składowych ze zdefiniowanymi wstępnie czasami życia, na podstawie których program dopasowywał pozostałe parametry:

- $\tau_1 = 0,1$  ns odpowiadająca czasowi życia *para*-pozytu;
- $\tau_2 = 0,35$  ns odpowiadająca anihilacji swobodnej;
- $\tau_3 = 2,5$  ns odpowiadająca czasowi życia *orto*-pozytu.

Dokładność uzyskanych wyników zależy od statystyki widma. W przypadku widm uzyskanych podczas pomiarów do niniejszej pracy wynosi ona około 1,4 mln zliczeń. Przyjęto natężenie anihilacji w obudowie źródła wynoszące  $I_s = 10\%$  o czasie życia  $\tau_s = 0,382$  ns (Kapton). FWHM określone przez program nie przekraczało 0,2 ns.



**Rys. 43.** Graficzna ilustracja dopasowania składowych przykładowego widma poddanego analizie w programie LT 9.2. W punkty pomiarowe (zielone) stanowiące widmo wpasowano składowe: składowa odpowiadająca anihilacji w źródle – szara linia, anihilacji *p*-Ps:  $\tau_1 \approx 0,21$  ns (0,04),  $I_1 \approx 23,12\%$  (0,34) – żółta linia, anihilacji swobodnej:  $\tau_2 \approx 0,42$  ns (0,03),  $I_2 \approx 52,31\%$  (0,34) – niebieska linia, anihilacji *o*-Ps:  $\tau_3 \approx 2,28$  ns (0,09),  $I_3 \approx 26,44\%$  (0,28) – czarna linia. Splot dopasowanych składowych z tłem widma oznacza linia czerwona; odchylenie dopasowanej krzywej od punktów doświadczalnych ( $\chi^2 = 1,026$ ) ilustrują punkty układające się w dolnej części rysunku.

Niektóre wyniki były analizowane również z wykorzystaniem programu MELT [69]. Program MELT wykorzystuje analizę bayesowską i dokonuje dekonwolucji widma czyli odseparowania krzywej zdolności rozdzielczej aparatury od krzywych zaniku. Wynikiem

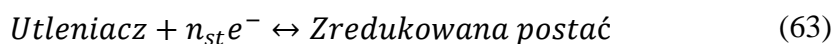
analizy wykonanej programem MELT jest wykres zależności natężeń od średniego czasu życia poszczególnych składowych. Program ten wymaga wykorzystania widm o dużej statystyce ( $>10^7$  zliczeń).

## 5. TECHNIKI ELEKTROCHEMICZNE

W celu śledzenia zależności przebiegu reakcji chemicznych od sygnału elektrycznego wykorzystuje się techniki badawcze z zakresu elektrochemii. Za pomocą tych technik śledzi się przepływ elektronów pomiędzy materiałem przewodzącym prąd (np. metalem), a roztworem również przewodzącym prąd elektryczny, zwanym elektrolitem (np. roztwór soli). Kluczowym zjawiskiem w elektrochemii jest reakcja utleniania- redukcji (redoks). Jest to reakcja, podczas których dochodzi do zmiany stopnia utlenienia pierwiastka. Oddawanie elektronów przez atomy nazywane jest utlenianiem, zaś przyjmowanie elektronów to redukcja. Pierwiastek, który ulega utlenianiu jest reduktorem, a ulegający redukcji to utleniacz. Procesy utleniania i redukcji są ze sobą ściśle związane i zawsze zachodzą równocześnie. Reakcję utleniania można zapisać jako:



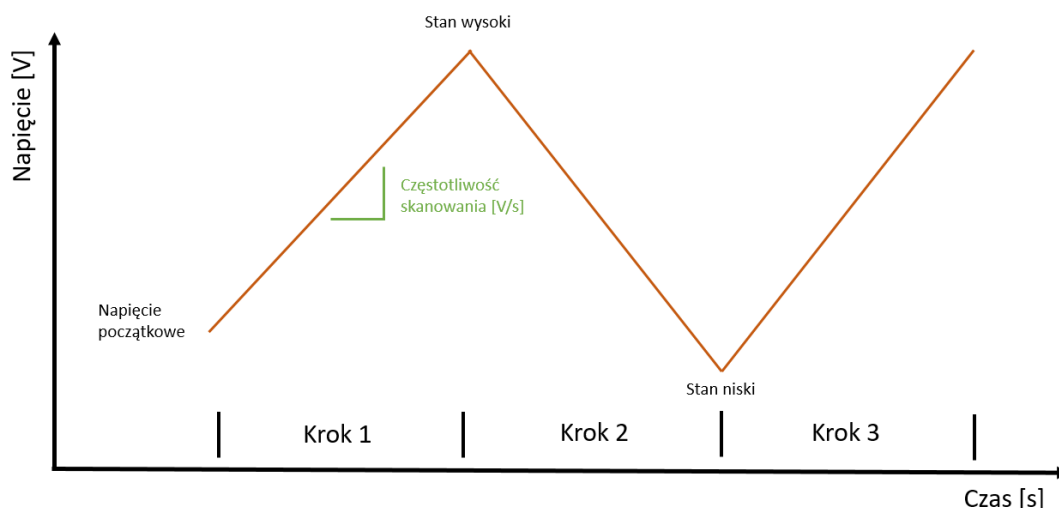
gdzie  $n_{st}$  oznacza stechiometryczną liczbę elektronów dla procesu. Natomiast reakcję redukcji można przedstawić następująco:



Elektrochemia obejmuje m. in. badania zjawisk korozji, elektroforezy, termodynamikę ogniw odwracalnych i elektrometalurgię [70],[71]. Techniki elektrochemiczne mają również zastosowania w wyznaczaniu parametrów i kalibracji biosensorów amperometrycznych [72].

### 5.1. WOLTAMPEROMETRIA CYKLICZNA

Woltamperometria cykliczna charakteryzuje się pomiarem natężenia prądu przepływającego przez elektrodę pracującą w funkcji przyłożonego do niej napięcia (potencjału) (Rys. 44). Na początku takiego pomiaru definiuje się wartości napięcia początkowego, stanu wysokiego i niskiego oraz częstotliwość skanowania, która jest przyrostem lub spadkiem napięcia w przedziale czasu. Pomiar przebiega cyklicznie z liniową zmianą napięcia podawanego na elektrodę pracującą. Wynikiem takiego pomiaru jest zależność odpowiedzi prądowej od zadawanego napięcia.



**Rys. 44.** Zmiana napięcia podczas pomiaru woltamperometrii cyklicznej w funkcji czasu.

Zależność pomiędzy częstotliwością skanowania, a maksymalnym prądem podczas pomiaru metodą woltamperometrii cyklicznej opisuje równanie Randlesa-Sevčika [73],[74]:

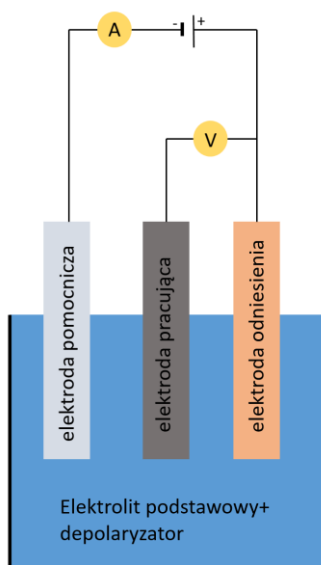
$$I_p = 0,4463 \cdot n_{el} \cdot F \cdot A \cdot C_0 \left( D_0 \cdot \frac{n_{el} F}{RT} v_{sk} \right)^{\frac{1}{2}}, \quad (64)$$

gdzie  $I_p$  to natężenie prądu,  $n_{el}$  to liczba elektronów biorących udział w reakcji redoks,  $F=96,485$  C/mol oznacza stałą Faradaya,  $A$  to pole powierzchni elektrody,  $C_0$  to stężenie początkowe,  $D_0$  współczynnik dyfuzji,  $R = 8,314 \frac{Pa \cdot m^3}{mol \cdot K}$  to stała gazowa,  $T$  oznacza temperaturę podaną w stopniach Kelwina, a  $v_{sk}$  to częstotliwość skanowania.

Podczas eksperymentu szybkość reakcji redoks jest ograniczona szybkością transportu analitu (składniku badanej próbki podczas analizy chemicznej) do powierzchni elektrody. Najczęściej do pomiarów tą techniką wykorzystywany jest układ trójelektrodowy, w którego skład wchodzi (Rys. 45):

- elektroda pracująca, na której zachodzą procesy będące podstawą pomiaru, elektroda ta jest polaryzowalna;
- elektroda pomocnicza, która pobiera prąd płynący przez elektrodę pracującą, zapewniając w ten sposób stałą wartość potencjału elektrody odniesienia oraz minimalizację wpływu spadku omowego;
- elektroda odniesienia, względem której jest mierzony potencjał elektrody pracującej, elektroda ta jest odwracalna i niepolaryzowalna, a jej potencjał nie ulega zmianie pod wpływem przepływu prądu.

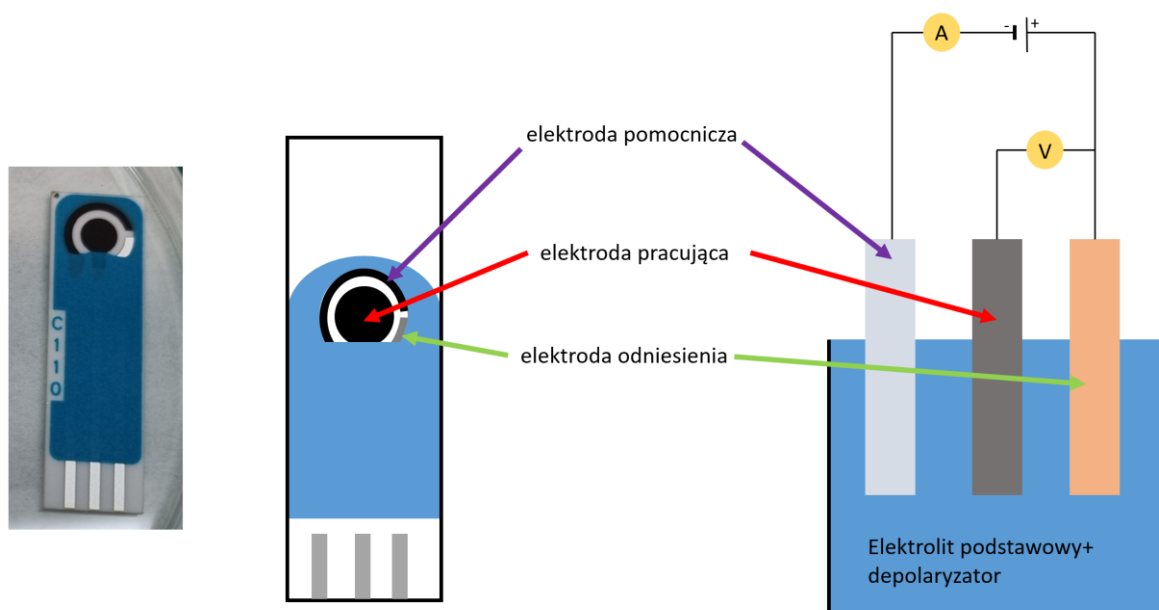
Elektrody są zanurzone w roztworze składającym się z elektrolitu podstawowego, który zapewnia prawidłowe przewodnictwo elektrolityczne oraz tzw. depolaryzatora (elektroaktywnej substancji oznaczanej) biorącego udział w procesach elektrochemicznych.



**Rys. 45.** Układ trójelektrodowy do pomiarów elektrochemicznych.

W badaniach wykonywanych w ramach niniejszej pracy wykorzystano elektrody sitodrukowane, które są układem trójelektrodowym (Rys. 46) wydrukowanym na podłożu ceramicznym lub plastikowym, gotowym do podłączenia do układu pomiarowego. Umożliwiają one analizę z wysoką powtarzalnością, czułością i dokładnością. Użyte materiały do produkcji takich układów (węgiel, srebro, złoto, platyna) decydują o jej selektywności

i czułości. Główną zaletą tego rodzaju układów jest możliwość modyfikacji powierzchni elektrody pracującej.



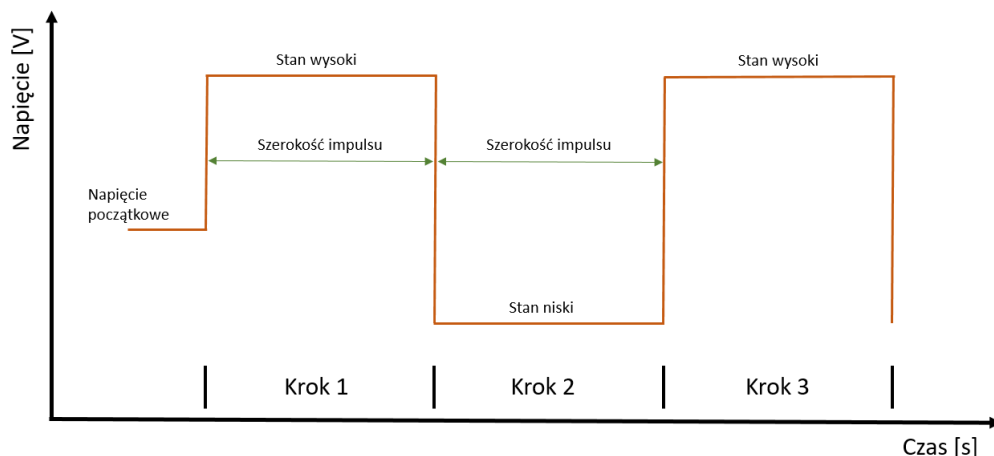
*Rys. 46. Schemat przedstawiający rozmieszczenie poszczególnych elektrod na układzie sitodrukowanym w porównaniu do "klasycznego" układu pomiarowego. Po lewej stronie znajduje się zdjęcie elektrody sitodrukowanej.*

Pomiary metodą woltamperometrii cyklicznej umożliwiają dobór optymalnego prądu pracy dla konstruowanych bioczuJNIKÓW, co jest niezbędne do wykonania pomiarów chronoamperometrycznych.

## 5.2. CHRONOAMPEROMETRIA

W chronoamperometrii wykorzystuje się taki sam układ pomiarowy jak w woltamperometrii cyklicznej. Różnicą pomiędzy tymi dwiema technikami jest sposób podawania prądu na elektrodę pracującą.

Chronoamperometria jest wysoce czułą techniką elektrochemiczną, jednakże mało selektywną. Jest to metoda kroków potencjałowych i mierzy się w niej prąd w funkcji czasu w związku ze zmianą kroku potencjału (Rys. 47). Zachodzi dyfuzja substancji elektroaktywnej na powierzchnię elektrody pracującej w funkcji przyłożonego potencjału. Wynikiem takiego pomiaru jest odpowiedź prądowa układu w funkcji czasu.



**Rys. 47.** Zmiana napięcia podczas pomiaru metodą chronoamperometrii w funkcji czasu.

Zmianę prądu podczas eksperymentu z kontrolowanym napięciem (zmienianym skokowo) opisuje równanie Cottrella [75]:

$$I_t = \frac{n_s \cdot F \cdot A \cdot C_0 \cdot D_0}{\pi^{1/2} \cdot t^{1/2}}, \quad (65)$$

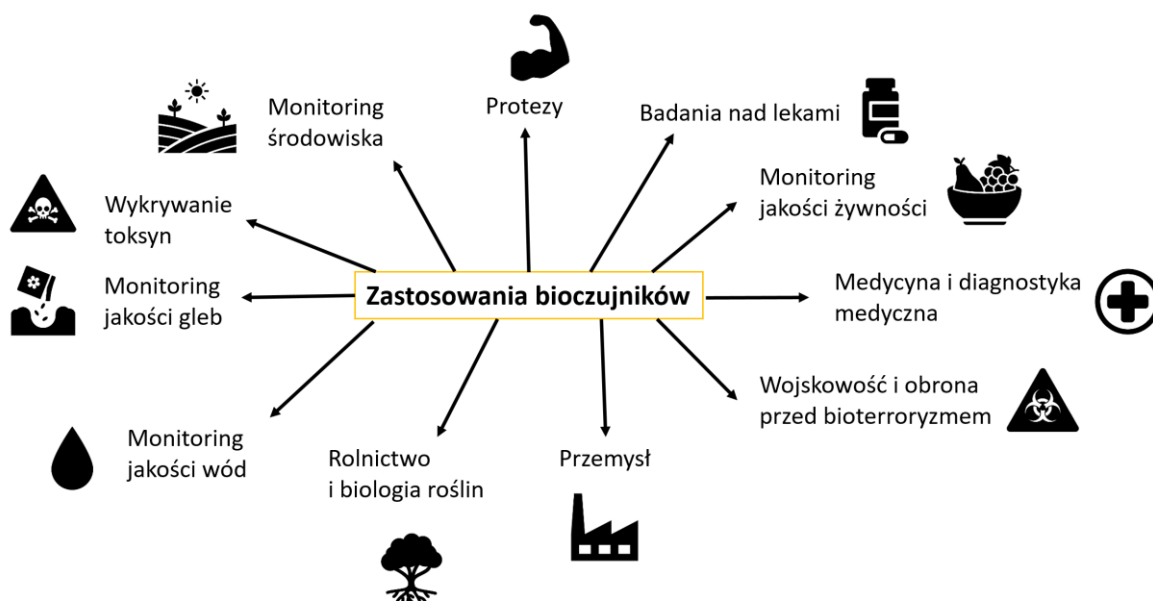
gdzie:  $I_t$  to wartość prądu na elektrodzie pracującej,  $F = 96,485$  C/mol oznacza stałą Faradaya,  $A$  to pole powierzchni elektrody,  $C_0$  to stężenie początkowe,  $D_0$  oznacza współczynnik dyfuzji, a  $t$  to czas.

Pomiary techniką chronoamperometrii umożliwiają wyznaczenie podstawowych parametrów bioczujników, takich jak liniowość i czułość.

## 6. BIOSENSORY, ICH PODZIAŁ I ZASTOSOWANIE

Biosensor (lub bioczujnik) według definicji Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (ang. IUPAC, *International Union of Pure and Applied Chemistry*) to urządzenie, które wykorzystuje określone reakcje biochemiczne, w których pośredniczą izolowane enzymy, komórki odpornościowe, tkanki, organelle lub całe komórki do wykrywania związków chemicznych, zwykle za pomocą sygnałów elektrycznych, termicznych lub optycznych [76]. Po raz pierwszy słowo biosensor zostało użyte przez Karla Cammana w roku 1977 [77]. Są to układy, które wykorzystują do swojego działania wiedzę z zakresu biologii, chemii i nanotechnologii. Zastosowania biosensorów są bardzo liczne w wielu różnych dziedzinach (Rys. 48). Pozwalają na m. in. kontrolę stanu zdrowia, wykrywanie zanieczyszczeń, obecności patogenów i skażeń oraz kontrolę jakości.



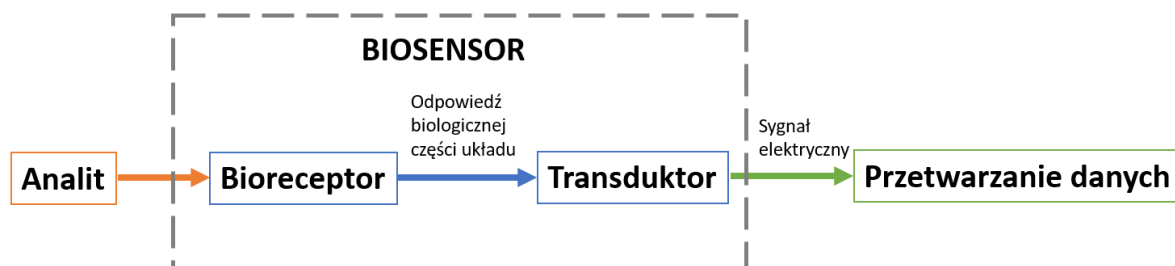


*Rys. 48. Schemat przedstawiający zastosowania bioczuJNIKÓW.*

Najwięcej biosensorów jest wykorzystywanych w medycynie. Dotyczy to nie tylko laboratoriów medycznych, ale również wykrywania potencjalnych problemów zdrowotnych w domu za pomocą testów typu POC (ang. *Point-of-care*) dostępnych w aptekach. Wykorzystanie takich testów ułatwia dokładną i wczesną diagnozę choroby. Takie bioczuJNIKI umożliwiają sprawdzenie poziomu glukozy we krwi, stwierdzenie ciąży lub owulacji u kobiet, wczesną diagnostykę chorób układu pokarmowego i moczowego, wykrycie zakażenia bakteriami lub wirusami oraz oznaczanie substancji psychoaktywnych. Oprócz zastosowań medycznych biosensory są również wykorzystywane w rolnictwie, przemyśle, badaniach środowiska, monitoringu jakości wód i gleb, laboratoriach badawczych, produkcji żywności, oznaczania alergenów, tworzeniu protez bionicznych i w wojsku. Zaletami biosensorów są ich niska cena, mały rozmiar, prostota obsługi oraz wysoka selektywność (są ukierunkowane na wykrycie konkretnej substancji), dlatego też zapotrzebowanie na biosensory stale wzrasta. Wadami są natomiast wrażliwość na takie czynniki jak odczyn analitu lub temperatura.

## 6.1. KONSTRUKCJA BIOSENSORÓW

Prawie każdy biosensor składa się z elementu biologicznego zwanego bioreceptorem, który jest odpowiedzialny za detekcję poszukiwanej substancji lub patogenu po zaaplikowaniu analitu na niego. Wykrycie skutkuje reakcją biologiczną lub chemiczną dającą biologiczną odpowiedź układu, którą wykrywa tzw. transduktor odpowiedzialny za przetworzenie sygnału danego przez bioreceptor na sygnał elektryczny, który następnie jest przetwarzany przez elektronikę zawartą w czujniku. Schemat przedstawiający przepływ sygnału w bioczujniku przedstawia Rys. 49.



**Rys. 49.** Schemat przedstawiający przepływ sygnału w bioczujniku.

Wyjątkiem od tej reguły są testy immunochromatograficzne, które zawierają tylko bioreceptor w postaci przeciwciał, a sam rezultat pokazuje się w postaci paska w przypadku wyniku dodatniego obok paska kontrolnego. Jest to skutek powinowactwa antygenów do przeciwciał i kompleksu koloidalnego złota.

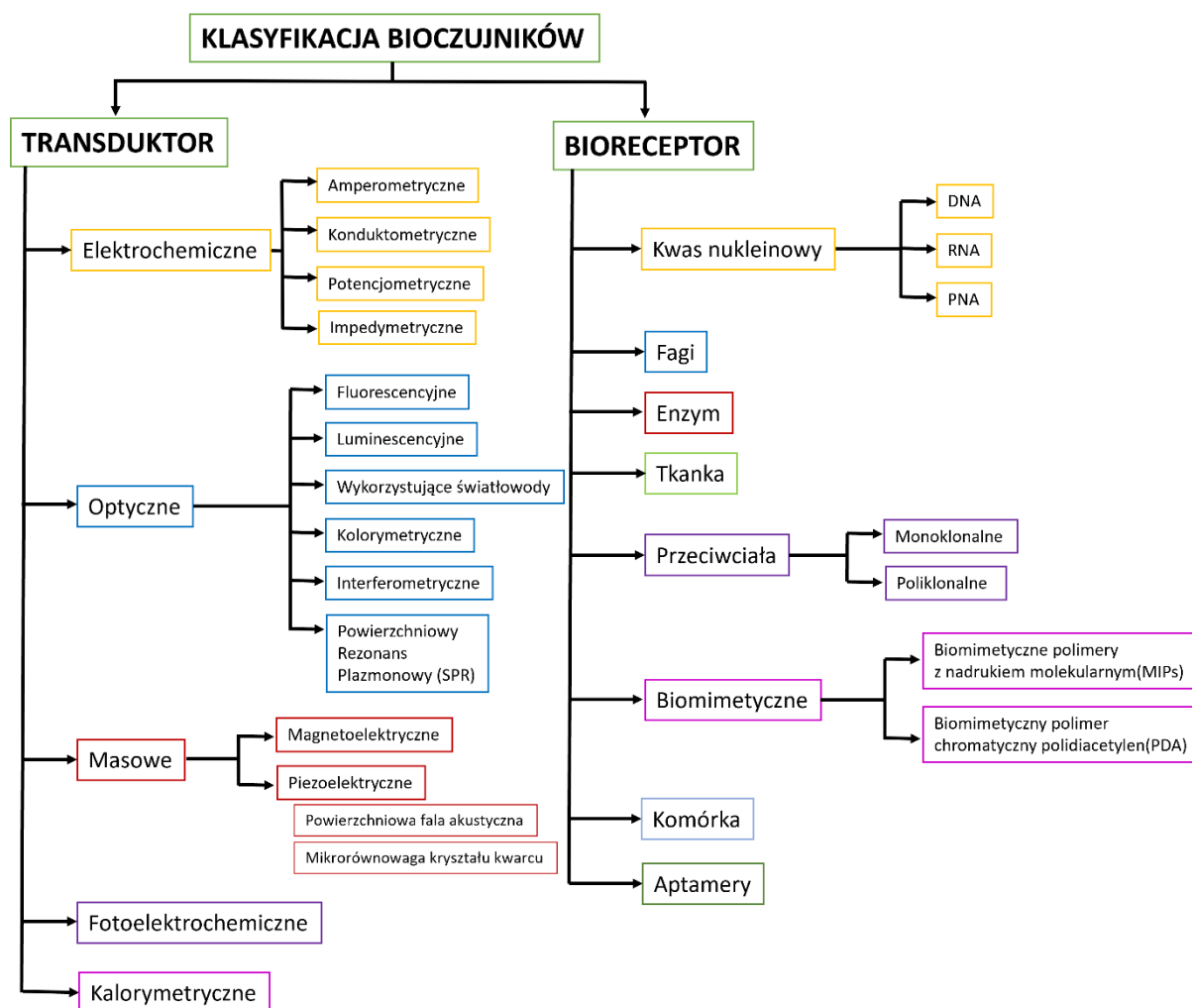
Istnieją różne rodzaje bioreceptorów i transduktorów wykorzystywanych do produkcji biosensorów. Możliwe jest wykorzystanie bioreceptorów w połączeniu z transduktorem, który będzie prawidłowo wykrywał reakcję analitu z bioreceptorem. Taki dobór zależy od zastosowania i uzyskania pożądanych cech przez biosensor. Przykłady takiego doboru zawiera Tabela 4.

**Tabela 4.** Przykładowy dobór bioreceptorów i transduktorów w konstrukcji biosensorów. Symbol o oznacza dobór prawidłowy, a x dobór nieprawidłowy [78].

		Rodzaj bioreceptora				
		Enzym	Tkanka	Mikroorganizm/ Komórka	Przeciwciała	Kwasy nukleinowe/ DNA
Rodzaj transduktora	Elektrochemiczny	o	o	o	o	o
	Optyczny	o	o	o	o	o
	Piezoelektryczny	o	x	x	o	x
	Termometryczny	o	x	x	o	x
	Masowy	o	x	x	o	x

Zastosowany bioreceptor definiuje co dany biosensor będzie wykrywał i jakie będzie miał zastosowanie. Możliwe jest wykorzystanie takich materiałów biologicznych jak: kwasy nukleinowe, fagi, enzymy, tkanki, przeciwciała, biomimetyczne polimery, komórki lub aptamery. Rodzaj wykorzystanego bioczujnika decyduje o powinowactwie konkretnej substancji do niego. Bioreceptor musi być stabilny podczas pomiaru i często jest unieruchamiany na transduktorze. Ten element odpowiada za detekcję reakcji biochemicznej, która zaszła w bioreceptorze. Transduktor wykrywa wielkość fizyczną, która oznacza zajście reakcji analitu z bioreceptorem. Wykrywane są takie zmiany w układzie jak przepływ ładunku elektrycznego, zmiana temperatury, emisja sygnału optycznego wprost proporcjonalna

do stężenia analitu, przyłożenie siły mechanicznej (zmiana masy), zmiana pola magnetycznego, detekcja sygnału fotoelektrochemicznego. Klasyfikacja bioczuJNIKÓW ze względu na wykorzystany bioreceptor i transduktor przedstawia Rys. 50.



Rys. 50. Klasyfikacja bioczuJNIKÓW ze względu na rodzaj wykorzystanego transduktora i bioreceptora.

Do najważniejszych cech biosensorów należą [79]:

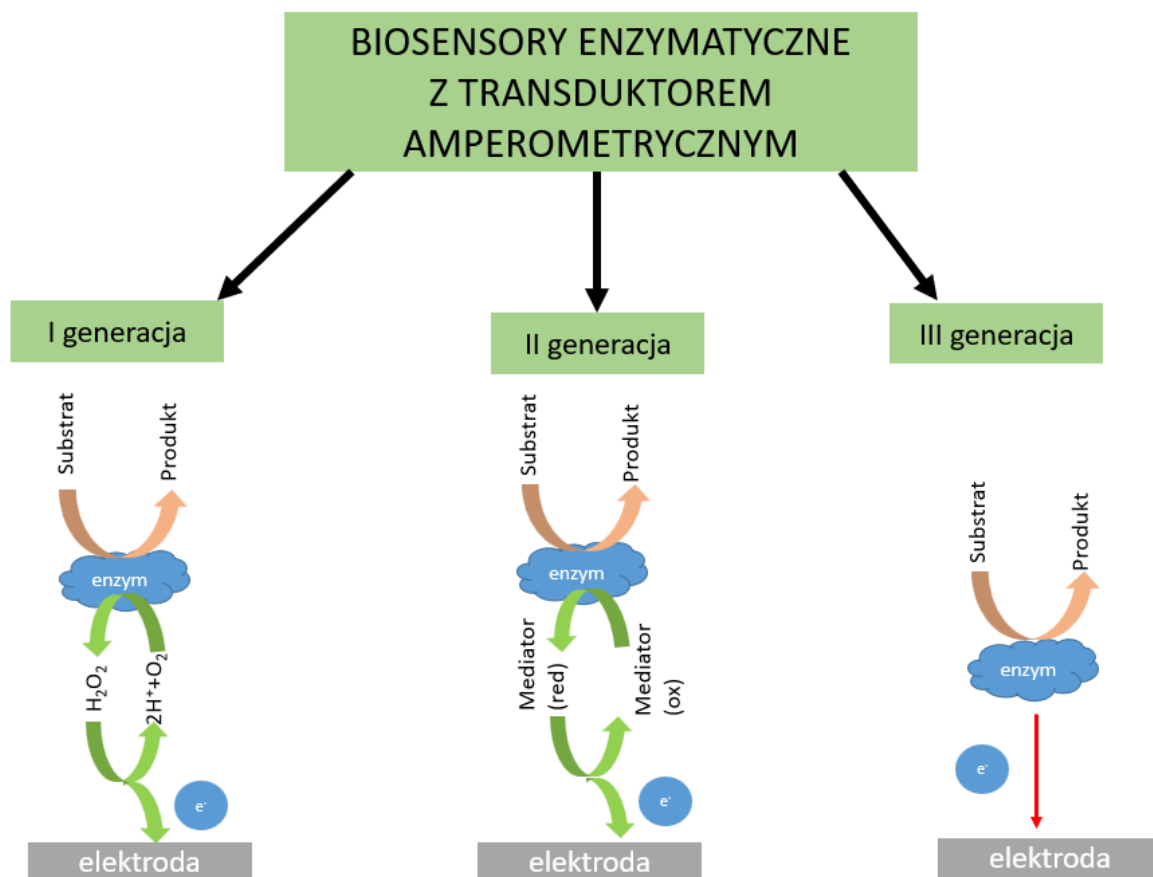
- selektywność- zdolność biosensora do pomiaru stężenia analitu znajdującego się w mieszaninie innych substancji chemicznych występujących w próbce;
- czułość- wyrażona jako nachylenie krzywej odpowiedzi biosensora, jednostką jest wartość sygnału na jednostkę stężenia lub aktywności wykrywanej substancji;
- zakres dynamiczny- zakres stężeń analitu, w których czułość jest większa od zera;
- granica detekcji- minimalna wartość stężenia analitu, którą może wykryć biosensor;
- czas odpowiedzi- czas, po którym sygnał wyjściowy biosensora osiąga 63% lub 95% jego wartości po nieskończone długim czasie ustalania się równowagi w odpowiedzi na skokową zmianę stężenia analitu;
- czas życia lub stabilność długoterminowa- czas poprawnej pracy bioczuJNIKA, dopóki wyniki otrzymane biosensorem nie wykrócą poza przyjętą niepewność pomiarową, z zaznaczeniem warunków pracy i przechowywania.

## 6.2. BIOSENSORY ENZYMATYCZNE Z TRANSDUKTOREM AMPEROMETRYCZNYM

Biocujniki, których elementem detekcyjnym jest enzym zalicza się do biosensorów enzymatycznych. Ich cechą charakterystyczną jest wysoka selektywność, ponieważ dany enzym katalizuje tylko konkretny rodzaj reakcji biochemicznej z udziałem odpowiednich substratów, zatem reaguje tylko na konkretną substancję spośród mieszaniny zawartej w badanej próbce. Dodatkową zaletą biosensorów enzymatycznych jest wzmocnienie sygnału analitycznego, co jest ważną cechą przy konstrukcji biosensorów. Wadami takich układów są działanie tylko w środowisku wodnym oraz krótka żywotność enzymu. Dodatkowo, biosensory tego typu wymagają doboru matrycy, której zadaniem jest jednoczesne unieruchomienie enzymu w celu zapobiegania wymywania go podczas używania oraz umożliwienie jak najlepszego kontaktu enzymu z transduktorem oraz analitem w celu przepływu sygnału analitycznego bez zakłóceń. Ponadto, unieruchomienie enzymu w matrycy wydłuża czas jego życia, który wynosi do dwóch dni bez wykorzystania takiej matrycy. Dobór metody immobilizacji enzymu zależy od typu wykorzystywanego enzymu oraz rodzaju katalizowanej przez niego reakcji oraz od zastosowania biocujnika [80]. Unieruchomienia enzymu można dokonać metodami fizycznymi, czyli adsorpcją i enkapsulacją lub metodami chemicznymi, jakimi są sieciowanie (ang. *crosslinking*) i wytworzenie wiązań kowalencyjnych [81],[82].

Jednym z najpopularniejszych typów biosensorów enzymatycznych są te wykorzystujące transduktor amperometryczny [83]. Twórcą pierwszego urządzenia tego typu jest amerykański biochemik Leland C. Clark Jr., który w roku 1956 opublikował pracę zawierającą opis elektrody służącej do monitorowania stężenia tlenu we krwi metodą polarografii, która później została nazwana elektrodą Clarka. Taki układ składał się z platynowej katody oraz srebrnej anody zanurzonych w elektrolicie, którym był nasycony roztwór chlorku sodu (KCl). Ogniwo elektrochemiczne było oddzielone od badanej krwi za pomocą membrany przepuszczającej tlen [84],[85]. W roku 1962 Clark oraz Champ Lyons zmodyfikowali elektrodę platynową poprzez umieszczenie na niej membrany pokrytej octanem celulozy, która była półprzepuszczalna dla gazów i umożliwiała dostęp tlenu do elektrody. Enzym, którym była oksydaza glukozy został unieruchomiony pomiędzy membraną półprzepuszczalną, a membraną dializacyjną, która zapewniała dyfuzję cząsteczek glukozy jednocześnie odfiltrując inne składniki zawarte we krwi. Spadek mierzonego stężenia tlenu był wprost proporcjonalny do stężenia glukozy. Swoją wyalazkę nazwali elektrodą enzymatyczną [86].

Wyróżnia się trzy generacje biosensorów enzymatycznych, które zostały schematycznie przedstawione na Rys. 51. Największą różnicą pomiędzy generacjami jest sposób transferu elektronu powstałego podczas reakcji substratu w obecności enzymu na elektrodę.



**Rys. 51.** Generacje biosensorów enzymatycznych z transduktorem amperometrycznym.

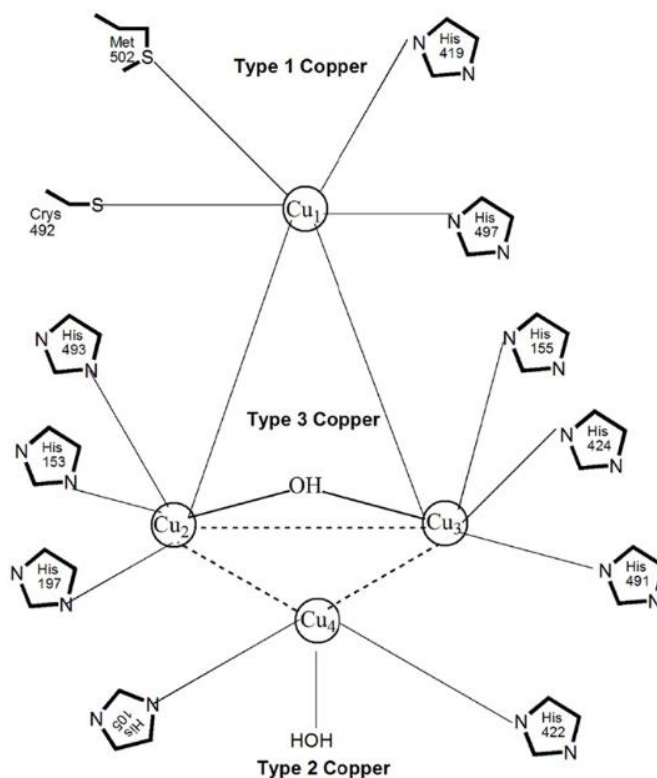
Zestawienie mechanizmów przenoszenia elektronów przez poszczególne generacje biosensorów oraz zalety i wady każdego z rozwiązań zawiera Tabela 5.

**Tabela 5.** Porównanie właściwości biosensorów enzymatycznych z transduktorem amperometrycznym różnych generacji [79].

	I generacja	II generacja	III generacja
Mechanizm detekcji	wykrywanie powstającego nadtlenu wodoru podczas reakcji redoks	zastosowanie syntetycznego mediatora, który pośredniczy w przekazywaniu elektronów	bezpośredni transfer elektronów między centrum aktywnym enzymu a powierzchnią elektrody
Zalety	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proste w konstrukcji</li> <li>• Możliwość wykorzystania w urządzeniach miniaturowych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Niewrażliwe na zmiany stężenia tlenu</li> <li>• Wyniki pomiarów nie zależą od ciśnienia parcjalego tlenu</li> <li>• Niskie potencjały pracy</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wysoka selektywność</li> <li>• Niskie potencjały pracy</li> </ul>
Wady	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wymagają wysokich potencjałów</li> <li>• Wrażliwe na wahania stężenia tlenu</li> <li>• Ryzyko denaturacji enzymu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Niestabilne podczas ciągłej pracy</li> <li>• Mediatory są toksyczne i mogą ulegać wymywaniu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trudne w konstrukcji</li> <li>• Niższa czułość niż w przypadku biosensorów II generacji</li> </ul>

## 7. ENZYM LAKAZA

Lakazy to enzymy należące do rodziny wielomiedziowych oksydoreduktaz (ang. MCOs, *Multicopper Oxidases*), które katalizują utlenianie związków aromatycznych pochodzenia naturalnego oraz związków chemicznych zaliczanych do ksenobiotyków [87]. Ten dobrze znany enzym jest szeroko stosowany w biosensoryce ze względu na jego zdolność do utleniania różnych substratów organicznych w obecności tlenu cząsteczkowego, który jest redukowany do wody bez konieczności stosowania egzogennych kofaktorów lub mediatorów przenoszenia elektronów. Wzór strukturalny lakazy przedstawia Rys. 52.



Rys. 52. Wzór strukturalny cząsteczki lakazy [88].

Lakazy pozyskuje się z grzybów, roślin, owadów i bakterii [89],[90]. Po raz pierwszy lakazę uzyskano z żywicy drzewa sumaka lakowego (łac. *Toxicodendron vernicifluum*) w roku 1883, a dokonał tego Hikorokuro Yoshida [91]. Najczęściej wykorzystuje się lakazy grzybowe, które wytwarzane są przez grzyby białej zgnilizny drewna, do których zalicza się grzyby z rodzajów wrośniaki (łac. *trametes*) i korownice (łac. *phanerochaete*). Enzymy z tej grupy są bardzo obiecujące dla rozwoju biotechnologii i mają szerokie stosowanie w wielu gałęziach przemysłu, jako przyjazne dla środowiska zastępstwo dla szkodliwych substancji chemicznych. Do obszarów zastosowań lakazy zalicza się:

- Przemysł włókienniczy- usuwanie zbędnych barwników, odbarwianie i usuwanie toksyn ze ścieków tekstylnych, wybielanie bawełny, barwienie wełny, synteza barwników [92],[94];
- Przemysł papierniczy- rozkładanie ligniny (delignifikacja) w celu produkcji celulozy, może zastąpić utlenianie z wykorzystaniem dwutlenku chloru ( $\text{ClO}_2$ ) i ozonu ( $\text{O}_3$ ) [95],[96];
- Produkcja napojów- stabilizacja i poprawa smaku wina (ograniczenie zawartości związków fenolowych), ograniczenie mętnienia i zwiększenie trwałości piwa

(usuwanie niepożądanych związków tlenowych), zmniejszenie cierpkości i obniżenie zawartości związków fenolowych w sokach [97],[98];

- Piekarnictwo- poprawianie wytrzymałości struktur glutenu, zwiększenie objętości, polepszenie struktury miększu i miękkości wypieku, zwiększenie wytrzymałości, stabilności i zmniejszenie kleistości, polepszenie obrabialności ciasta [98];
- Nanobiotechnologia- produkcja biosensorów enzymatycznych do detekcji polifenoli w sokach, herbacie i winie, ogniwa biopaliwowe [99];
- Produkcja kosmetyków- biokatalizator utleniający fenylenodiaminy i nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) w produkcji farb do włosów, dezodorantów, perfum, mydła i pasty do zębów, lakaza występuje również w kremach rozjaśniających i usuwających przebarwienia [99];
- Ochrona środowiska- wykorzystanie do bioremediacji (usuwania zanieczyszczeń) z wód i gleb [100].

Lakaza uzyskana z grzyba Gmatkówka szarawa (łac. *Cerrena unicolor*) wykazuje właściwości cytotoksyczne użyteczne w leczeniu białaczki [101], raka szyjki macicy [102] oraz raka okrężnicy [103], dlatego też są prowadzone badania nad zastosowaniem tego enzymu w medycynie.

#### 7.1. WYKORZYSTANIE LAKAZY W OCZYSZCZANIU ZBIORNIKÓW WODNYCH

Najpopularniejszym zastosowaniem lakazy jest wykorzystywanie jej do usuwania zanieczyszczeń ze środowiska [104]. Ze względu na swoje właściwości utleniające lakaza jest wykorzystywana do oczyszczania wód z zanieczyszczeń ksenobiotykami z grupy fenoli, chlorofenoli i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Klasyczne metody oczyszczania wód są kosztowne i wymagają specjalistycznego sprzętu, zatem lakaza jest wydajnym, opłacalnym i przyjaznym dla środowiska sposobem na bioremediację zbiorników wodnych [105]. W tym celu wykorzystuje się lakazy pochodzące z grzybów, bakterii i roślin [106]. Nie wszystkie substancje mogą być bezpośrednio utleniane przez lakazę z powodu dużego rozmiaru cząsteczki lub wysokiego potencjału redoks. W celu eliminacji tego problemu wykorzystuje się mediatory chemiczne takie jak często wykorzystywany ABTS (kwas 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy), który jest utleniany przez lakazę, a jego utleniona forma wchodzi w reakcje chemiczne z ksenobiotykami zawartymi w wodzie [107]. Oczyszczanie polega na enzymatycznym utlenianiu zanieczyszczeń do wolnych rodników albo chinonów, ulegających następnie polimeryzacji oraz częściowemu wytrąceniu. Produkty biokatalizy mają obniżoną toksyczność lub są obojętne dla środowiska, a część substancji ulega całkowitemu rozkładowi [106].

## 8. PARAMETRY BIOSENSORÓW

Podczas pomiarów w roztworze wzorcowym ze stopniowym dodawaniem mediatora w coraz większych stężeniach wykonuje się pomiary określające parametry operacyjne skonstruowanych biosensorów, które definiują jego najważniejsze cechy oraz ich aplikacyjność. W niniejszym rozdziale zebrano parametry określone dla konstruowanych biosensorów.

### 8.1. LINIOWOŚĆ

Liniowość jest parametrem określającym dokładność uzyskanego sygnału w odpowiedzi na serię pomiarów o różnych stężeniach mediatora. Ten parametr definiuje rozdzielczość biosensora, którą jest minimalna zmiana docelowego stężenia analitu wywołująca reakcję biosensora. Jest to bardzo ważna cecha biosensora, ponieważ większość zastosowań wymaga pomiaru danej substancji w szerokich zakresach stężeń [108].

### 8.2. CZUŁOŚĆ

Czułość to zależność pomiędzy zmianą stężenia analitu a intensywnością sygnału generowanego przez transduktor. W idealnym przypadku biosensor powinien generować sygnał w odpowiedzi na niewielkie wahania stężenia docelowej substancji [109].

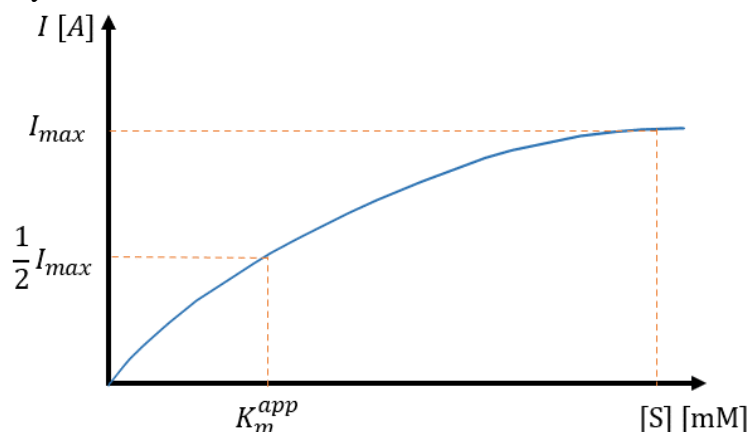
### 8.3. POZORNA STAŁA MICHAELISA- MENTEN

Pozorna stała Michaelisa- Menten określa powinowactwo enzymu do substratu. Definiuje się ją jako stężenie substratu konieczne do osiągnięcia szybkości reakcji enzymatycznej równej połowie wartości maksymalnej [110]. Szybkość reakcji w stanie równowagi,  $v$  wyznacza się z zależności:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m^{app} + [S]} \quad (66)$$

gdzie  $V_{max}$  oznacza maksymalną prędkość reakcji,  $[S]$  to stężenie substratu, a  $K_m^{app}$  to wartość pozornej stałej Michaelisa- Menten.

Ze względu na charakter prowadzonych badań (wzorcowanie biosensorów amperometrycznych) w niniejszej pracy wartość szybkości reakcji enzymu z substratem jest zastąpiona wartością prądu wykrytego na elektrodzie pracującej. Szybkość reakcji enzymatycznej jest wprost proporcjonalna do wykrytego prądu w układzie. Wartość prądu wzrasta wraz ze stężeniem substratu do momentu nasycenia roztworu. Zależność ta została przedstawiona na Rys. 53.



**Rys. 53.** Wykres przedstawiający wielkości użyte do wyznaczenia pozornej stałej Michaelisa- Menten.



## 9. KSENOBIOTYKI

Ksenobiotyki są grupą substancji chemicznych, które nie występują naturalnie, są obce dla organizmu ludzkiego a pomimo to wchodzą w reakcje biochemiczne, gdy znajdują się w nim. Ponadto, niektóre z nich ulegają biokumulacji w tkance tłuszczowej. Fazy metabolizmu ksenobiotyków w organizmie człowieka to: wchłanianie, rozmieszczenie (dystrybucja), biotransformacja (przemiany biochemiczne) i wydalenie. Do dróg jakimi związki tego typu dostają się do organizmu należą: wdychanie zanieczyszczonego powietrza, wchłanianie przez skórę oraz droga pokarmowa, w tym spożywanie wody pitnej. Główne źródła ksenobiotyków to:

- leki: antybiotyki, leki cytotoksyczne, środki anestetyczne, substancje bardzo silnie działające (środki lecznicze znajdujące się w „wykazie A” kodeksu aptecznego [111]), niektóre leki przeciwbólowe np. ibuprofen, diklofenak;
- środki ochrony roślin: pestycydy, fungicydy, herbicydy;
- środki owadobójcze;
- dodatki do żywności: barwniki, konserwanty, aromaty;
- metale ciężkie: rtęć, ołów, kadm;
- substancje wydzielane podczas spalania odpadów np. dioksyne;
- substancje dodawane do kosmetyków;
- mikotoksyny;
- zanieczyszczenia środowiska pochodzenia zawodowego i komunalnego np. bisfenol A, polichlorowane bifenyle (PCB).

Działanie ksenobiotyków na organizmy żywe ma pozytywne i negatywne konsekwencje uzależnione w głównej mierze od koncentracji tych substancji. Należy zaznaczyć, że pewne niewielkie dawki ksenobiotyków nie powodują zaburzeń zdrowotnych, ponieważ organizm jest w stanie samodzielnie wydaląć toksyny poprzez skórę, układy moczowy, pokarmowy i oddechowy. Ponadto, mikroflora jelitowa potrafi neutralizować lub zmniejszać toksyczność ksenobiotyków [112]. Pewne substancje z tej grupy mają właściwości lecznicze np. niszczą komórki nowotworowe, zabijają groźne dla człowieka bakterie.

W organizmie człowieka ksenobiotyki powodują wiele chorób i zaburzeń. Są przyczyną m.in. zaburzeń regulacji procesów rozrodczych [113], zaburzeń hormonalnych związanych z nieprawidłową syntezą, metabolizmem i wiązaniem estrogenów powodującym przedwczesne dojrzewanie płciowe [114], obniżenia ruchliwości plemników [115]. Oddziaływanie na układ hormonalny może mieć również negatywne skutki długoterminowe [116]. Mikotoksyny oprócz mutagenności i onkogenności wykazują działanie immunotoksyczne i teratogenne (powodują wady rozwoju płodu) [117]. Ponadto, ksenobiotyki działają genotoksycznie na błony śluzowe jamy ustnej i gardła [118], wpływają na mikroflorę jelitową zwiększając ryzyko stanów zapalnych w jelitach [112], powodują łuszczycę [119], choroby autoimmunologiczne [120], marskość wątroby [121], wykazują działanie mutagenne i onkogenne [122],[123]. Istnieją dowody na powodowanie raka jelita grubego i wątroby przez ksenobiotyki [112],[121],[124].

Ksenobiotyki są uznawane za jeden z najpoważniejszych problemów ekologicznych powodujących zanieczyszczenia powietrza, wód i gleby oraz wykazujących toksyczne działanie na zwierzęta. Zawartość ksenobiotyków w środowisku naturalnym podlega monitoringowi. Maksymalne dopuszczalne stężenia ksenobiotyków w wodzie pitnej są zdefiniowane w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia Dz. U. 2017 poz. 2294 (Tabela 6) [125].

**Tabela 6.** Maksymalne dopuszczalne stężenia ksenobiotyków w wodzie pitnej na terenie Polski.

Substancja	Maksymalne dopuszczalne stężenie
Benzo(a)piren	0,010 µg/l
Kadm	5,0 µg/l
Ołów	10 µg/l
Pestycydy (dotyczy jednej substancji)	0,10 µg/l
Pestycydy (suma wszystkich substancji tego typu)	0,50 µg/l
Rtęć	1,0 µg/l
Trichloroeten i tetrachloroeten (łącznie)	10 µg/l
Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne	0,10 µg/l
Trihalometany	100 µg/l

Istnieją 3 główne rodzaje źródeł zanieczyszczeń wody wprowadzających ksenobiotyki do tego ekosystemu:

- obszarowe- pochodzą z terenów rolnych, leśnych, aglomeracji miejskich i zakładów przemysłowych;
- punktowe- wycieki ze zbiorników lub rur odprowadzających ścieki do rzek;
- liniowe- zanieczyszczenia z dróg transportowych i linii kolejowych.

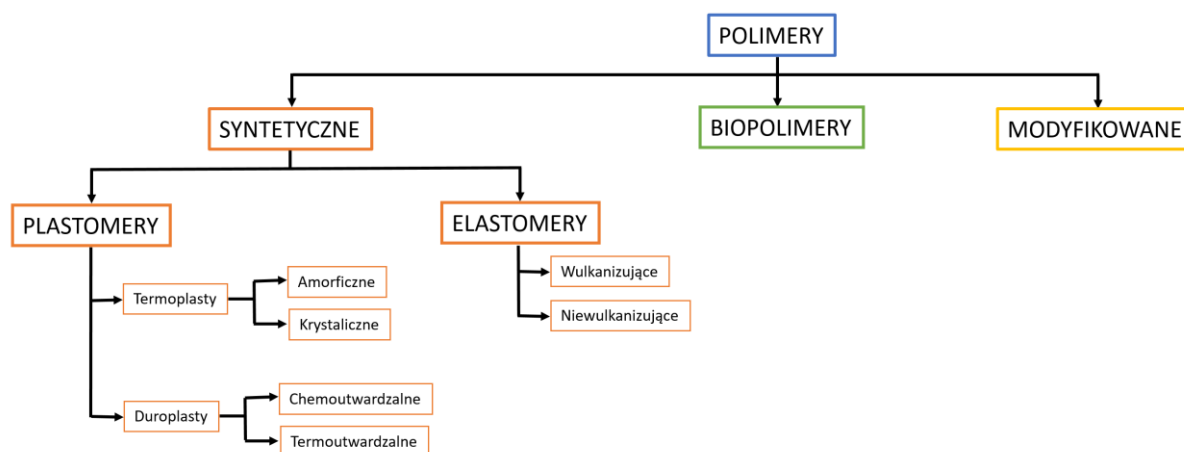
Zanieczyszczenia z gleb i dróg przenoszą się wraz z wymywaniem ich przez wodę deszczową. Obecność ksenobiotyków w zbiornikach wodnych powoduje nie tylko skażenie wody pitnej, ale też jest szkodliwe dla zwierząt wodnych. Przykładem szkodliwego działania związków chemicznych z tej grupy na zwierzęta są choroby nowotworowe u ryb [126].

## 10. ZASTOSOWANIE TECHNIKI PALS W BADANIACH NANOSTRUKTURY POLIMERÓW

### 10.1. OGÓLNY PODZIAŁ POLIMERÓW

Polimery są substancjami chemicznymi o charakterystycznej budowie- składają się z pojedynczych cząstek, zwanych merami. Polimery powstają w procesie polimeryzacji, podczas którego pojedyncze mery łączą się ze sobą tworząc makrocząsteczki o budowie łańcuchowej. Ogólny podział materiałów polimerowych przedstawia Rys. 54. Wyróżnia się 3 grupy polimerów ze względu na ich pochodzenie:

- syntetyczne- polimery syntezowane przez człowieka, monomery pozyskuje się z ropy naftowej oraz różnych rodzajów syntezy chemicznej;
- biopolimery- polimery pochodzenia naturalnego, wytwarzane przez organizmy żywe;
- polimery półsyntetyczne (modyfikowane)- polimery pochodzenia naturalnego (najczęściej polisacharydy), które zostały zmodyfikowane chemicznie w celu zmiany ich własności użytkowych.



Rys. 54. Ogólny podział polimerów.

Polimery syntetyczne dodatkowo dzielą się na plastomery i elastomery. Pierwsze z nich charakteryzują się brakiem podatności na odkształcenia pod wpływem naprężeń. Plastomery dzieli się na termoplasty, które pod wpływem wysokich temperatur stają się miękkie i plastyczne. Po ochłodzeniu przyjmują nadany im kształt. Proces uplastycznienia można powtarzać wielokrotnie. Przykładami termoplastów są polietylen (PE), poliamidy (PE), polipropylen (PP), polichlorek winylu (PVC) oraz poli(tereftalan etylenu) (PET). Ze względu na budowę dzieli się je na amorficzne i krystaliczne.

Drugą grupą plastomerów są duroplasty, których utwardzenie jest nieodwracalne. Do ich utwardzania wykorzystuje się temperatury (termoutwardzalne) lub odpowiednich substancji chemicznych (chemoutwardzalne). Przykładami duroplastów są: poli(tlenek etylenu) (PEG), poli(octan winylu) (PVA) oraz poliacetylen (PAC). Polimery z grupy elastomerów charakteryzują się dużą sprężystością i podatnością na odwracalne odkształcenia elastyczne. Elastomery dzieli się na wulkanizujące, które poddaje się procesowi wulkanizacji w celu sieciowania cząsteczek polimeru i niewulkanizujące, których nie poddaje się wulkanizacji. Przykładami elastomerów są: kauczuk syntetyczny, guma, silikon.

Zaletami polimerów są ich lekkość, wysoka wytrzymałość, wysoka odporność na czynniki chemiczne oraz właściwości izolacyjne dla prądu i temperatury oraz ich plastyczność. Wadami natomiast są mała twardość i sztywność, mała odporność na temperaturę oraz promienie ultrafioletowe, ograniczona wytrzymałość mechaniczna, skomplikowany proces produkcji oraz bardzo długi okres rozkładu, co się wiąże z uciążliwością dla środowiska naturalnego. Tworzywa sztuczne znajdują bardzo liczne zastosowania w wielu gałęziach przemysłu (np. kosmetyczny, włókienniczy), medycynie [127], meblarstwie, budownictwie, produkcji opakowań, elektronice, budowie urządzeń mechanicznych (np. samochodów, maszyn przemysłowych) oraz w produkcji przedmiotów używanych w gospodarstwie domowym.

## 10.2. BIOPOLIMERY

Biopolimery są szczególną grupą polimerów naturalnie występujących w żywych organizmach lub też produkowanych przez organizmy żywe. Stanowią budulec wielu struktur organicznych. Wśród biopolimerów wyróżniamy główne grupy: polisacharydy (skrobia, celuloza, chityna, chitozyna, kwas hialuronowy), polipeptydy (kolagen, elastyna, keratyna) i polinukleotydy (DNA, RNA) oraz lipidy. Do biopolimerów zalicza się również melaniny [128], ligniny [129], poliestry [130] oraz poliizopreny [131].

Biopolimery pochodzą więc ze źródeł naturalnych i z uwagi na biodegradowalność uznawane są za nieszkodliwe dla środowiska naturalnego. Do zalet biopolimerów należą: biokompatybilność, łatwa dostępność ze względu na ich pochodzenie i biodegradowalność. Biopolimery są stosowane m. in. w produkcji biodegradowalnych opakowań [132] oraz medycynie [133]. Źródłem biopolimerów mogą być rośliny (np. kukurydza, len, bawełna, drewno, ziemniaki, trzcina cukrowa, wodorosty), zwierzęta (np. chityna głowonogów, kokony jedwabników, kolagen zwierzęcy) oraz mikroorganizmy (bakterie i grzyby).

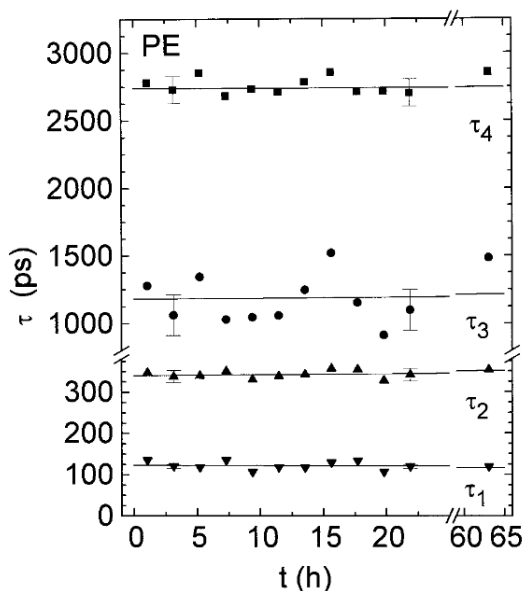
Wskutek chemicznej modyfikacji biopolimerów powstają polimery półsyntetyczne, do których można zaliczyć np. octan celulozy, azotan celulozy, Rayon, chitozan i poli(alkohol winylowy) (PVA). Octan celulozy powstaje poprzez reakcję celulozy z kwasem octowym w obecności katalizatora. Ten polimer jest wykorzystywany do produkcji membran filtrujących [134], włókien (jedwab octanowy) [135], w przemyśle farmaceutycznym [136] i kosmetycznym [137], jako materiał antyrefleksyjny w produkcji okularów oraz filmu wykorzystywanego w fotografii. Inną pochodną celulozy jest azotan celulozy, który charakteryzuje się wysoką łatwopalnością oraz właściwościami wybuchowymi. Jest stosowany do produkcji klejów oraz farb. Rayon jest polimerem syntezowanym na bazie celulozy pozyskiwanej z pulpy drzewnej lub bawełny szeroko stosowanym w produkcji tekstyliów. Włókna Rayonu charakteryzują się miękkością oraz wysoką wytrzymałością. Chitozan jest otrzymywany z chityny i znajduje bardzo szerokie zastosowanie w medycynie i weterynarii [138], rolnictwie, produkcji żywności, kosmetologii, przemyśle tekstylnym i papierniczym [139]. Polimer PVA otrzymuje się za pomocą hydrolizy poli(octanu winylu), który jest stosowany w przemyśle i medycynie oraz do produkcji nici chirurgicznych, lakierów, żywic i opakowań do żywności [140].

## 10.3. WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI POLIMERÓW I BIOPOLIMERÓW NA POZIOMIE ICH NANOSTRUKTURY

Ze względu na amorficzną budowę polimery mogą charakteryzować się wolnymi objętościami o zróżnicowanych kształtach (pod względem rozmiarów oraz geometrii), lokalizacji (pomiędzy łańcuchami, w obszarze grup funkcyjnych) oraz różnej ich koncentracji. Rozmiary tych wolnych objętości ulegają zmianie pod wpływem temperatury, ciśnienia czy sorpcji gazów oraz cieczy, co jest często przedmiotem badań techniką spektroskopii czasów

życia pozytonów i dostarcza danych na temat nanostruktury polimeru i jej zmian wywołanych działaniem czynników zewnętrznych [141],[142].

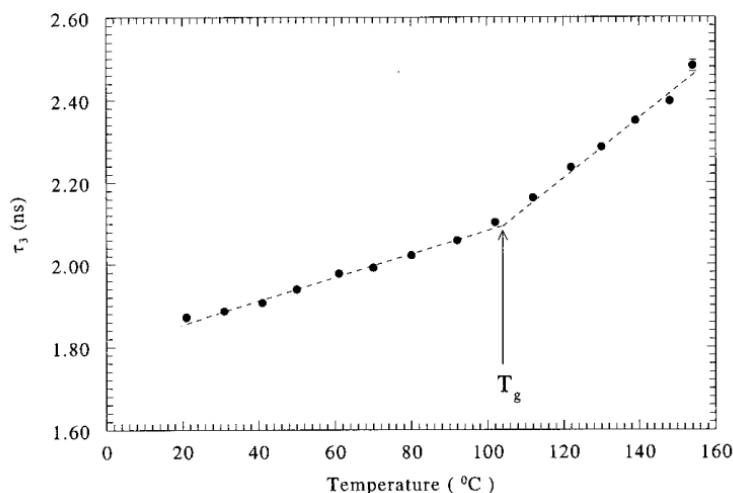
W polimerach najczęściej spotykane są wolne objętości o promieniach 0,1-1 nm. W widmie PALS polimerów występuje 3 lub więcej składowych, co świadczy o obecności różnych rodzajów wolnych nanoobjętości w badanym materiale. Przykładowe wyniki otrzymane dla polietylenu (PE) w temperaturze 300K (26,85°C) przedstawia Rys. 55 [143].



**Rys. 55.** Czas życia czterech składowych w funkcji czasu otrzymanych podczas badań polietylenu (PE) [143].

W polimerach może również dochodzić do pułapkowania elektronów wewnątrz wolnych objętości, w szczególności gdy badany materiał znajduje się w niskiej temperaturze, co objawia się narastaniem natężenia *o*-Ps w funkcji czasu. Zmiana tego parametru jest skorelowana z liczbą spułpkowanych elektronów oraz mobilnością pozytonów [144]-[146].

Zmiany czasów życia i natężeń *o*-Ps pod wpływem temperatury wynikają z rozszerzalności cieplnej polimeru oraz towarzyszą przejściom fazowym w polimerach. Na podstawie otrzymanych danych możliwe jest wyznaczenie temperatury przejść fazowych. Charakterystyczną cechą polimerów stanowią przejścia fazowe z fazy szklistej do elastycznej, które można zaobserwować m.in. na podstawie zmian parametrów PALS, jak to przedstawia przykładowy wykres czasu życia *o*-Ps w funkcji temperatury w PMMA (Rys. 56). Istnienie korelacji pomiędzy rozmiarami wolnych objętości, a przejściem do innej fazy pozwala na określanie temperatury przejścia fazowego na podstawie zmian średniego czasu życia *o*-Ps [147].



**Rys. 56.** Zależność czasu życia *o*-Ps ( $\tau_3$ ) od temperatury w polimetakrylanie metylu (PMMA). Przejście fazowe oznaczono jako  $T_g$  [146].

Wykorzystanie próbnika pozytonowego pozwala badać m. in. wpływ temperatury, wpływ dodawania domieszek na nanostrukturę, właściwości mechaniczne oraz sorpcyjne [148],[149].

Wykorzystanie techniki PALS w badaniach polimerów może nie tylko dostarczyć szczegółowych danych o nanostrukturze tej grupy materiałów, które ich definiują właściwości w makroskali. Dzięki badaniom tego typu można stwierdzić aplikacyjność badanego polimeru w danym obszarze np. nanotechnologia, medycyna, nauki biologiczne, w których bardzo powszechne jest zastosowanie polimerów. Badania tego typu mogą również pomóc w teoretycznym opisie zjawisk fizycznych [142], [146]-[151].

Badania biopolimerów z wykorzystaniem próbnika pozytonowego umożliwiają analizę ich właściwości m. in. wpływu stężenia lub obróbki chemicznej na nanostrukturę, właściwości sorpcyjnych lub mechanicznych, rozpuszczalności w wodzie i innych cieczach. Dzięki badaniom PALS możliwe jest również zweryfikowanie potencjalnej aplikacyjności np. w medycynie oraz w produkcji przedmiotów codziennego użytku (zwłaszcza jednorazowych) w celu zastąpienia syntetycznych polimerów uciążliwych dla środowiska naturalnego [148],[152]-[156].

Dotychczasowe badania prowadzone w zakresie matryc biopolimerowych dotyczyły związków na bazie ureazy (organiczno-nieorganiczny hybrydowy ureakrzemian). Badania obejmowały porównanie próbek świeżych (mających 2 miesiące) oraz przechowywanych przez rok [157],[158]. Inne badania były skoncentrowane na matrycach wykorzystujących ureazy z modyfikacjami w postaci dodania chalkogenu  $As_2S_3$  w celu uzyskania kompozytu oraz dodanymi nanocząstkami srebra lub złota [159],[160]. Oprócz matryc na bazie ureazy, badane były matryce zsyntezowane metodą fotopolimeryzacji na bazie epoksydowanego oleju lnianego (ELO) z dodaniem eteru diglicydylowego bisfenolu A (RD), a jako fotoinicjator został wykorzystany heksafluorofosforan triarylosulfoniowy (PI) [161],[162]. Powstały również publikacje porównujące właściwości matryc na bazie ureazy oraz epoksydowanego oleju lnianego [163],[164]. Prowadzono również badania z matrycami uzyskanymi z mikroporowatych włókien węglowych [165].

#### 10.4. MATRYCE POLIMEROWE

Polimery są szeroko stosowane jako baza do dodawania do nich różnych substancji czynnych chemicznie i funkcjonalnych nanoobjektów, które nadają polimerom różne

właściwości użytkowe, których nie są w stanie osiągnąć „czyste” polimery. Przykładami nanoobjektów dodawanych do polimerów mogą być nanocząstki, kropki kwantowe, nanorurki lub włókna. Skutkiem użycia dodatku może być zwiększenie wytrzymałości, sztywności lub odporności na ścieranie. W ten sposób powstają materiały znane jako kompozyty na osnowie polimerowej (ang. PMC, *Polymer Matrix Composite*), które są materiałami wielofazowymi. Składają się one z osnowy polimerowej oraz materiału, który definiuje właściwości kompozytu. Takie kompozyty znajdują zastosowanie m. in. w lotnictwie, budowie statków oraz produkcji sprzętu sportowego. Innym bardzo ważnym zastosowaniem polimerów jest produkcja matryc zwiększających lub definiujących właściwości detekcyjne sensorów mikroelektromechanicznych (ang. MEMS, *Micro Electro Mechanical Systems*) [166], [167] oraz biosensorów [168]-[170]. Dodanie substancji aktywnych chemicznie do matryc biosensorów elektrochemicznych zwiększa ich zdolność do przewodzenia elektronów oraz nadaje im unikalne właściwości chemiczne i biochemiczne. Taka matryca również unieruchamia enzym na powierzchni elektrody umożliwiając współimmobilizację innych cząstek np. mediatora [171].

## 11. HIPOTEZA I CEL BADAŃ

W niniejszej pracy postawiono hipotezę występowania korelacji między budową biopolimerów na poziomie nanoskali, a parametrami detekcyjnymi biosensorów. Matryce biopolimerowe mają mieć własności sorpcyjne i jednocześnie unieruchamiać enzym na powierzchni elektrody pracującej. Własności te wynikają nie tylko ze składu chemicznego biopolimerów, ale również z ich budowy na poziomie nanoskali.

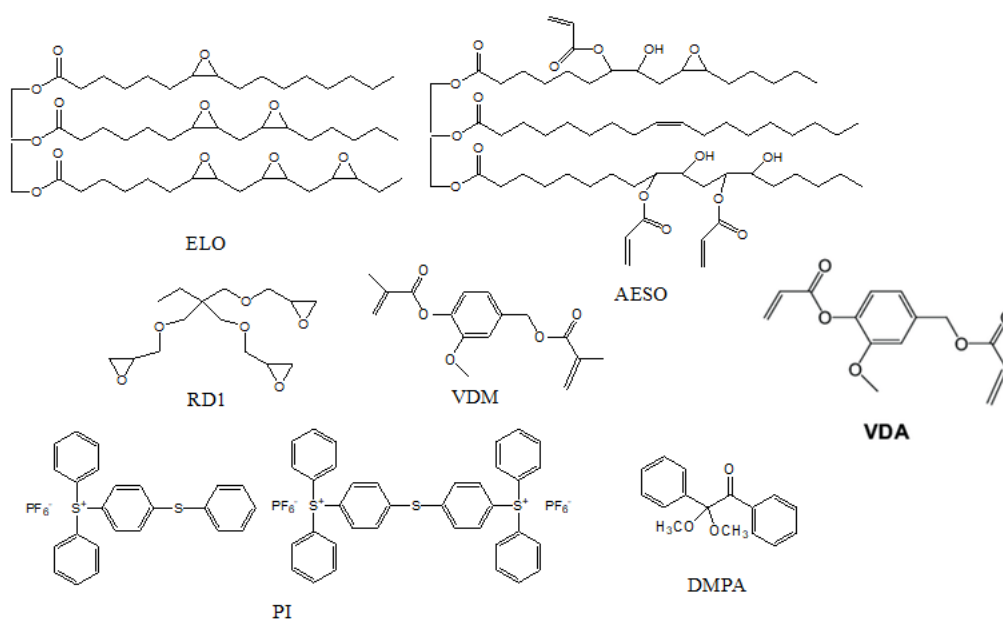
Celem pracy było zatem zbadanie nanostruktury matryc biopolimerowych oraz wyłonienie matrycy biopolimerowej o najlepszych parametrach detekcyjnych do określania stężenia ksenobiotyków. Przyjęto, że sorpcja cieczy zależna jest od rozmiarów wolnych objętości oraz chemicznych właściwości biopolimeru stanowiącego matrycę. Kluczowe parametry wpływające na nanostrukturę to m.in. stopień usieciowania i rozpuszczalność w wodzie. W związku z tym testowano różne pod względem składu matryce biopolimerowe i prowadzono badania z wykorzystaniem pozytonowego próbnika nanostruktury celem określenia rozmiarów nanoobjętości. Badania te obejmowały: pomiary w określonych temperaturach, stabilność układu, reakcji na stres termiczny, określanie punktów przejść fazowych, ewolucję rozmiarów nanostruktury w zmieniających się warunkach termicznych.

Biosensory są stosowane w warunkach rzeczywistych w temperaturze pokojowej, jednak badania nanostruktury przeprowadzono również w szerszym zakresie temperatur dla sprawdzenia wydajności matryc w innych warunkach pomiarowych. Zaplanowano sprawdzenie przebiegu procesu sorpcji i desorpcji w wyselekcjonowanych matrycach zarówno w warunkach laboratoryjnych jak i na cieczach pobranych ze zbiorników naturalnych. Zaplanowano również testowanie matryc technikami elektrochemicznymi w celu określenia parametrów detekcyjnych biosensorów powstałych na ich bazie.



## 12. BADANE MATRYCE BIOPOLIMEROWE

W ramach niniejszej pracy zostały zbadane dwie grupy matryc. Wszystkie próbki zostały zsyntetyzowane przez zespół naukowców z Litwy w ramach polsko-ukraińsko-litewsko-słowackiej współpracy naukowej. Pierwsza grupa składała się 4 próbek, gdzie dwie z nich były na bazie epoksydowanego oleju lnianego ELO, a pozostałe dwie zsyntetyzowano na bazie akrylowanego epoksydowanego oleju sojowego (AESO), które uzyskano metodami fotopolimeryzacji [172]-[174]. Jest to proces polimeryzacji monomerów w obecności światła widzialnego lub ultrafioletowego, który z reguły dzieje się w obecności fotoinicjatora wytwarzającego centra aktywne (kation, anion, wolny rodnik) podczas swojego rozpadu. Na Rys. 57 pokazano schematycznie strukturę związków użytych do produkcji matryc biopolimerowych.



**Rys. 57.** Struktura związków budujących matryce biopolimerowe [175].

Pierwsza grupa badanych matryc składała się z następujących próbek (Rys. 58) [175]:

- ELO/PI- matryca na bazie epoksydowanego oleju lnianego zawierająca fotoinicjator PI;
- ELO/10RD1/PI- matryca na bazie epoksydowanego oleju lnianego zawierająca 10 mol. % eteru trójglicydylowego trimetylopropanu (RD1) w celu poprawy gęstości usieciowienia otrzymanego biopolimeru oraz fotoinicjator PI;
- AESO/VDM- matryca na bazie akrylowanego epoksydowanego oleju sojowego, zawierająca dimetakrylan waniliny (VDM) jako plastyfikator w stosunku molowym monomerów 1:0,5; matryca nie zawiera fotoinicjatora;
- AESO/VDM/DMPA- matryca o podobnym składzie do powyższej, różni się zastosowaniem fotoinicjatora w postaci 2,2-dimetoksy-2-fenylacetofenonu (DMPA) w stężeniu 3 mol. %.



**Rys. 58.** Pierwsza grupa badanych matryc biopolimerowych: a) AESO/VDM, b) ELO/PI, c) AESO/VDM/DMPA, d) ELO/10RD1/PI [175].

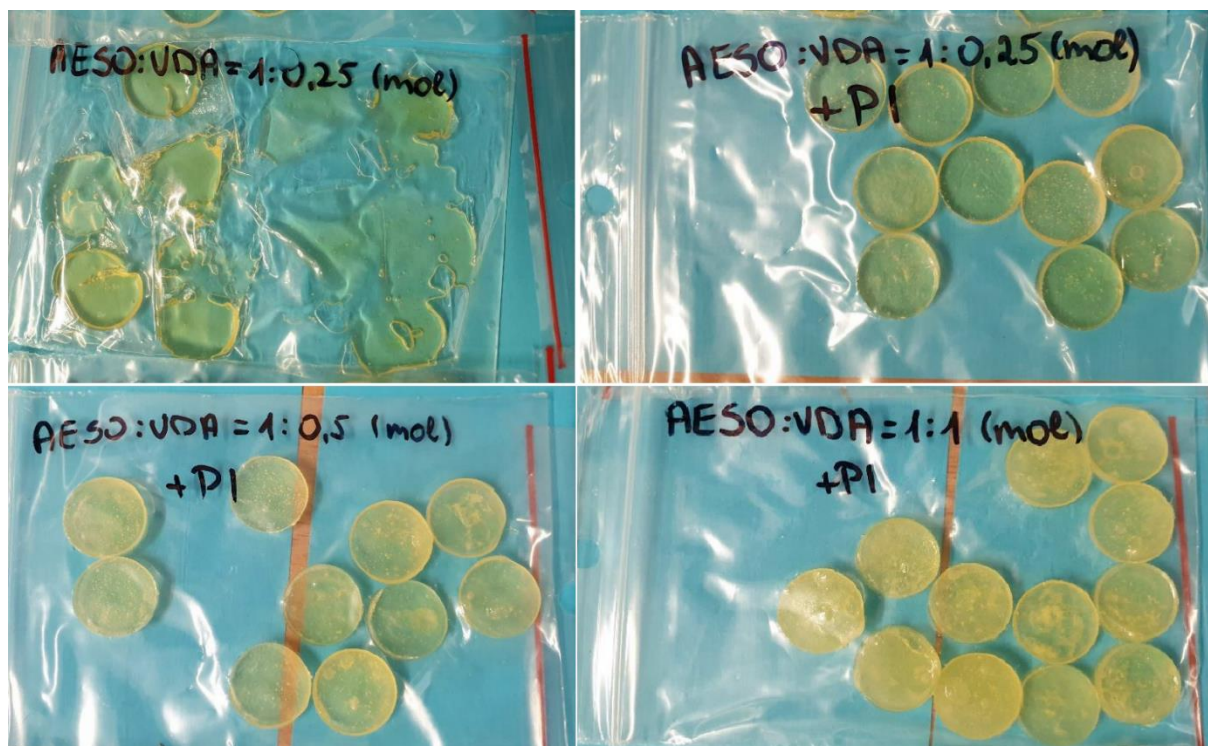
Każda z próbek jest przezroczysta i ma barwę jasnożółtą. Średnica badanych próbek to 15 mm, zaś grubość wynosi 3 mm.

W skład drugiej grupy badanych matryc wchodziło 12 próbek zsyntetyzowanych na bazie AESO. Dwie z nich były pozbawione substancji zwiększających lepkość. Była to próbka czystego AESO oraz AESO z fotoinicjatorem PI (Rys. 59). Matryce różnią się od siebie właściwościami fizycznymi. Próbka AESO jest półtwarda i kleista, zaś AESO+PI jest twarda i pozbawiona kleistości. Wspólnymi cechami obu matryc są przezroczystość i jasnożółta barwa.



**Rys. 59.** Próbkę AESO oraz AESO+PI.

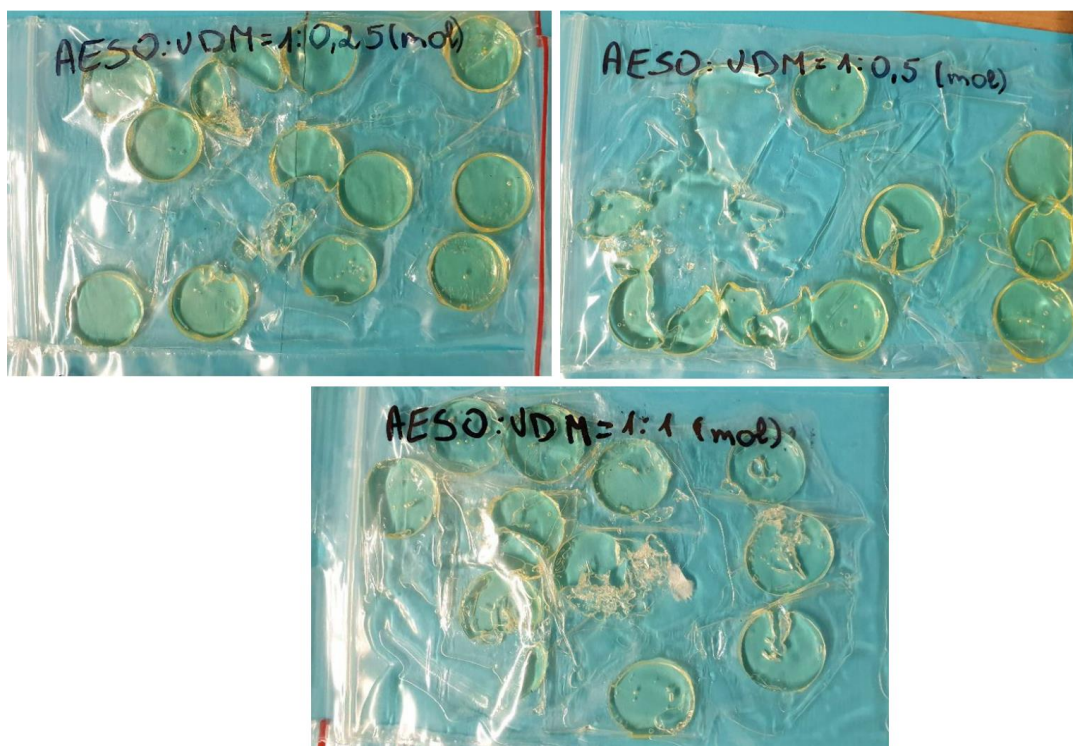
Kolejnym rodzajem badanych próbek były matryce zawierające w swoim składzie diakrylan waniliny (VDA) w różnej koncentracji, którego rolą było zwiększenie lepkości uzyskanej próbki [173],[176]. Próbki zawierające VDA przedstawia Rys. 60.



**Rys. 60.** *Próbki zawierające diakrylan waniliny.*

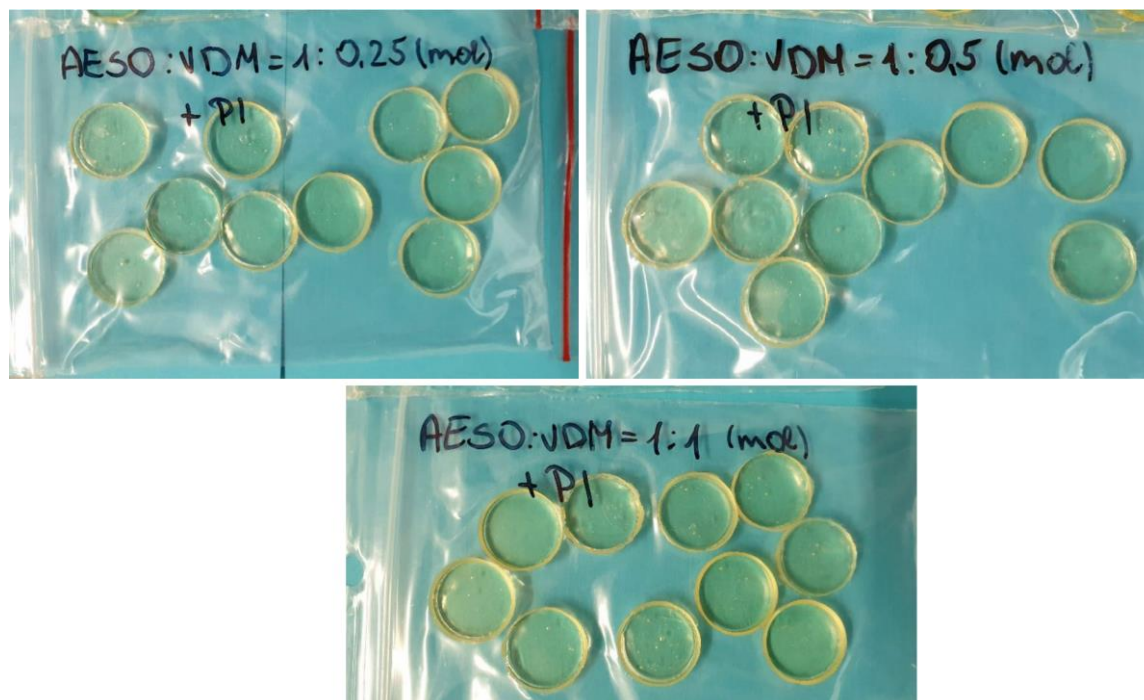
Próbki zawierające VDA wykazują widoczne różnice twardości, lepkości i przezroczystości. Jedyna w tym zestawieniu próbka pozbawiona PI jest miękka, kleista, galaretowata i uległa częściowemu rozpuszczeniu. Próbka zawierająca PI i mieszaninę AESO i VDA w stosunku molowym 1:0,25 jest przezroczysta w przeciwieństwie do próbek zsyntezowanych z mieszanin w stosunkach molowych 1:0,5 oraz 1:1, które są mętne. Ponadto, barwa próbek zawierających PI jest coraz ciemniejsza wraz ze zwiększaniem stosunku molowego substancji zawartych w matrycach.

Trzecim rodzajem matryc są próbki zawierające dimetakrylan waniliny (VDM) w swoim składzie, który zawiera dwie grupy metylowe więcej niż VDA. Rola VDM jest taka sama jak w przypadku substancji VDA, czyli zwiększenie lepkości. Zostało zsyntezowanych 6 próbek, z czego 3 zawierają fotoinicjator PI. Próbki zawierające tylko AESO i VDM znajdują się na Rys. 61, natomiast matryce zawierające dodatkowo substancje PI przedstawia Rys. 62.



*Rys. 61. Próbki zawierające dimetakrylan waniliny.*

Wszystkie matryce syntetyzowane bez użycia fotoinicjatora są miękkie, galaretowate, kleiste, jasnożółte i przezroczyste. Pozostałe 3 matryce zawierające fotoinicjator są twarde i również jasnożółte oraz przezroczyste.



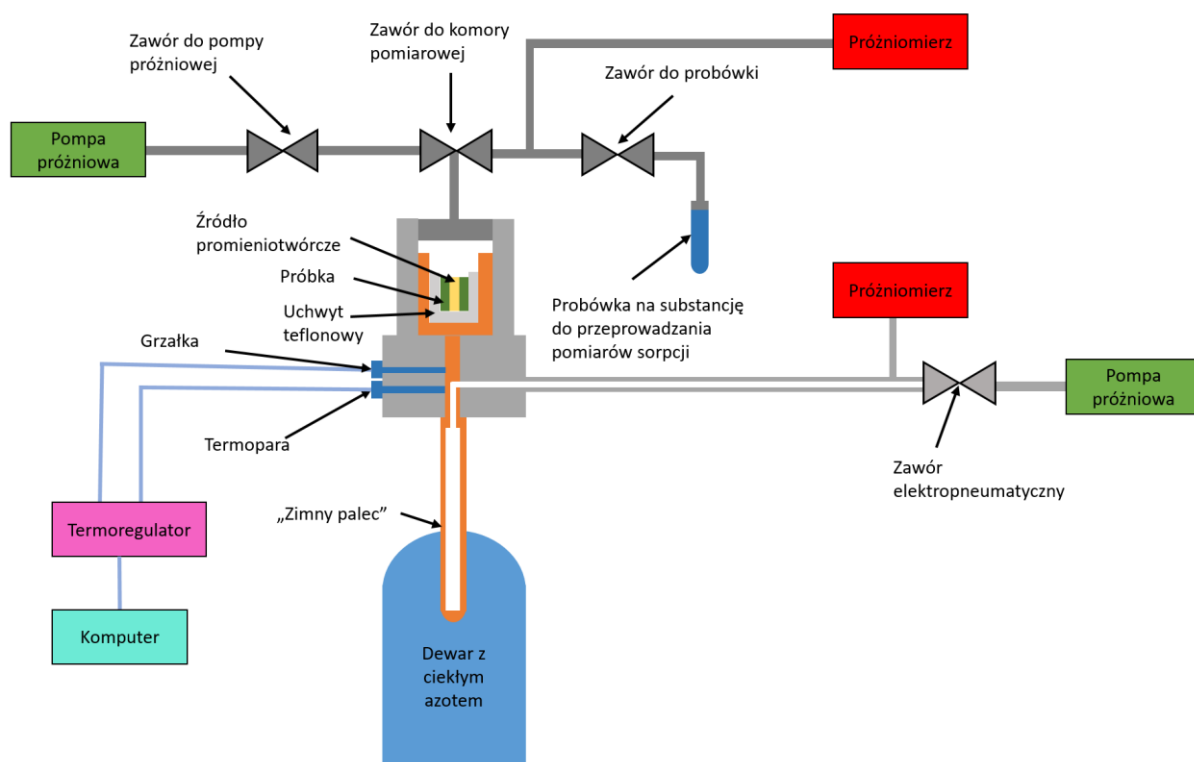
*Rys. 62. Próbki zawierające dimetakrylan waniliny i heksafluorofosforan triarylosulfoniowy.*

## 13. PRZYGOTOWANIE POMIARÓW

### 13.1. METODYKA POMIARÓW PALS

Pomiary techniką PALS zostały wykonane w układzie widocznym na Rys. 63. Układ dawał możliwość regulacji temperatury za pomocą termoregulatora *Shimaden FP 21* [177] sprzężonego z zasilaczem grzałki. Termoregulator odczytywał temperaturę w komorze za pomocą czujnika termoparowego znajdującego się w dnie komory, tuż pod próbką. Do zmiany temperatury wykorzystywano dwuelementowy moduł składający się z grzałki nawiniętej tuż pod dnem komory pomiarowej oraz „zimnego palca” zanurzonego w dewarze z ciekłym azotem. Zestaw pomiarowy posiada dwa odrębne układy ciśnienia: układ zimnego palca i układ komory próbki.

Wewnątrz zimnego palca stale utrzymywana była próżnia niezbędna do uzyskiwania bardzo niskich temperatur w komorze pomiarowej, sięgających  $-150^{\circ}\text{C}$ . Do utrzymania próżni w zimnym palcu używano pompy próżniowej, której praca była regulowana przez układ sterowania pompą i zaworami. Praca układu sterującego bazowała na odczytach górnej i dolnej wartości progowej z próżniomierza. Przekroczenie górnej wartości progowej ciśnienia uruchamiało pracę pompy. Osiągnięcie zadanego na sterowniku ciśnienia progowego 1 umożliwiało automatyczne otwarcie zaworu elektropneumatycznego, który pozostawał otwarty aż do osiągnięcia niższego zadanego ciśnienia progowego 2. Osiągnięcie dolnej wartości ciśnienia zamykało zawór i wyłączało pracę pompy.



**Rys. 63.** Schemat przedstawiający komorę pomiarową oraz układy sterowania ciśnieniem i temperaturą w niej.

Komora próbki wpięta jest w odrębny układ próżniowy z pompą rotacyjną, systemem zaworów i próżniomierzem. Układ ten umożliwiał kontrolę poziomu ciśnienia nad próbką i sterowanie procesem sorpcji par do próbki. Układ umożliwiał dozowanie do próbki pary wodnej

z zewnątrz podpiętej do układu probówki zawierającej H<sub>2</sub>O (Rys. 64). Woda była odgazowywana techniką freeze-thaw, tzn. wypompowywano powietrze z nad lodu, następnie ogrzewano H<sub>2</sub>O do temperatury pokojowej w celu uwolnienia z niej gazów i ponownie schładzano w celu wypompowania kolejnej porcji gazów z nad próbki – proces powtarzano minimum 3-rotnie. Zastosowana technika zapewniała minimalizację występowania zjawiska konwersji *orto-para* na paramagnetycznych molekułach tlenu w pomiarach sorpcyjnych. Otwarcie zaworów do probówki i do komory pomiarowej umożliwiało sorpcję par wody do próbki w warunkach kontroli ciśnienia na próżniomierzu. W części pomiarów próbki były zalewane wodą bezpośrednio w komorze.

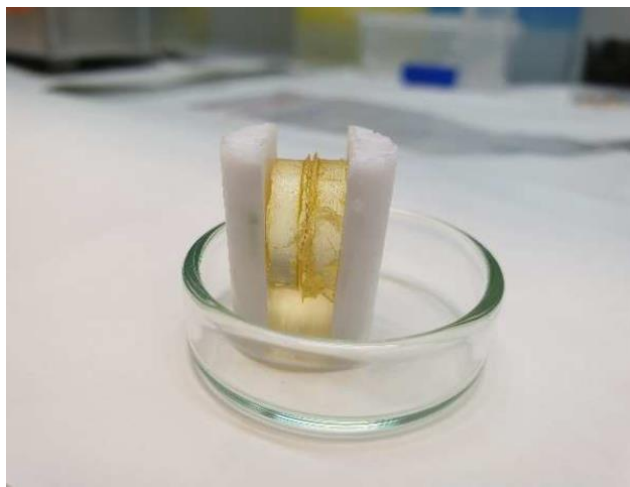


**Rys. 64.** Zamrożona woda w probówce podłączonej do układu pomiarowego. Odgazowywanie wody w celu usunięcia z niej tlenu [175].

Wraz z próbką w komorze pomiarowej umieszczane było źródło promieniotwórcze <sup>22</sup>Na zamknięte w folii kaptonowej o grubości 7 μm (Rys. 65). Aktywność źródła wynosiła 0,6 MBq. Próbkę i źródło układano w konfiguracji „kanapkowej” i umieszczano w uchwycie teflonowym wypełniającym komorę (Rys. 66) [175],[178].



**Rys. 65.** *Próbka i źródło promieniotwórcze [175].*



**Rys. 66.** *Próbka wraz ze źródłem w konfiguracji kanapki umieszczone w uchwycie teflonowym [175].*

Tak przygotowaną próbkę umieszczano następnie w komorze pomiarowej ustawiając źródło pod kątem  $\sim 45^\circ$  względem detektorów (Rys. 67), aby uzyskać równomierne obciążenie obydwu głowicach. Komora pomiarowa następnie była zamykana, a z obszaru nad próbką usuwano powietrze (odgazowywanie wstępnie) za pomocą pompy próżniowej. Po takim przygotowaniu zaczynał się pomiar w zadanym reżimie opisanym w rozdziale 13.



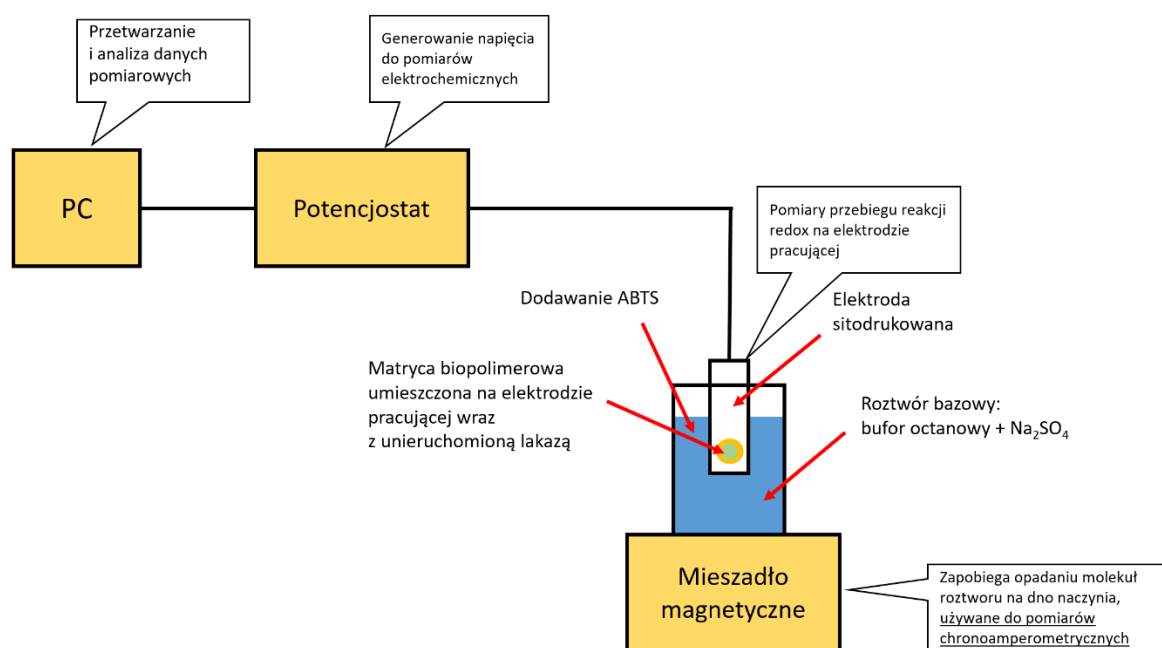
**Rys. 67.** Zdjęcie próbki znajdującej się w uchwycie teflonowym umieszczonej w komorze pomiarowej. Na zdjęciu są widoczne detektory scyntylacyjne [175].



## 13.2. METODYKA POMIARÓW ELEKTROCHEMICZNYCH

Do przygotowania bioelektrod wykorzystano elektrody sitodrukowane, gdzie elektroda pracująca i pomocnicza były wykonane z węgla, a elektroda odniesienia była srebrna. Wybór układu elektrod do pomiarów został wykonany metodą doświadczalną, gdzie kryterium stanowiło uzyskanie najlepiej widocznej odpowiedzi układu podczas pomiarów testowych związanych z doбором odpowiedniej elektrody sitodrukowej.

Pierwszym etapem było przygotowanie roztworu liofilizowanej lakazy w 50 mM buforze octanowym o pH 4,5 oraz rozpuszczenie badanego biopolimeru w acetonie. Kwaśny odczyn wybranego buforu jest związany z optymalną aktywnością lakazy w roztworze o takim odczynie niezbędną do wzorcowania skonstruowanych biosensorów [107]. Następnie na powierzchnię elektrody pracującej nanoszono roztwór lakazy i zostawiano do wyschnięcia, po czym nakładano rozpuszczoną w acetonie matrycę biopolimerową w celu unieruchomienia enzymu. Tak przygotowaną bioelektrodę należało ponownie zostawić do wyschnięcia. W badaniach wykorzystano elektrody sitodrukowane firmy *Metrohm DropSens* [179].



**Rys. 68.** Schemat blokowy przedstawiający stanowisko do pomiarów elektrochemicznych z opisem ról poszczególnych elementów układu pomiarowego.

Przedstawiony na Rys. 68 układ do pomiarów elektrochemicznych umożliwiał pomiary technikami woltamperometrii cyklicznej oraz chronoamperometrii. Układ składa się on ze stanowiska komputerowego, za pomocą którego steruje się potencjostatem i analizuje otrzymane dane pomiarowe. Drugim elementem tego układu jest potencjostat, który generuje napięcie niezbędne do wykonania pomiarów. Wykorzystano urządzenie firmy *IN Cambria Scientific*, model *CHI 1200C* [180]. Do potencjostatu podłączona jest za pomocą przewodu przygotowana wcześniej elektroda sitodrukowana, która jest zanurzona w roztworze buforu octanowego i siarczanu sodu (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Taki roztwór zapewnia dobre przewodnictwo elektrolityczne oraz stałe pH. Pod naczyniem umieszczone było mieszadło magnetyczne używane do pomiarów chronoamperometrycznych, dzięki któremu molekuly roztworu nie opadały na dno naczynia oraz dochodziło do szybkiego mieszania roztworu po każdorazowym dodaniu roztworu ABTS z coraz większym stężeniem tej substancji. Mieszadło nie było używane podczas pomiarów woltamperometrii cyklicznej ze względu na możliwość zakłócenia

pomiaru oraz brak konieczności stopniowego dodawania substancji podczas pracy potencjostatu.

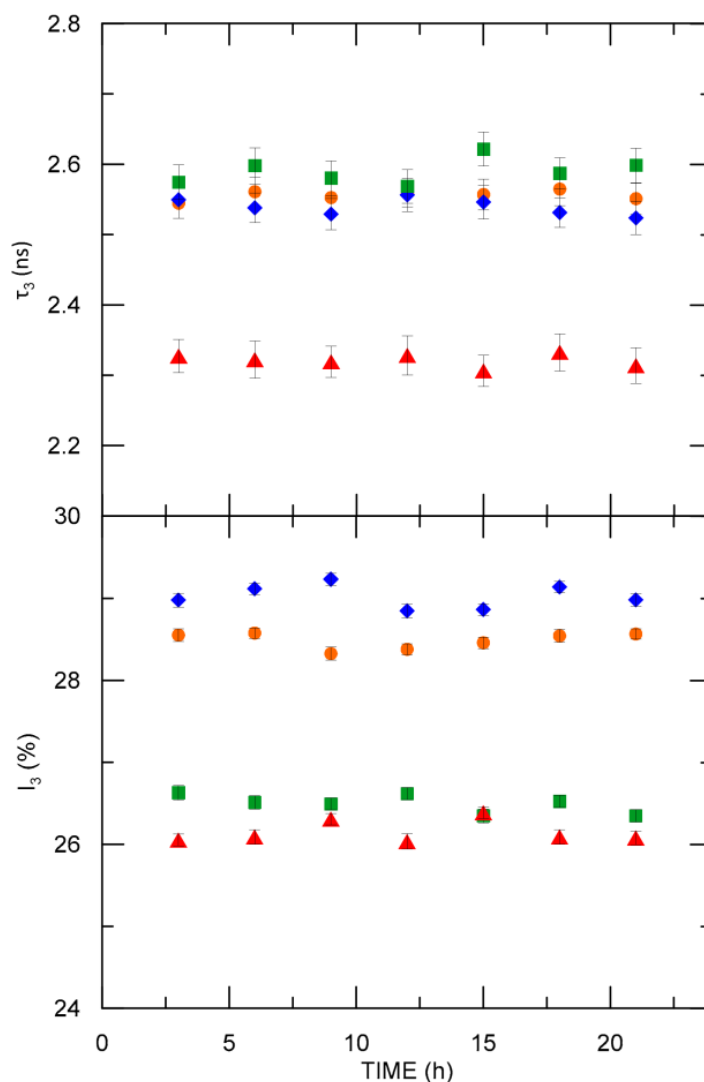
Pierwsza technika służy do doboru optymalnego napięcia pracy dla układu, druga zaś do uzyskania chronoamperogramów służących następnie do wyznaczenia parametrów biosensorów. Pomiary chronoamperometryczne są wykonywane przy stałym napięciu, dobranym przy pomocy pomiarów woltamperometrycznych.

## 14. WYNIKI POMIARÓW I ICH ANALIZA

Widma PALS były analizowane za pomocą programu LT 9.2, jeżeli nie zostało w tekście wskazane inaczej. W pierwszej grupie próbek przyjęto stosunek  $I_{p-Ps}$  do  $I_{o-Ps}$  = 1:3. W drugiej grupie próbek podczas analiz przyjęto istnienie trzech swobodnych składowych (*p*-Ps, anihilacja swobodna, *o*-Ps). Jest to spowodowane zmianą spektrometru z analogowego na cyfrowy po zakończeniu badań nad pierwszą grupą próbek oraz potrzebą przyjęcia sposobu analizy, który będzie najlepszy do przedstawienia wyników otrzymanych pomiarów. Do analizy próbek z pierwszej grupy w programie LT 9.2 wykorzystywano widma o statystyce  $7\text{--}8 \cdot 10^6$  zliczeń, zaś do analizy MELT- ponad  $5 \cdot 10^7$ . W przypadku drugiej grupy badanych matryc biopolimerowych były wykorzystywane do analizy widma o statystyce  $1,3\text{--}1,4 \cdot 10^6$  zliczeń.

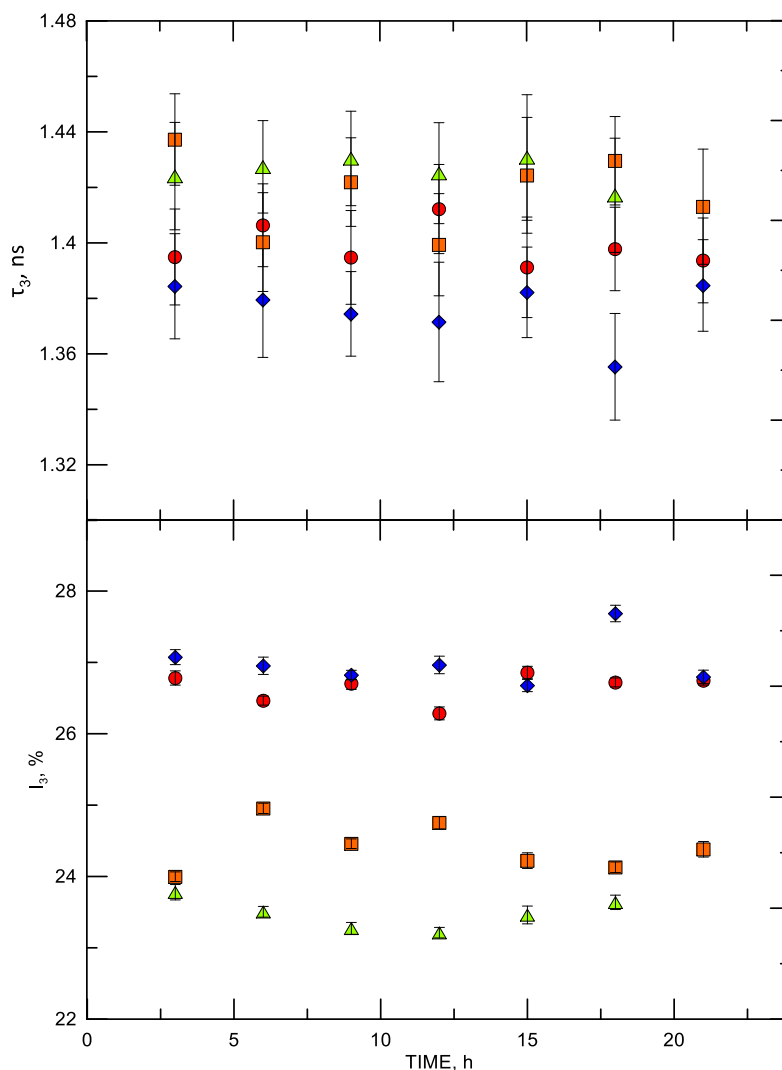
### 14.1. STABILNOŚĆ MATRYC BIOPOLIMEROWYCH W WYBRANYCH TEMPERATURACH

Na pierwszym etapie badań dokonano oceny stabilności nanostruktury próbek matryc biopolimerowych w temperaturze pokojowej i niskiej temperaturze  $-150^\circ\text{C}$ . Próbki z pierwszej grupy, czyli: ELO/PI, ELO/10RD1/PI, AESO/VDM, AESO/VDM/DMPA zostały zbadane w temperaturze  $18^\circ\text{C}$ , w której przechowywane były ponad 20 godzin, a następnie skokowo (w tempie ok.  $4,2^\circ\text{C}/\text{min}$ ) obniżono temperaturę do  $-150^\circ\text{C}$ , i ponownie pozostawiono próbki w tej temperaturze na 20 h. Pomiarów wykonywano w warunkach próżni. Wyniki pomiarów w temperaturze  $18^\circ\text{C}$  przedstawia Rys. 69. Widać, że wartości otrzymywanych wyników dla czasów życia ( $\tau_3$ ) i natężenia *o*-Ps ( $I_3$ ) nie wykazują istotnych, wykraczających poza wąsy błędów zmian, zatem nanostruktura badanych matryc pozostaje stabilna w tej temperaturze. Można również zaobserwować, że próbki ELO/PI, ELO/10RD1/PI oraz AESO/VDM mają podobne rozmiary wolnych nanoobjętości. Na wykresie natężeń można zauważyć, że próbki na bazie oleju lnianego przyjmują wyższe wartości  $I_3$  [175].



**Rys. 69.** Czasy życia ( $\tau_3$ ) i natężenia *o*-Ps ( $I_3$ ) w funkcji czasu dla badanych próbek w temperaturze 18°C. Pomarańczowymi kropkami oznaczono ELO/PI, niebieskimi rombami- ELO/10RD1/PI, zielonymi kwadratami- AESO/VDM oraz czerwonymi trójkątami- AESO/VDM/DMPA [175].

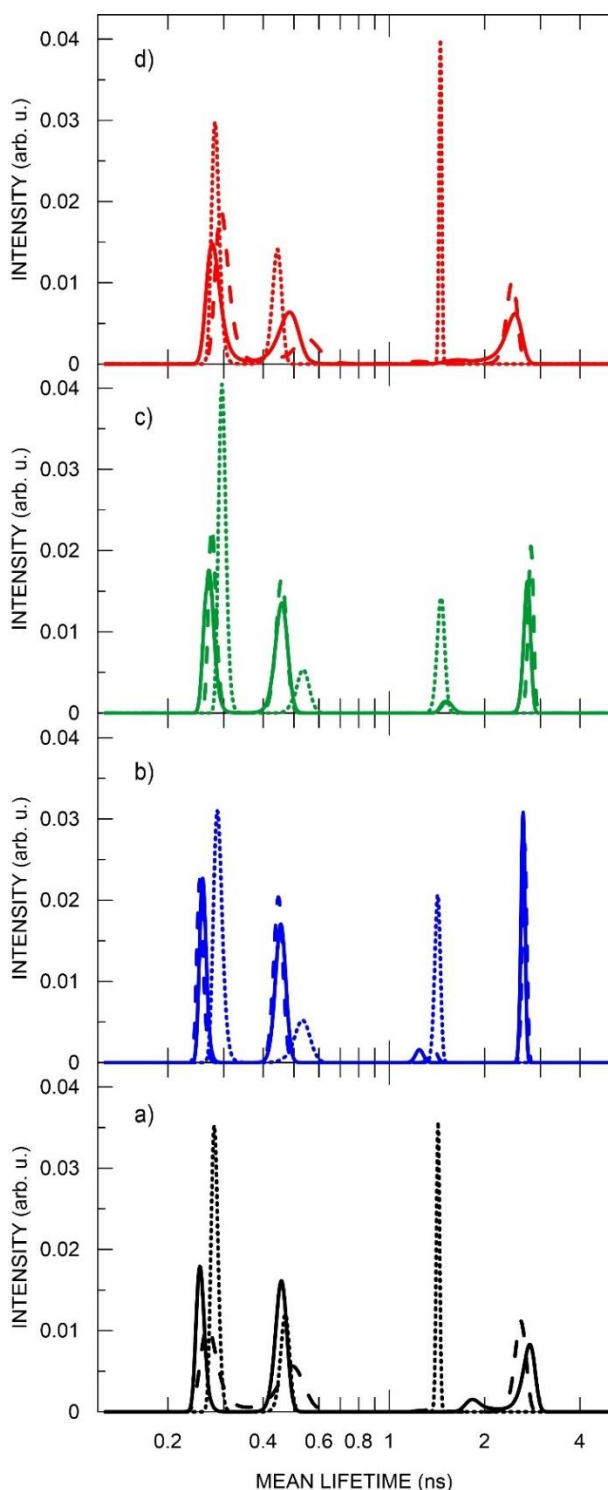
Wyniki pomiaru stabilności wykonane w temperaturze -150°C przedstawia Rys. 70. Podczas pomiarów nie zaobserwowano wyraźnej zmienności parametrów PALS, co świadczy o braku występowania zjawiska pułapkowania elektronów w badanych matrycach biopolimerowych. Taki efekt pułapkowania występuje w niektórych grupach polimerów i objawia się narastaniem wartości  $I_3$  w funkcji czasu [175], [181]-[186], jednak nie występuje on w badanej grupie próbek.



**Rys. 70.** Czasy życia ( $\tau_3$ ) i natężenia *o*-Ps ( $I_3$ ) w funkcji czasu dla badanych próbek w temperaturze  $-150^\circ\text{C}$ . Pomarańczowymi kropkami oznaczono ELO/PI, niebieskimi rombami- ELO/10RD1/PI, zielonymi kwadratami- AESO/VDM oraz czerwonymi trójkątami- AESO/VDM/DMPA [175].

Z uwagi na brak istotnych różnic w krótkoczasowych pomiarach w temp.  $18^\circ\text{C}$  i  $-150^\circ\text{C}$  uzyskane w czasie 20 h pomiaru widma zsumowano otrzymując widma o statystyce wystarczającej do analizy w programie MELT. Wykorzystano widma z pomiarów w temperaturze  $18^\circ\text{C}$ , widma po obniżeniu temperatury do  $-150^\circ\text{C}$ , oraz widma otrzymane po ponownym ogrzaniu próbki do  $18^\circ\text{C}$ . Wyniki analiz przedstawiono na Rys. 71. W odniesieniu do wszystkich badanych próbek stwierdzono podobieństwo wyników uzyskanych w temp.  $18^\circ\text{C}$  przed i po poddaniu próbek działaniu niskiej temperatury (linie ciągła i przerywana na rysunku). Brak wpływu niskiej temperatury  $-150^\circ\text{C}$  na nanostrukturę próbek wskazuje na wytrzymałość matryc biopolimerowych na stres termiczny. W próbkach ELO/PI, ELO/10RD1/PI oraz AESO/VDM stwierdzono obecność czwartej składowej, pochodzącej od *o*-Ps, o bardzo małym natężeniu i dużej zmienności czasu życia uzależnionej od składu próbek (1,2-1,9 ns). Ta składowa nie była wykrywalna w widmach o niższej statystyce. Może to świadczyć o istnieniu dwóch różnych typów wolnych nanoobjętości w badanych biopolimerach, przy czym w widmach o statystyce uzyskiwanej w pomiarach 3 godzinnych wykrywalne są tylko składowe o wyższym natężeniu. Ta dodatkowa składowa *o*-Ps ma czas

życia powyżej 1 ns oraz natężenie w zakresie 0,8-4,2%. W próbce AESO/VDM/DMPA widoczne są tylko 3 składowe. Ponadto, w tej próbce czasy życia *o*-Ps osiągają znacznie niższe wartości niż w pozostałych zbadanych próbkach [175].



**Rys. 71.** Rozkład średnich czasów życia poszczególnych składowych w widmach badanych próbek: a) ELO/PI; b) ELO/10RD1/PI; c) AESO/VDM; d) AESO/VDM/DMPA. Linia ciągła oznacza pomiary w temperaturze 18°C przed obniżeniem temperatury, linia kropkowana to pomiary w temperaturze -150°C, a linia przerywana oznacza pomiary próbki po powrocie do temperatury 18°C [175].

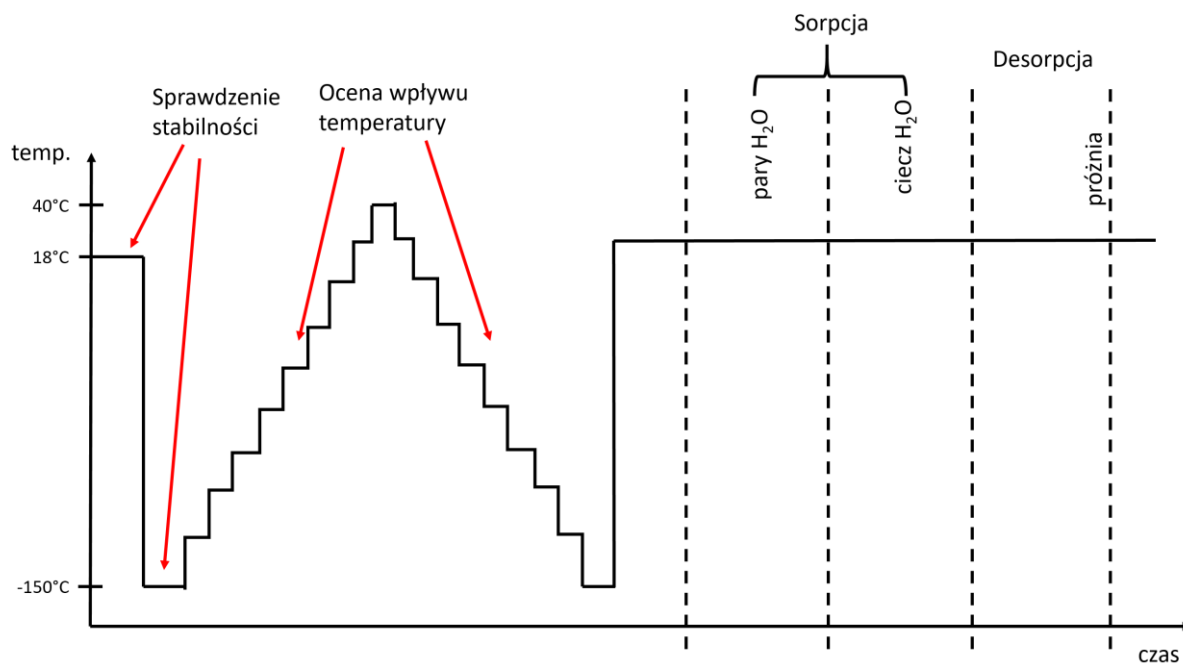
W temperaturze  $-150^{\circ}\text{C}$  (linia kropkowana) we wszystkich badanych próbkach stwierdzono występowanie jednej składowej *o*-Ps, której czas życia ulegał skróceniu do około 1,4 ns. Na podstawie uzyskanych wyników podjęto decyzję o analizie widm w programie LT 9.2 z rozkładem na trzy składowe.

Względnie wysoka wartość czasu życia pierwszej składowej (przekraczająca spodziewane 125 ps) wskazuje, że składowa ta jest wynikiem nakładania się anihilacji *p*-Ps i dodatkowych procesów prowadzących do wydłużenia mierzonego czasu życia (np. pułapkowania elektronów lub pozytonów, termalizacji). Takie wydłużenie czasu życia najkrótszej składowej w widmie było już obserwowane w wodzie i niektórych polimerach [187],[188]. Analiza wykazała, że zakładany stosunek  $I_1:I_3 = 1:3$  nie jest zachowany i waha się od 1,51 do 3,04 odpowiednio w niskiej i w pokojowej temperaturze. Jednakże, porównanie analizy widma przy wykorzystaniu programów LT (przy założeniu  $I_1:I_3 = 1:3$ ) i MELT (wszystkie składowe swobodne) wykazało, że wartości czasu życia i natężenia składowej *o*-Ps w obydwu programach są zbliżone. Podczas analizy w programie LT z rozkładem na trzy składowe i przy założeniu  $I_1:I_3 = 1:3$ , wartość natężenia *o*-Ps została zawyżona o 1,23% i 2,82% odpowiednio w  $18^{\circ}\text{C}$  i  $-150^{\circ}\text{C}$ . Ponadto, czas życia *o*-Ps został skrócony o 84 ps w analizie za pomocą programu LT. Jednakże analiza programem LT 9.2 przy założeniu stosunku  $I_1:I_3 = 1:3$  prowadziła do poprawy wartości składowych krótkożyciowych  $\tau_{11:3} = 0,160 \text{ ns}$  i  $\tau_{21:3} = 0,369 \text{ ns}$  w porównaniu do  $\tau_{1free} = 0,287 \text{ ns}$  i  $\tau_{2free} = 0,541 \text{ ns}$ . Niezachowanie stosunku  $I_1:I_3 = 1:3$  w trakcie analizy (zarówno programem LT 9.2, jak i MELT) wpływa istotnie na parametry obu składowych krótkożyciowych, bez zauważalnej modyfikacji parametrów *o*-Ps. Jednocześnie analiza widm o niższej statystyce w programie LT 9.2 przy założeniu wszystkich składowych swobodnych prowadzi do rozrzutów wyników i większych niepewności pomiarowych dopasowanych parametrów widm (natężeń i czasów życia). Ponieważ w badaniach opierano się na zmianach składowej *o*-Ps, która w obu podejściach do analizy jest zbliżona, przyjęto w analizie tej grupy próbek stosować stosunek  $I_1:I_3 = 1:3$ , co poprawiało parametry dopasowania widm i zmniejszyło rozrzuty wyników. [175].

## 14.2. POMIARY MATRYC BIOPOLIMEROWYCH W FUNKCJI TEMPERATURY

Na pierwszej grupie próbek biopolimerów przeprowadzono pomiary w funkcji temperatury, których wyniki wykorzystano następnie do wyznaczenia temperatur przejść fazowych i na podstawie których wyznaczono rozmiary wolnych objętości.

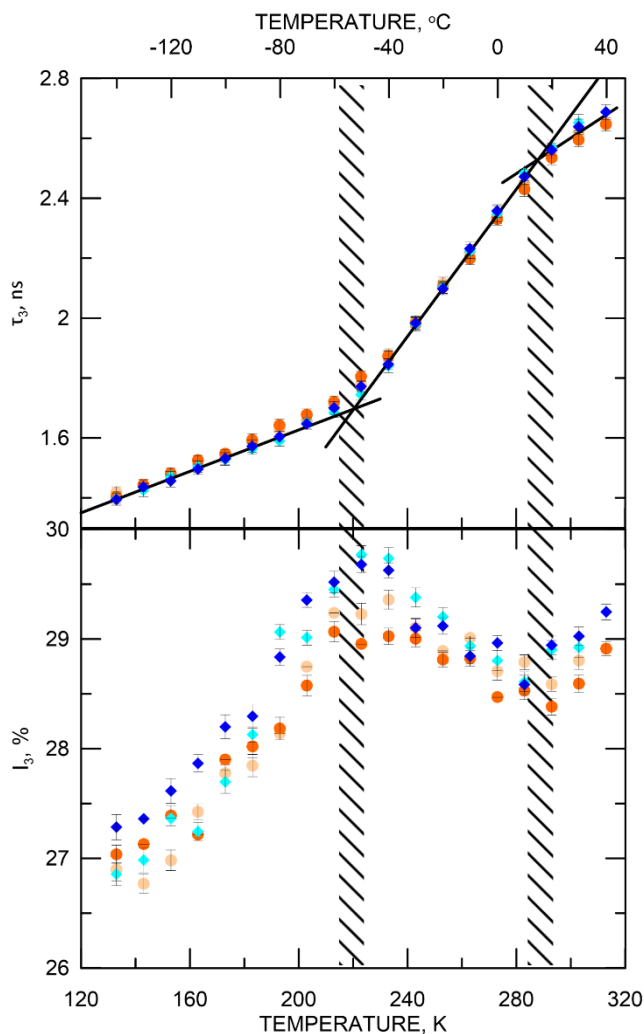
Pomiary termiczne pierwszej grupy próbek polegały na stopniowym podwyższaniu, a następnie obniżaniu temperatury co  $10^{\circ}\text{C}$  w zakresie od  $-150^{\circ}\text{C}$  do  $40^{\circ}\text{C}$ , jak to przedstawia lewa połowa Rys. 72 ilustrująca przyjęty reżim pomiarowy. Po zakończeniu cyklu temperaturowego na tej samej próbce kontynuowano pomiary sorpcyjne, co zostało opisane w kolejnym podrozdziale.



**Rys. 72.** Reżim pomiarowy zastosowany podczas pomiarów pierwszej grupy matryc.

Pomiar w zadanej temperaturze trwał przez 3 godziny. Wyniki otrzymane dla próbek ELO/PI oraz ELO/10RD1/PI przedstawia Rys. 73. W obu próbkach stwierdzono występowanie dwóch przejść fazowych, wskazanych przez załamania charakterystyk  $\tau_3(T)$  oraz  $I_3(T)$ . W przypadku próbki ELO pierwsze przejście fazowe ( $T_g$ ) z fazy szklistej do plastycznej jest obserwowane w temperaturze  $\sim 220\text{K}$  ( $-53^\circ\text{C}$ ), drugie zaś w  $\sim 293\text{K}$  ( $20^\circ\text{C}$ ). Efekt histerezy nie występuje lub jest znikomy o czym świadczy brak rozbieżności w przebiegu zależności  $\tau_3(T)$  oraz  $I_3(T)$  w funkcji rosnącej i malejącej temperatury. W próbce ELO/10RD1/PI pierwsze przejście fazowe występuje w temperaturze  $\sim 220\text{K}$  ( $-53^\circ\text{C}$ ), a drugie w  $\sim 283\text{K}$  ( $10^\circ\text{C}$ ) [175].





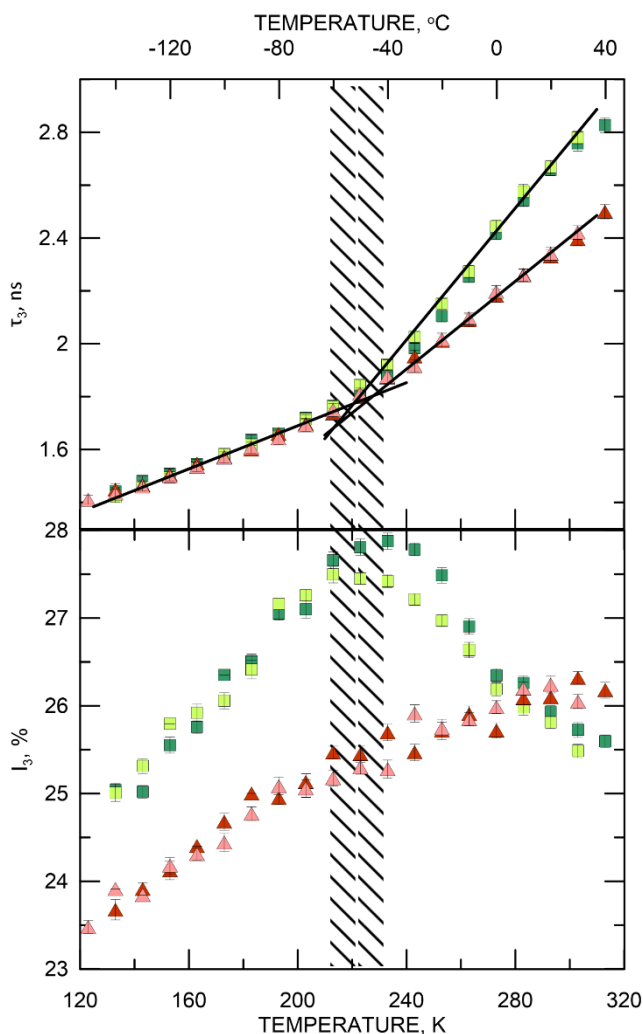
**Rys. 73.** Zależność czasu życia i natężenia *o*-Ps w funkcji rosnącej temperatury (ELO- pomarańczowe kropki; ELO/10RD1/PI- granatowe romby) oraz malejącej temperatury (ELO- kremowe kropki; ELO/10RD1/PI- błękitne romby). Pola zakreskowane wskazują zakresy temperatur przejść fazowych w próbkach [175].

Charakterystyki obydwu próbek mają podobny kształt, zatem dodanie substancji RD1 nie spowodowało zmiany nanostruktury. W matrycy ELO/10RD1/PI można zaobserwować wyższe wartości natężenia *o*-Ps niż w przypadku ELO/PI. Niewielkie rozbieżności można jednak zaobserwować w funkcji  $I_3(T)$ . Modyfikacja strukturalna matrycy (zmiana składu chemicznego) zwiększa wartość intensywności *o*-Ps. Może to wskazywać na zwiększenie liczby wolnych nanoobjętości lub wzrost prawdopodobieństwa utworzenia atomu pozytu. Może to być początek reżimu nasycenia  $\tau_3$ , który często obserwuje się powyżej temperatury zeszklenia. W tym reżimie czas życia *o*-Ps staje się porównywalny z czasem relaksacji segmentowej, który kontroluje dynamikę dziur. Ogranicza to zastosowanie techniki PALS w przypadku próbek polimerów w stanie gumowatym lub stopionym.

Wyniki pomiarów dla matryc zsyntetyzowanych na bazie oleju sojowego znajdują się na Rys. 74. W próbce AESO/VDM stwierdzono występowanie jednego przejścia fazowego w temperaturze  $\sim 223\text{K}$  ( $-50^\circ\text{C}$ ). Wraz ze wzrostem temperatury w przedziale  $133\text{K} - 223\text{K}$  obserwowany jest wzrost natężenia  $I_3$  od 25% do 27,5%, a następnie powyżej tej temperatury obserwowany jest spadek natężenia. Występują rozbieżności w wartościach natężenia *o*-Ps zmierzonych podczas zwiększania i obniżania temperatury w zakresie od  $223\text{K}$  do  $263\text{K}$ , przy czym niższe wartości mierzone są w funkcji mającej temperatury [175].

W próbce AESO/VDM/DMPA nie zaobserwowano różnicy w wartościach czasów życia i natężeń *o*-Ps podczas cyklu rosnącej i malejącej temperatury. Określona na podstawie zależności  $\tau_3(T)$  temperatura przejścia fazowego  $\sim 228\text{K}$  ( $-45^\circ\text{C}$ ). Natężenie *o*-Ps wzrasta w próbce od wartości 23,5% do ok. 26% bez wyraźnej zmiany w obszarze przejścia fazowego.

Na podstawie porównania wyników uzyskanych dla próbek AESO/VDM/DMPA i AESO/VDM można twierdzić, że dodanie DMPA prowadzi do zmiany nanostruktury różnicującej mierzone czasy życia *o*-Ps powyżej temperatur przejścia fazowego oraz istotnie wpływa na natężenie składowej *o*-Ps mierzone w matrycach [175]. Większy spadek  $I_3$  w całym zakresie temperatur w porównaniu do pozostałych badanych matryc oraz odmienna zależność temperaturowa  $I_3(T)$  może być spowodowana zmianami chemicznymi wzdłuż łańcuchów polimeru zawierających DPMA. Skutkiem tego jest zahamowanie powstawania pozytu z powodu obecności inhibitorów (atomów tlenu z przereagowanego DMPA), czego nie można wiązać ze zmniejszeniem liczby wolnych nanoobjętości [175].



**Rys. 74.** Zależność czasu życia i natężenia *o*-Ps w funkcji rosnącej temperatury (AESO/VDM- ciemnozielone kwadraty; AESO/VDM/DMPA- czerwone trójkąty) oraz malejącej temperatury (AESO/VDM- jasnozielone kwadraty; AESO/VDM/DMPA- różowe trójkąty). Pola z kreskami pokazują miejsca przejść fazowych w próbkach. Czarne linie są prostymi wpasowanymi w punkty pomiarowe [175].

W celu dokładnego wyznaczenia temperatur przejść fazowych w badanych matrycach w punkty pomiarowe na wykresach  $\tau_3(T)$  zostały wpasowane proste według następującego równania:

$$\tau_3 = aT + b, \quad (67)$$

gdzie  $a$  i  $b$  to wyznaczone współczynniki prostych wpasowanych w obszary poniżej i powyżej szacowanych temperatur przejść fazowych. Z porównania otrzymanych równań określono temperatury przejść fazowych:

$$T_g = \frac{b_2 - b_1}{a_1 - a_2}. \quad (68)$$

Wyniki obliczeń przedstawia Tabela 7 dla wszystkich czterech matryc z pierwszej grupy. Najniższą temperaturę przejścia fazowego określono dla próbki ELO/PI oraz AESO/VDM/DMPA podczas cyklu obniżania temperatury, najwyższą zaś ma AESO/VDM w cyklu rosnącej temperatury.

**Tabela 7.** *Temperatury przejść fazowych w badanej pierwszej grupie próbek wyznaczone na podstawie zmian parametrów PALS dla o-Ps [175].*

	<b>ELO/PI</b>	<b>ELO/10RD1/PI</b>	<b>AESO/VDM</b>	<b>AESO/VDM/DMPA</b>
Wzrost temperatury	221,8 K	220,1 K	225,2 K	218,3 K
Spadek temperatury	218,3 K	220,3 K	220,6 K	224,5 K
Średnia temperatura	220,05 K	220,2 K	222,9 K	221,4 K

Na podstawie otrzymanych danych pomiarowych parametrów PALS wyznaczono rozmiary wolnych objętości z wykorzystaniem modelu Tao-Eldrupa opisanym w równaniu (35).

Przyjmując sferyczną geometrię wolnych objętości, ich objętość można obliczyć z zależności:

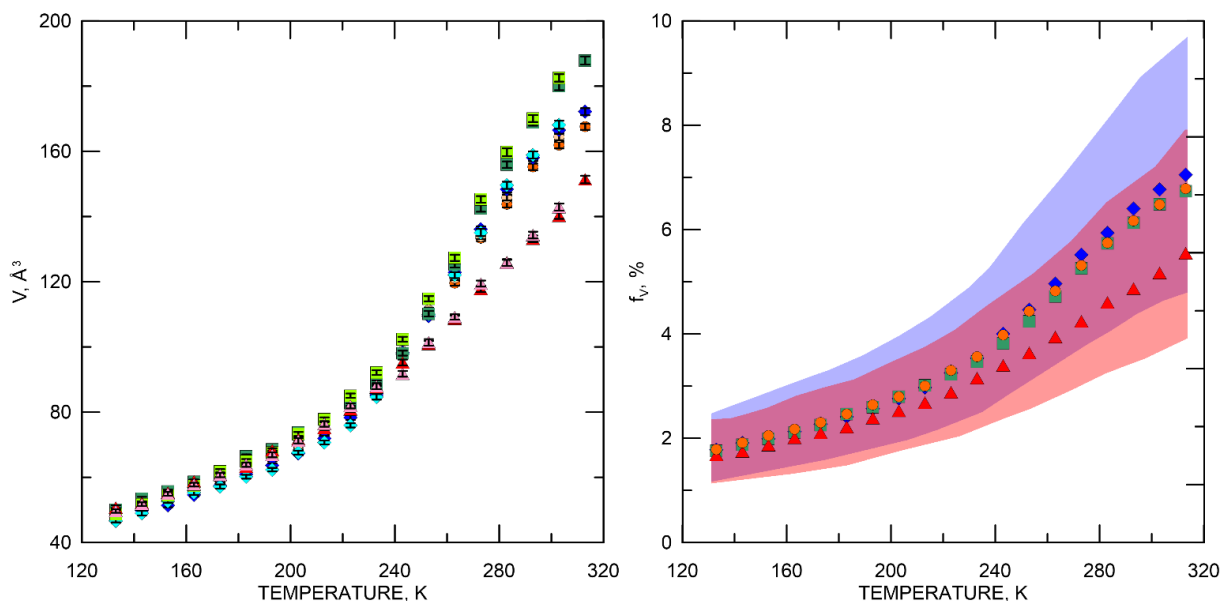
$$V = \frac{4}{3}\pi R^3. \quad (69)$$

Fracje wolnych objętości wyznaczano z następującej zależności:

$$f_v = CI_3V, \quad (70)$$

gdzie  $I_3$  oznacza natężenie o-Ps,  $C$  jest parametrem, który może przyjmować wartości z zakresu 0,001-0,002 i zależy od rodzaju badanego materiału [189],[190]. Przykładowo ten parametr przyjmuje wartość  $C=0,0014$  dla polistyrenu [190].

Rozmiary wolnych objętości  $V$  oraz ich fracje  $f_v$  przedstawia Rys. 75. W niskich temperaturach rozmiary wolnych nanoobjętości są podobne we wszystkich próbkach, natomiast powyżej  $T_g$  występuje znaczny wzrost objętości w próbkach ELO/PI oraz ELO/10RD1/PI. W próbkach AESO/VDM oraz AESO/VDM/DMPA widoczna jest bardzo duża rozbieżność w rozmiarach wolnych objętości. Największe rozmiary wolnych objętości występują w próbce AESO/VDM, większe nawet niż w przypadku matryc zawierających ELO. Chemiczna modyfikacja AESO/VDM poprzez wykorzystanie fotoinicjatora DMPA spowodowała z kolei zmniejszenie wolnych objętości w matrycy. Fotoinicjator DMPA zawiera zarodki aromatyczne, które po włączeniu do sieci w temperaturach wyższych niż  $T_g$  mogą silnie oddziaływać z otoczeniem i skutecznie redukować wolne objętości [175],[186].



**Rys. 75.** Rozmiary wolnych objętości (po lewej stronie) i ich frakcje (po prawej stronie) dla pierwszej grupy matryc w funkcji podnoszenia temperatury: ELO/PI- pomarańczowe kropki; ELO/10RD1/PI- ciemnoniebieskie romby; AESO/VDM- ciemnozielone kwadraty; AESO/VDM/DMPA- czerwone trójkąty; oraz w funkcji obniżania temperatury: ELO/PI- kremowe kropki; ELO/10RD1/PI- błękitne romby; AESO/VDM- jasnozielone kwadraty; AESO/VDM/DMPA- różowe trójkąty [175].

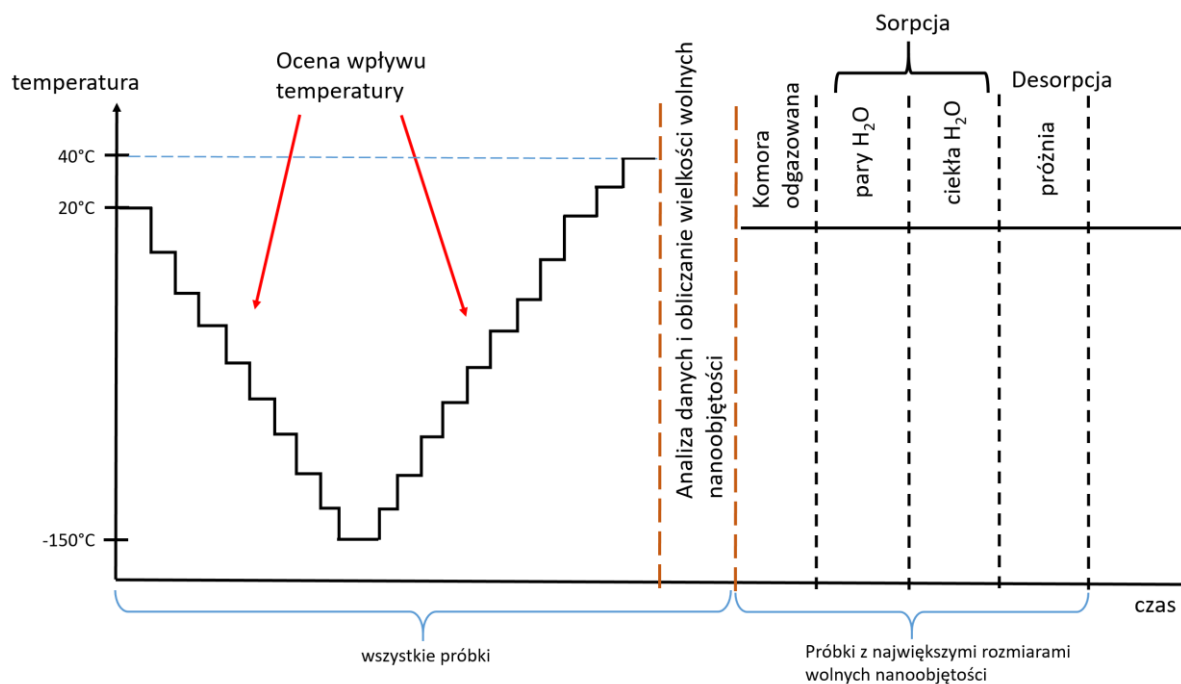
Wartość frakcji wolnych objętości ( $f_v$ ) wzrasta podobnie dla wszystkich próbek z wyjątkiem AESO/VDM/DMPA. Punkty odpowiadają przyjętej w obliczeniach  $f_v$  wartości  $C=0,0014$ . W odniesieniu do badanych biopolimerów nie jest znana wartość stałej  $C$ , dlatego wyniki uzupełniono o obliczenia dla dwóch innych skrajnych wartości  $C = 0,001$  i  $0,002$ , które są zaznaczone na Rys. 75 w postaci niebieskich i czerwonych obszarów odpowiednio dla ELO/PI i AESO/VDM/DMPA. Ze wszystkich czterech badanych próbek jedynie matryca AESO/VDM/DMPA wyraźnie wykazuje mniejszy rozmiar wolnych objętości i niższą frakcję wolnych objętości [175].

Na podstawie otrzymanych wyników wytypowano - z uwagi na największe uzyskane rozmiary wolnych objętości, że najbardziej obiecująca matrycą do produkcji biosensorów jest próbka AESO z dodatkiem VDM. Na tej podstawie przygotowano drugą grupę próbek matryc do badań techniką PALS, których wykaz zawiera Tabela 8.

**Tabela 8.** Lista próbek biopolimerów wytypowana do drugiego etapu badań.

Nazwa próbki
AESO
AESO+PI
AESO:VDA=1:0,25 (mol)
AESO:VDM=1:0,25 (mol)
AESO:VDM=1:0,5 (mol)
AESO:VDM=1:1 (mol)
AESO:VDA=1:0,25 (mol)+PI
AESO:VDA=1:0,5 (mol) +PI
AESO:VDA=1:1 (mol)+PI
AESO:VDM=1:0,25 (mol)+PI
AESO:VDM=1:0,5(mol)+PI
AESO:VDM=1:1(mol+PI)

W badaniach drugiej grupy próbek wykorzystano cyfrowy spektrometr PALS. Z uwagi na wyższą statystykę uzyskiwanych widm oraz lepszą zdolność rozdzielczą  $FWHM \sim 190$  ps analiza widm programem LT 9.2 nie wymagała przyjmowania stosunku  $I_1:I_3 = 1:3$  i prowadzona była przy założeniu wszystkich składowych jako wolne. Rys. 76 przedstawia reżim pomiarowy matryc z drugiej grupy. Wszystkie 12 próbek poddano pomiarom w zadanym zakresie temperatur, po czym przeanalizowano otrzymane wyniki i wyznaczono rozmiary wolnych objętości. Dokonano wyboru czterech następujących próbek do pomiarów sorpcji / desorpcji: AESO:VDA=1:0,25 (mol), AESO:VDM=1:0,5 (mol)+PI, AESO:VDM=1:1 (mol) oraz AESO:VDM=1:1 (mol)+PI. Umożliwiło to zbadanie próbek zawierających wszystkie możliwe kombinacje wykorzystanych przy syntezie substancji chemicznych.



**Rys. 76.** Reżim pomiarowy matryc z drugiej grupy.

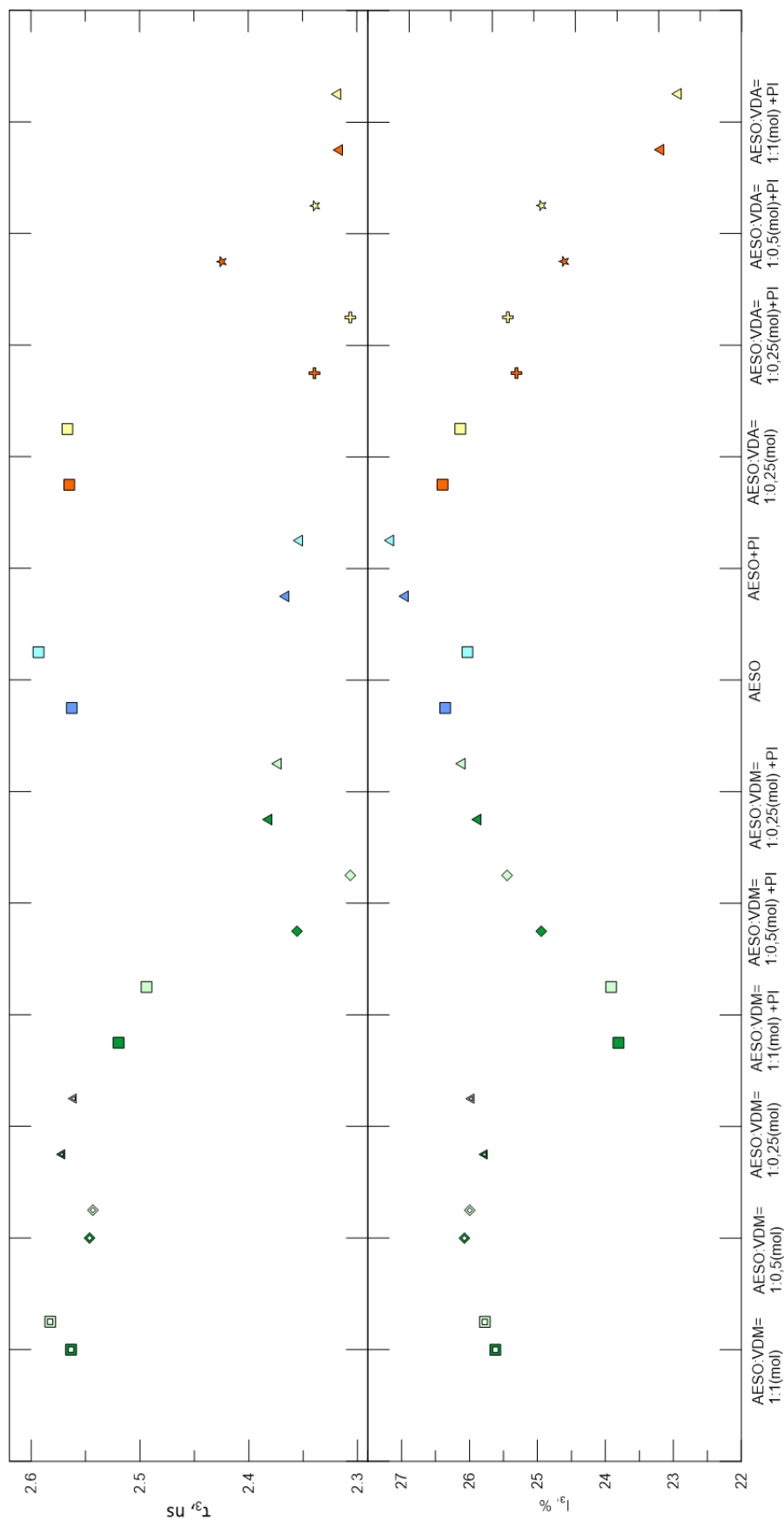
Na Rys. 77 przedstawiono wyniki uzyskane z pomiaru wszystkich próbek w temperaturze 20°C, przy czym punkty oznaczone ciemnym kolorem oznaczają pomiar startowy wykonywany na próbkach świeżych, zaraz po ich umieszczeniu w komorze pomiarowej, natomiast punkty oznaczone takim samym symbolem, ale w jaśniejszym kolorze – pomiar wykonany na próbce po przebiegu cyklu zmiany temperatury do -150°C i ponownym ogrzaniu do 20°C.

Punktem odniesienia na wykresie są wyniki uzyskane dla próbki czystego AESO (niebieskie kwadraty). Mierzony czas życia  $\tau_3$  wynosi  $\sim 2,57$  ns, zaś natężenie  $I_3 \sim 26,5\%$ . W próbkach zawierających AESO i VDM w różnych proporcjach (zielone puste kwadraty, puste romby i pełne trójkąty) mierzone czasy życia i natężenia są zbliżone do uzyskanych dla czystego AESO, a stres wywołany obniżeniem temperatury nie wpływa istotnie na te parametry. Podobną zgodność wyników z czystym AESO uzyskano dla próbki AESO:VDA (1:025) (pomarańczowe kwadraty). Na podstawie powyższych wyników można wyciągnąć pierwszy wniosek, że dodatek VDM i VDA do czystego AESO nie zmienia istotnie wartości mierzonych czasów życia i natężeń o-Ps.

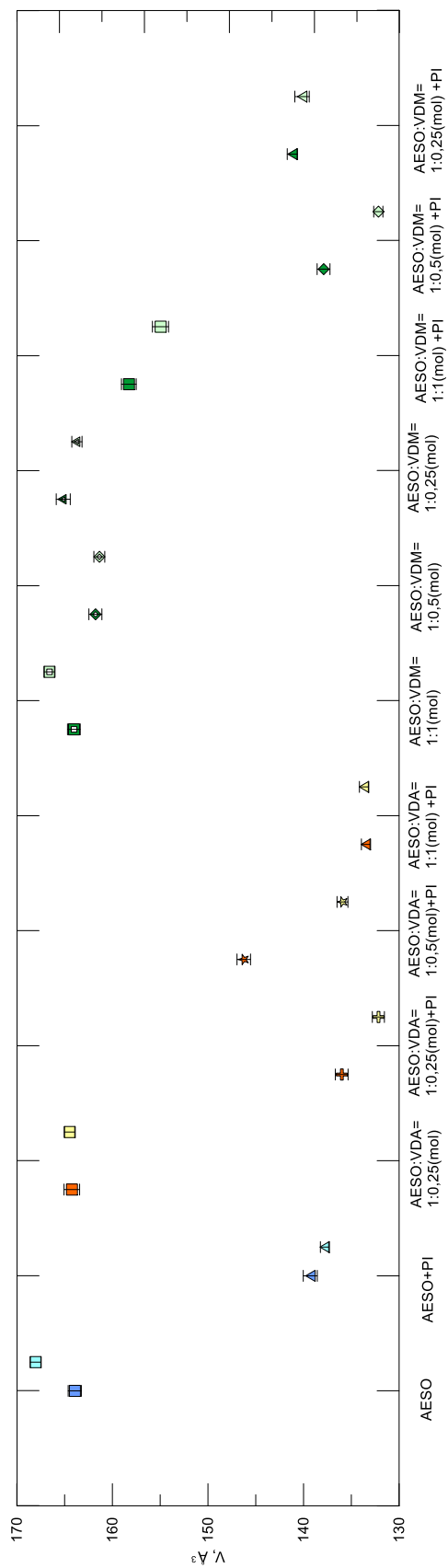
Dodanie PI do czystego AESO prowadzi do skrócenia czasu życia o-Ps, aż do wartości 2,35 ns, któremu towarzyszy wzrost natężenia o 0,5% w stosunku do czystego AESO. Oznacza to, że PI wprowadza w matrycy zmiany na poziomie nanoskali. Tylko dla próbki AESO:VDM=1:1 (mol)+PI dodanie PI przywraca  $\tau_3$  do wartości zbliżonych do mierzonych w czystym AESO,

ale jednocześnie istotnie (o ponad 2%) obniża wartość natężenia  $I_3$ . W pozostałych próbkach zawierających PI oraz VDA lub VDM mierzone są czasy życia o-Ps zbliżone do czystego AESO+PI. Wraz ze zmniejszaniem udziału VDM w grupie próbek zawierających AESO i PI obserwowany jest średni czas życia o-Ps  $\sim 2,35$  ns i natężenia między 25% a 26%. Z kolei w grupie próbek o różnych stężeniach VDA w próbkach zawierających AESO i PI mierzone czasy życia pozostają na poziomie 2,33 ns, ale wraz ze wzrostem udziału VDM obserwowany jest spadek natężenia o-Ps od 25,5% do 23%.

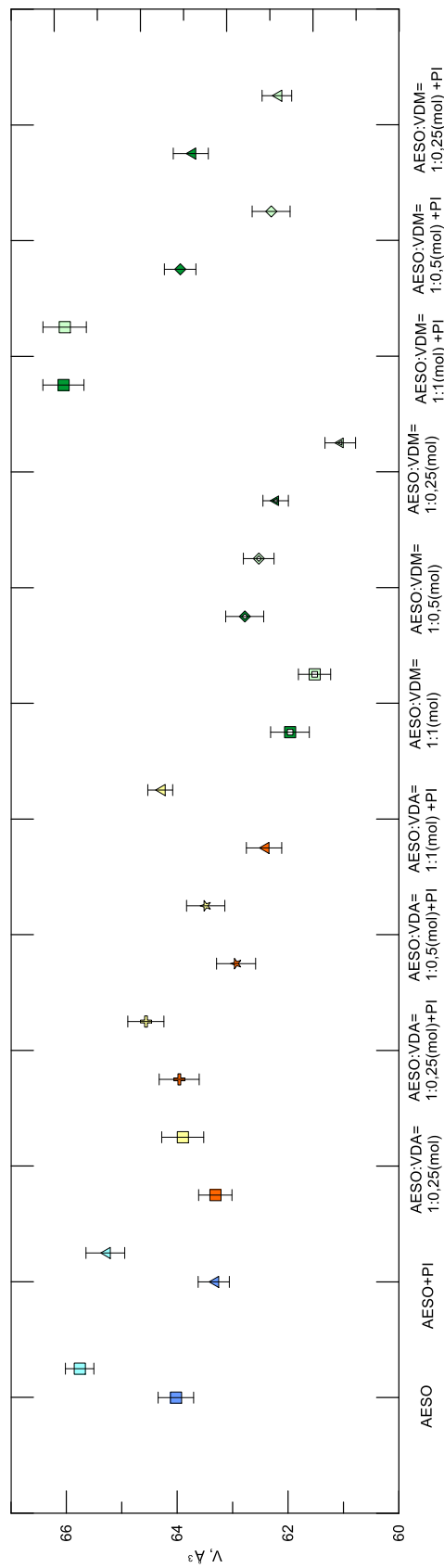
Korzystając z modelu Tao-Eldrupa wyliczono dla wszystkich tych próbek rozmiary wolnych objętości (Rys. 78). Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano pięć próbek, które cechują większe rozmiary wolnych objętości w temperaturze 20°C: AESO, AESO:VDA=1:0,25 (mol), AESO:VDM=1:1 (mol), AESO:VDM=1:0,5 (mol), AESO:VDM=1:0,25 (mol). Dodatkowo sprawdzono, jakie są rozmiary wolnych objętości w temperaturze -100°C we wszystkich badanych próbkach (Rys. 79). Na podstawie porównania objętości w tych dwóch temperaturach stwierdzono około 2,1 do 2,5-krotny spadek rozmiarów wolnych objętości towarzyszący obniżeniu temperatury o 120 K we wszystkich próbkach.



Rys. 77. Porównanie wartości czasów życia i natężeń o-Ps wszystkich próbek z drugiej grupy w temperaturze 20°C.



**Rys. 78. Rozmiary wolnych objętości próbek z drugiej grupy w temperaturze 20°C.**

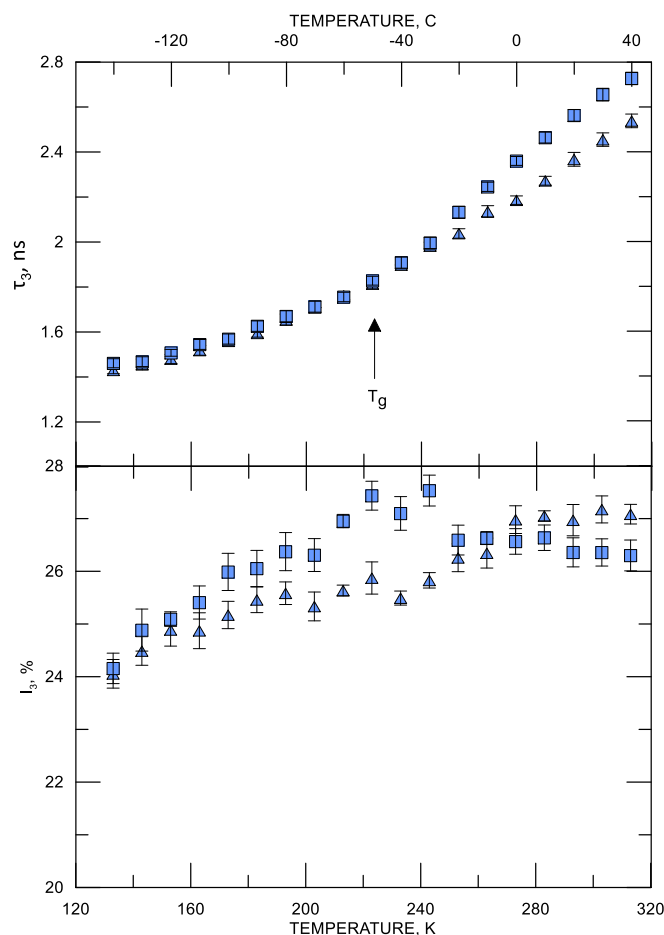


**Rys. 79. Rozmiary wolnych objętości próbek z drugiej grupy w temperaturze -100°C.**



Pomiary w funkcji temperatury w drugiej grupie próbek były wykonywane w podobnym reżymie, zaczynając od obniżania temperatury od początkowej wynoszącej 20°C do -150°C. Temperatura była obniżana również krokiem co 10°C i pomiar w każdej temperaturze trwał 3 godziny. Następnie zwiększano temperaturę tym samym krokiem do 40°C.

Wyniki pomiarów próbek AESO oraz AESO+PI w funkcji temperatury przedstawia Rys. 80.



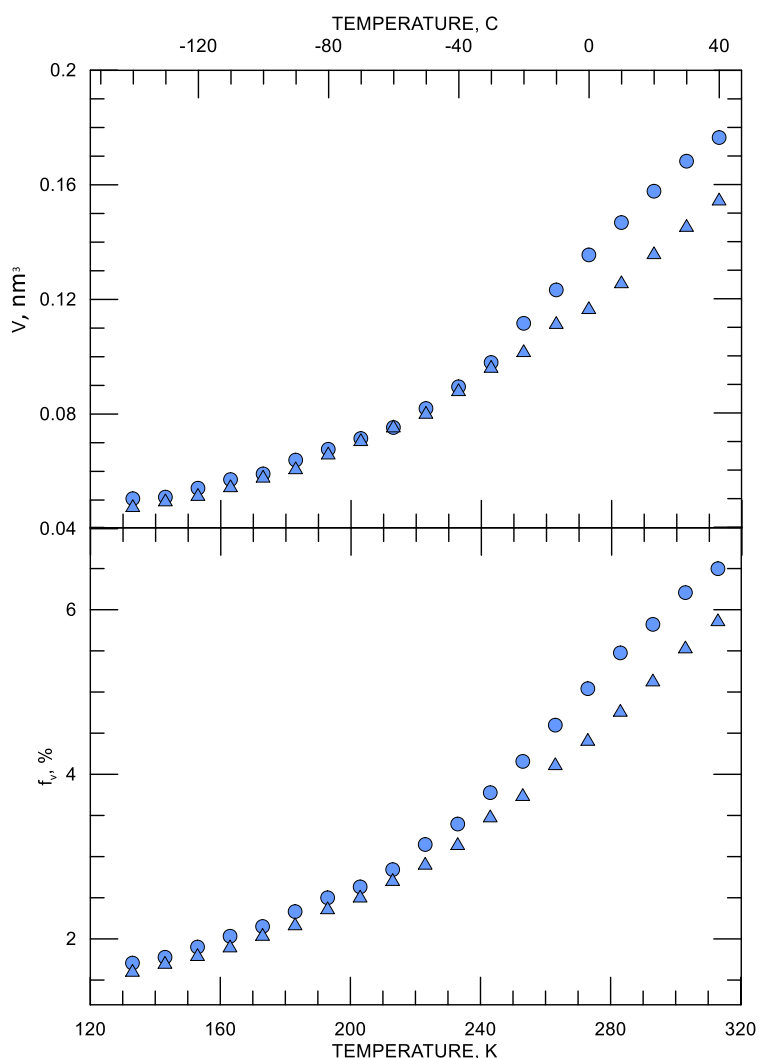
**Rys. 80.** Zależność czasu życia i natężenia o-Ps w funkcji rosnącej temperatury w próbkach AESO- kwadraty i AESO+PI- trójkąty. Strzałka wskazuje temperaturę przejścia fazowego  $T_g$ .

Na podstawie wykresu zmienności  $\tau_3(T)$  przy zastosowaniu równań (67) i (68) określono temperatury przejść fazowych w AESO i AESO+PI (Tabela 9). Na podstawie otrzymanych wyników zauważalna jest niewielka różnica w wartościach temperatur przejścia fazowego określonych dla matrycy AESO+PI w funkcji rosnącej i malejącej temperatury, niewystępująca w próbce AESO. Poniżej temperatur przejść fazowych czasy życia o-Ps w obu próbkach są takie same, jednak powyżej  $T_g$  wartości  $\tau_3$  w AESO są dłuższe niż w AESO+PI. Dodatek PI wpływa również na natężenie o-Ps. W przypadku matrycy AESO wartość  $I_3$  wzrasta do temperatury przejścia fazowego z 24 % na 27 %, po czym spada do ~25,8 %. Matrycę AESO+PI natomiast charakteryzuje przybliżony do liniowego wzrost wartości  $I_3$  w zakresie 23 % - 27 %.

**Tabela 9.** *Temperatury przejść fazowych w próbkach AESO oraz AESO+PI podczas pomiaru w funkcji rosnącej i malejącej temperatury.*

	AESO	AESO+PI
Wzrost temperatury	221,5 K	213 K
Obniżanie temperatury	221 K	220 K
Uśredniona temperatura	221,25 K	216,5 K

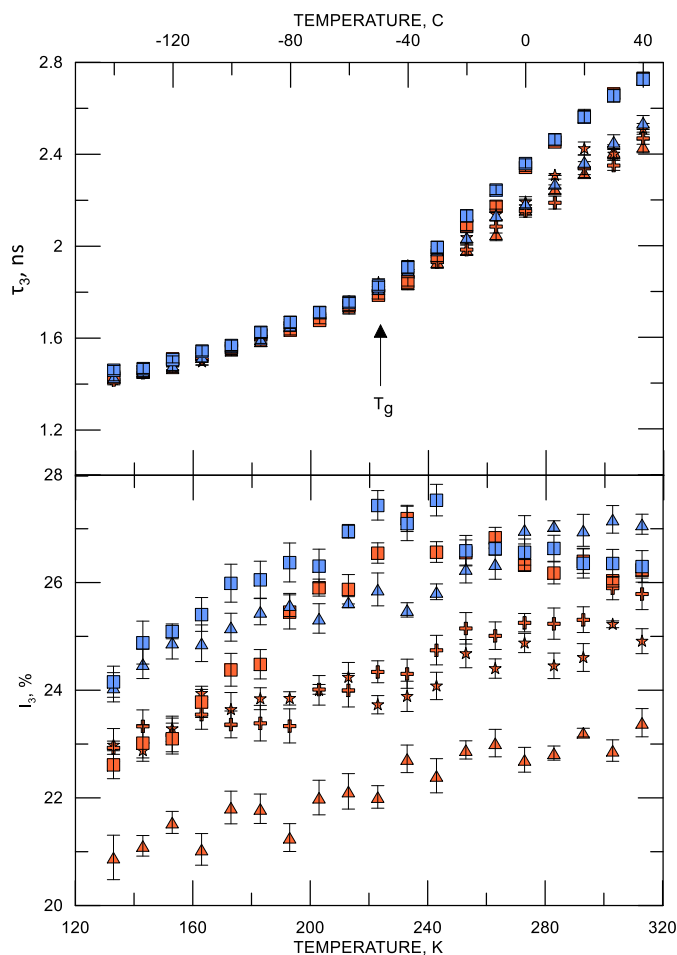
Wyniki obliczeń rozmiarów wolnych objętości i frakcji wolnych objętości dla matryc AESO oraz AESO+PI przedstawia Rys. 81. Uzyskane wyniki wskazują, że dodatek PI modyfikuje matrycę w fazie plastycznej, ponieważ zarówno rozmiary wolnych objętości, jak i ich frakcje poniżej  $T_g$  w obu próbkach są takie same. Powyżej  $T_g$  w AESO+PI występują wolne objętości o mniejszych rozmiarach niż w próbce AESO.



**Rys. 81.** *Rozmiary wolnych objętości i ich frakcje w funkcji temperatury (AESO- niebieskie kropki; AESO+PI- niebieskie trójkąty).*

W kolejnym kroku przeprowadzono badania matryc zawierających VDA w różnych koncentracjach. Czasy życia  $\tau_3$  i natężenia  $I_3$  otrzymane podczas pomiarów tych matryc w porównaniu do matryc wyjściowych (czyli AESO oraz AESO+PI) pokazano na Rys. 82. Czas życia *o*-Ps przyjmuje podobne wartości w przypadku obu matryc, które nie zawierają PI (AESO oraz AESO/VDM). Dodanie VDM skutkuje jedynie obniżeniem wartości  $I_3$  poniżej  $T_{g\_AESO}$ , przy czym w najniższych temperaturach różnica ta sięga nawet 1,5%. Tendencja zmian  $I_3(T)$  jest podobna w obu próbkach – poniżej  $T_g$  obserwowany jest stopniowy wzrost natężenia *o*-Ps, a powyżej – niewielki jego spadek.

Z kolei wartości czasu życia *o*-Ps w próbkach zawierających AESO+VDA+PI są zbliżone do wartości uzyskanych w próbce AESO+PI. Taka zbieżność ma miejsce dla wszystkich matryc zawierających PI, niezależnie od koncentracji VDA. Jednocześnie wartości  $\tau_3$  poniżej  $T_g$  w grupie próbek zawierających i niezawierających PI są zbliżone. Rozbieżność wartości czasów życia *o*-Ps w matrycach, które nie zawierają PI, a tymi które zawierają PI występuje powyżej  $T_g$ . Wartości  $I_3$  we wszystkich trzech matrycach zawierających VDA i fotoinicjator PI są znacznie niższe niż w próbce AESO+PI. Wartości natężeń w matrycach AESO:VDA=1:0,25 (mol)+PI oraz AESO:VDA=1:0,5 (mol)+PI przyjmują podobne wartości, a najniższe natężenia można zaobserwować w matrycy AESO:VDA=1:1 (mol)+PI. Nasuwa się więc wniosek, że to obecność VDA w próbce prowadzi do obniżenia wartości natężenia *o*-Ps.



**Rys. 82.** Zależność czasu życia i natężenia *o*-Ps w funkcji rosnącej temperatury w AESO-niebieskie kwadraty; AESO+PI- niebieskie trójkąty; AESO:VDA=1:0,25 mol-pomarańczowe kwadraty; AESO:VDA=1:0,25 mol+PI- pomarańczowe krzyżyki; AESO:VDA=1:0,5 mol+PI- pomarańczowe gwiazdki; AESO:VDA=1:1 mol+PI-

*pomarańczowe trójkąty. Strzałka wskazuje temperaturę przejścia fazowego  $T_g$  w czystym AESO.*

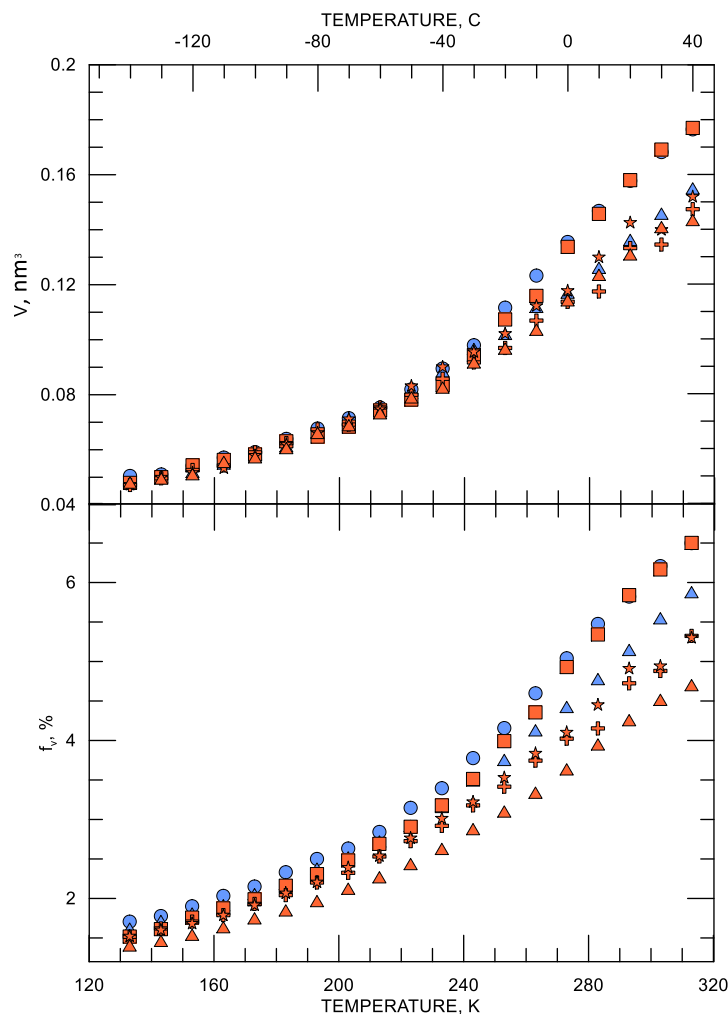
Zgodnie z przyjętą i opisaną powyżej procedurą wyznaczono temperatury przejść fazowych w matrycach zawierających VDA, a ich zestawienie przedstawia Tabela 10. Wyniki wskazują, że w żadnej z próbek nie zaobserwowano efektu histerezy.

**Tabela 10.** *Temperatury przejść fazowych określone na podstawie wykresów  $\tau_3(T)$  w próbkach zawierających VDA .*

	<b>AESO:VDA=1:0,25 mol</b>	<b>AESO:VDA=1:0,25 mol+PI</b>	<b>AESO:VDA=1:0,5 mol+PI</b>	<b>AESO:VDA=1:1 mol+PI</b>
Wzrost temperatury	227,8 K	223 K	212,1 K	227,2 K
Spadek temperatury	226,2 K	234,5 K	222 K	222,8 K
Średnia temperatura	227 K	228,75 K	215,05 K	225 K

Rozmiary wolnych objętości oraz ich frakcje dla matryc zawierających VDA w porównaniu do matryc pozbawionych tej substancji przedstawia Rys. 83. Rozmiary wolnych objętości  $V$  we wszystkich próbkach poniżej temperatury  $T_g$  są takie same, natomiast powyżej  $T_g$  grupują się wokół dwóch grup wartości: i) uzyskanych dla próbki niezawierającej PI oraz ii) uzyskanych dla próbki zawierającej PI.

Na podstawie powyższych wyników można stwierdzić, że dodatek VDM nie wpływa na rozmiary wolnych objętości, podczas gdy dodatek PI odpowiada za zmiany rozmiarów wolnych objętości powyżej  $T_g$ .

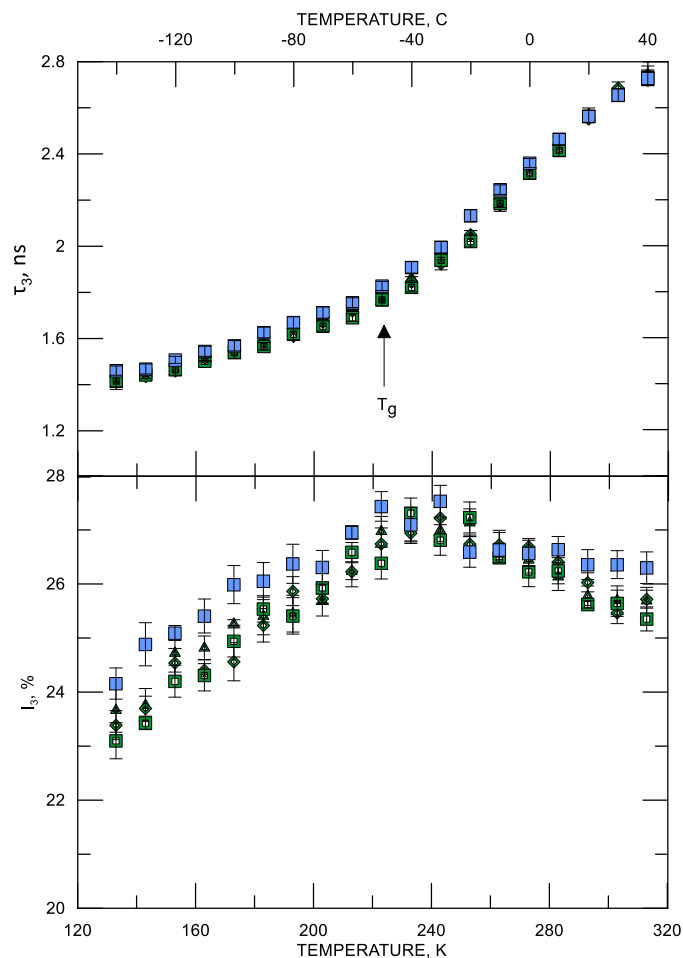


**Rys. 83.** Rozmiary wolnych objętości i ich frakcje w funkcji temperatury (AESO- niebieskie kropki; AESO+PI- niebieskie trójkąty; AESO:VDA=1:0,25 mol- pomarańczowe kwadraty; AESO:VDA=1:0,25 mol+PI- pomarańczowe krzyżyki; AESO:VDA=1:0,5 mol+PI- pomarańczowe gwiazdki; AESO:VDA=1:1 mol+PI- pomarańczowe trójkąty).

Frakcje wolnych objętości w badanych próbkach zmieniają się od wartości 1,5% w najniższej mierzonej temperaturze, do 6,5% w temperaturze +40°C. Największe wartości  $f_v$  widoczne są dla matryc, które zsyntezowano bez użycia fotoinicjatora PI. Wartości frakcji wolnych objętości w matrycach AESO:VDA=1:0,25 (mol)+PI oraz AESO:VDA=1:0,5 (mol)+PI przyjmują podobne wartości, a najniższą ilość frakcji można zaobserwować w matrycy AESO:VDA=1:1 (mol)+PI.

Ostatnią grupę badanych próbek stanowiły próbki zawierające VDM. Z uwagi na dużą ilość zebranych danych doświadczalnych zdecydowano się na prezentację tych wyników w dwóch pakietach: próbki AESO+VDA oraz próbki AESO+VDA+PI.

Wyniki otrzymane podczas pomiarów matryc zawierających VDM w różnej koncentracji w porównaniu do matrycy wyjściowej AESO przedstawia Rys. 84. Wartości  $\tau_3$  otrzymane dla wszystkich badanych matryc osiągają takie same wartości, zaniżone o nie więcej niż 60 ps w stosunku do czasów  $\tau_3$  mierzonych w czystym AESO. Natomiast wartości natężeń *o*-Ps są nieznacznie niższe (do 1%) w przypadku matryc zawierających VDM.



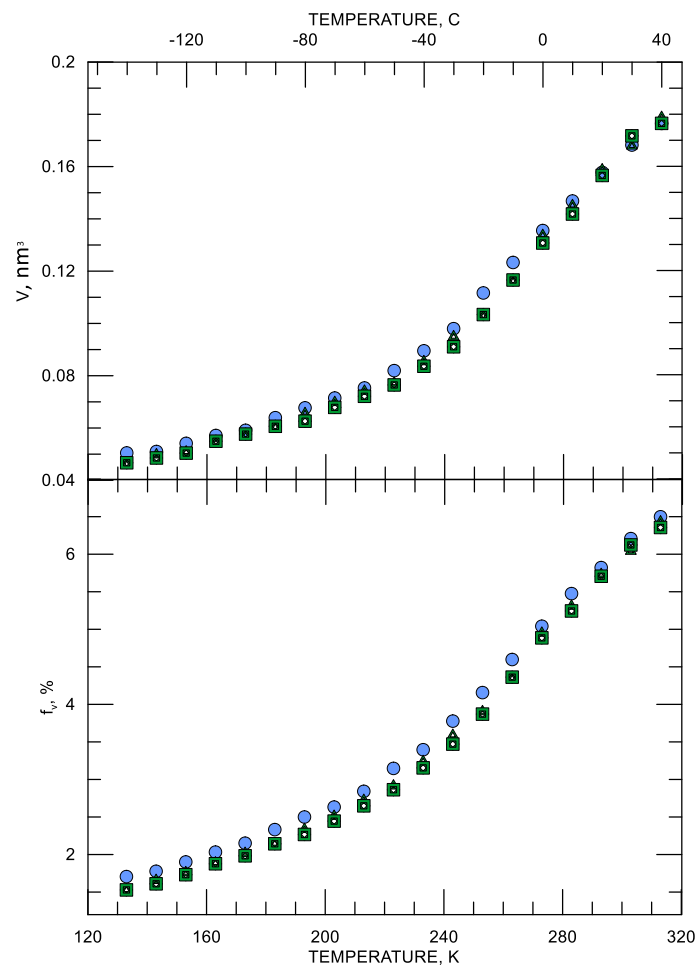
**Rys. 84.** Zależność czasu życia i natężenia *o*-Ps w funkcji rosnącej temperatury (AESO-niebieskie kwadraty; AESO:VDM=1:0,25 mol- ciemnozielone trójkąty puste wewnątrz; AESO:VDM=1:0,5 mol- ciemnozielone romby puste wewnątrz; AESO:VDM=1:1 mol- ciemnozielone kwadraty puste wewnątrz). Strzałka wskazuje temperaturę przejścia fazowego  $T_g$ .

Temperatury przejść fazowych matryc zawierających VDM przedstawia Tabela 11. W żadnej z badanych matryc nie występuje efekt wyraźnej histerezy.

**Tabela 11.** Temperatury przejść fazowych w próbkach zawierających VDM podczas stopniowego podwyższania i obniżania temperatury.

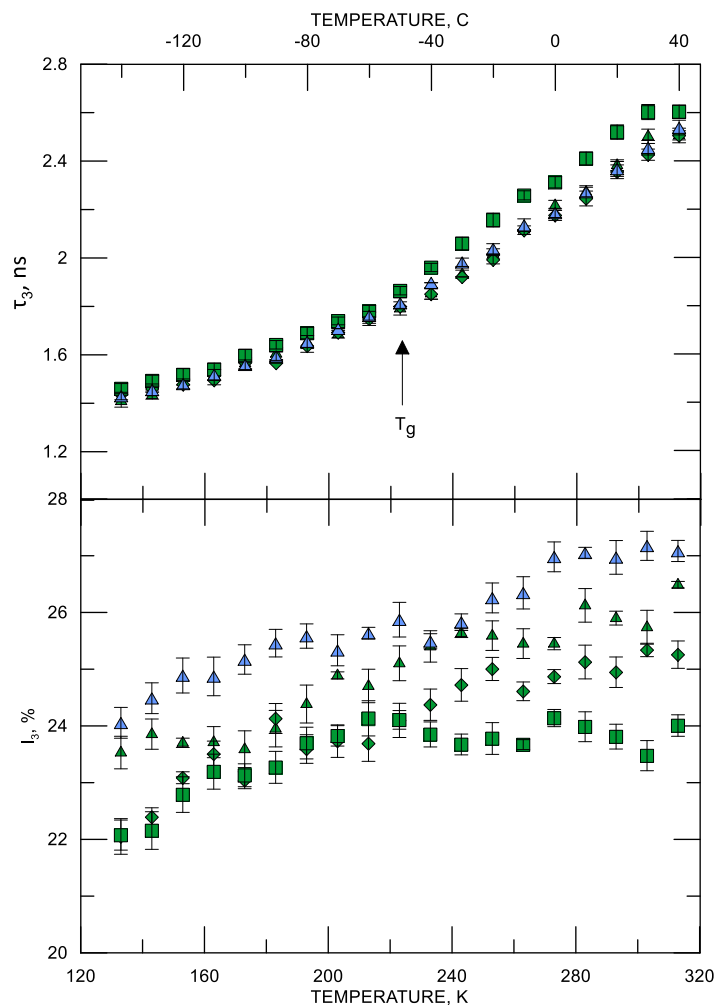
	AESO:VDM=1:0,25 mol	AESO:VDM=1:0,5 mol	AESO:VDM=1:1 mol
Wzrost temperatury	231 K	234 K	233 K
Spadek temperatury	230,3 K	238 K	235 K
Średnia temperatura	230,65 K	236 K	234 K

Rozmiary wolnych objętości oraz ich frakcje wyznaczone dla matryc zawierających VDM zostały zilustrowane na Rys. 85. Wartości rozmiarów wolnych objętości w całej grupie tych matryc są podobne do uzyskanych w czystym AESO, natomiast wartość  $f_v$  są nieco niższe niż w przypadku próbki matrycy wyjściowej.



**Rys. 85.** Rozmiary wolnych objętości i ich frakcje w funkcji temperatury (AESO- niebieskie kropki; AESO:VDM=1:0,25 mol- ciemnozielone trójkąty puste wewnątrz; AESO:VDM=1:0,5 mol- ciemnozielone romby puste wewnątrz; AESO:VDM=1:1 mol- ciemnozielone kwadraty puste wewnątrz).

Wyniki otrzymane podczas pomiarów matryc zawierających VDM oraz PI w porównaniu do matrycy wyjściowej AESO+PI przedstawia Rys. 86. Wartości  $\tau_3$  otrzymane dla wszystkich badanych matryc (za wyjątkiem AESO:VDM=1:1 mol+PI) osiągają wartości takie same jak mierzone w AESO+PI. Jedynie we wspomnianej wyżej, wyróżniającej się próbce mierzone są czasy życia *o*-Ps zawyżone o nie więcej niż 180 ps w stosunku do czasów  $\tau_3$  mierzonych w AESO+PI. Próbkę tę wykazuje również najniższe w tej grupie wartości natężeń *o*-Ps, zaniżone o 2 do 3 % w stosunku do wartości mierzonych w AESO+PI. Wartości natężeń *o*-Ps pozostałych dwóch próbek zawierających PI są niewiele niższe od wartości zmierzonych w AESO+PI. Na podstawie zależności  $\tau_3(T)$  wyznaczono temperatury przejść fazowych (Tabela 12).



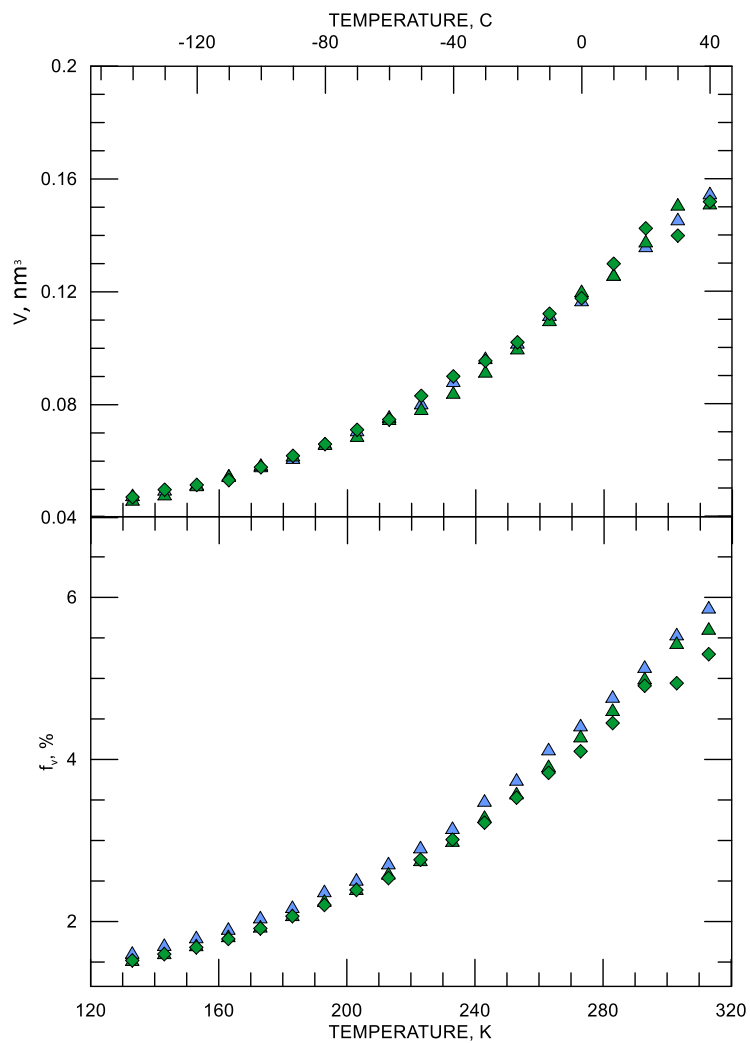
**Rys. 86.** Zależność czasu życia i natężenia *o*-Ps w funkcji temperatury przy jej podwyższaniu (AESO+PI- niebieskie trójkąty; AESO:VDM=1:0,25 mol+PI- ciemnozielone trójkąty; AESO:VDM=1:0,5 mol+PI- ciemnozielone romby; AESO:VDM=1:1 mol+PI- ciemnozielone kwadraty). Strzałka wskazuje temperaturę przejścia fazowego  $T_g$ .

**Tabela 12.** Temperatury przejść fazowych w próbkach zawierających VDM oraz PI.

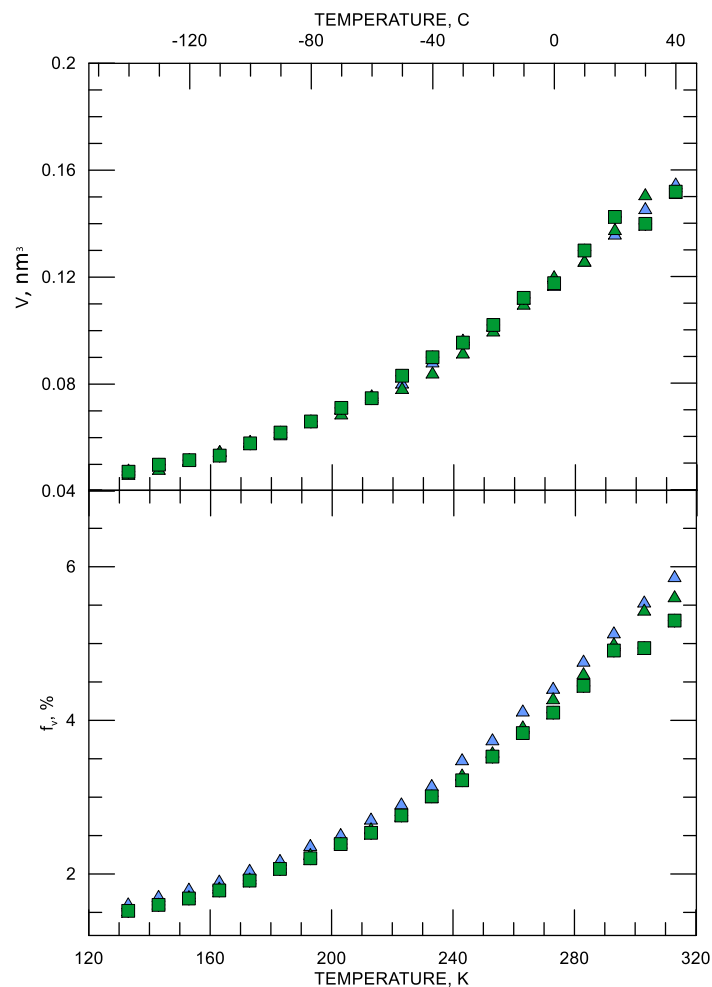
	AESO:VDM=1:0,25 mol+PI	AESO:VDM=1:0,5 mol+PI	AESO:VDM=1:1 mol+PI
Wzrost temperatury	230,2 K	225,2 K	210,6 K
Spadek temperatury	215,6 K	223,2 K	217,8 K
Średnia temperatura	222,9 K	224,2 K	214,2 K

Również w tej grupie próbek wyznaczono rozmiary wolnych objętości i ich frakcje (Rys. 87 i Rys. 88), nie stwierdzono jednak, by oba te parametry różniły się od wyznaczonych dla próbek AESO+PI. Widoczne jest bardzo duże podobieństwo w rozmiarach wolnych objętości oraz ich frakcjach w próbkach AESO:VDM=1:0,5 (mol)+PI oraz AESO:VDM=1:1 (mol)+PI.





**Rys. 87.** Rozmiary wolnych objętości i ich frakcje w funkcji temperatury (AESO+PI- niebieskie trójkąty; AESO:VDM=1:0,25 mol+PI- ciemnozielone trójkąty; AESO:VDM=1:0,5 mol+PI- ciemnozielone romby)



**Rys. 88.** Rozmiary wolnych objętości i ich frakcje w funkcji temperatury (AESO+PI- niebieskie trójkąty; AESO:VDM=1:0,25 mol+PI- ciemnozielone trójkąty; AESO:VDM=1:1 mol+PI- ciemnozielone kwadraty).

### 14.3. POMIARY SORPCJI/DESORPCJI

Na wybranych próbkach matryc biopolimerowych przeprowadzono pomiary sorpcji / desorpcji wody dejonizowanej, roztworu 0,9% NaCl oraz wody zanieczyszczonej pochodzącej z naturalnych zbiorników wodnych. Wszystkie pomiary prowadzono w temperaturze pokojowej. Na pierwszej grupie próbek przeprowadzono pomiary wg następującego reżimu:

1. sorpcja wody z par – wykorzystywano probówkę zawierającą odgazowaną wodę wpiętą w układ próżniowy komory próbki;
2. nasiąkanie próbki wodą – próbka była zalewana wodą w komorze pomiarowej;
3. desorpcja wody – z komory próbki wypompowywano pary/gazy.

Pomiary PALS po spęcznieniu (proces desorpcji) mogą ujawnić zachowanie właściwości objętości swobodnej polimerów o różnej zawartości wody. Na Rys. 89 przedstawiono wykres zmienności czasu życia i natężenia *o*-Ps w trakcie pomiarów wykonywanych wg przedstawionego powyżej reżimu na próbkach ELO/PI i ELO/10RD1/PI, zaś na Rys. 90 – na próbkach AESO/VDM i AESO/VDM/DMPA. Jak wykazały badania, obecność molekuł H<sub>2</sub>O w próbkach bazujących na ELO nie wpływa na czas życia *o*-Ps – czas ten pozostaje taki sam jak zmierzony w próbce w warunkach wyjściowych (temp. 18°C, ciśnienie w komorze nad próbką ~40 Pa). Natomiast zmiany są obserwowane na wykresie  $I_3(t)$ . Wraz z upływem czasu

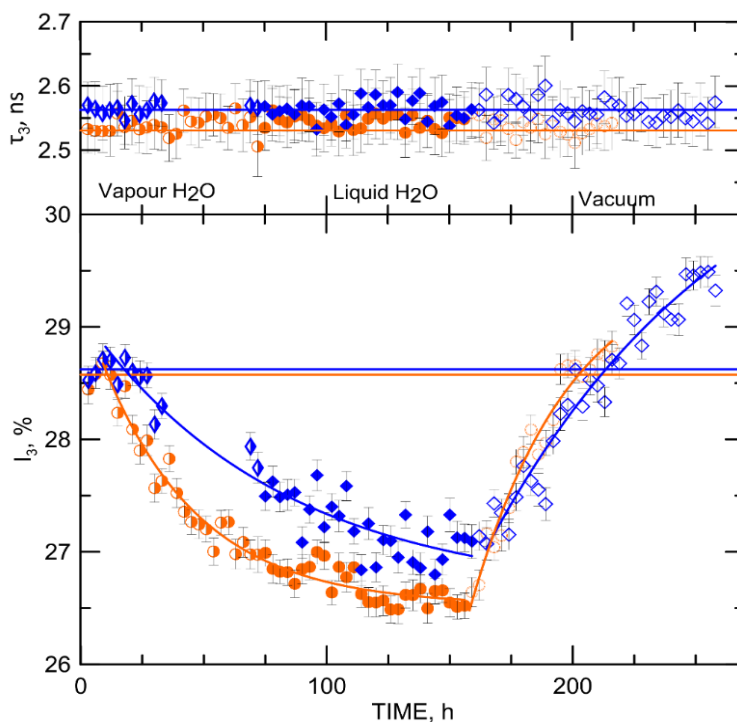
mierzone natężenie *o*-Ps jest mniejsze, przy czym poziom tych zmian wydaje się być zależny od procesu pochłaniania cieczy (nasiąkania) przez matrycę i jednocześnie niezależny od tego, czy woda dozowana jest z par czy też z fazy ciekłej.

Zmiany parametrów PALS w procesie sorpcji / desorpcji cieczy obserwowane w próbkach bazujących na AESO różnią się od przedstawionych dla próbek bazujących na ELO. Przede wszystkim obecność molekuł H<sub>2</sub>O wpływa na wartość  $\tau_3$  – o ile czasy życia mierzone w próbkach w parach H<sub>2</sub>O nieznacznie tylko skracają się w odniesieniu do wartości referencyjnej, o tyle już w pomiarach, gdy próbka jest zanurzona w wodzie czasy te wyraźnie się skracają. Czas życia *o*-Ps wraca do wartości wyjściowej w próbce AESO/VDM/MDPA, jednak w próbce AESO/VDA pozostaje skrócony o około 150 ps w odniesieniu do zmierzonego w próbce w warunkach wyjściowych. Z kolei natężenie *o*-Ps w próbce AESO/VDM/MDPA w obecności molekuł H<sub>2</sub>O ulega obniżeniu o około 1%, ale po usunięciu wody z próbki wraca do wartości wyjściowej. Natężenie mierzone w próbce AESO/VDA znacząco zmienia się w czasie w obecności par H<sub>2</sub>O – obserwujemy eksponencyjny spadek wartości  $I_3$  o 2% w około 90 h. W obecności wody w stanie ciekłym obserwowany jest powolny wzrost wartości  $I_3$ , któremu towarzyszył jednoczesny spadek wartości  $\tau_3$ . Wraz z rozpoczęciem procesu desorpcji natężenie szybko wzrasta, znacznie przekraczając wartość mierzoną w warunkach wyjściowych.

W wykresy  $I_3(t)$  zarówno w obszarze sorpcji jak i w obszarze desorpcji H<sub>2</sub>O wpasowano krzywe eksponencjalne o równaniu:

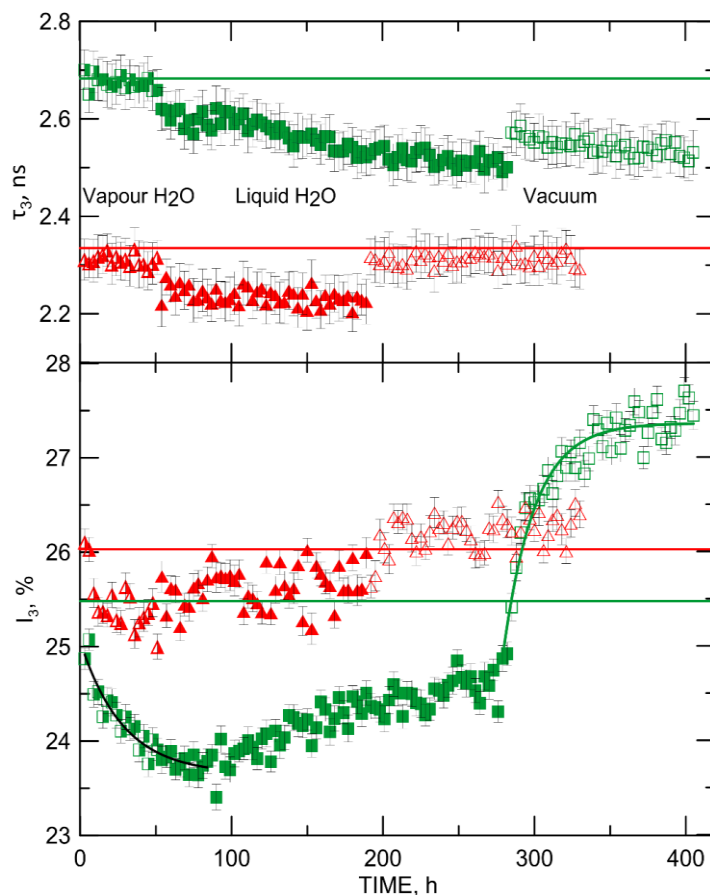
$$I_3 = I_{30} + I_{3f} \left( 1 + \exp \left( -\frac{t}{\theta} \right) \right) \quad (71)$$

gdzie  $I_{30}$  jest wartością, do której dąży natężenie  $I_3$ ,  $I_{3f}$  to maksymalny spadek (wzrost) natężenia *o*-Ps zaobserwowany w wyniku procesu sorpcji (desorpcji), suma  $I_{30}+I_{3f}$  oznacza początkową wartość natężenia *o*-Ps (poziom odniesienia), a  $\theta$  to stała czasowa procesu sorpcji / desorpcji.



**Rys. 89.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu dla zadanych warunków wilgotności. Pomarańczowe kropki oznaczają próbkę ELO/PI, a niebieskie romby ELO/10RD1/PI. Zapelnione do połowy punkty- pomiary w parach H<sub>2</sub>O; pełne punkty- ciekła H<sub>2</sub>O, puste

punkty- pomiary desorpcji. Linie oznaczają wartości początkowe przed rozpoczęciem pomiarów sorpcji/desorpcji [175].



**Rys. 90.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu dla zadanych warunków wilgotności. Zielone kwadraty oznaczają próbkę AESO/VDM, a czerwone trójkąty AESO/VDM/DMPA. Zapelnione do połowy punkty- pomiary w parach H<sub>2</sub>O; pełne punkty- ciepla H<sub>2</sub>O, puste punkty- pomiary desorpcji. Linie oznaczają wartości początkowe przed rozpoczęciem pomiarów sorpcji/desorpcji [175].

W tabeli 13 zestawiono wyznaczone stałe procesów sorpcji i desorpcji w badanych próbkach, z pominięciem próbki AESO/VDM/DMPA, w której nie zaobserwowano eksponencyjnych zmian parametrów PALS. W próbce ELO/PI stałe czasowe procesu sorpcji i desorpcji są jednakowe i wynoszą około 40 h. W próbce ELO/10RD1/PI stała czasowa procesu sorpcji wzrasta dwukrotnie w porównaniu z ELO/PI, a stała czasowa desorpcji jest o około 20 godz. dłuższa niż stała czasowa sorpcji. W próbce AESO/VDM wyznaczona stała czasowa procesu sorpcji z par wynosi około 28 h, zaś proces desorpcji jest bardzo szybki – wyznaczona stała czasowa wynosi zaledwie 21 h.

**Tabela 13.** Stałe czasowe procesów sorpcji i desorpcji dla badanych matryc [175].

Matryca	Proces	$\Theta$ , h
ELO/PI	sorpcja	39,0
	desorpcja	40,4
ELO/10RD1/PI	sorpcja	79,9
	desorpcja	100,7
AESO/VDM	sorpcja	28,1

	desorpcja	20,8
--	-----------	------

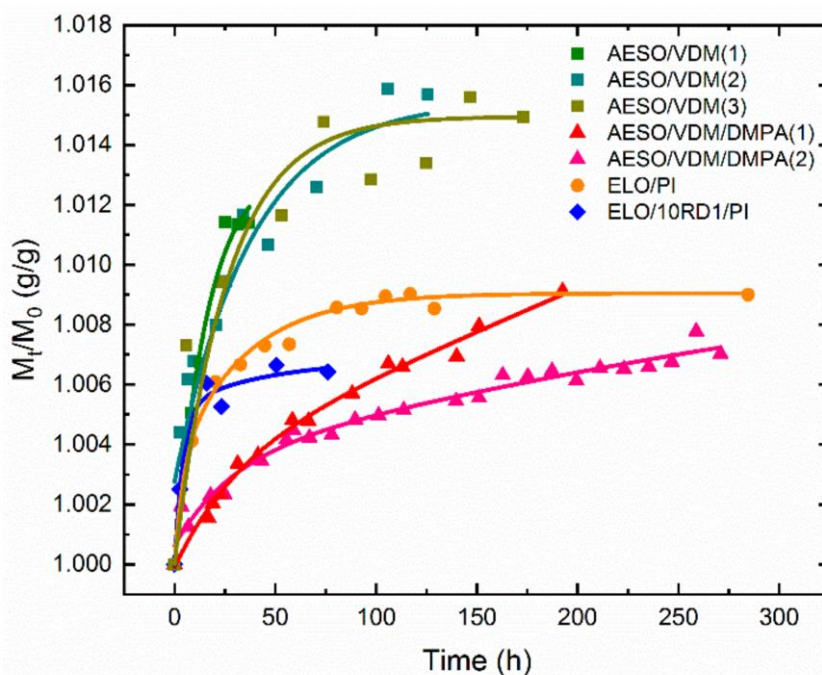
Pomiary pęcznienia próbek zostały wykonane przez zespół naukowców ze Słowacji i wspólnie przeanalizowane oraz zinterpretowane w ramach polsko- -słowackiej współpracy naukowej. Celem badań pęcznienia było:

- a) określenie ilości wody, jaką próbka jest w stanie wchłonąć ze środowiska ciekłego;
- b) określenie przebiegu sorpcji wody w czasie;
- c) oszacowanie współczynników dyfuzji wody w badanych próbkach oraz
- d) jakościowa analiza gęstości usieciowania.

Pomiary PALS (proces desorpcji) po spęcznieniu mogą ujawnić zachowanie właściwości objętości swobodnej polimerów o różnej zawartości wody. Badania pęcznienia przeprowadzono kilkakrotnie w celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących stabilności struktury próbki. Wyniki eksperymentów pęcznienia przedstawiono na Rys. 91 oraz w tabeli Tabela 14. Parametr  $S$ , powszechnie stosowany do opisu zdolności pęcznienia polimeru w danym rozpuszczalniku definiuje się w następującej postaci:

$$S = \frac{100\% \cdot (M_n - M_s)}{M_s}, \quad (72)$$

gdzie  $M_n$  to maksymalna masa próbki nasyconej rozpuszczalnikiem (w tym przypadku wodą), a  $M_s$  to jej masa po suszeniu. Dla procesów desorpcji w pomiarach PALS, masę początkową (maksymalną) przyjęto jako  $M_n$ , a masę minimalną, po pełnej desorpcji w próżni przed ostatnim pomiarem PALS, jako  $M_s$ . Wartość parametru  $S$  dla poszczególnych matryc potwierdziła, że największą zdolność sorpcyjną posiada matryca biopolimerowa AESO/VDM. W porównaniu z innymi próbkami, AESO/VDM/DMPA wykazywało tendencję rosnącą w całym mierzonym przedziale czasu. W przypadku ponownie powtórnego procesu pęcznienia po około 50 h sorpcji, próbka ta wykazywała mniejszy przyrost masy w porównaniu do pierwotnego spęcznienia. Próbka AESO/VDM o podobnym składzie, ale syntetyzowana bez fotoinicjatora DMPA, wyraźnie wykazuje wyższą zdolność sorpcji wody, co można wytłumaczyć mniejszą wydajnością sieciowania. Stwierdziliśmy ponadto, że struktura sieci AESO/VDM była znacznie stabilniejsza, ponieważ parametry pozostały stałe nawet po trzecim cyklu pęcznienia. W próbce AESO/VDM/DMPA, która charakteryzuje się większą gęstością usieciowania, wiązania sieciowe są mniej stabilne. Wyjaśnia to nienasycony przebieg zależności  $M(t)$ , a także zmniejszenie wartości  $M(t)$  w drugim cyklu pęcznienia.



**Rys. 91.** Utrata masy próbek wyrażona jako stosunek masy próbki nasiąkniętej do masy próbki suchej w funkcji czasu. Kwadratami oznaczono próbkę AESO/VDM, trójkątami- AESO/VDM/DMPA, kropkami- ELO/PI, a rombami- ELO/10RD1/PI. W przypadku próbki AESO/VDM cykl nasiąkania wykonano trzykrotnie, a w przypadku próbki AESO/VDM/DMPA dwukrotnie [175].

**Tabela 14.** Porównanie zdolności do wchłaniania wody przez poszczególne matryce. Liczby w nawiasach oznaczają liczbę powtórzeń eksperymentu [175].

Matryca	$M_{tmax}/M_0$ , g/g	S, %
ELO/PI	1,0090	1,340
ELO/10RD1/PI	1,0065	0,911
AESO/VDM (2)	1,0150	1,432
AESO/VDM/DMPA (1)	1,0091	0,969

Obie próbki ELO/PI i ELO/10RD1/PI zawierają fotoinicjator PI. Matryca ELO/10RD1/PI zawiera dodatkowo substancję RD1 zwiększającą stopień usieciowania. Zostało to potwierdzone niższym poziomem masy nasyconej w porównaniu do ELO/PI. Różnice pomiędzy tymi dwiema próbkami pod względem wartości masy nasyconej były mniejsze niż w przypadku próbek AESO/VDM i AESO/VDM/DMPA.

Do badań desorpcji wody w próbkach wykorzystano dwie metody badawcze. W pierwszej kolejności rejestrowano masę próbki w czasie w powietrzu w warunkach laboratoryjnych (ciśnienie atmosferyczne, temperatura 23°C, wilgotność względna 60%) w celu porównania procesów sorpcji i desorpcji oraz ich wpływu na stałą dyfuzji  $D$ , którą opisuje się następującą zależnością:

$$D = \frac{d^2}{12\tau}, \quad (73)$$

gdzie  $d$  to grubość próbki (3 mm), zaś  $\tau$  oznacza jest średnim czasem pierwszego przejścia i jest on definiowany jako okres czasu, w którym dane zdarzenie stochastyczne występuje po raz pierwszy. Wartość  $\tau$  została wyznaczona poprzez całkowanie numeryczne następującej zależności:

$$P(t) = \left[ \frac{M(t) - M(\infty)}{M(0) - M(\infty)} \right], \quad (74)$$

gdzie  $M(0)$  i  $M(\infty)$  reprezentują odpowiednio masę mokrej i suchej próbki, natomiast  $M(t)$  to masa próbki w chwili  $t$ . Otrzymane wyniki zestawiono w tabeli Tabela 15. Wyniki otrzymane dla próbki AESO/VDM pokazują, że procesy wnikania wody do próbki (pęcznienia) i usuwania (desorpcja w powietrzu) dają bardzo zbliżoną wartość stałej  $D$ . ELO Największą wartość stałej  $D$  zaobserwowano dla próbki ELO/10RD1/PI, mimo że materiał ten ma niską zdolność sorpcyjną.

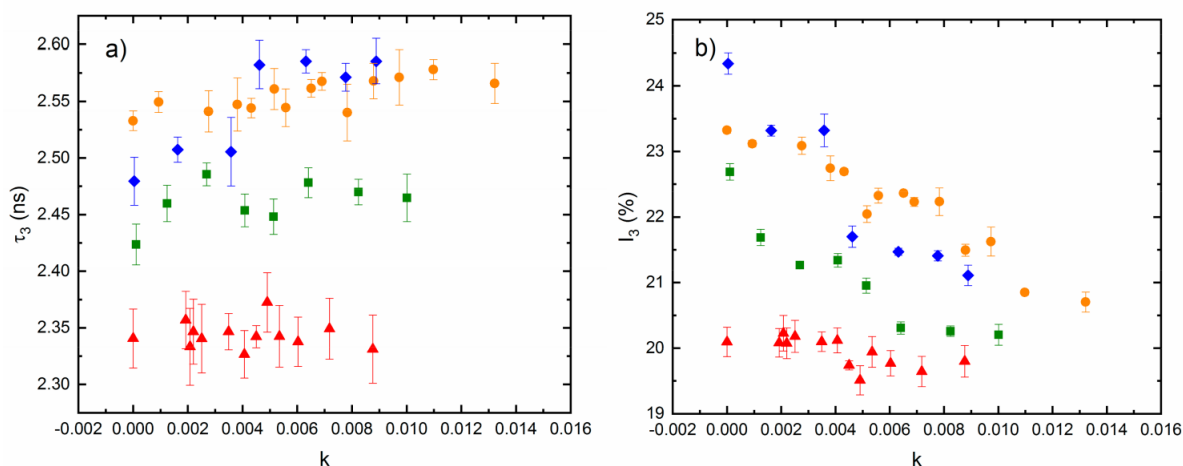
**Tabela 15.** Szacowana stała dyfuzji  $D$  i średni czas pierwszego przejścia  $\tau$  dla wody w badanych próbkach [175].

Matryca	$\tau, h$	$D, m^2 \cdot s^{-1}$	Proces
ELO/PI	22,55	$9,24 \cdot 10^{-12}$	nasiąkanie
ELO/10RD1/PI	8,96	$2,33 \cdot 10^{-11}$	nasiąkanie
AESO/VDM	28,3	$7,36 \cdot 10^{-12}$	nasiąkanie
AESO/VDM	27,5	$7,58 \cdot 10^{-12}$	desorpcja w powietrzu
AESO/VDM/DMPA	40,4	$5,16 \cdot 10^{-12}$	nasiąkanie

Następnie, po pełnej adsorpcji próbki (na końcowym etapie pęcznienia), wykonywano pomiary PALS. W kolejnym kroku przeprowadzano częściową desorpcję wody w komorze niskopróżniowej (ok. 0,1 atm). Po tym etapie próbkę ważono w celu oznaczenia zawartości wody i mierzono metodą PALS. Przed i po każdym pomiarze PALS rejestrowano masę próbki w celu sprawdzenia warunków. Następnie przeprowadzono kolejną częściową desorpcję w niskiej próżni. Cykle te wykonywano, aż do osiągnięcia minimalnej (początkowej) masy. Ostatnią desorpcję przeprowadzono w próżni (0,01 atm., 1 godz.). Uzyskano charakterystyki anihilacji poszczególnych próbek w zależności od ilości wody (wyrażonej współczynnikiem wypełnienia). Współczynnik wypełnienia  $k$  definiuje się następująco:

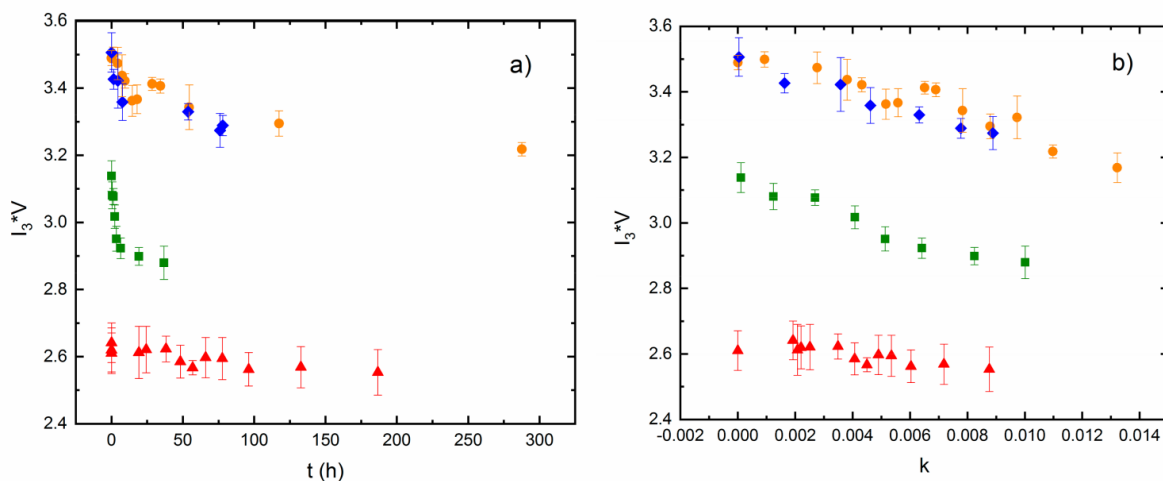
$$k = \frac{M_{H_2O}}{M_{H_2O} + M_{matrycy}} \quad (75)$$

gdzie  $M_{H_2O}$  jest masą wody wewnątrz próbki, a  $M_{matrycy}$  jest masą próbki polimeru o wartości minimalnej. Wyniki dla wszystkich próbek zestawiono na wykresach zmian czasu życia  $o$ -Ps oraz natężenia  $o$ -Ps w funkcji  $k$ , jak przedstawiono na Rys. 92.



**Rys. 92.** Czas życia (a) oraz natężenie (b) *o*-Ps w funkcji współczynnika wypełnienia. Kwadratami oznaczono próbkę AESO/VDM, trójkątami- AESO/VDM/DMPA, kropkami- ELO/PI, a rombami- ELO/10RD1/PI [175].

Na podstawie zależnej od czasu zmiany masy znormalizowanej  $M(t)/M(0)$  (krzywe na Rys. 91, pęcznienie próbek) skonstruowano zależność czasową parametrów PALS podczas sorpcji wody przez materiał na podstawie założenia, że parametry anihilacji w próbce są takie same dla danych ilości wody w procesach desorpcji (zmierzone wartości PALS) i pęcznienia (zrekonstruowane wartości PALS). Na Rys. 93 przedstawiono zredukowaną frakcję wolnej objętości  $f_v/C$  dla wszystkich badanych próbek w funkcji czasu. Jest oczywiste, że udział wolnej objętości maleje wraz ze wzrostem zawartości wody w miarę stopniowego wypełnienia pustych przestrzeni cząsteczkami wody, z wyjątkiem AESO/VDM/DMPA, gdzie spadek frakcji jest pomijalny.



**Rys. 93.** Zredukowana frakcja wolnych objętości w funkcji: a) czasu; b) współczynnika wypełnienia. Kwadratami oznaczono próbkę AESO/VDM, trójkątami- AESO/VDM/DMPA, kropkami- ELO/PI, a rombami- ELO/10RD1/PI [175].

Odrębnym zagadnieniem istotnym z punktu widzenia zastosowania matryc było zbadanie procesu sorpcji wód różniących się składem. W warunkach laboratoryjnych przyjęto prowadzić badania na próbkach wody czystej (dejonizowanej), natomiast można przypuszczać, że matryce będą się zachowywały inaczej, jeśli zostaną umieszczone w wodzie zanieczyszczonej (naturalnej, zanieczyszczonej zarówno ksenobiotykami, jak również minerałami, składnikami



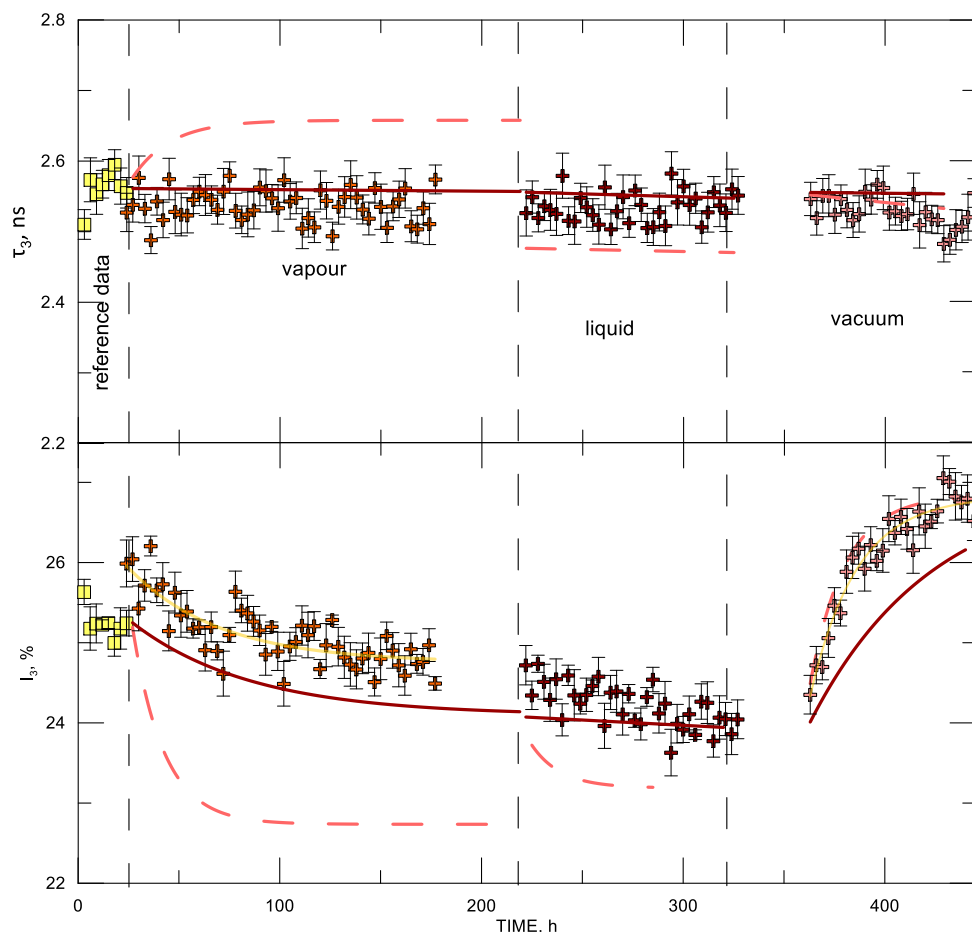
pochodzenia biologicznego, chemicznego i in.), a w skrajnym przypadku – zastosowane w wodzie zasolonej.

Pomiary sorpcji / desorpcji w wybranych próbkach z drugiej grupy matryc wykonano w następujących cieczach:

- woda dejonizowana;
- roztwór 0,9% NaCl (sól fizjologiczna);
- zanieczyszczona ksenobiotykami woda pobrana z naturalnego zbiornika wodnego – z rzeki Dniepr, w pobliżu tamy Krzemieńczuk, w miejscowości Nahrine, obwód kirowogradzki, Ukraina.

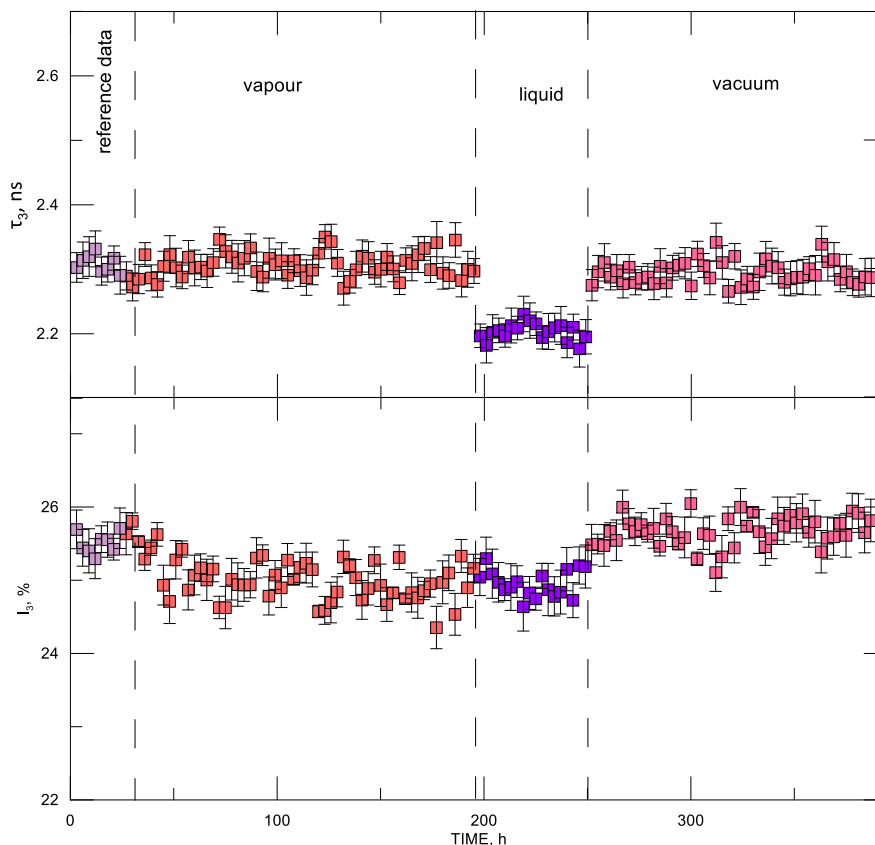
Do badań wytypowano po dwie próbki AESO z dodatkiem VDA i VDM. Pomiary rozpoczynane były w warunkach próżni, za każdym razem na świeżych próbkach niepoddanych wcześniej innym pomiarom.

Wyniki pomiarów sorpcji / desorpcji dla matrycy AESO:VDA=1:0,25 (mol) przedstawia Rys. 94. W tej próbce nie obserwuje się zmian wartości  $\tau_3$  podczas pomiarów w wodzie dejonizowanej (linie ciągłe) oraz zanieczyszczonej (symbole). Czas życia *o*-Ps zmienia się jednak w sytuacji zastosowania wody słonej (linia kreskowana). Obserwowany jest wzrost czasu życia *o*-Ps w parach roztworu 0,9% NaCl oraz spadek podczas pomiarów w zanurzeniu w tym samym roztworze. Należy jednak wyjaśnić, że podczas pomiarów w parach roztworu 0,9% NaCl matryca uległa rozpuszczeniu, częściowo spłynęła na dno komory i zaistniała konieczność uzupełnienia próbki – przed wlaniem roztworu do komory dołożono dodatkową porcję próbki. Nagły wzrostu  $I_3$  na początku pomiarów w zanurzeniu w roztworze 0,9% NaCl może być więc wynikiem nasiąkania cieczą tej dodatkowej porcji próbki. Nie zaobserwowano takiego zjawiska podczas pomiarów w wodzie dejonizowanej oraz zanieczyszczonej. Pomimo, iż wartości  $I_3$  w pomiarach wody dejonizowanej i zanieczyszczonej różnią się nieznacznie wartościami, tendencje zmian natężenia *o*-Ps są zbliżone. Na podstawie powyższych analiz można wnioskować dwojako: albo zasolenie ma działanie destrukcyjne na matrycę, albo właściwości sorpcyjne tej matrycy zależą od stopnia zasolenia cieczy – im wyższy tym lepsze właściwości sorpcyjne.



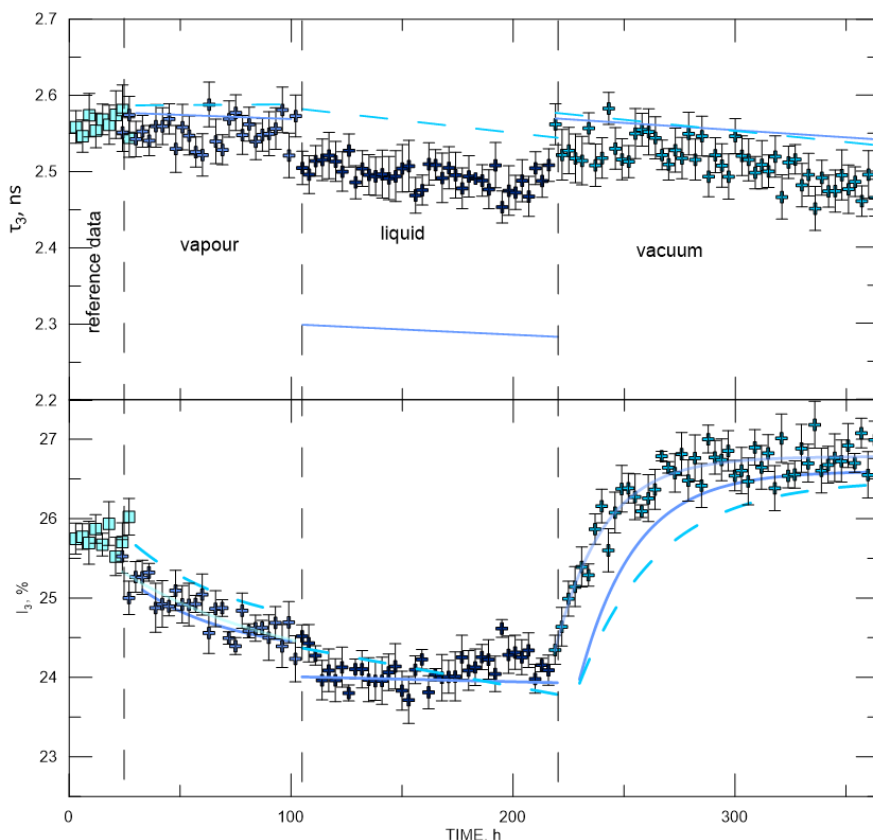
**Rys. 94.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu w zadanych warunkach wilgotności dla matrycy AESO:VDA=1:0,25 mol. Żółte kwadraty- pomiary w próżni (dane odniesienia); pomarańczowe krzyżyki- pomiary w parach zanieczyszczonej wody; czerwone krzyżyki- pomiary w zanurzeniu w zanieczyszczonej wodzie; różowe krzyżyki- pomiar desorpcji cieczy z matrycy; linia przerywana oznacza krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w roztworze 0,9% NaCl, a linia ciągła to krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w wodzie dejonizowanej. Poszczególne części cyklu pomiarowego są oddzielone od siebie pionowymi, czarnymi liniami.

Wyniki pomiarów sorpcji / desorpcji dla próbki AESO:VDA=1:0,5 (mol)+PI przedstawia Rys. 95. Ta próbka nie wykazują właściwości sorpcyjnych, co wynika z braku zmian parametrów PALS. Obserwowany spadek czasu życia *o*-Ps w ciekłym H<sub>2</sub>O wynika prawdopodobnie z przedostania się molekuł wody pomiędzy źródło, a badaną próbkę (sytuacja taka jest wysoce prawdopodobna przy stosowaniu konstrukcji „kanapkowej” ułożenia próbki w komorze pomiarowej). Z uwagi na uzyskany wynik próbka ta nie została zbadana w warunkach sorpcji wody zanieczyszczonej i słonej.



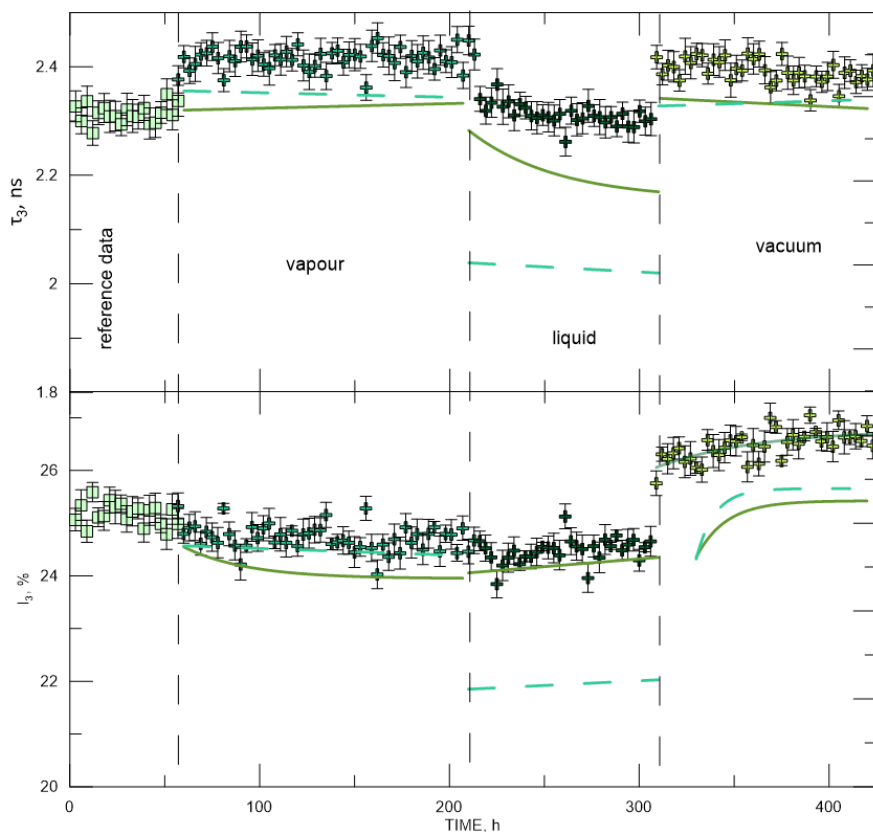
**Rys. 95.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu w zadanych warunkach wilgotności dla matrycy AESO:VDA=1:0,5 mol +PI. Fioletowe kwadraty- pomiary w próżni (dane odniesienia); jasnoczerwone kwadraty- pomiary w parach wody dejonizowanej; ciemnofioletowe kwadraty- pomiary w zanurzeniu w wodzie dejonizowanej; różowe kwadraty- pomiar desorpcji cieczy z matrycy. Poszczególne części cyklu pomiarowego są oddzielone od siebie pionowymi, czarnymi liniami.

Wyniki pomiarów sorpcji / desorpcji dla próbki AESO:VDM=1:1 (mol) przedstawia Rys. 96. Podobnie jak w próbce AESO:VDA=1:0,25 (mol) rozbieżność wyników czasów życia i natężeń *o*-Ps jest niewielka i wykazuje zbliżone tendencje zmian. W obszarze zanurzenia próbki w fazie ciekłej w wodzie zanieczyszczonej mierzony jest krótszy o ok. 0,1 ns niż w wodzie dejonizowanej czas życia *o*-Ps. Z kolei poziom natężenia  $I_3$  osiągnięty po etapie pomiaru w parach cieczy jest już utrzymywany na stałym poziomie w warunkach zanurzenia próbki w cieczy. Zaobserwowano anomalnie duży spadek ( $\sim 0,35$  ns) czasu życia *o*-Ps podczas pomiaru w zanurzeniu próbki w roztworze 0,9% NaCl. Takie wynik wskazuje na występowanie oddziaływania jonów z pozytonami. W warunkach desorpcji wszystkich trzech typów wody parametry PALS zmieniają się w ten sam sposób: czas życia *o*-Ps skokowo wzrasta w początkowym etapie odgazowywania, po czym następnie skraca się liniowo, natomiast natężenie wzrasta eksponencjalnie znacznie powyżej wartości mierzonej dla próbki wzorcowej. Próbka wykazuje zatem właściwości sorpcyjne i desorpcyjne niezależne od stopnia zasolenia wody, przy czym obecność jonów wyraźnie skraca czas życia *o*-Ps.



**Rys. 96.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu w zadanych warunkach wilgotności dla matrycy AESO:VDM=1:1 mol. Jasnyniebieskie kwadraty- pomiary w próżni (dane odniesienia); niebieskie krzyżyki- pomiary w parach zanieczyszczonej wody; granatowe krzyżyki- pomiary w zanurzeniu w zanieczyszczonej wodzie; błękitne krzyżyki- pomiar desorpcji cieczy z matrycy; linia przerywana oznacza krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w roztworze 0,9% NaCl, a linia ciągła to krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w wodzie dejonizowanej. Poszczególne części cyklu pomiarowego są oddzielone od siebie pionowymi, czarnymi liniami [178].

Wyniki pomiarów sorpcji / desorpcji dla próbki AESO:VDM=1:1 (mol)+PI przedstawia Rys. 97. Obserwuje się podwyższenie wartości  $\tau_3$  w pomiarach w parach wody zanieczyszczonej oraz podczas pomiarów desorpcji tej cieczy względem poziomu początkowego. Natomiast podczas pomiarów w zanurzeniu czasy życia *o*-Ps przyjmują podobne wartości do danych odniesienia. W przypadku pomiarów podczas zanurzenia w wodzie dejonizowanej widoczny jest spadek  $\tau_3$  o  $\sim 0,2$  ns, a w wodzie zanieczyszczonej o  $\sim 0,3$  ns względem wartości początkowych. Największą rozbieżność  $\tau_3$  od poziomu referencyjnego (wyniku pomiaru w próżni) wynoszącą ok. 0,35 ns zaobserwowano przy zanurzeniu matrycy w wodzie słonej. Wartości  $I_3$  uzyskane podczas pomiarów sorpcji w wodzie dejonizowanej oraz zanieczyszczonej wskazują na niskie zdolności do wchłaniania wody przez tę matrycę. Widoczny jest spadek natężeń *o*-Ps podczas pomiarów w zanurzeniu w 0,9% NaCl, co może być spowodowane oddziaływaniem pomiędzy jonami zawartymi w roztworze, a pozytonami. Podczas desorpcji wody zanieczyszczonej widoczne jest podniesienie wartości  $I_3$  o  $\sim 0,5\%$ , może wskazywać na obecność molekuł wody w badanej próbce przed rozpoczęciem pomiaru.



**Rys. 97.** Czasy życia i natężenie *o*-Ps w funkcji czasu w zadanych warunkach wilgotności dla matrycy AESO:VDM=1:1 mol+PI. Bładozielone kwadraty- pomiary w próżni (dane odniesienia); jasnoniebieskie krzyżyki- pomiary w parach zanieczyszczonej wody; ciemnozielone krzyżyki- pomiary w zanurzeniu w zanieczyszczonej wodzie; jasnozielone krzyżyki- pomiar desorpcji cieczy z matrycy; linia przerywana oznacza krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w roztworze 0,9% NaCl, a linia ciągła to krzywe wpasowane w punkty pomiarowe dla pomiarów w wodzie dejonizowanej. Poszczególne części cyklu pomiarowego są oddzielone od siebie pionowymi, czarnymi liniami.

Stałe czasowe procesów sorpcji / desorpcji dla 4 badanych matryc zebrano w tabelach 16, 17, 18 i 19. Stałe wyznaczono w ten sam sposób co w matrycach z pierwszej grupy. Na podstawie danych można zaobserwować, że w matrycy AESO:VDA=1:0,25 (mol) wartość stałych czasowych  $\theta$  jest taka sama podczas sorpcji z par i desorpcji czystej wody, zatem w tej próbce występuje jednakowy mechanizm dostarczania/usuwania wody do matrycy. Porównując wyniki dla tej samej matrycy otrzymane podczas pomiarów desorpcji wszystkich 3 cieczy widać zależność tego procesu od stopnia zasolenia, a usuwanie wody czystej przebiega szybciej niż zanieczyszczonej.

Analizując wyniki otrzymane podczas pomiarów matrycy AESO:VDM=1:1 (mol) widoczny jest brak zależności szybkości sorpcji wody od stopnia zasolenia, a zanieczyszczenie wody powoduje dwukrotne wydłużenie procesu sorpcji, z drugiej strony ma ono znikomy wpływ na szybkość desorpcji.

Próbka AESO:VDM=1:1 (mol)+PI ma najkrótsze stałe czasowe procesu sorpcji oraz desorpcji dla czystej wody oraz roztworu 0,9% NaCl, natomiast proces desorpcji wody zanieczyszczonej przebiegał najdłużej ze wszystkich badanych matryc.

**Tabela 16.** Stałe czasowe procesu sorpcji par z czystej H<sub>2</sub>O dla badanych matryc z drugiej grupy.

Próbka	θ, h
AESO:VDA=1:0,25 (mol)	59,3
AESO:VDM=1:1 (mol)	43,3
AESO:VDM=1:1 (mol)+ PI	33,6

**Tabela 17.** Stałe czasowe procesu desorpcji par z czystej H<sub>2</sub>O dla badanych matryc z drugiej grupy.

Próbka	θ, h
AESO:VDA=1:0,25 (mol)	60,5
AESO:VDM=1:1 (mol)	25
AESO:VDM=1:1 (mol)+ PI	15,6

**Tabela 18.** Stałe czasowe procesu desorpcji roztworu 0,9% NaCl dla badanych matryc z drugiej grupy.

Próbka	θ, h
AESO:VDA=1:0,25 (mol)	17,4
AESO:VDM=1:1 (mol)	35,4
AESO:VDM=1:1 (mol)+ PI	15,6

**Tabela 19.** Stałe czasowe procesu desorpcji z zanieczyszczonej wody dla badanych matryc z drugiej grupy.

Próbka	θ, h
AESO:VDA=1:0,25 (mol)	22,9
AESO:VDM=1:1 (mol)	21,7
AESO:VDM=1:1 (mol)+ PI	41,3

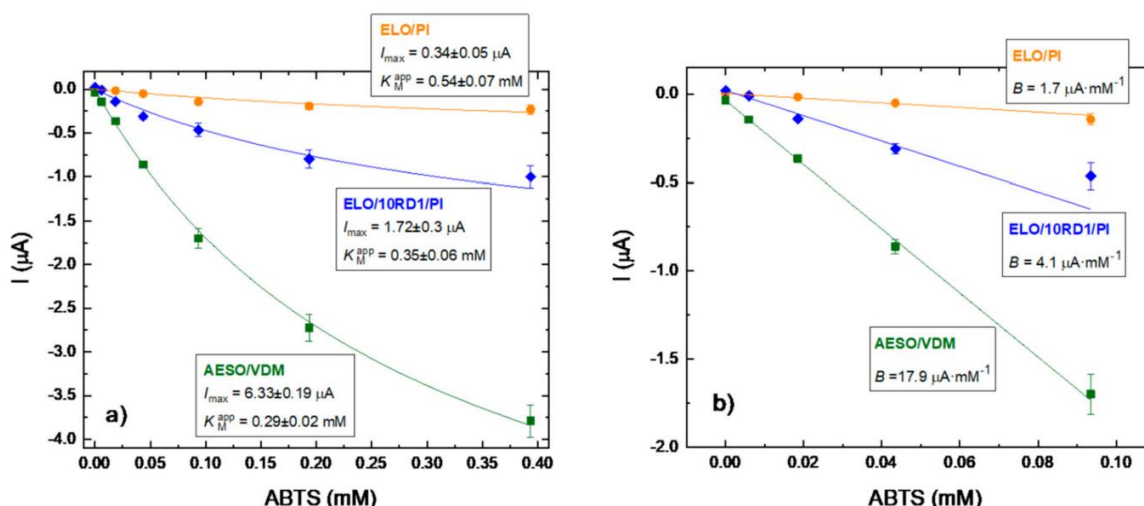
Powyzsze pomiary wskazują, że odpowiedź amperometryczna badanych matryc będzie zbliżona do warunków laboratoryjnych (woda dejonizowana) w przypadku prowadzenia analiz na próbkach pobranych z naturalnych zbiorników wód zanieczyszczonych, o ile będą to zbiorniki wody słonej.

#### 14.4. POMIARY ELEKTROCHEMICZNE

Niniejsze pomiary zostały wykonane we współpracy z zespołem naukowców z Ukrainy w ramach współpracy naukowej polsko-ukraińsko-litewsko-słowackiej.

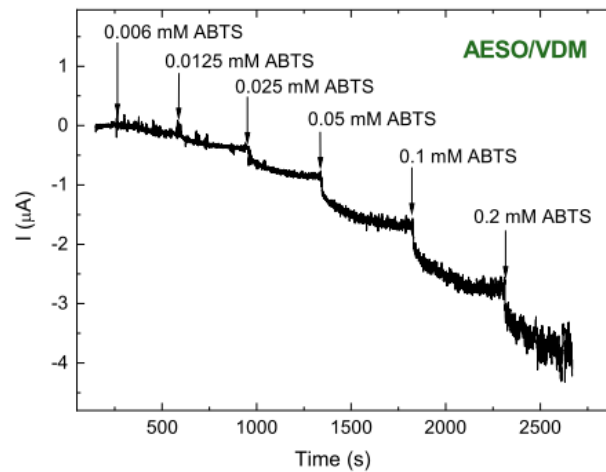
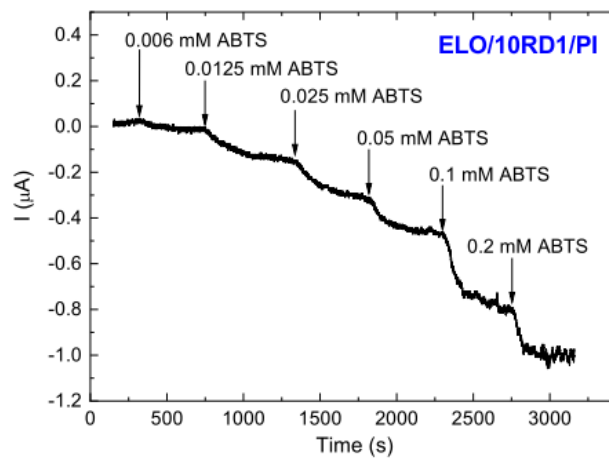
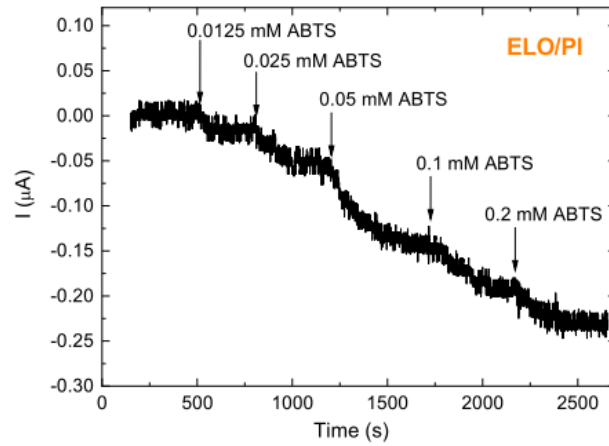
Z pierwszej grupy badanych próbek wykluczono AESO/VDM/DMPA. Biopolimeru tego nie można zastosować jako matrycy do immobilizacji ze względu na jego właściwości fizyczne. Polimer ma charakterystyczną sztywną strukturę przypominającą tworzywo sztuczne, która nie pozwala na rozpuszczenie go w acetonie w celu przygotowania roztworu do nanoszenia na bioelektrodę.

Do chronoamperometrycznej charakterystyki skonstruowanych bioelektrod na bazie lakazy, wykorzystano napięcie robocze wynoszące -100 mV z wykorzystaniem węglowej elektrody pracującej, elektrody odniesienia wykonanej z Ag/AgCl oraz elektrody pomocniczej wykonanej z platyny. Wybór napięcia roboczego i typu wykorzystywanych elektrod uznano za optymalny w oparciu o dotychczasowy stan wiedzy w zakresie badań nad biosensorem z matrycami zawierającymi ELO [161]. Wyznaczano następujące parametry badanych bioelektrod: maksymalny prąd przy nasyceniu roztworu ( $I_{max}$ ), pozorna stała Michaelisa – Menten ( $K_m^{app}$ ), czułość i liniowość. Wyniki pomiarów bioelektrod opartych na różnych matrycach polimerowych z wykorzystaniem substancji ABTS jako specyficznego substratu lakazy przedstawiono na Rys. 98 [175].



**Rys. 98.** Odpowiedzi chronoamperometryczne badanych układów: a) analiza czułości i zakresu liniowości; b) wykresy kalibracyjne w układach liniowych [175].

Krzywe kalibracyjne pokazane na Rys. 98 odpowiadają typowym chronoamperogramom (Rys. 99) bioelektrod skonstruowanych z wykorzystaniem matryc biopolimerowych ELO/PI, ELO/10RD1/PI, a także AESO/VDM. Matryce zawierające ELO wykazały znaczną różnicę we właściwościach użytkowych. Bioelektroda oparta na AESO/VDM wykazały 3,7-krotnie wyższą wartość  $I_{max}$  w porównaniu do bioelektrod opartych na ELO/10RD1/PI i ponad 18-krotnie wyższą niż bioelektrody modyfikowane ELO/PI (6,33  $\mu\text{A}$  vs. 1,72  $\mu\text{A}$  i 0,34  $\mu\text{A}$ ). Wymienione elektrody charakteryzowały się wartościami  $K_m^{app}$ : 0,29 mM; 0,35 mM; 0,53 mM ABTS. Co ciekawe, wartość  $K_m^{app}$  dla matrycy AESO/VDM jest taka sama w porównaniu z  $K_m$  substratu ABTS dla lakazy w roztworze (0,29 mM) [191]. Tak wysokie powinowactwo skonstruowanych bioelektrod wskazuje na bardzo komfortowe warunki dla katalizy unieruchomionego enzymu w matrycy polimerowej. Najważniejszą cechą biosensora jest czułość (przeliczona jako stosunek nachylenia kalibracji  $B$  do powierzchni elektrody roboczej 7,3  $\text{mm}^2$ ) i wynosi ona: 2452  $\text{A} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  dla AESO/VDM, 562  $\text{A} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  dla ELO/10RD1/PI i 233  $\text{A} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  dla matrycy polimerowej ELO/PI (Rys. 98b i Tabela 20). Bioelektrody oparte na matrycy AESO/VDM charakteryzowały się odpowiednio 4,4-krotnie wyższą czułością w porównaniu z ELO/10RD1/PI i o rząd wyższą w porównaniu z matrycami ELO/PI. Liniowość bioelektrod stwierdzono w zakresie od 10  $\mu\text{M}$  do 10 mM ABTS (Rys. 98b, Tabela 20 [175]).



**Rys. 99.** Odpowiedzi chronoamperometryczne bioelektrod zawierających różne rodzaje matrycy w zależności od stężenia ABTS [175].



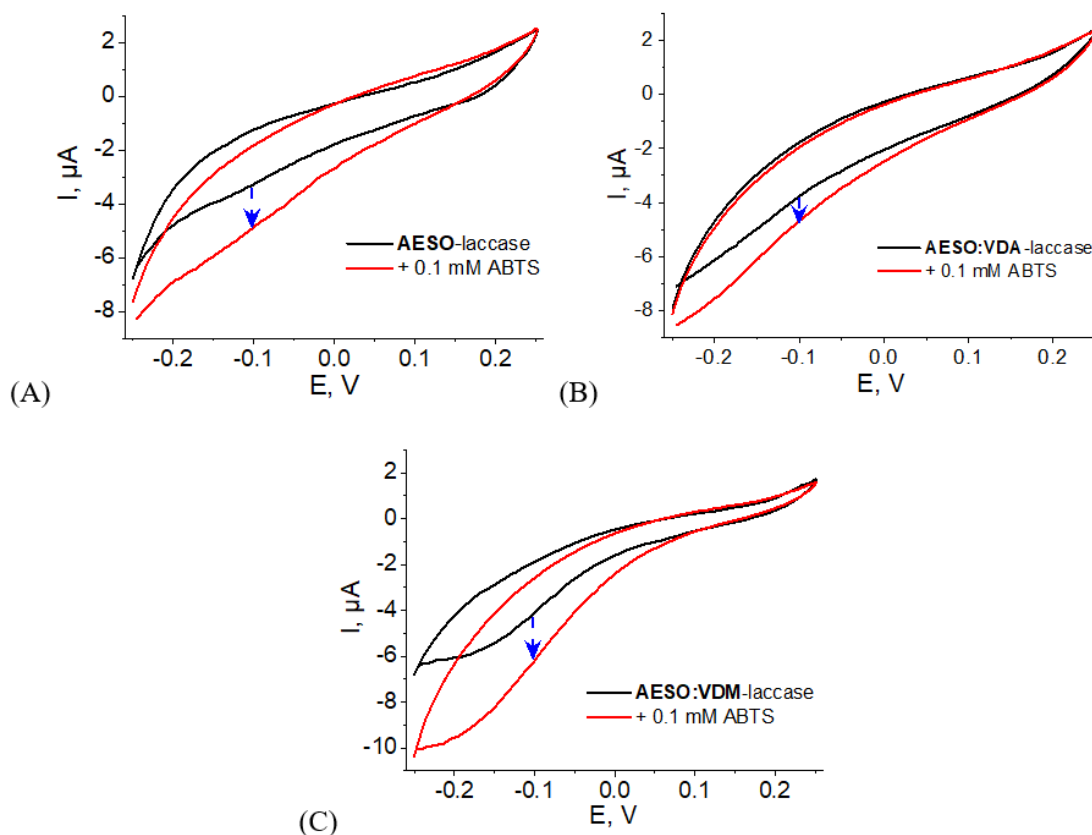
**Tabela 20.** Porównanie parametrów operacyjnych biosensorów skonstruowanych na bazie różnych matryc biopolimerowych [175].

Matryca	$I_{max}, \mu A$	$K_m^{app}, mM$	Nachylenie wykresu kalibracji (B), $\mu A \cdot mM^{-1}$	Czułość, $A \cdot M^{-1} \cdot m^{-2}$	Liniowość, $mM$
ELO/PI	$0,34 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,07$	1,7	233	0,02-0,10
ELO/10RD1/PI	$1,72 \pm 0,3$	$0,35 \pm 0,06$	4,1	562	0,006-0,10
AESO/VDM	$6,33 \pm 0,19$	$0,29 \pm 0,02$	17,9	2452	0,006-0,10
AESO/VDM/DMPA	-	-	-	-	-

Z drugiej grupy próbek do pomiarów amperometrycznych wybrano matryce AESO, AESO:VDA=1:0,25 (mol) oraz AESO:VDM=1:0,25 (mol), ponieważ matryca odniesienia i te 2 domieszkowane matryce w temperaturze 20°C wykazywały zbliżone parametry PALS wskazujące na obiecujące zastosowanie w produkcji biosensorów (Rys. 77).

Układ do pomiarów elektrochemicznych składał się z elektrody pracującej i pomocniczej wykonanych ze złota, elektrody odniesienia wykonanej z Ag/AgCl. Wyboru odpowiedniej elektrody sitodrukowanej do pomiarów próbek z pierwszej i drugiej grupy wykonywano poprzez testowanie różnych bioelektrod przygotowanych na różnych modelach elektrod sitodrukowanych i doświadczalne sprawdzenie która z nich daje najlepszy sygnał.

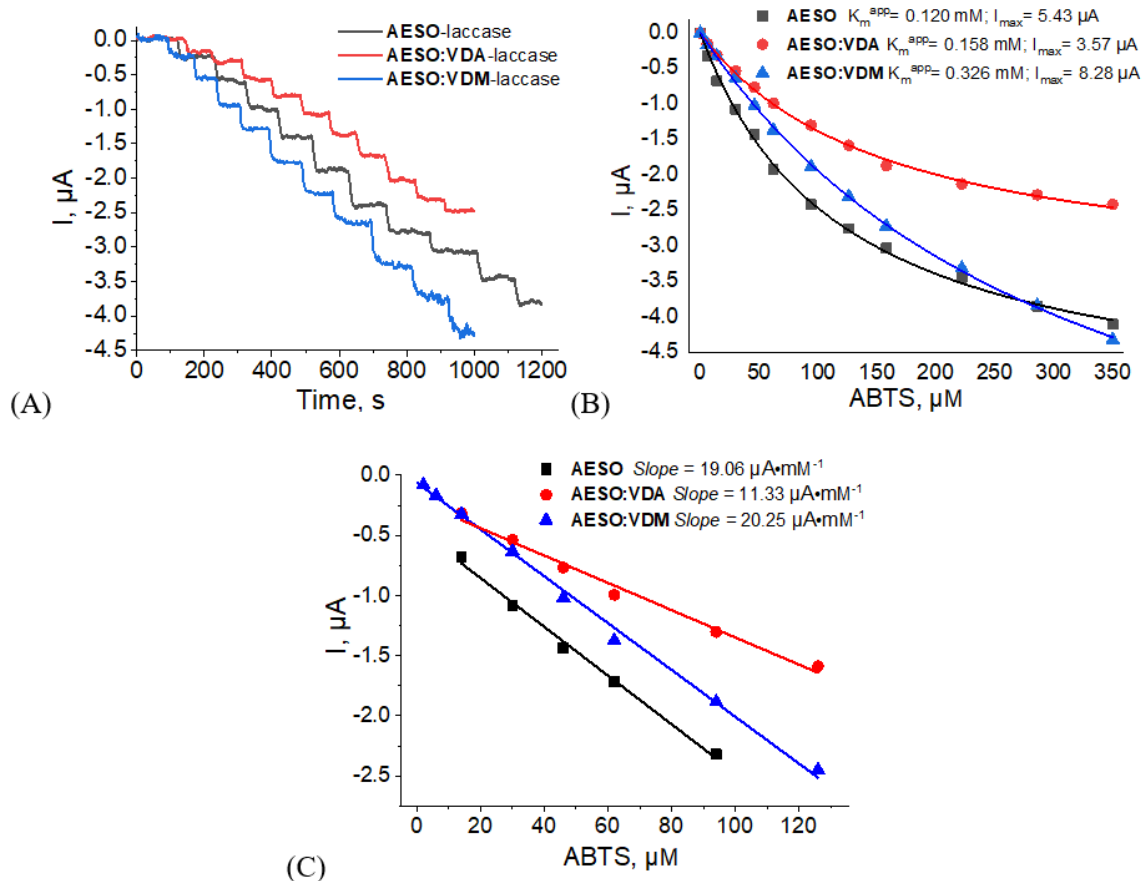
Do wstępnej analizy właściwości biosensorycznych różnych warstw biopolimerowych na elektrodzie pracującej wykorzystano woltamperometrię cykliczną (Rys. 100). W ten sposób dokonano wyboru optymalnego napięcia pracy układu [192].



**Rys. 100.** Wyniki z pomiarów techniką woltamperometrii cyklicznej dla matryc na bazie oleju sojowego: a) AESO; b) AESO:VDA=1:0,25 (mol); c) AESO:VDM=1:0,25 (mol).

*Czarną linią oznaczono pomiar bez ABTS, a czerwoną pomiar po dodaniu 0,1 mM ABTS do roztworu [192].*

Wszystkie trzy badane próbki wykazały postępujący prąd redukcyjny rozpoczynający się od około 100 mV w wyniku dodania ABTS, jako substratu lakazy. Jednakże najbardziej efektywny prąd redukcyjny w porównaniu z wartością bazową (bez dodatku ABTS) pobrany przy -100 mV i nazwany sygnałem wyjściowym  $\Delta_{wyj}$  zaobserwowano dla bioelektrody opartej na AESO:VDM=1:0,25 (mol) i jego wartość oszacowano na 2,2 mV (Rys. 100C). Dla bioelektrod na bazie AESO wyjście  $\Delta_{wyj}$  odpowiada 1,6 mV (Rys. 100A), a dla AESO:VDA=1:0,25 (mol) tylko 0,9 mV (Rys. 100B). Na podstawie powyższych danych można przyjąć, że skuteczność enzymatycznie generowanego prądu redoks dla bioelektrody AESO:VDM=1:0,25 (mol) jest 2,4 razy większa w porównaniu z układem zawierającym AESO:VDA=1:0,25 (mol). Należy zauważyć, że amperometryczna detekcja proponowanego biosensora na bazie lakazy opiera się na redukcji enzymatycznie utlenionego produktu elektroaktywnego (rodniki kationowe ABTS<sup>+</sup>). Otrzymane woltamperogramy cykliczne pozwalają także oszacować optymalny potencjał roboczy, który w niniejszych pomiarach wynosił -100 mV dla redukcji ABTS<sup>+</sup>. Potencjał taki został wybrany ze względu na wystarczającą różnicę względem sygnału wyjściowego  $\Delta_{wyj}$ , jednak jednocześnie nie jest on na tyle ujemny, aby uzyskać zakłócającą elektroredukcję tlenu, która może mieć wpływ na dokładność analizy. Ponadto elektrochemiczna redukcja tlenu sprzyja wytwarzaniu jonów hydroksylowych, które w znacznym stopniu zakwaszają lokalne pH, wpływając na aktywność enzymu [193]. Do szczegółowej charakterystyki bioelektrod opartych na różnych składach polimerowych wykorzystano analizę chronoamperometryczną (Rys. 101). Charakterystykę bioczuJNIKA porównano według głównych parametrów eksploatacyjnych: pozornej stałej Michaelisa-Menten ( $K_m^{app}$ ); maksymalnego prądu przy nasyceniu roztworu ( $I_{max}$ ); liniowości i czułości [192].



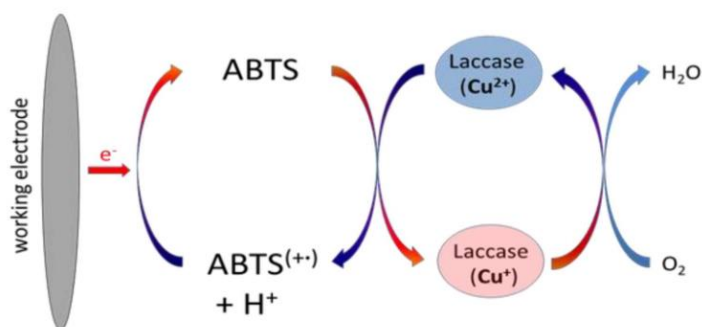
**Rys. 101.** Wykresy przedstawiające charakterystyki chronoamperometryczne biosensorów zawierających matryce na bazie AESO: a) odpowiedzi chronoamperometryczne w zależności od stężenia ABTS; b) krzywe kalibracyjne; c) wykresy kalibracyjne w układach liniowych [192].

Wartości  $K_m^{app}$  każdej bioelektrody modyfikowanej różnymi matrycami biopolimerowymi oszacowano na podstawie odpowiednich krzywych kalibracyjnych (Rys. 101). Wartość  $K_m^{app}$  dla AESO wynosi 0,12 mM ABTS, natomiast dla AESO:VDA=1:0,25 (mol) przyjęła wartość wynoszącą 0,158 mM ABTS. W przeciwieństwie do tych bioelektrod, bioelektroda oparta na AESO:VDM= 1:0,25 (mol) charakteryzowała się około dwukrotnie mniejszym powinowactwem do ABTS (0,326 mM ABTS). Należy jednak zaznaczyć, że wszystkie uzyskane wartości  $K_m^{app}$  są porównywalne z  $K_m$  lakazy pozyskiwanej z grzyba *Trametes versicolor* w roztworze (0,29 mM) [191]. Wskazuje to na niewielki wpływ unieruchomienia przez biopolimery na aktywność katalityczną enzymu podtrzymującego jego natywną konformację (układ przestrzenny atomów w cząsteczce). Kolejnym wnioskiem jest to, że dyfuzja substratu i produktu enzymu przez warstwę biopolimeru nie jest ograniczona i jest taka sama jak w roztworze. Oszacowane wartości  $I_{max}$  dla różnych bioelektrod wynosiły odpowiednio: 5,43  $\mu\text{A}$  dla AESO, 3,57  $\mu\text{A}$  dla AESO:VDA=1:0,25 (mol) i 8,28  $\mu\text{A}$  dla AESO:VDM=1:0,25 (mol). Dane te są zgodne z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi za pomocą woltamperometrii cyklicznej, gdzie skuteczność enzymatycznie generowanej mocy redoks dla bioelektrody AESO:VDM=1:0,25 (mol) była 2,4 razy wyższa, gdzie w przypadku matrycy AESO:VDA=1:0,25 (mol) ta wartość była wyższa 2,3 razy. Wyniki te wskazują na dobrą powtarzalność skonstruowanych bioelektrod. Szeroki zakres liniowości pozwala na analizę różnych próbek rzeczywistych przy niskich i stosunkowo

wysokich stężeniach docelowego analitu. Korzystne wartości liniowości zaobserwowano dla bioelektrody AESO:VDM=1:0,25 (mol) (2 – 130  $\mu\text{A}$  dla ABTS), podczas gdy oba pozostałe typy bioelektrod charakteryzowały się krótszą liniowością: 14 – 90 dla AESO i 14 – 130 dla AESO:VDA=1:0,25 (mol) (Tabela 21). Czułość bioelektrod została przeliczona jako stosunek nachylenia kalibracji w układach liniowych (Rys. 101C) do powierzchni elektrody roboczej wynoszącej 12,56  $\text{mm}^2$ . Jest to najważniejsza cecha biosensora. Wysoka czułość umożliwia analizę bardzo małych lub nawet śladowych ilości docelowego analitu w rzeczywistych próbkach (ścieki, wody gruntowe i źródła wody pitnej). Największą czułość wśród testowanych bioelektrod posiada AESO:VDM=1:0,25 (mol) (1608  $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ), natomiast dla AESO ta charakterystyka jest prawie taka sama (1517  $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Bioelektrody AESO:VDA=1:0,25 (mol) wykazują znacznie gorszą czułość, wynoszącą około 902  $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  (Tabela 21) [192].

**Tabela 21.** Porównanie parametrów operacyjnych biosensorów skonstruowanych na bazie matrycy biopolimerowych zawierających AESO [192].

Matryca	$I_{\text{max}}, \mu\text{A}$	$K_m^{\text{app}}, \text{mM}$	Nachylenie wykresu kalibracji (B), $\mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$	Czułość, $\text{A}\cdot\text{M}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$	Liniowość, $\mu\text{M}$
AESO	5.43	0.120	19,06	1517	14 – 90
AESO:VDA= 1:0,25 (mol)	3.57	0.158	11,33	902	14 – 130
AESO:VDM= 1:0,25 (mol)	8.28	0.326	20,25	1608	2 – 130



**Rys. 102.** Schemat przedstawiający transfer elektronów w konstruowanych biosensorach [194].

Biosensory konstruowane w ramach niniejszej pracy zaliczane są do czujników I generacji, a ich zasadę działania przedstawia Rys. 102. Świadczy o tym oddziaływanie cząsteczek enzymatycznych oddalonych od powierzchni elektrody na sygnał wyjściowy biosensora, a efektywność tego procesu zależy od zdolności dyfuzyjnych matrycy biopolimerowej. Należy zwrócić uwagę na fakt, że w danym układzie ABTS jest depolaryzatorem zawartym w roztworze, czyli substratem. W układzie nie ma mediatora jak to ma miejsce w przypadku biosensorów II generacji. Niemożliwe jest zaliczenie konstruowanych układów również do biosensorów III generacji ponieważ bezpośredni transfer elektronów jest możliwy tylko poprzez monowarstwę enzymu, która jest bezpośrednio połączona z powierzchnią elektrody [194].

## 15. WNIOSKI

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań próbek biopolimerów syntezowanych na bazie epoksydowanego oleju lnianego (ELO) oraz akrylowanego epoksydowanego oleju sojowego (AESO). Weryfikowaną hipotezą badawczą było występowanie korelacji pomiędzy właściwościami badanych próbek w nanoskali, a właściwościami detekcyjnymi bioczuJNIKÓW wykorzystujących te próbki jako matryce w konstrukcji biosensorów przeznaczonych do detekcji śladowych zanieczyszczeń wód ksenobiotykami. W konstruowanych biosensorach enzymatycznych z detekcją amperometryczną wykorzystuje się matryce, których zadaniem jest unieruchomienie enzymu na transduktorze przy jednoczesnym umożliwieniu jak najlepszego kontaktu enzymu z transduktorem i analitem.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnięto następujące wnioski:

- próbki zawierające AESO+VDM charakteryzowały się największymi rozmiarami wolnych objętości spośród wszystkich badanych grup matryc, wykazywały najlepsze właściwości sorpcyjne,
- podczas pomiarów stabilności stwierdzono brak zmian parametrów PALS we wszystkich badanych próbkach;
- stres termiczny wywołany niską temperaturą nie wpływa destrukcyjnie na nanostrukturę matryc;
- pomiary PALS umożliwiły określenie temperatur przejść fazowych w badanych matrycach- matryce na bazie ELO charakteryzowało występowanie dwóch przejść fazowych (~ 230K oraz ~283K), natomiast na bazie AESO charakteryzowało występowanie jednego przejścia fazowego w okolicach 220K; nie stwierdzono występowania efektu histerezy przejść fazowych;
- dodatek VDM nie wpływa na rozmiary wolnych objętości badanych próbek;
- dodatek PI odpowiada za zmiany rozmiarów wolnych objętości powyżej  $T_g$  oraz znacząco obniża właściwości sorpcyjne matryc, dodanie składnika sieciującego PI prowadziło do zmniejszania rozmiarów wolnych objętości w matrycach;
- dodanie fotoinicjatora DMPA zmieniło właściwości matrycy AESO/VDM w nanoskali, przez co matryca nie wykazywała właściwości sorpcyjnych, wywołało wzrost twardości, przez co nie było możliwe wykonanie pomiarów elektrochemicznych z wykorzystaniem tej próbki;
- z pierwszej grupy badanych próbek matryca AESO/VDM została wyłoniona jako najbardziej obiecująca do konstrukcji biosensorów;
- pomiary pęcznienia (nasiąkania wodą) próbek wykazały, że właściwości sorpcyjne silnie zależą od stopnia usieciowania biopolimeru. próbki z mniejszym stopniem sieciowania wykazywały lepsze właściwości sorpcyjne, a w przypadku matrycy AESO/VDM niższy stopień usieciowania zwiększał stabilność struktury sieci;
- zasolenie wody ma wpływ na właściwości sorpcyjne próbki AESO:VDA=1:0,25 (mol), może również wpływać na nią destrukcyjnie;
- badania sorpcji / desorpcji wykazały brak wpływu stopnia zasolenia na matrycę AESO:VDM=1:1 (mol);
- przeprowadzone badania umożliwiły przetestowanie badanych próbek pod kątem ich aplikacyjności, wyznaczenie optymalnych warunków pracy biosensorów oraz uwzględnienie wpływu składu chemicznego badanych próbek na ich właściwości sorpcyjne / desorpcyjne;

- pomiary chronoamperometryczne wykazały, że próbka AESO/VDM miała najlepsze parametry detekcyjne (najwyższa wartość  $I_{max}$  spośród wszystkich badanych próbek), a wartość pozornej stałej Michaelisa-Menten uzyskała wartość 0,29 mM, co pokrywa się z wartością wzorcową dla lakazy bez wykorzystania matrycy biopolimerowej. Ta elektroda wykazała największe powinowactwo, co wiąże się z wysoką wydajnością skonstruowanego bioczuJNIka;
- matryca biopolimerowa AESO:VDM=1:0,25 (mol) wykazała najbardziej efektywny prąd redukcyjny podczas pomiarów voltamperometrią cykliczną. Pomiary chronoamperometryczne wykazały największą wydajność bioelektrody zawierającej tę matrycę, co skutkowało najlepszą liniowością i czułością spośród badanych matryc z drugiej grupy. Ten biopolimer nie ogranicza dyfuzji substratu ani produktu;
- najbardziej obiecujące do konstrukcji biosensorów na podstawie wyznaczonych za pomocą technik elektrochemicznych parametrów są matryce zawierające AESO i VDM;
- wytypowane matryce biopolimerowe na podstawie badań PALS okazały się posiadać najlepsze parametry detekcyjne określone metodą chronoamperometryczną; występuje zatem korelacja pomiędzy nanostrukturą próbek, a właściwościami detekcyjnymi biosensorów wykorzystujących te matryce;

Dalsze badania w tej tematyce mogą się skupiać na opracowaniu mobilnego biosensora do detekcji ksenobiotyków, który będzie małych wymiarów, lekki i prosty w obsłudze. Istnieje możliwość skonstruowania laboratorium chipowego (ang. *Lab-on-a-chip*) wykorzystującego badane bioelektrody co jest obecnie nowoczesną i obiecującą możliwością badań cieczy, mając do dyspozycji próbkę rzędu kilku pikolitów.

Ważnym i niesprawdzonym w chwili obecnej zagadnieniem jest wielokrotne używanie tego samego bioczuJNIka. W swojej pracy wykonałam pierwsze kroki w kierunku weryfikacji tej hipotezy badawczej poprzez wykonanie pomiarów wielokrotnej sorpcji i desorpcji cieczy. Ze względu na właściwości wykorzystanego enzymu możliwe jest wykonanie badań umożliwiających znalezienie zastosowania biosensorów w innych dziedzinach takich jak medycyna i przemysł spożywczy.

## LITERATURA

- [1] P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. A117, 610 (1928).
- [2] P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. A118, 351 (1928).
- [3] P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. A126, 360 (1930).
- [4] P. A. M. Dirac, Proc. Camb. Phil. Soc. 26, 361 (1930).
- [5] C. D. Anderson, Phys. Rev. 43, 491 (1933).
- [6] P. M. S. Blackett, G. P. S. Occhialini, Proc. Roy. Soc. A139, 699 (1933).
- [7] W. Brandt, A. Dupasquier, Positrons Solid-State Physics, Proc. Internat. School of Physics Enrico Fermi, Amsterdam (1983).
- [8] I. Procházka, Mat. Struct., 8(2), 55 (2001).
- [9] O. Klemperer, Proc. Cambridge Philos. Soc. 30, 347 (1934).
- [10] D. M. Schrader, Y. C. Jean, Positron and Positronium Chemistry, Nowy York, Elsevier (1988).
- [11] P. Sperr, G. Kögel, P. Willutzki, W. Triftshäuser, Appl. Surf. Sci. 116 (1997).
- [12] D.G. Costello, D.E. Groce, D.F. Herring, J.W. McGowan, Phys. Rev. B5, 1433 (1972).
- [13] C. Hugenschmidt, Surf, Sci. Rep. 71(4), 547 (2016).
- [14] A. P. Mills, Appl. Phys. 23 (1980).
- [15] D. B. Williams, C. B. Carter, The transmission electron microscope, Nowy York, Springer (1996).
- [16] J. Van House, A. Rich, Phys. Rev. Lett., 60(3), 169 (1988).
- [17] M. Doyama, Y. Kogure, M. Inoue, T. Kurihara, T. Yoshiie, R. Oshima, M. Matsuya, Appl. Surf. Sci. 252, 9 (2006).
- [18] M. Matsuya, S. Jinno, T. Ootsuka, M. Inoue, T. Kurihara, M. Doyama, M. Inoue, M. Fujinami, Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. Sect. A, 645, 1 (2011).
- [19] J. Van House, A. Rich, Phys. Rev. Lett. 61(5), 488, (1998).
- [20] A. Rich, J. Van House, Journal of Electr. Micr. Tech. 9, 209 (1988).
- [21] W. E. Frieze, D. W. Gidley, A. Rich, J. Van House, Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. Sec. A, 299(1-3), 409-412 (1990).
- [22] W. E. Frieze, D.W. Gidley, B. D. Wissman, Sol. St. Comm. 74(10), 1079 (1990).
- [23] K. Kubota, Annals of nucl. med. 15, 471 (2001).
- [24] Y. F. Tai, P. Piccini, Journ. of Neur., Neurosur. & Psych. 75(5), 669 (2004).
- [25] A. Gallamini, C. Zwarthoed, A. Borra, Cancers, 6(4), 1821 (2014).
- [26] M. M. Alauddin, Amer. journ. of nucl. med. and mol. Imag., 2(1), 55 (2012).
- [27] S. Mohorovićić, Astron. Nachr. 253, 94, (1934).
- [28] A. E. Ruark, Phys. Rev. 68, 278 (1945).
- [29] M. Deutsch, Phys. Rev. 82, 455 (1951).
- [30] J. A. Wheeler, Annals of the New York Academy of Sciences, 48(3), 219-238 (1946).
- [31] D. B. Cassidy, A. P. Mills Nature, 449(7159), 195 (2007).
- [32] A. P. Mills, Phys. Rev. Lett. 46(11), 717 (1981).
- [33] A. Øre, Univ. Bergen Arbok 1949, Naturv. Rekke No. 9, (1949).
- [34] O. E. Mogensen, J. Chem. Phys. 60, 998 (1974).
- [35] V. M. Byakov, V. I. Goldanskii, V. P. Shantarovich, Dokl. AN SSSR 219, 633, (1974).
- [36] S. V. Stepanov, V. N. Byakov, J. Chem. Phys. 116, 14 (2002).

- [37] S. V. Stepanov, V. M. Byakov, w: Y. C. Jean, P. E. Mallon, D. M. Schrader, Principles and Applications of Positron and Positronium Chemistry, Singapore, World Scientific (2003).
- [38] W. Brandt, S. Berko, W.W. Walker, Phys Rev, 120(4), 1289 (1960).
- [39] H G. Duplâtre, I. Billard, w: Y. C. Jean, P. E. Mallon, D. M. Schrader, Principles and Applications of Positron and Positronium Chemistry, Singapore, World Scientific (2003).
- [40] S. J. Tao, J. Chem. Phys. 56, 5499, (1972).
- [41] S. J. Tao, J. Chem. Phys. 74, 4754, (1981).
- [42] M. Eldrup, D. Lightbody, J. N. Sherwood, Chem. Phys. 63, 51, (1982).
- [43] M. Eldrup, N. J. Pedersen, J. N. Sherwood, Phys. Rev. Lett., 43(19), 1407 (1979).
- [44] T. Goworek, K. Ciesielski, B. Jasińska, J. Wawryszczuk, Chem. Phys. Lett. 272, 91 (1997).  
T. Goworek, K. Ciesielski, B. Jasińska, J. Wawryszczuk, Chem. Phys. 230, 305 (1998).
- [45] B. Jasińska, A. E. Koziół, T. Goworek, Acta Phys. Pol. A 99, 557 (1999).
- [46] B. Jasińska, A. E. Koziół, T. Goworek, J. Radioanal. Chem. 210, 617 (1996).
- [47] Y. C. Jean, H. Shi, G. H. Dai, C. M. Huang, J. Liu, Mater. Sci. Forum 175/178, 691 (1995).
- [48] R. A. Ferrel, Phys. Rev. 108, 167 (1957).
- [49] S. J. Tao, The J. of Chem. Phys., 56(11), 5499 (1972).
- [50] J. A. Northby, T. M. Sanders Jr, Phys. Rev. Lett., 18(26), 1184 (1967).
- [51] W.S. Ahn, M.S. Jhon, H. Pak, S. Chang, J. Coll. and Inter. Sci., 38(3), 605 (1972).
- [52] R. C. Tolman, The J. of Chem. Phys., 17(3), 333 (1949).
- [53] Y. Ujihira, T. Ryuo, Y. Kobayashi, T. Nomizu, Appl. Phys., 16, 71 (1978).
- [54] B. Levay, A. Vertes, The J. of Phys. Chem., 80(1), 37(1976).
- [55] V. M. Byakov, S. V. Stepanov, Rad. Phys. and Chem., 58(5-6), 687 (2000).
- [56] S. V. Stepanov, V. M. Byakov, B. N. Ganguly, D. Gangopadhyay, T. Mukherjee, B. Dutta-Roy, Phys. B: Con. Matt., 322(1-2), 68 (2002).
- [57] S. V. Stepanov, V. M. Byakov, D. S. Zvezhinskiy, G. Duplâtre, R. R. Nurmukhametov, P. S. Stepanov, Adv. in Phys. Chem., 2012 (2012).
- [58] B. Zgardzińska, Nukleonika, 55(1), 41 (2010).
- [59] A. P. Mills Jr., Phys. Rev. Lett. 41, 1828 (1978).
- [60] A. H. Al-Ramadhan, D. W. Gidley, Phys. Rev. Lett 72(11), 1632 (1994).
- [61] R. S. Vallery, P. W. Zitzewitz, D. W. Gidley, Phys. Rev. Lett. 90, 203402 (2003).
- [62] J. S. Nico, D. W. Gidley, A. Rich, P. W. Zitzewitz, Rev. Lett. 65(11), 1344 (1990).
- [63] O. E. Mogensen, Positron Annihilation in Chemistry, Berlin, Springer – Verlag, (1995).
- [64] V. S. M. Pereira, H. Schut, J. Sietsma, J. of Nucl. Mat., 540, 152398 (2020).
- [65] <https://www-nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html>
- [66] [http://positron.physik.uni-halle.de/pdf/2015\\_ICPA17\\_Poster\\_Krause-Rehberg.pdf](http://positron.physik.uni-halle.de/pdf/2015_ICPA17_Poster_Krause-Rehberg.pdf)
- [67] [https://www.artisantg.com/info/Keysight\\_Agilent\\_Acqiris\\_U1065A\\_004\\_DC282\\_DataSheet\\_201875124144.pdf](https://www.artisantg.com/info/Keysight_Agilent_Acqiris_U1065A_004_DC282_DataSheet_201875124144.pdf)
- [68] J. Kansy, Nucl. Instr. and Meth. A 374, 235, (1996).
- [69] A. Shukla, M. Peter, L. Hoffman, Nucl. Instr. and Meth. A 335, 310 (1993).
- [70] A. J. Bard, L. R. Faulkner, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, USA, Wiley (2001).



- [71] W. R. Browne, *Elektrochemia*, Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN (2022).
- [72] S. Borgmann, A. Schulte, S. Neugebauer, W. Schuhmann, *Amperometric Biosensors*, w: R. C. Alkire, D. M. Kolb, J. Lipkowski, *Advances in Electrochemical Science and Engineering: Bioelectrochemistry*, Volume 13, USA, Wiley (2011).
- [73] J. E. Randles, *Trans. of the Far. Soc.*, 44, 327-338 (1948).
- [74] A. Sevcik, *Collect. czechoslov. chem. Commun*, 13, 349 (1948).
- [75] F. G. Cottrell, *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 42(1), 385 (1903).
- [76] A. D. McNaught and A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Oxford, Blackwell Scientific Publications (1997).
- [77] K. Cammann, *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 287(1), 1 (1977).
- [78] M. E. Minaei, M. Saadati, M. Najafi, H. Honari, *J. of Appl. Biotech. Rep.*, 2(1), 175 (2015).
- [79] Z. Brzózka, E. Malinowska, W. Wróblewski, *Sensory chemiczne i biosensory*, Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN (2022).
- [80] H. H. Nguyen, S. H. Lee, U. J. Lee, C. D. Fermin, M. Kim, *Materials*, 12(1), 121 (2019).
- [81] W. Putzbach, N. J. Ronkainen, N. J., *Sensors*, 13(4), 4811 (2013).
- [82] H. H. Nguyen, M. Kim, *Appl. Sci. and Conv. Tech.*, 26(6), 157 (2017).
- [83] J. D. Newman, S. J. Setford, *Mol. Biotech.*, 32, 249 (2006).
- [84] L. C. Clark Jr., *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* 2, 41 (1956).
- [85] L. C. Clark Jr., R. Wolf, D. Granger, Z. Taylor, *J. of appl. phys.*, 6(3), 189 (1953).
- [86] L. C. Clark Jr. and C. Lyons, *Ann. NY Acad. Sci.* 102, 29 (1962).
- [87] A. Majcherczyk, C. Johannes, A. Hüttermann, *Enz. and Micro. Tech.*, 22(5), 335 (1998).
- [88] L. P. Christopher, B. Yao, Y. Ji, *Front. in Ener. Res.*, 2, 12 (2014).
- [89] A. M. Mayer, R. C. Staples. *Phytochemistry* 60(6),551 (2002).
- [90] G. Janusz, A. Pawlik, U. Świdarska-Burek, J. Polak, J. Sulej, A. Jarosz-Wilkołazka, A. Paszczyński, *Inter. J. of Mol. Sci.*, 21(3), 966 (2020).
- [91] H. Yoshida, *J. of the Chem. Soc., Trans.*, 43, 472 (1883).
- [92] A. Michniewicz, S. Ledakowicz, R. Ullrich, M. Hofrichter, *Dyes and pigm.*, 77(2), 295 (2008).
- [93] S. R. Couto, J. L. Toca-Herrera, *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.*, 1(4), 115 (2006).
- [94] R. Khelifi, L. Belbahri, S. Woodward, M. Ellouz, A. Dhouib, S. Sayadi, T. Mechichi, *J. of Hazard. Mat.*, 175(1-3), 802 (2010).
- [95] H. D. Youn, Y. C. Hah, S. O. Kang, *FEMS Microbiol. Lett.*, 132(3), 183 (1995).
- [96] A. Kunamneni, A. Ballesteros, F. J. Plou, M. Alcalde, *M. Comm. curr. res. and edu. top. and tren. in appl. microbiol.*, 1, 233 (2007).
- [97] J. F. Osmá, J. L. Toca-Herrera, S. Rodríguez-Couto, *Enz. res.*, 2010 (2010).
- [98] R. C. Minussi, G. M. Pastore, N. Durán, *Trends in Food Sci. & Tech.*, 13(6-7), 205 (2002).
- [99] S. H. Khatami, O. Vakili, A. Movahedpour, Z. Ghesmati, H. Ghasemi, M. Taheri-Anganeh, *Biotech. and Appl. Biochem.*, 69(6), 2658 (2022).
- [100] P. J. Strong, H. Claus, *Crit. Rev. in Env. Sci. and Tech.*, 41(4), 373 (2011).
- [101] A. Matuszewska, M. Karp, M. Jaszek, G. Janusz, M. Osińska-Jaroszuk, J. Sulej, D. Stefaniuk, W. Tomczak, K. Giannopoulos, *Onc. Lett.*, 11(3), 2009 (2016).

- [102] M. Mizerska-Dudka, M. Jaszek, A. Błachowicz, T. P. Rejczak, A. Matuszewska, M. Osińska-Jaroszuk, D. Stefaniuk, G. Janusz, J. Sulej, M. Kandefer-Szerszeń, *Inter. J. of biol. macromol.*, 79, 459 (2015).
- [103] A. Matuszewska, D. Stefaniuk, M. Jaszek, M. Pięt, A. Zając, Ł. Matuszewski, I. Cios, M. Grąz, R. Paduch, R. Bancierz, *Sci. Rep.*, 9(1), 1975 (2019).
- [104] D. M. Mate, M. Alcalde, *Micro. biotech.*, 10(6), 1457 (2017).
- [105] K. Agrawal, V. Chaturvedi, P. Verma, *Biores. Biopro.* 5, 1 (2018).
- [106] L. Arregui, M. Ayala, X. Gómez-Gil, G. Gutiérrez-Soto, C. E. Hernández-Luna, M. Herrera de Los Santos, L. Levin, A. Rojo-Domínguez, D. Romero-Martínez, M. C. N. Saparrat, M. A. Trujillo-Roldán, N. A. Valdez-Cruz, *Micro. Cell Fact.*, 18(1), 1 (2019).
- [107] R. Chandra, P. Chowdhary, *Env. Sci.: Proc. & Imp.*, 17(2), 326 (2015).
- [108] P. Tetyana, P. M. Shumbula, Z. Njengele-Tetyana, *Biosensors: design, development and applications*, United Kingdom, IntechOpen (2021).
- [109] K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello, *Chem. rev.*, 112(5), 2739 (2012).
- [110] T. E. Crowley, J. Kyte, *Experiments in the purification and characterization of enzymes: a laboratory manual*, Amsterdam, Elsevier/ Academic Press (2014).
- [111] <https://opieka.farm/wykaz-a/>
- [112] A. M. Nogacka, M. Gómez-Martín, A. Suárez, O. González-Bernardo, C. G. de Los Reyes-Gavilán, S. González, *Inter. j. of mol. sci.*, 20(8), 2051 (2019).
- [113] B. J. Danzo, *B. Cell. and Mol. Life Sci. CMLS*, 54, 1249 (1998).
- [114] J. R. Roy, S. Chakraborty, T. R. Chakraborty, *Med. sci. mon.: inter. med. j. of exp. and cli. res.*, 15(6), RA137-45 (2009).
- [115] B. Fredricsson, L. Möller, Å. Pousette, R. Westerholm, *R. Pharm. & tox.*, 72(2), 128 (1993).
- [116] H. B. Patisaul, H. B. Adewale, *Front. in beh. neurosci.*, 3, 674 (2009).
- [117] F. Crudo, E. Varga, G. Aichinger, G. Galaverna, D. Marko, C. Dall'Asta, L. Dellafiora, *Toxins*, 11(11), 640 (2019).
- [118] N. H. Kleinsasser, U. A. Harreus, R. K. Münzenrieder, H. Weissacher, E. R. Kastenbauer, *MMW Fort. der Med.*, 141(40), 46 (1999).
- [119] J. Grželj, M. Sollner Dolenc, *Arch. of Tox.*, 94(12), 3959 (2020).
- [120] P. E. Bigazzi, *Toxicology*, 119(1), 1 (1997).
- [121] J. C. Wu, C. S. Lai, M. L. Tsai, C. T. Ho, Y. J. Wang, M. H. Pan, *J. of food and drug anal.*, 25(1), 176 (2017)
- [122] N. Jalal, A. R. Surendranath, J. L. Pathak, S. Yu, C. Y. Chung, *Tox. Rep.*, 5, 76 (2018).
- [123] F. Henkler, J. Brinkmann, A. Luch, *Cancers*, 2(2), 376 (2010).
- [124] J. Beyerle, E. Frei, M. Stiborova, N. Habermann, C. M. Ulrich, *Drug met. Rev.*, 47(2), 199 (2015).
- [125] <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20170002294>
- [126] J. R. Bend, M. O. James, P. M. Dansette, (1977). *In vitro metabolism of xenobiotics in some marine animals. Ann. NY Acad. Sci.:(United States)*, 298 (1977)
- [127] M. F. Maitz, *Biosurf. and Biotrib.*, 1(3), 161 (2015).
- [128] M. d'Ischia, A. Napolitano, A. Pezzella, P. Meredith, M. Buehler, *Angew. Chem. Inter. Ed.*, 59(28), 11196 (2020).
- [129] F. Vásquez-Garay, I. Carrillo-Varela, C. Vidal, P. Reyes-Contreras, M. Faccini, R. Teixeira Mendonça, *Sustainability*, 13(5), 2697 (2021).

- [130] A. V. Samrot, T. C. Sean, T. Kudaiyappan, U. Bisyarah, A. Mirarmandi, E. Faradjeva, A. Abubakar, H. H. Ali, J. L. A. Angalene, S. S. Kumar, *Inter. J. of biol. Macromol.*, 165, 3088 (2020).
- [131] A. Steinbüchel, *Curr. Op. in Microbiol.*, 6(3), 261 (2003)
- [132] S. Lambert, *Microbial Factories: Biodiversity, Biopolymers, Bioactive Molecules*, New Delhi, Springer India (2015).
- [133] R. L. Kronenthal, *Polymers in medicine and surgery*, Boston, MA: Springer US (1975).
- [134] V. Vatanpour, M. E. Pasaoglu, H. Barzegar, O.O. Teber, R. Kaya, M. Bastug, A. Khataee, I. Koyuncu, *Chemosphere*, 295, 133914 (2022).
- [135] J. Chen, J. Xu, K. Wang, X. Cao, R. Sun, *Carbohydr. Pol.*, 137, 685 (2016).
- [136] O. Germershaus, T. Lühmann, J. C. Rybak, J. Ritzer, L. Meinel, *Inter. Mat. Rev.*, 60(2), 101 (2015).
- [137] T. F. Alves, M. Morsink, F. Batain, M. V. Chaud, T. Almeida, D. A. Fernandes, C. F. da Silva, E. B. Souto, P. Severino, *Cosmetics*, 7(4), 75 (2020).
- [138] S. Şenel, S. J. McClure, *Adv. drug del. rev.*, 56(10), 1467 (2004).
- [139] N. Morin-Crini, E. Lichtfouse, G. Torri, G. Crini, *Sustainable agriculture reviews 35: chitin and chitosan: history, fundamentals and innovations*, Switzerland, Springer (2019).
- [140] T. S. Gaaz, A. B. Sulong, M. N. Akhtar, A. A. H. Kadhun, A. B. Mohamad, A. A. Al-Amiery, *Molecules*, 20(12), 22833 (2015).
- [141] G. Dlubek, D. Kilburn, V. Bondarenko, J. Pionteck, R. Krause-Rehberg, M. A. Alam, *Macromolecular Symposia*, Vol. 210, No. 1, pp. 11, Weinheim, Wiley-VCH Verlag (2004).
- [142] T. Goworek, *Annal. Univ. Mariae Curie-Sklodowska, sectio AA–Chemia*, 69(1-2), 1 (2015).
- [143] G. Dlubek, K. Saarinen, H. M. Fretwell, *J. of Pol. Sci. Part B: Pol. Phys.*, 36(9), 1513 (1998).
- [144] H. Cao, R. Zhang, J. P. Yuan, C. M. Huang, Y. C. Jean, R. Suzuki, T. Ohdaira, B. Nielsen, *J. of Phys.: Cond. Matt.*, 10(46), 10429 (1998).
- [145] T. Hirade, F. H. Maurer, M. Eldrup, *Rad. Phys. and Chem.*, 58(5-6), 465 (2000).
- [146] C. M. Huang, E.W. Hellmuth, Y.C. Jean, *The Journal of Phys. Chem. B*, 102(14), 2474 (1998).
- [147] R. P. White, J. E. Lipson, J. E., *Macromolecules*, 49(11), 3987 (2016).
- [148] R. Shogren, *J. of Env. Pol. Deg.*, 5, 91 (1997).
- [149] V. P. Shantarovich, *J. of Pol. Sci. Part B: Pol. Phys.*, 46(23), 2485 (2008).
- [150] G. Dlubek, K. Saarinen, H. M. Fretwell, *J. of Pol. Sci. Part B: Pol. Phys.* 36(9), 1513 (1998).
- [151] Y. C. Jean, J. D. Van Horn, W. S. Hung, K. R. Lee, *Macromolecules*, 46(18), 7133 (2013)
- [152] Y. Akiyama, Y. Shibahara, S. I. Takeda, Y. Izumi, Y. Honda, S. Nishijima, *Phys. Stat. Sol. C*, 4(10), 3920 (2007).
- [153] S. Siles, G. Moya, X. Li, J. Kansy, P. Moser, *J. of radioanal. and nucl. chem.*, 240(2), 529 (1999).
- [154] B. Szabó, I. Sebe, N. Kállai, K. Süvegh, R. Zelkó, *R. Eur. Pol. J.*, 49(9), 2422 (2013).
- [155] J. Bajdik, M. Marciello, C. Caramella, A. Domján, K. Süvegh, T. Marek, K. Pintye-Hódi, *J. of pharm. and biomed. anal.*, 49(3), 655 (2009).

- [156] D. Chaudhary, M. R. Went, K. Nakagawa, S. J. Buckman, J. P. Sullivan, *Mat. Lett.*, 64(23), 2635 (2010).
- [157] T. Kavetsky, O. Šauša, K. Čechová, H. Švajdlenková, I. Mat'ko, T. Petkova, V. Boev, V. Ilcheva, O. Smutok, Y. Kukhazh, M. Gonchar, *Acta Phys. Pol. A*, 132(5), 1515 (2017).
- [158] T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar, O. Šauša, Y. Kukhazh, H. Švajdlenková, T. Petkova, V. Boev, V. Ilcheva, *Advanced Nanotechnologies for Detection and Defence against CBRN Agents. Netherlands*, Springer (2018).
- [159] T. Kavetsky, O. Smutok, M. Gonchar, O. Demkiv, H. Klepach, Y. Kukhazh, O. Šauša, T. Petkova, V. Boev, V. Ilcheva, P. Petkov, A. L. Stepanov, *J. of Appl. Pol. Sci.*, 134(36), 45278 (2017).
- [160] T. Kavetsky, N. Stasyuk, O. Smutok, O. Demkiv, Y. Kukhazh, N. Hoivanovych, V. Boev, V. Ilcheva, T. Petkova, M. Gonchar, *Gold Bull.*, 52, 79 (2019).
- [161] T. Kavetsky, O. Smutok, O. Demkiv, S. Kasetaitė, J. Ostrauskaite, H. Švajdlenková, H., O. Šauša, K. Zubrytska, N. Hoivanovych, M. Gonchar, *Eur. Pol. J.*, 115, 391 (2019).
- [162] T. Kavetsky, K. Zubrytska, O. Smutok, O. Demkiv, H. Švajdlenková, O. Šauša, S. Kasetaitė, J. Ostrauskaite, M. Gonchar, *Nanoscience and Nanotechnology in Security and Protection against CBRN Threats, Netherlands*, Springer (2020).
- [163] T. S. Kavetsky, Y. Y. Kukhazh, K. V. Zubrytska, R. I. Khalilov, O. V. Smutok, O. M. Demkiv, O. Šauša, H. Švajdlenková, M. V. Gonchar, *Adv. in Biol. & Earth Sci.*, 4(3) (2019).
- [164] T. Kavetsky, Y. Kukhazh, K. Zubrytska, O. Smutok, O. Demkiv, M. Gonchar, O. Šauša, H. Švajdlenková, S. Kasetaitė, J. Ostrauskaite, V. Boev, V. Ilcheva, T. Petkova, *Acta Phys. Pol. A*, 137, 246 (2020).
- [165] T. Kavetsky, O. Smutok, O. Demkiv, I. Mat'ko, H. Švajdlenková, O. Šauša, I. Novák, D. Berek, K. Čechová, M. Pecz, O. Nykolaishyn-Dytso, R. Wojnarowska-Nowak, D. Broda, M. Gonchar, B. Zgardzińska, *Mat. Sci. and Eng.: C*, 109, 110570 (2020).
- [166] C. Liu, *Adv. Mat.*, 19(22), 3783 (2007).
- [167] D. Thuau, P. H. Ducrot, P. Poulin, I. Dufour, C. Ayela, *Micromachines*, 9(5), 197 (2018).
- [168] K. E. Geckeler, B. Müller, *Naturwissenschaften*, 80(1), 18 (1993).
- [169] A. Caliò, P. Dardano, V. Di Palma, M. F. Bevilacqua, A. Di Matteo, H. Iuele, L. De Stefano, *Sens. and Act. B: Chem.*, 236, 343 (2016).
- [170] I. P. Soares, A. G. da Silva, R. da Fonseca Alves, R. A. M. de Souza Corrêa, L. F. Ferreira, D. L. Franco, *J. of Sol. State Electrochem.*, 23, 985 (2019).
- [171] J. C. Vidal, E. Garcia-Ruiz, J. R. Castillo, *Microchim. Acta*, 143, 93 (2003).
- [172] A. Remeikyte, J. Ostrauskaite, V. Grazuleviciene, *J. of Appl. Pol. Sci.*, 129(3), 1290 (2013).
- [173] M. Lebedevaite, J. Ostrauskaite, E. Skliutas, M. Malinauskas, *Polymers*, 11(1), 116 (2019).
- [174] M. Lebedevaite, J. Ostrauskaite, E. Skliutas, M. Malinauskas, *J. of Appl. Pol. Sci.*, 137(20), 48708 (2020).
- [175] **M. Goździuk**, T. Kavetsky, D. M. Roquero, O. Smutok, M. Gonchar, D. P. Královič, H. Švajdlenková, O. Šauša, P. Kalinay, H. Nosrati, M. Lebedevaite, S. Grauzeliene, J. Ostrauskaite, A. Kiv, B. Zgardzińska, *Materials*, 15(19), 6607 (2022).
- [176] M. Lebedevaite, J. Ostrauskaite, *Ind. Crops and Prod.*, 161, 113210 (2021).

- [177] [https://www.shimaden.co.jp/english/catalog/catalog/pdf/fp21\\_c.pdf](https://www.shimaden.co.jp/english/catalog/catalog/pdf/fp21_c.pdf)
- [178] **M. Goździuk**, B. Zgardzińska, T. Kavetsky, Acta. Phys. Pol. B Proc. Suppl., 15(4), A5 (2022).
- [179] [http://www.dropsens.com/en/screen\\_printed\\_electrodes\\_pag.html](http://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html)
- [180] <https://www.chinstruments.com/chi1200.shtml>
- [181] P. Kindl, Q. Reiter, Phys. Stat. Sol. (a), 104(2), 707 (1987).
- [182] T. Suzuki, T. Miura, Y. Oki, M. Numajiri, K. Kondo, Y. Ito, J. de Phys. IV Proceedings, 3, C4, pp. C4-283 (1993).
- [183] T. Suzuki, T. Miura, Y. Oki, M. Numajiri, K. Kondo, Y. Ito, Rad. Phys. and Chem., 45(4), 657 (1995).
- [184] C. L. Wang, T. Hirade, F. H. J. Maurer, M. Eldrup, N. J. Pedersen, The J. of Chem. Phys., 108(11), 4654 (1998).
- [185] B. Zgardzińska, T. Hirade, T. Goworek, Chem. Phys. Lett., 446(4-6), 309 (2007).
- [186] R. Zaleski, B. Zgardzińska, M. Pietrow, T. Goworek, Rad. Phys. and Chem., 77(10-12), 1306 (2008).
- [187] S. V. Stepanov, V. M. Byakov, T. Hirade, Rad. Phys. and Chem., 76(2), 90 (2007).
- [188] T. Kavetsky, K. Kolev, V. Boev, P. Petkov, T. Petkova, A. L. Stepanov, Nanotechnological Basis for Advanced Sensors, Netherlands, Springer (2011).
- [189] Y. Y. Wang, H. Nakanishi, Y. C. Jean, T. C. Sandreczki, J. of Pol. Sci. Part B: Pol. Phys., 28(9), 1431 (1990).
- [190] J. Liu, Q. Deng, Y. C. Jean, Macromolecules, 26(26), 7149 (1993).
- [191] A. Mishra, S. Kumar, Biochem. Eng. J., 46(3), 252 (2009).
- [192] T. Kavetsky, O. Smutok, **M. Goździuk- Gontarz**, B. Zgardzińska, Y. Kukhazh, K. Zubrytska, N. Hoivanovych, O. Šauša, O. Demkiv, N. Stasyuk, M. Gonchar, J. Ostrauskaite, A. Kiv, E. Katz, Publikacja zgłoszona do Materials (2023).
- [193] Smutok, O.; Katz, E. Curr. Opin. Electrochem. 39, 101290 (2023).
- [194] **M. Goździuk**, B. Zgardzińska, T. Kavetsky, K. Zubrytska, O. Smutok, O. Šauša, M. Lebedevaite, J. Ostrauskaite, A. Kiv, Acta Phys. Pol., A, 139(4), 432 (2021).