Nosivi bežični optički kemijski senzori

Zubak, Marko

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:168313

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
KEMIJSKO INŽENJERSVO

Marko Zubak

NOSIVI BEŽIČNI OPTIČKI KEMIJSKI SENZORI

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Ivana Murković Steinberg

Članovi ispitnog povjerenstva:

Doc. dr. sc. Ivana Murković Steinberg

Dr. sc. Petar Kassal

Dr. sc. Mirjana Novak Stankov

Zagreb, srpanj 2015.

Zahvala:

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Ivani Murković Steinberg te voditelju završnog rada dr. sc. Petru Kassalu koji su svojim znanstvenim i stručnim savjetima oblikovali ideju i pomogli mi u izradi završnog rada. Zahvalu upućujem i svim djelatnicima Zavoda za opću i anorgansku kemiju, Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na nesebičnoj pomoći i savjetima.

SAŽETAK:

Nosivi bežični optički kemijski senzori omogućavaju analizu uzoraka koji se ne mogu analizirati klasičnim analitičkim metodama i instrumentima. U ovom radu, kroz niz primjera, objašnjen je princip djelovanja te je navedeno područje primjene takve vrste kemijskih senzora. Spektrofotometrijski je provedena karakterizacija 4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-2,6-dimetoksifenola, skraćeno GJM-534, imobiliziranog na poliesterskoj foliji kako bi se odredila njegova primjenjivost kao pH osjetljivog bojila. Objašnjena je mogućnost daljnje primjene dobivene membrane kao osjetilnog dijela nosivog bežičnog optičkog kemijskog senzora koji bi se zasnivao na RFID tehnologiji bežične komunikacije za praćenje pH vrijednosti bioloških uzoraka poput znoja ili rane. Ovakva vrsta senzora mogla bi olakšati život ljudi oboljelih od kroničnih rana, te poboljšati učinak sportaša.

KLJUČNE RIJEČI: bežične komunikacije; kemijski senzori; nosivi senzori; optički senzori;

pH indikatori

SUMMARY:

Wearable wireless optical chemical sensors allow analysis of samples which can not be analyzed by conventional analytical methods and instruments. In this work, the operating principle and area of application of this type of chemical sensor are explained through numerous examples. Spectrophotometric characterization of 4- [4- (2-hidroksietansulfonil) -phenylazo]-2,6-dimethoxyphenol, abbreviated GJM-534, immobilized on a polyester film, was performed in order to determine its applicability as a pH-sensitive dye. The possibility of further use of the obtained membrane as the sensing part of a wearable wireless optical chemical sensor based on RFID technology for monitoring the pH value of biological samples such as sweat or wounds is also explained. This type of sensor could improve the lives of people suffering from chronic wounds and to enhance the performance of athletes.

KEYWORDS: wireless communications; chemical sensors; wearable sensors; optical sensors; pH indicators

SADRŽAJ

1. UVOD……...……1

2. OPĆI DIO……..……..….2

2.1. Kemijski senzori…….……...…….2

2.2. Optički kemijski senzori……..……...…....3

2.2.1. Vrste optičkih kemijskih senzora…….…….……..4

2.2.2. Značajke optičkih kemijskih senzora……..…..……..5

2.2.3. Osjetilni dio optičkog kemijskog senzora……...…6

2.2.4. Indikatorska bojila……..……8

2.2.5. Optode…….…..……10

2.2.5.1. Optode osjetljive na pH……..…..…..……12

2.2.5.2. Optode osjetljive na metalne ione……...13

2.2.5.3. Optode za određivanje kisika……...……...14

2.3. Bežične tehnologije za kemijske senzore…….....15

2.4. Pregledni dio…….....16

2.4.1. Primjena nosivih bežičnih optičkih kemijskih senzora…….....16

2.4.2. Primjeri nosivih bežičnih optičkih kemijskih senzora…….…..…17

3. EKSPERIMENTALNI DIO…….……..22

3.1. Materijali i kemikalije……..……..…..….22

3.2. Instrumenti……..…..22

3.3. Tijek rada……..……...…23

3.3.1. Priprema pufera…….…….…….……....23

3.3.2. Priprema pH osjetljive matrice……..……..…….…….24

3.3.3. Snimanje spektra……..…….....24

4. REZULTATI I RASPRAVA……..26

5. ZAKLJUČAK……...…..……32

6. LITERATURA…….……...…..…….33

7. PRILOG ……...……...…38

8. ŽIVOTOPIS……39

1. UVOD

U mnogim slučajevima nije moguće primijeniti klasične kemijske senzore već se poseže za alternativnim rješenjima. Jedno od rješenja našlo se u vidu nosivih prijenosnih optičkih kemijskih senzora. Oni omogućavaju jednostavnu analizu uzoraka koji se teže analiziraju klasičnim analitičkim metodama i instrumentima. Takvi uzorci su: zrak, dah, rana, znoj i slina [1] i [2].

Kemijski senzor se definira kao uređaj koji pretvara određenu kemijsku informaciju o uzorku, u rasponu od koncentracije pojedine komponente uzorka pa sve do ukupnog sastava uzorka, u analitički mjerljiv signal. Kemijska informacija o uzorku potječe od kemijske reakcije ispitivanog analita ili od fizikalnih svojstava ispitivanog sustava. Svaki se kemijski senzor sastoji od dvije osnovne funkcionalne jedinice: osjetilnog dijela ("receptora") i mjernog pretvornika. Određeni senzori mogu sadržavati i separator, takvu funkciju ima membrana. Osjetilni dio odgovoran je za selektivno i osjetljivo prepoznavanje analita. Taj dio kemijskog senzora pretvara kemijsku informaciju u oblik energije koji prepoznaje pretvornički dio senzora. U pretvorničkom dijelu kemijskog senzora energija oslobođena uslijed interakcije analita i receptora prevodi se u oblik energije pogodan za mjerenje, najčešće u električni signal.

Bežične komunikacijske tehnologije omogućavaju jednostavnije preuzimanje analitičkih podataka u odnosu na senzore povezane žicama, te osiguravaju potpunu mobilnost korisnika nosivog senzora. Bežični sustavi koriste elektromagnetske valove koji se šire prostorom za komunikaciju između odašiljača i senzora. Za prijenos informacija bežičnim putem koriste se radiosignali, mikrovalovi te infracrveni i vidljivi dio svjetla

Cilj ovog rada bio je dati pregled relevantne literature u području nosivih optičkih kemijskih senzora, te kroz spektrofotometrijsku karakterizaciju ispitati primjenjivost pH osjetljivog bojila, 4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-2,6-dimetoksifenol (GJM 534), u nosivim bežičnim optičkim senzorskim sustavima.

2. OPĆI DIO

2.1. Kemijski senzori

Kemijski senzori su uređaji koji pretvaraju informaciju o uzorku u analitički mjerljiv signal. U primjeni su različite vrste kemijskih senzora:

1. OPTIČKI KEMIJSKI SENZORI- temeljeni na reakciji koja uzrokuje optičku promjenu.

2. ELEKTROKEMIJSKI SENZORI- reakcija koja se odvija na površini elektroda pretvara se u analitički mjerljiv signal. U elektrokemijske senzore ubrajaju se slijedeće vrste senzora: voltametrijski senzori, amperometrijski senzori, potenciometrijski senzori, CHEMFET senzori (eng. *Chemically Sensitized Field Effect Transistor*) i plinski potenciometrijski senzori sa čvrstim elektrolitom.

3. ELEKTRIČNI SENZORI- temelje se na promjeni električnog svojstva mjernog sustava usred prisustva analita. U električne senzore ubrajaju se: poluvodički senzori na bazi metalnih oksida, organski poluvodički senzori, konduktometrijski senzori, senzori dielektrične permitivnosti.

4. SENZORI OSJETLJIVI NA PROMJENU MASE- mjerni signal je posljedica promjene mase uzrokovane vezanjem analita na površinu osjetilnog dijela senzora. Tu se ubrajaju: piezoelektrični senzori i senzori temeljeni na površinskim akustičnim valovima.

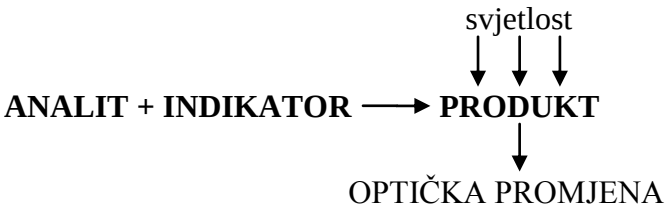
5. MAGNETSKI SENZORI- mjerni signal je posljedica promjene paramagnetskog svojstva analiziranog plina.

6. TERMOMETRIJSKI SENZORI - mjerni signal je posljedica toplinskog efekta uzrokovanog kemijskom reakcijom analita ili adsorpcije analita na površinu receptorskog dijela senzora.

7. Kemijski senzori temeljeni na mjerenju fizikalnih svojstava sustava, poput emisije X-, β- i γ-zračenja u svrhu određivanja kemijskog sastava određenog uzorka [3].

2.2. Optički kemijski senzori

U ovom poglavlju posebna pozornost posvetiti će se optičkim kemijskim senzorima. Optički senzori su uređaji kod kojih je mjerni signal posljedica promjene nekog od optičkih svojstava sustava kao rezultat međudjelovanja analita s osjetilnim dijelom senzora. Optički kemijski senzor temelji se na reakciji čiji produkti u interakciji sa svjetlošću daju optičku promjenu.



Dakle, interakcija svjetla i materije temelj je rada optičkog kemijskog senzora. Molekula može apsorbirati energiju elektromagnetskog vala, pri tome se povećava energija same molekule. To povećanje energije molekule manifestira se kao elektronska, rotacijska ili vibracijska pobuda. U ovom slučaju molekula može apsorbirati fotone točno određene valne duljine (energije). Prolaskom elektromagnetskog vala kroz uzorak mogući su različiti procesi od kojih se neki odvijaju simultano. Materija može apsorbirati, reflektirati/refraktirati i luminiscirati (fluorescencija i fosforescencija, a razlika je u vremenu emisije vidljivog djela spektra uzrokovanog ionizirajućim zračenjem) u interakciji sa zrakom svjetlosti [3] i [4].

2.2.1. Vrste optičkih kemijskih senzora

U ovu grupu ubrajaju se senzori temeljeni na mjerenju:

- APSORPCIJE – mjerena u prozirnom mediju, uzrokovana od strane analita ili reakcijom s određenim indikatorom. Podrazumijeva prelazak elektrona iz osnovnog u prvo pobuđeno elektronsko stanje nakon pobude od strane fotona. U pobuđenom stanju molekula ostaje vrlo kratko i potom se bezemisijski vraća u niže energetsko stanje [4].

- REFLEKSIJE – mjerena u mediju nepropusnom za svjetlost, u tom slučaju koristi se imobilizirani indikator.

- KEMILUMINISCENCIJE - u sustavu receptora se odvija kemijska reakcija koja emitira svjetlost određenog intenziteta. Kemiluminiscencija se javlja reakcijom reaktanata koji stvaraju produkt u pobuđenom stanju [4].

- FLUORESCENCIJE – zasniva se na učinku emisije koja je uzrokovana zračenjem. Također, selektivno gašenje fluorescencije može biti temelj rada optičkog kemijskog senzora (npr. optode za određivanje kisika). Fluorescencija je emisija svjetlosti iz tvari za vrijeme ozračivanja ionizirajućim zračenjem ili svjetlošću. U tom slučaju emitira se svjetlost veće valne duljine, manje energije. Elektron prilikom relaksacije prelazi između istih multipliciteta, tj. ne dolazi do promjene spina elektrona. Često je fluorescencija optička pojava na kojoj se temelje optički kemijski senzori. Također, takva vrsta senzora ima veću selektivnost i osjetljivost od senzora koji temelje svoj rad na apsorpciji [5].

- INDEKSA LOMA- često se koristi za mjerenje promjene sastava otopine. Uključuje interakciju svjetlosti s površinom. Lom svjetlosti moguće je primijeniti za praćenje tijeka reakcije.

- OPTOTERMALNOG EFEKTA – temelj takve vrste optičkih senzora je pojava toplinskog učinka uzrokovanog apsorpcijom svjetla.

- RASPRŠENJA- temelji se na učinku koji je uzrokovan određenom veličinom čestica prisutnih u uzorku. Postoje dva načina raspršenja svijetosti. Ukoliko je energija sustava nakon raspršenja veća od energije sustava prije raspršenja, sustav prima energiju, takvo raspršenje nazivamo Ramanovim (Stokes) raspršenjem. U slučaju da odlazeći foton ima višu energiju od dolazećeg, sustav je raspršenjem izgubio energiju, takvo raspršenje se naziva Ramanovim

(anti-Stokes) raspršenjem. Kada je energija upadnog i odlaznog zračenja jednaka, tj. sustav ne prima i ne otpušta energiju, tada je u pitanju Rayleighovo raspršenje. [3] i [4].

2.2.2. Značajke optičkih kemijskih senzora

Osjetljivost, točnost, preciznost, stabilnost, selektivnost, mjerno područje, granica detekcije i vrijeme odziva određuju i karakteriziraju pouzdanost, preciznost i točnost analitičkog signala koji daje kemijski senzor [6].

- Osjetljivost

Osjetljivost se definira kao omjer promjene vrijednosti izmjerenog signala senzora po jedinici promjene koncentracije analita. .

- Točnost

Sukladnost izmjerene vrijednosti pravoj vrijednosti mjerene varijable naziva se točnost.

- Preciznost

Preciznost se definira kao podudarnost ponovljenih mjerenja. Preciznost mjerenja ne podrazumijeva i njegovu točnost.

- Stabilnost

Sposobnost senzora da očuva funkcionalnost tijekom vremena. Kao jedan od najvećih problema ističu se fotokemijska degradacija prisutnog indikatora te ispiranje pojedinih komponenti iz osjetilnog dijela. Promjena koncentracije jedne od komponenata u sastavu receptora direktno utječe na rad senzora.

- Selektivnost

Selektivnost senzora je jedna od najvažnijih karakteristika koja određuje njegovu primjenu, odnosno, mogućnost određivanja koncentracije analita u prisustvu interferirajućih kemijskih vrsta u realnom uzorku.

- Mjerno područje

Mjerno područje je područje koncentracije analita unutar kojeg se odvija promjena signala senzora u ovisnosti o koncentraciji analita. Određeno je intervalom između maksimalne i minimalne vrijednosti koncentracije analita unutar kojeg se analit može odrediti s određenom točnošću i preciznošću.

- Granica detekcije

Ona predstavlja najmanji iznos koncentracije ispitivane tvari koji se može pouzdano izmjeriti danim senzorom.

- Vrijeme odziva

Vrijeme odziva se često definira kao vrijeme koje je potrebno da se postigne 95% maksimalne vrijednosti koju će senzor pokazati u otopini određene koncentracije ispitivane tvari [5].

2.2.3. Osjetilni dio optičkog kemijskog senzora

Osjetilni dio optičkog kemijskog senzora je ključni dio takve vrste uređaja. Na njemu se odvija optička promjena koju detektira i u analitički mjerljiv signal pretvara mjerni pretvornik (npr. fotodioda). Ključno je da osjetilni dio optičkog kemijskog senzora ima visoku optičku, kemijsku te termičku stabilnost. Optimizacija osjetilnog dijela podrazumjeva upotrebu i razvoj novih tehnologija. Stoga su u izradi senzora uključeni i ″pametni materijali″ poput grafena, ugljikovih nanocjevčica i poliionske tekućine [7].

Matrice koje se koriste kao nosači osjetljivog bojila (indikatora) najčešće su organske polimerne ili matrice pripravljene sol-gel postupkom. Polimerne matrice su vrlo zahvalne za izradu optičkih senzora zbog svoje izdržljivosti. Najčešće polimerne matrice su: celuloza acetat [8], polivinil-alkohol [9], etil celuloza, poliuretan. U odnosu na polimerne matrice, sol-gel matrice su znatno pogodnije zbog raznovrsnog načina priprave [5].

Sol-gel postupkom nastaju anorganske mreže iz otopine koloida (sol) preko geliranja sve do formiranja mreže u kontinuiranoj tekućoj fazi (gel). Kod sol-gel postupka polazni materijal (prekursor) sastoji se od metalnih iona okruženih reaktivnim ligandima (metalni alkoksidi). Postupkom hidrolize prekursora i potom kondenzacije, čestice sola se povezuju u umreženu

strukturu (formiraju mrežu) i čine gel [10] i [11]. Kao katalizator u reakciji se koriste baze ili kiseline. Sol-gel postupkom moguće je stvoriti nove materijale koji bi imali zadovoljavajuću čvrstoću, fleksibilnost, poroznost i stabilnost te koji bi se mogli jednostavno proizvoditi na sobnoj temperaturi [5].

Općenito, matrice moraju biti selektivno propusne, fleksibilne te kemijski i mehanički stabilne. Moraju omogućiti difuziju ciljane tvari te njenu reakciju sa osjetljivim bojilom.

Osjetilni dio optičkog kemijskog senzora u matrici može sadržavati:

1.) *Ionofore* za selektivno prepoznavanje i propuštanje analita u membranu.

2.) *Omekšavala* se ugrađuju u polimerne matrice. Oni membrani daju optimalna fizikalna svojstva i omogućavaju mobilnost kompleksa analit-ionofor unutar same matrice.

3.) *Lipofilna sol* koja održava elektroneutralnost membrane. Tako će primjerice reakcijom kationa s neutralnim indikatorom radi očuvanja elektroneutralnosti iz membrane izaći kationski dio lipofilne soli.

4.) *Kromoionofor (fluoroionofor)* daje optičku promjenu pri reakciji s analitom. U slučaju organskih polimernih membrana, nužno je da kromoionofor / fluoroionofor bude lipofilan te optički stabilan [12].

Osjetilni film može biti na nekoliko načina nanesen na nosač. Često korištene metode nanošenja filma su: uranjanje (*dip-coating*), nanošenjem na rotirajuću podlogu (*spin-coating*), otiskivanjem (*screen-printing*), raspršivanjem (*spray-coating*), premazivanje nožem (*knife-coating*) i otiskivanje ubadanjema (*pin-printing*).

Tri su osnovna načina imobilizacije kromoionofora (indikatora) na membranu: adsorpcija, fizičko zarobljavanje i kovalentno vezanje.

Adsorpcija je nepouzdana jer je indikatorsko bojilo lako moguće isprati.

Kovalentno vezanje je složen i dugotrajan proces te zahtjeva odgovarajući materijal s funkcionalnim skupinama prikladnima za imobilizaciju. Prednost u odnosu na adsorpciju je ta što nema ispiranja bojila, ali moguća je promjena optičkih svojstava nekog indikatora (promjena boje), pomak p*K*a te je odziv nešto sporiji nego u fizički zarobljenom indikatorskom bojilu.

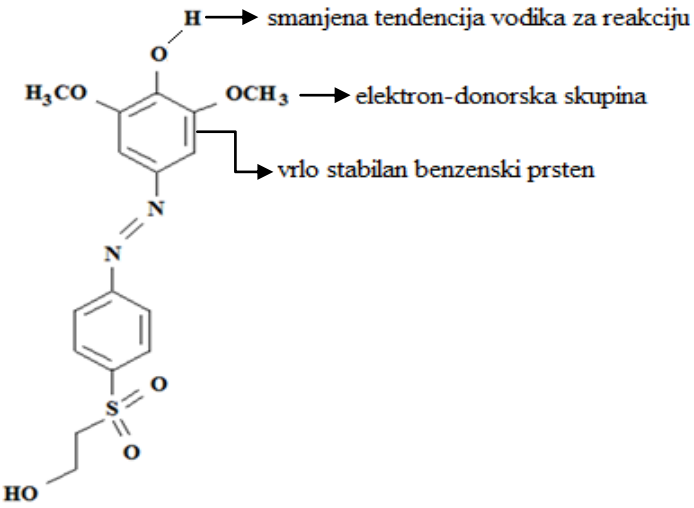
Fizičko zarobljavanje također nije pouzdano zbog opasnosti od ispiranja, ali je odziv nešto brži nego kod kovalentnog vezanja na matricu [5].

Kao što je rečeno najveći problem kod adsorpcijski ili fizički imobiliziranog indikatorskog bojila je ispiranje, to je moguće spriječiti korištenjem pH indikatora u obliku ionskog para što bi ga učinilo hidrofobnim, stoga bi se slabo topio u vodi [13].

2.2.4. Indikatorska bojila

Najkompleksniji zadatak pri proizvodnji optičkog senzora je sinteza i odabir bojila s povoljnim dinamičkim područjem djelovanja te odgovarajućim kemijskim i fizikalnim karakteristikama potrebnim za selektivno reagiranje s analitom.

Često korištene pH osjetljive boje su azo-boje [15], [16] i [17]. Primjer optički osjetljivog bojila na promjenu pH vrijednosti je derivat hidroksiazobenzena (praćenje pH od 6 do 10) . Utjecaj supstituenta na p*K*a vrijednost objašnjen je na primjeru pH osjetljivog bojila 4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-2,6-dimetoksifenol (GJM-534), slika 1 [15]. Pri odabiru supstituenta bitno je imati na umu kako elektron-odvlačeće skupine povećavaju kiselost i snižavaju vrijednost p*K*a, a elektron donorske skupine povećavaju p*K*a vrijednost [16]. Benzenski prsten je zbog delokaliziranosti elektrona vrlo stabilan. Dovođenjem elektron-donorske (metoksilne) skupine u orto položaj u odnosu na hidroksilnu skupinu stabilnost prstena se dodatno povećava zbog rezonancijskog djelovanja metoksilnih grupa. Porastom stabilnosti prstena smanjit će se tendencija vodika hidroksilne skupine za reakciju. Smanjena sposobnost vodika za reakciju povećava bazičnost molekule, a time raste i p*K*a vrijednost. Opisanu boju moguće je imobilizirati kovalentnim vezanjem za celulozni nosač kako bi se dobila pH osjetljiva matrica [17]. Vrijednosti karakteristične za opisanu boju dane su u tablici 1.

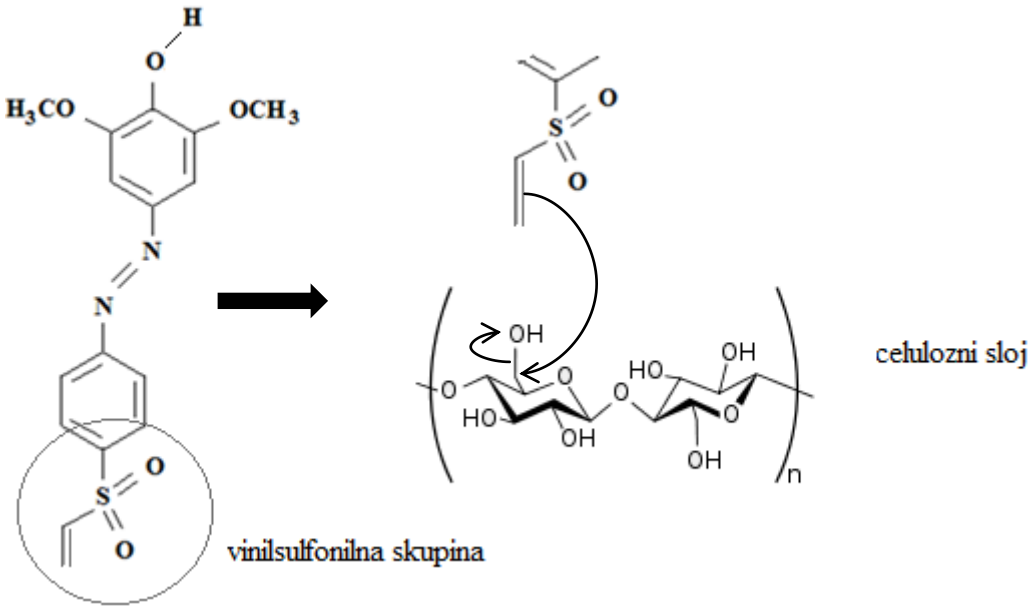


Slika 1. Strukturna formula GJM-534 pH osjetljive boje korištene u eksperimentu.

Tablica 1. Karakteristične vrijednosti indikatorske boje GJM-534 [15].

Boja	pK_a (voda)	pK_a (teorijska)	λ_{max} (protonirani oblik)	λ_{max} (deprotonirani oblik)
GJM-534	7,61	9,22	465 nm	515 nm

Kako je spomenuto u poglavlju 2.2.3. kovalentno vezanje indikatorske boje na nosač može utjecati na pomak p*K*a vrijednosti, ali ponekad je nužno potrebno kemijski vezati indikator radi sprječavanja ispiranja. Pomoću GJM-534 ukratko je objašnjen postupak kovalentnog imobiliziranja na celulozni nosač, slika 2. Hidroksietilsulfonilna skupina GJM-534 indikatorske boje reagira sa koncentriranom sumpornom kiselinom stvarajući sulfonatnu grupu. U bazičnim uvjetima sulfonatna grupa prelazi u vinilsulfonilnu grupu koja reagira s hidroksilnom skupinom celuloznog nosača [15].

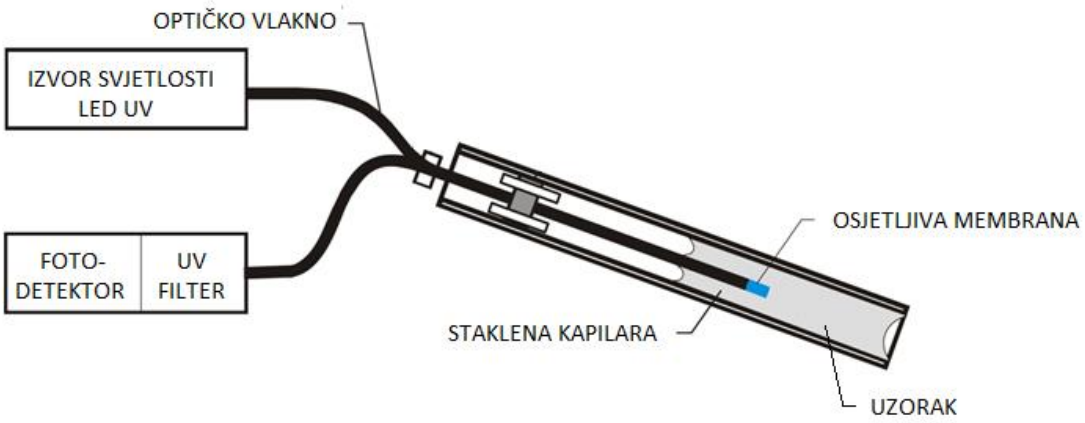


Slika 2. Prikaz kovalentnog vezanja indikatora GJM-534 na celulozni nosač.

2.2.5. Optode

Često korištena vrsta optičkih kemijskih senzora su optode. Ono što su elektrode kod elektrometrijskih kemijskih senzora to su optode kod optičkih kemijskih senzora. Optode se temelje na reakciji iona s molekulskim vrstama kod kojih se reakcijom dolazi do promjene boje. Stoga će boja tvari biti komplementarna apsorbiranoj boji. U optičkih senzora indikator je u pravilu imobiliziran na površini nosivog supstrata ili na stjenci nosive ćelije. Prijenos ispitivane tvari u membransku fazu uključuje tri stupnja: difuziju analita kroz granični sloj uzorka, nastajanje kompleksa ion-ionofor i difuziju kompleksa ion-ionofor u membransku fazu. Brzina stvaranja kompleksa primarnog iona i ionofora je preduvjet za brzi odziv senzora. Odzivni signal posljedica je interakcije molekulskih vrsta na površini optode i molekulskih vrsta u otopini [4]. Ionofor ili prijenosnik iona je glavni sastojak membrane optode, jer omogućuje selektivno i reverzibilno vezanje određenog iona u membranu. Uloga kromoionofora je stvaranje optički prepoznatljivog signala (npr. stvaranje obojanih kompleksa u reakciji s nekim metalima). Ionsko selektivnim optodama moguće je drediti mnoge vrste iona kao što su: H^+, Li^+, K^+, Na^+, Ca^{2+}, NH_4^+, Zn^{2+}, Pb^{2+}, UO_2^{2+} , Cl^-, NO_3^-, CO_3^{2-}, HSO_3^- [18].

Unatoč nedostacima kao što je maleno dinamičko područje, optode za određivanje iona nalaze znatnu primjenu, naročito u biološkim tekućinama. Na slici 3 dan je prikaz optode za određivanje iona u otopinama. Optoda se sastoji od optičkog vlakna kojim se vrši prijenos svjetlosti. Ono je izrađeno od materijala koji ne apsorbira elektromagnetsko zračenje, a najčešći su kvarcno staklo, polistiren ili obično staklo [4]. Kod prijenosnih optoda osjetljivih na ione na jednoj strani optičkog vlakna nalazi se izvor svjetlosti, npr. svjetleća dioda (*Light emitting diode,* LED) dok je na drugoj strani membrana s imobiliziranom bojom (optički aktivni sloj) koja u međudjelovanju s analitom stvara optičku promjenu (apsorpcija, luminiscencija) koja se nadalje optičkim vlaknom prenosi do fotodetektora te tako daje podatak o uzorku.



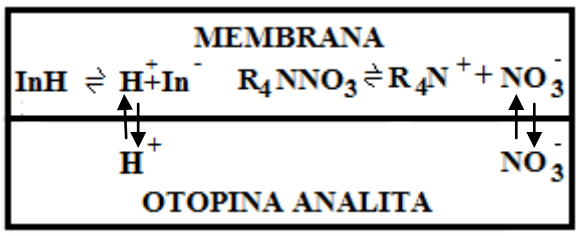
Slika 3. Shematski prikaz optode s optičkim vlaknima [14].

Postoji nekoliko različitih vrsta optoda, među njima su najpoznatije: optode za određivanje pH, optode za određivanje plinova koji su potencijalne kiseline ili baze, optode za određivanje metalnih iona, optoda za glukozu, optoda za penicilin, optoda za kisik, optode za ione u biološkim sustavima i optode zasnovane na fluorescenciji NADH.

2.2.5.1. Optode osjetljive na pH

Kako je već spomenuto u prethodnim poglavljima mjerenje pH vrijednosti je bitno kako za područje zaštite okoliša tako i za medicinu. Ravnoteža elektrolita u organizmu je ključna za normalnu funkciju stanice i organa. Općenito, pH područje djelovanja optode određuje boja ugrađena u membranu optode [16]. Nosač na koju se imobilizira pH osjetljiva boja u većini slučajeva je hidrofilna kako bi olakšala difuziju oksonijevog iona (H_3O^+) do indikatorske, pH osjetljive boje [5]. Kod hidrofobnih matrica odziv senzora je sporiji. Matrice koje se najčešće koriste kao nosači pH osjetljive boje su čvrste, polimerne matrice ili sol-gel matrice.

Velik broj membrana pH osjetljivih optoda napravljene su za rad u području od 5 do 9 pH jedinica stoga su pogodne za praćenje bioloških promjena u organizmu (medicina, biologija) [16]. Uporabom većeg broja indikatora s prikladno usklađenim konstantama ionizacije može se načiniti optoda sa širim dinamičkim područjem djelovanja [4]. Primjer pH osjetljive matrice i princip rada prikazan je na slici 4. U membranu optode imobilizirano je pH osjetljivo bojilo, indikator (InH) u protoniranom obliku. U otopini povišene pH vrijednosti indikator će disocirati te promijeniti boju. Koncentracija vodikovih iona u otopini analita uvjetuje položaj ravnoteže. Radi održavanja električne neutralnosti u membranu se ugrađuje lipofilna sol čiji ioni mogu izaći iz membrane [4]. Osjetljivost i vrijeme odziva optode uglavnom ovisi o svojstvima polimerne osnove na koju se imobilizira boja [16].



Slika 4. Mehanizam djelovanja pH osjetljive optode.

Svojsta indikatorskog bojila ovise o njenoj pK_a vrijednosti, odnosno o konstanti ravnoteže disocijacije kiseline. Kako bi pH osjetljiva bojila bila primjenjiva na željeni uzorak potrebno je znati njenu p*K*a vrijednost. Prema konstanti disocijacije kiseline p*K*a vrijednost dana je za reakciju:

$$HIn \rightleftharpoons H^+ + In^-$$

$$K_a = \frac{[H^+]\,[In^-]}{[HIn]}$$

$$[H^+] = K_a \frac{[HIn]}{[In^-]} \;\Big/\; (-\log)$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[In^-]}{[HIn]} \quad \text{ako je} \quad \boxed{[In^-] = [HIn]} \quad \text{tada je} \quad pH = pK_a \quad (1)$$

točka promjene boje

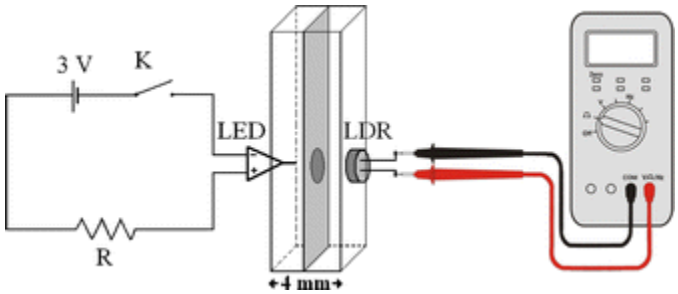
U točki istog aktiviteta protoniranog i deprotoniranog oblika moguće je odrediti pK_a vrijednost indikatorske boje. Tada je pK_a vrijednost jednaka pH.

2.2.5.2. Optode osjetljive na metalne ione

Ovakva vrsta optoda temelji se na stvaranju obojenih kompleksa u reakciji metala s ligandima. Ovakvim tipom optoda prvenstveno se prate prijelazni metali. Za metalne ione koji ne tvore obojene komplekse postoji indirektna metoda. Ona se sastoji od dva koraka, stoga je nužno da se u membranu inkorporira ionofor (npr. ETH 111 za određivanje Ca^{2+}). Takav ionofor s ionom metala (kalcija) u membrani tvori kompleksni ion pozitivnog električnog naboja koji u slijedećem koraku reagira s indikatorom stvarajući optičku promjenu koja direktno ovisi o koncentraciji, u ovom slučaju Ca^{2+} iona [4].

Još jedan primjer je selektivna optoda bazirana na 5-(p-dimetilaminobenziliden) rodaminu imobiliziranom na triacetil celuloznoj membrani s dvjema baterijama od 1,5 V za kvantitativno određivanje zlata, Au(III). LED dioda emitira svjetlost koja prolazi kroz uzorak. Svjetlost koja prođe kroz uzorak detektira foto-otpornik (LDR- *Light Dependent Resistor*) koji propušta struju kroz strujni krug ukoliko je obasjan svjetlošću. Ohm-metar

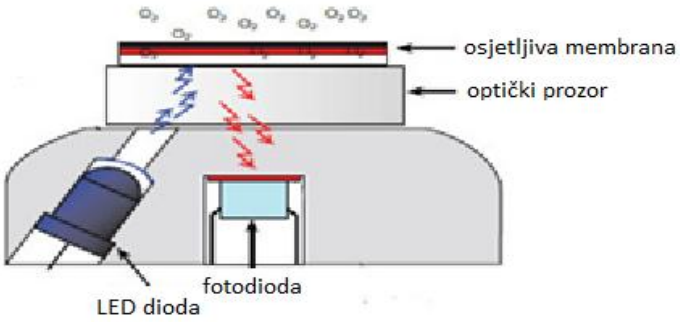
mjeri otpor koji je jako velik ukoliko LDR nije obasjan svjetlošću, povećanjem intenziteta svjetlosti smanjuje se otpor [19]. Shema strujnog kruga opisanog senzora dana je na slici 5.



Slika 5. Shematski prikaz optičkog senzora za Au(III) [19].

2.2.5.3. Optode za određivanje kisika

Molekule kisika imaju svojstvo gašenja fluorescencije. Upravo to svojstvo kisika temelj je rada optoda za detekciju kisika. Gašenje fluorescencije nastaje sudarom molekula imobiliziranog indikatora s molekulama kisika. Optoda se može načiniti imobilizacijom fluorescentnog indikatora (kumarin 101 ili tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolin) rutenijev diklorid) u ion-izmjenjivački supstrat koji se pričvrsti na svjetlovod, slika 6. Pod utjecajem svijetla fluorescentni indikator emitira zračenje. Kada se aktivni dio optode dovede u kontakt s molekularnim kisikom intenzitet fluorescencije se smanjuje. Upravo je razlika u intenzitetu fluorescencije proporcionalna koncentraciji kisika [4], [14] i [20].



Slika 6. Optoda za određivanje kisika s imobiliziranim tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolin)rutenijevm dikloridom [14].

2.3. Bežične tehnologije za kemijske senzore

Postoje mnogi standardi koje je moguće primijeniti za bežični prijenos analitičkog signala ovisno o vrsti kemijskog senzora i njegovoj primjeni. Neki od najčešće korištenih su: Bluetooth, ZigBee, radiofrekvencijska identifikacija (RFID) i NFC (*Near field communication*) [21]. Uspoređujući međusobno pojedine standarde najveći domet ima Bluetooth protokol, dok najkraći NFC, ali što se tiče potrošnje energije Bluetooth standard troši najviše dok RFID najmanje energije.

Bluetooth je prvotno dizajniran za mobilne uređaje poput mobilnih telefona, prijenosnih računala i tableta. Radi na frekvenciji od 2,4 GHz te ima veliku brzinu prijenosa podataka na veće udaljenosti, 10-100m, ali i visoku potrošnju energije u odnosu na druge bežične tehnologije [22] i [23].

ZigBee standard osmišljen je za upotrebu u osobnim bežičnim mrežama. Moguć je rad na 868 MHz, 915 MHz ili 2,4GHz. Prednost mu je smanjena potrošnja energije u odnosu na Bluetooth, uz sličan domet [24].

RFID tehnologija je prvenstveno nastala zbog pojednostavljivanja identifikacije proizvoda. Radi na niskoj frekvenciji 128-135 kHz, visokoj frekvenciju 13,56 MHz i na jako visokoj frekvenciji 860-960 MHz. RFID sustav se sastoji od platforme i čitača. Moguć je rad u pasivnom (u spiralnoj anteni (platforma) se inducira struja pod utjecajem

elektromagnetskog zračenja koje emitira odašiljač), polu pasivnom i aktivnom načinu. Razlika je u tome što pasivni nemaju vanjsko napajanje (bateriju) stoga im je rok trajanja neograničen dok su aktivni tagovi znatno složeniji, skuplji, imaju vlastiti izvor napajanja (bateriju), ali i veći domet [25].

NFC standard je razvijen iz RFID tehnologije. Ima vrlo kratak domet, svega 20 cm stoga je koristan za razmjenu povjerljivih podataka. Radi na 13,56 MHz [26]. Također, NFC standard može biti pasivan i aktivan. Slično kao kod RFID standarda, ukoliko se radi o pasivnom načinu samo odašiljač odašilje signal koji se reflektira/modulira nazad do čitača. U aktivnom načinu oba uređaja i platforma i odašiljač generiraju signal tijekom komunikacije. Moguće je međusobno kombinirati RFID platformu s NFC odašiljačem/čitačem i obrnuto. Prednost korištenja NFC tehnologije u kemijskim senzorima je i ta što velik broj novih mobilnih telefona posjeduje NFC standard te se podaci s platforme mogu prenijeti na mobilne telefone.

2.4. Pregledni dio

2.4.1. Primjena nosivih bežičnih optičkih kemijskih senzora

Nosivi bežični optički kemijski senzori mogu se primijeniti u medicini, zaštiti okoliša te u svakodnevnom životu (fizička rekreacija). Njima je moguće određivati pH, određene ione metala te plinove kao što su kisik i ugljikov dioksid te ostale plinove koji su potencijalne kiseline ili baze [4]. Općenito, mjerenje pH provodi se elektrokemijskim senzorima pomoću elektroda. One su nepogodne za mjerenje kiselosti u plinskoj fazi (npr. zraku) te su često neprikladne za ugradnju u nosive, mobilne sustave. Iz tog razloga razvijeni su senzori kiselosti pripremljeni sol-gel postupkom koji se koriste u zaštiti okoliša (npr. jednostavni prijenosni senzor sa ZigBee sučeljem dizajniran za mjerenje pH atmosfere u muzeju i sl. Njihov optički odziv je takav da mijenjaju boju u ovisnosti o pH (npr. zraka)) [1]. Zbog svog dinamičkog područja djelovanja pH osjetljivim optičkim senzorima moguće je analizirati biološke otopine poput sline, znoja, rane, daha i suza [7]. Isto tako, postoje optička vlakna osjetljiva na plinove (kisik, formaldehid, amonijak i klorovodik) [27].

U medicini se uloga takve vrste senzora može bazirati na praćenju tijeka zacjeljivanja rana. Vrijednost pH zdrave kože je između 5,0 i 6,0. Upravo blago kiseli pH kože pomaže u

obrani od bakterija**.** Inficirana koža imati će viši pH (6,5- 8,5) [28] i [29]. Radi što lakšeg praćenja zacjeljivanja rana razvijeni su 'pametni' flasteri. Oni nastaju ugradnjom pH osjetljivih optičkih vlakana u gazu ili imobilizacijom pogodnog indikatorskog bojila na tkaninu.. Indikator je u tom slučaju moguće kovalentno vezati ukoliko ima funkcionalne skupine koje mogu kemijski reagirati s nosačem. Dobar primjer takvog bojila je upravo GJM-534 koje zbog hidroksietilsulfonilne skupine reagira s celulozom te se na taj način sprječava ispiranje bojila.

Osim rana, možemo pratiti vrijednosti pH znoja. Prijenosni optički senzor za znoj može funkcionirati na način da se kapilarnim silama znoj apsorbira u pamučni flaster i dolazi u kontakt s osjetljivim dijelom senzora pri čemu pH osjetljivi indikatori mijenjaju boju prema njihovim p*K*a vrijednostima [2]. Analiza znoja korisna je u dijagnostici bolesti i optimizaciji izvedbe sportaša [30]. Uz vodu u znoju se još nalaze: natrij, kalij, klorid, kalcij, bikarbonat, amonijak i organski spojevi kao što su glukoza i laktat. Mjerenjem pH znoja možemo dobiti korisne podatke o stanju našeg organizma tijekom tjelovježbe te tako spriječiti dehidraciju ili hiponatremiju (snižena vrijednost natrija u organizmu). Indirektno, praćenjem pH može se pratiti i koncentracija Na^+ iona u znoju. Što je veća koncentracija Na^+ iona u znoju i pH će biti veći [31], [32]. Također, praćenjem koncentracije NH_4^+ iona u znoju moguće je indirektno pratiti određene pojave povezane s disfunkcijom jetre. Praćenjem koncentracije NO u dahu moguće poboljšati liječenje ljudi oboljelih od respiratornih bolesti poput astme [33].

2.4.2. Primjeri nosivih bežičnih optičkih kemijskih senzora

U ovom poglavlju bit će opisani nosivi optički kemijski senzori, ali i oni senzori koji imaju predispoziciju da postanu nosivi.

Analiza daha

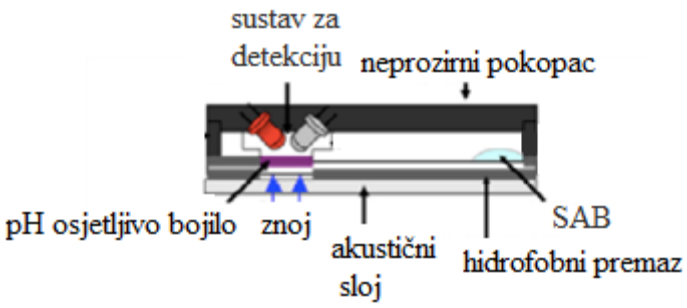
Praćenjem daha moguće je odrediti količinu etanola, kisika, amonijaka te acetona u organizmu [7]. Takav optički senzor načinjen je korištenjem bojila metilen plavo koje se nanosi na optičko vlakno. Na drugoj strani optičkog vlakna nalazi se LED dioda koja emitira λ= 660nm. Princip rada se bazira na smanjenju apsorpcije svijetla povećanjem relativne vlažnosti. Na taj način moguće je detektirati hiperventilaciju. Dodatna prednost je vrlo brz

odziv (0,5 s) [34]. Mana uređaju je što se ne može kategorizirati kao nosivi zbog svoje veličine [7].

Analizu kisika u dahu moguće je provesti korištenjem organski modificiranog silikata (ORMOSIL) u koji se ugrađuje fluorofor (Ru(III)-tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolin)) [35]. Nakon ugradnje fluorofora film se nanosi na kraj optičkog vlakna te se naknadno ugrađuje u staklenu kapilaru. U senzoru se koristi LED dioda, λ=475 nm, kako bi izazvala fluorescenciju koja se gasi u doticaju osjetilnog dijela senzora s molekularnim kisikom. Gašenje fluorescencije detektira fotodioda [36].

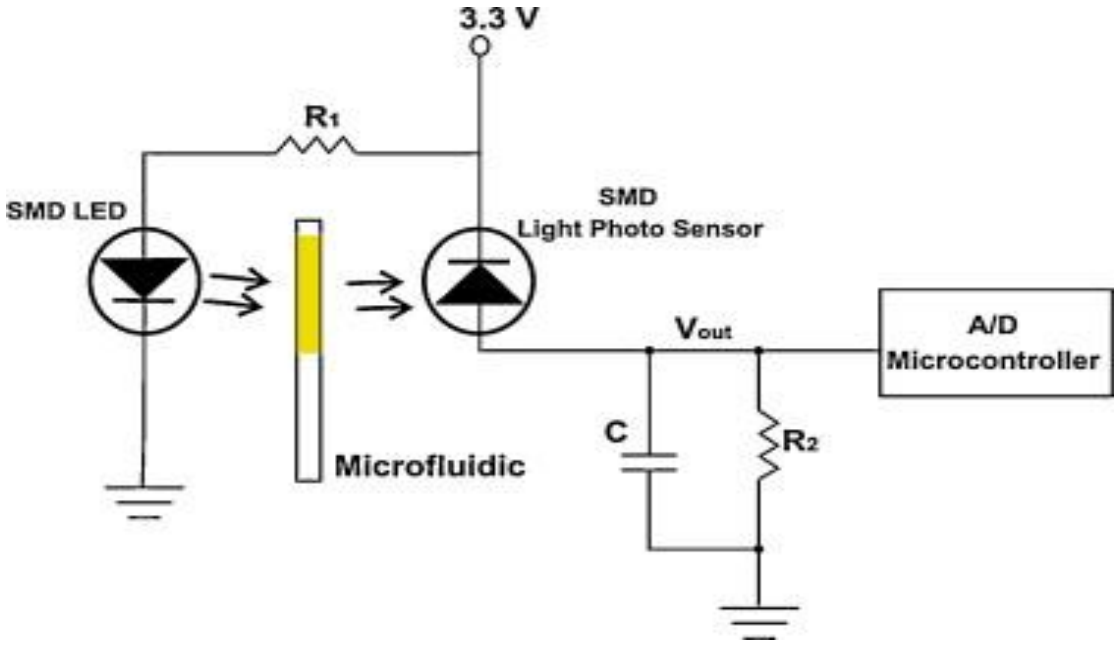
Analiza znoja

Nosivi optički kemijski senzor za analizu znoja sastoji se od materijala baziranog na tekstilu (92% poliester, 8% likra) i osjetilnog dijela baziranog na bromkrezol ljubičastoj za praćenje pH vrijednosti znoja u rasponu od 4 do 7, slika 7. LED diode su postavljene pod kutem te se mjeri reflektancija od pH osjetljivog sloja. Poboljšanje senzorskog sustava izvršeno je zamjenom LED detektora fotodiodom te se umjesto reflektancije mjeri transmisija te se tako postigla bolja osjetljivost senzora. Prijenos podataka vrši se putem Bluetootha [37].



Slika 7. Prikaz optičkog sustava za praćenje pH znoja [38].

Primjer rada bežičnog optičkog kemijskog senzora s prijenosnom mikrofluidičkom platformom za praćenje vrijednosti pH znoja prikazan je na slici 8. Podaci koje pretvori foto-dioda u električni napon bežično se prenose na računalo putem ZigBee protokola za komunikaciju. Naime, LED dioda emitira elektromagnetsko zračenje (svjetlost) određene valne duljine (λ). Dio svjetlosti koja prolazi kroz mikrofluidičku platformu se apsorbira, to smanjenje intenziteta elektromagnetskog zračenja detektira fotodioda [2].



Slika 8. Shema strujnog kruga bežičnog optičkog kemijskog senzora [39].

Još jedan primjer senzora za praćenje pH vrijednosti znoja također sadrži impregnirano bromkrezol ljubičasto kao indikatorsko bojilo. Sastoji se od LED diode i fotodiode kao izvora i detektora zračenja [39] i [40]. Za daljnju optimizaciju potrebno je dodatno minijaturizirati senzor te zaštititi osjetilni dio od vanjskog zračenja.

Bežični senzor za pračenje pH vrijednosti 5,2-8,3 primjenjiv je za analizu bioloških otopina poput npr. znoja. Senzorski sustav koristi RFID tehnologiju za bežični prijenos analitičkog signala između čitača i pasivne RFID platforme. Osjetilni dio sastoji se od sol-gel filma u koji je imobilizirano bromkrezol zeleno indikatorsko bojilo [21]. Pasivni prijenos podataka pogodan je zbog smanjene potrošnje energije [25].

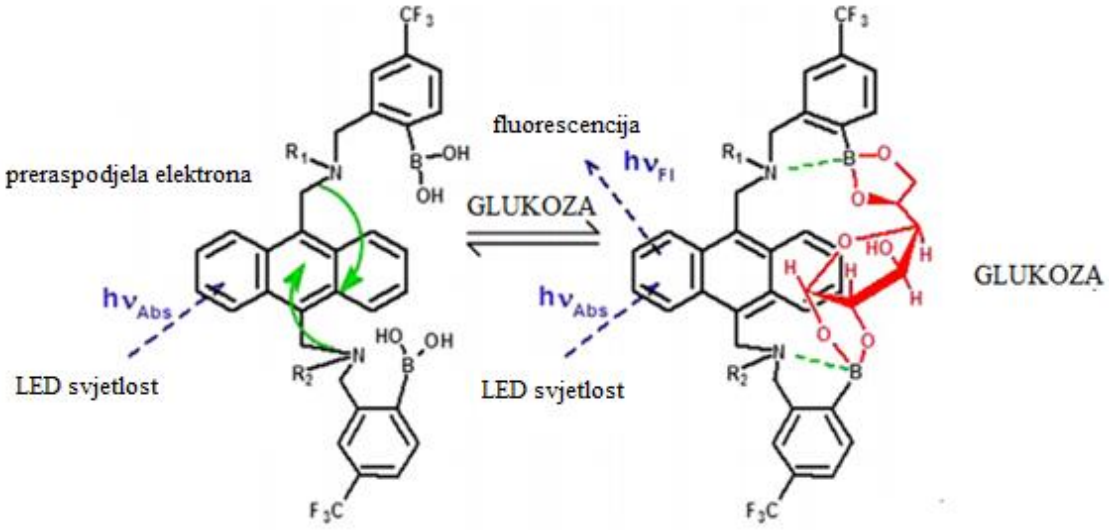
Analiza sline

Novi fluorescirajući materijali pronašli su primjenu u senzorima za analizu sline, dobar primjer takve vrste materijala je flourescirajuća molekula poli(9,9-bis(6′benzimidazol)heksil) fluoren-*alt*-1,4-fenilen koji služi za detekciju Fe^{3+} iona i anorganskih fosfata. Temelji se na sposobnosti benzimidazola da veže metal (Fe^{3+}) te tako dolazi do gašenja fluorescencije. Anorganski fosfati imaju sposobnost istiskivanja željeza iz Fe^{3+}/PBP kompleksa [41]. Pri čemu je PBP 4-[[[2-(1H-benzimidazol-2-il)fenil]imino]metil]fenol. Senzor je moguće koristiti za praćenje fosfata u slini. Još uvijek je potrebno provesti minijaturizaciju kako bi senzor mogao biti nosiv.

Analiza suze

Ideja o integraciji osjetila za glukozu u kontaktnu leću predstavlja velik napredak u praćenju dijabetesa [42]. Kontaktne leće predstavljaju dobar materijal za imobilizaciju osjetilnog bojila zbog visokog afiniteta prema različitim šećerima. Derivati borne kiseline (BAFs) dobar su primjer optičkog senzora za glukozu zbog keliranja različitih monosaharida. Eksperimentalno je potvrđeno kako je dinamičko područje BAFs otopine u vodi manje od dinamičkog područja kada je BAF imobiliziran na kontaktnu leću [43]. Takav bi vid senzora uvelike olakšao život oboljelima od dijabetesa.

Derivat borne kiseline također je korišten kao fluorescirajući indikator imobiliziran kopolimerizacijom na hidrogelu, poli(2-hidroksietil metakrilat, pHEMA) za detekciju glukoze u međustaničnoj tekućini, iako bi se sličan mehanizam mogao primijeniti i u drugim biološkim tekućinama. U kontaktu s glukozom nastaje kompleks koji pod utjecajem UV svjetlosti fluorescira, slika 9. Ukoliko glukoza nije prisutna, pod utjecajem svjetlosti fluorescencija je spriječena intermolekularnom preraspodjelom nesparenih dušikovih elektrona. Intenzitet fluorescencije prati se dvjema fotodiodama [44]. Senzor koristi NFC tehnologiju bežičnog prijenosa podataka pomoću čitača pričvršćenog za tijelo.



Slika 9. Indikator pod utjecajem svjetlosti nevezan (lijevo) i vezan (desno) za glukozu [44].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Svrha laboratorijskog ispitivanja je spektrofotometrijska karakterizacija GJM-534 pH osjetljivog bojila imobiliziranog na poliestersku foliju te određivanje p*K*a vrijednosti i dinamičkog područja djelovanja osjetljive membrane.

3.1. Materijali i kemikalije

Kemikalije korištene za pripravu pufera:

- citratna kiselina (Kemika d.d., Zagreb)
- fosfatna kiselina (Kemika d.d., Zagreb)
- destilirana voda → **A**
- borna kiselina (Sigma Aldrich)
- natrij hidroksid (Kemika d.d., Zagreb)
- klorovodična kielina (0,1 mol/dm^3) → **B**

Materijali za izradu pH osjetljive membrane

- koktel (pH osjetljivo bojilo GJM-534 + etanol + poliester)
- poliesterski film (HiFi INDUSTRIAL FILM), debljina= 100 μm
- poliesterski film (HiFi INDUSTRIAL FILM), debljina= 250 μm

3.2. Instrumenti

- pH metar Iskra MA 5740
- Varian DMS 80 UV VISIBLE SPECTROPHOTOMETER
- CHEMAT TECHNOLOGY SPIN-COATER KW-4

3.3. Tijek rada

3.3.1. Priprema pufera

Potrebno je pripremiti pufere različite pH vrijednosti (4,0–10,4). Potrebna vrijednost pH pufera dobije se miješanjem standardnog pufera (**A**) s 0,1 mol/dm^3 klorovodične kiseline (**B**) prema izrazu 1.

$$20 \text{ ml } \mathbf{A} + X \text{ ml } \mathbf{B} + (80\text{-}X) \text{ ml } H_2O \qquad (2)$$

Pri čemu volumen 0,1 mol/dm^3 klorovodične kiseline (**B**) ovisi o potrebnoj vrijednosti pH [V(**B**)= f(pH)].

- Priprema pufera **A**

Za pripremu pufera **A** potrebno je 100 ml citratne kiselina (0,33 mol/dm^3), 100 ml fosfatne kiseline (0,33 mol/dm^3), 3,54 g borne kiseline i 343 ml natrij hidroksida (1 mol/dm^3). Navedeni volumeni kemikalija dodaju se u odmjernu tikvicu od 1000 ml te se do oznake napuni deioniziranom vodom.

Korištenjem formule 2 pripremljeni su puferi u tikvicama od 100 ml na sljedeći način:

pH= 4,0 → 20 ml A + 50,7 ml B + 29,3 ml dest. vode

pH= 6,2 → 20 ml A + 38,4 ml B + 41,6 ml dest. vode

pH= 6,9 → 20 ml A + 3402 ml B + 45,8 ml dest. vode

pH= 7,6 → 20 ml A + 29,6 ml B + 50,4 ml dest. vode

pH= 8,3 → 20 ml A + 27,6 ml B + 52,4 ml dest. vode

pH= 9,0 → 20 ml A + 24,0 ml B + 56,0 ml dest. vode

pH= 10,4 → 20 ml A + 16,5 ml B + 63,5 ml dest. vode

Točne pH vrijednosti pufera određene su pH metrom ISKRA MA 5740.

pH= 4,013

pH= 6,202

pH= 6,900

pH= 7,601

pH= 8,301

pH= 9,000

pH= 10,400

3.3.2. Priprema pH osjetljive matrice

Od poliesterske folije se izrežu pravokutnici dimenzija 0,8 cm x 2,5 cm. Na jednu foliju ručno se nanese koktel otopina (GJM-534, etanola i polimera) koja je prethodno homogenizirana 5 min u ultrazvučnoj kupelji. Ručno priređena osjetljiva membrana odloži se u Petrijevu zdjelicu te se suši 24 sata. Na sljedeće dvije poliesterske trakice pomoću *spin-coatera* nanese se ista otopina (GJM-534, etanola i polimera) koja je prethodno homogenizirana 5 min u ultrazvučnoj kupelji.

3.3.3. Snimanje spektra

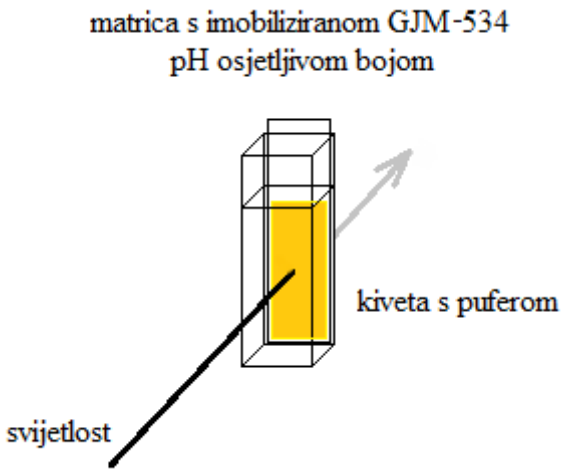
Snimanjem spektra cilj je dobiti maksimume apsorbancije protoniranog i deprotoniranog oblika pH osjetljivog indikatora imobiliziranog na poliestersku foliju. Za snimanje spektra imobilizirane pH osjetljive boje GJM 534 korišten je Varian DMS 80 UV VISIBLE SPECTROPHOTOMETER.

Spektri su snimani u 7 prethodno priređenih pufera (pH= 4,0; 6,2; 6,9; 7,6; 8,3; 9,0; 10,4)

Postupak:

Prije početka mjerenja spektrofotometar je nuliran uz pufer pH= 4,0, pri λ= 800 nm. Korištena slijepa proba je deionizirana voda.

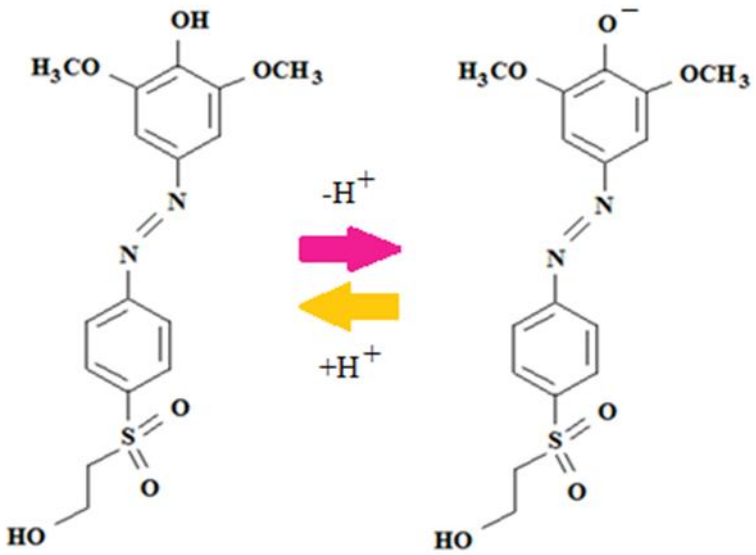
U kivetu se stavi prethodno ručno nanesen imobilizirani sloj na poliesterskom nosaču (0,8 cm x 2,5 cm) debljine 100 µm, slika 10. Po učvršćivanju matrice u kivetu se ulije pufer pH=4,0. Matrica stoji u puferu 5 min prije početka snimanja. Spektar se snima u rasponu valnih duljina od 350 nm do 800 nm. Postupak se redom ponovi na ostalih 6 pufera.



Slika 10. Kiveta s pH osjetljivom matricom uronjenom u pufer.

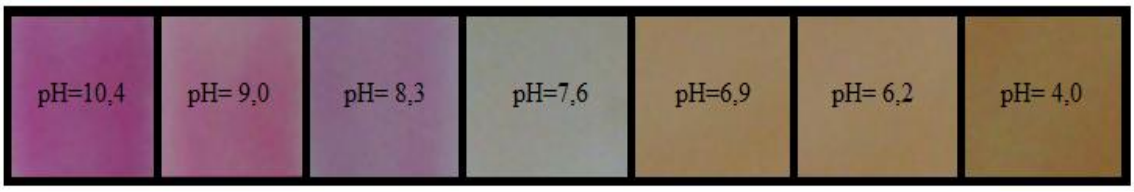
4. REZULTATI I RASPRAVA

Kiselinsko-bazna ravnoteža pH osjetljivog bojila GJM-534 prikazana je na slici 11. Literaturni podaci pokazuju da je maksimum protoniranog oblika indikatorske boje, λ(prot.)= 468 nm, što odgovara žutoj boji, dok je maksimum apsorpcije deprotoniranog oblika pri valnoj duljini, λ(deprot.)= 534 nm, ružičaste boje [15].



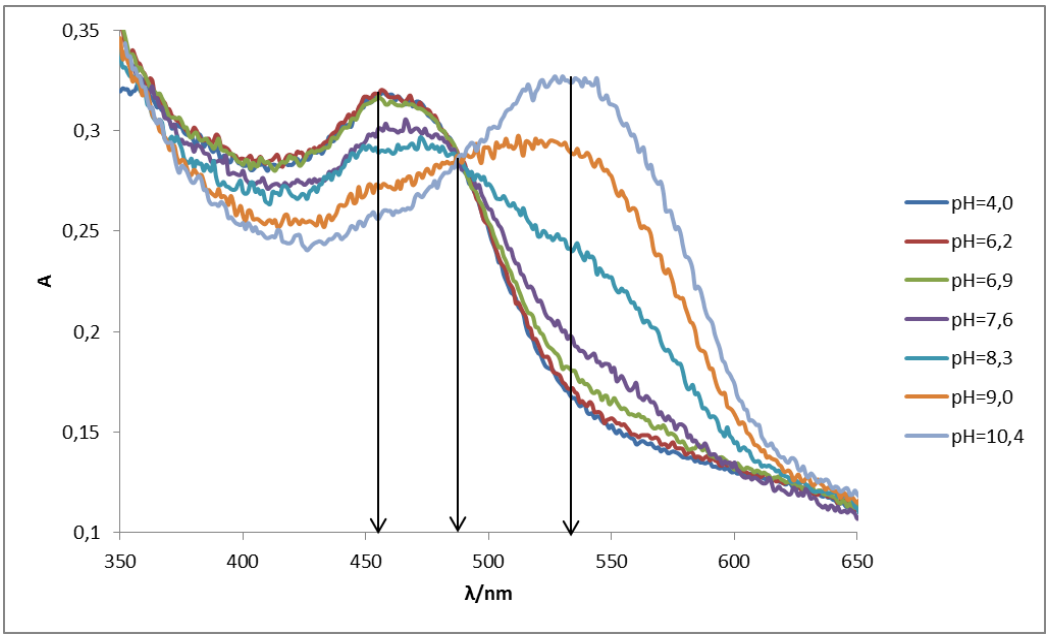
Slika 11. Prikaz protoniranog i deprotoniranog oblika GJM-534 indikatorskog bojila.

Na slici 12 prikazane su optičke promjene ispitivane membrane u puferima različite pH vrijednosti. U prikazanoj 'paleti' jasno je vidljiv prijelaz boje iz žute u ružičastu povišenjem pH vrijednosti.



Slika 12. Prikaz optičke promjene membrane u puferima različitih pH vrijednosti.

Na temelju snimljenih spektara osjetljive membrane u različitim puferima eksperimentalno su dobivene valne duljine maksimuma apsorbancije protoniranog i deprotoniranog oblika GJM-534 indikatorske boje, slika 13.



Slika 13. Spektri GJM 534 pH osjetljive boje u puferima različitih pH vrijednosti.

Mjerni šum vidljiv na spektrima rezultat je nepropusnosti matrice za svjetlost, a tome idu u prilog i vrlo visoke vrijednosti apsorbancije. Prema tome, možemo zaključiti kako mjerenje apsorbancije nije najpovoljniji način karakterizacije osjetilne membrane. Pogodnije bi bilo mjeriti refleksiju svjetlosti na osjetilnoj membrani pri određivanju kalibracijske krivulje nosivog pH senzora. Takav način mjerenja bi bio pogodan za nosivi bežični senzor jer bi optoelektroničke komponente (LED dioda i fotodioda) mogle biti raspoređene planarno, te bi se takav sustav lako mogao integrirati s osjetljivim bojilom imobiliziranim na tekstil ili gazu.

Iz spektara su očitane tri karakteristične valne duljine: valna duljina maksimuma apsorbancije protoniranog oblika, valna duljina maksimuma apsorbancije deprotoniranog oblika i valna duljina pri kojoj apsorbancija ne ovisi o pH vrijednosti pufera (izozbestička točka).

Eksperimentalno dobivene vrijednosti valnih duljina:

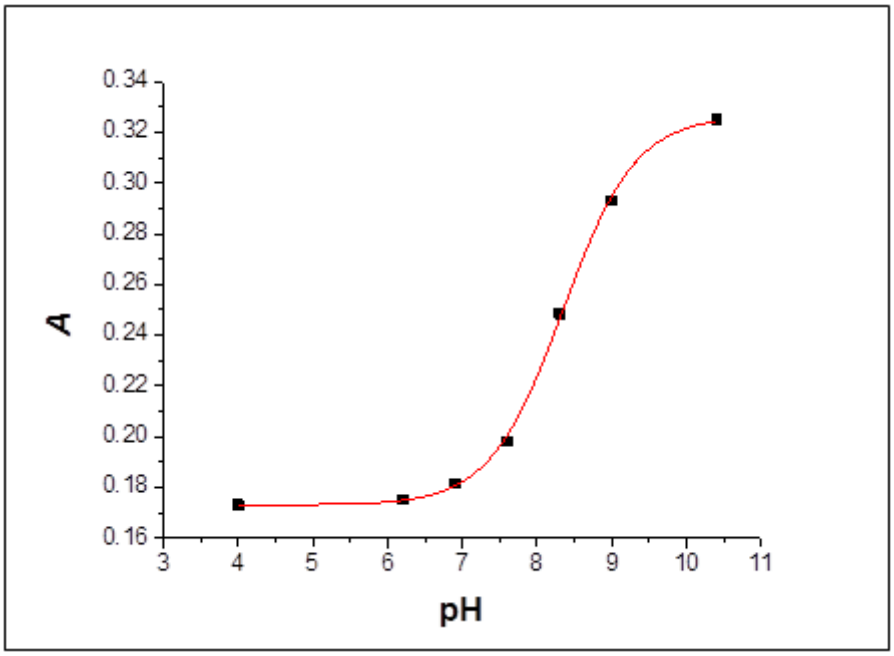
λ(protonirani oblik)= 455 nm

λ(deprotonirani oblik)= 534 nm

λ(isosbestička točka)= 487 nm

Unatoč mjernom šumu eksperimentalno dobivene valne duljine maksimuma apsorbancije približno odgovaraju valnim duljinama iz literature [15].

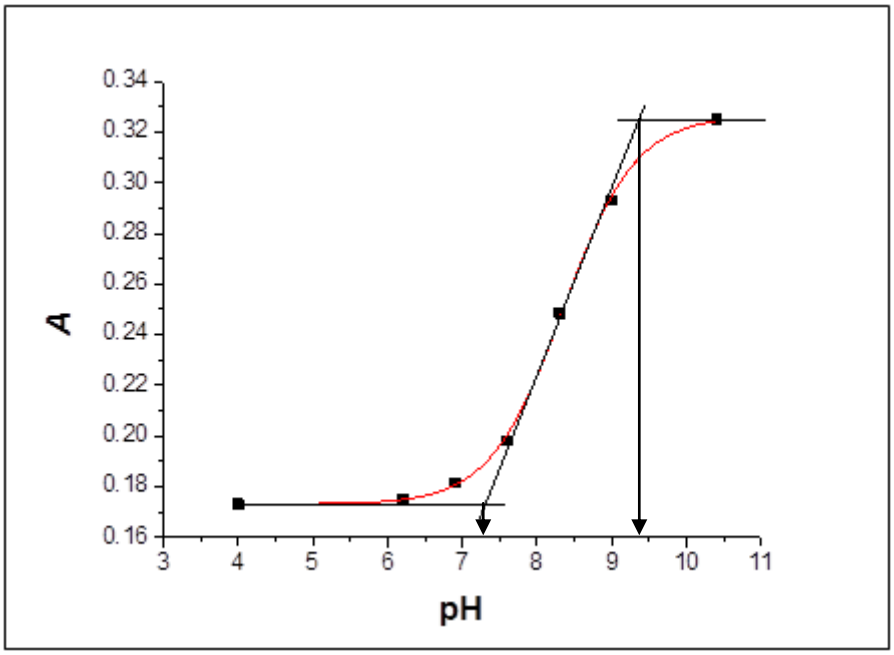
Grafičkim prikazom maksimuma apsorbancije pri 534 nm u ovisnosti o pH vrijednosti pufera dobivena je karakteristična krivulja ″ S ″ oblika, koja može služiti kao kalibracijska krivulja. Na slici 14. je jasno vidljiv interval promjene boje pH indikatora.



Slika 14. Prikaz ovisnosti apsorbancije pri 535 nm o pH pufera

.

Apsorbancija pri λ= 534 nm u puferima pH= 4,0-7,3 je minimalne vrijednosti što je karakteristično za protonirani oblik ispitivane indikatorske boje, slika 15. Povećanjem udjela deprotoniranog oblika indikatorske boje (viša vrijednost pH) dolazi do promjene boje, ta promjena na grafu A(535nm)= f(pH) očitava se kao nagli skok u vrijednosti apsorbancije. Upravo taj nagli skok prikazuje područje djelovanja ispitivane pH osjetljive matrice, a ono iznosi pH= 7,3-9,4.



Slika 15. Određivanje dinamičkog područja djelovanja ispitivane matrice.

.

Aproksimacijska funkcija koja opisuje eksperimentalno dobivene rezultate ovisnosti pH(535nm)= f(pH) glasi:

$$A(535nm)= \frac{0,172}{1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}}$$

Prema izrazu (1) u točci srednje promjene boje vrijedi pH= pK_a.

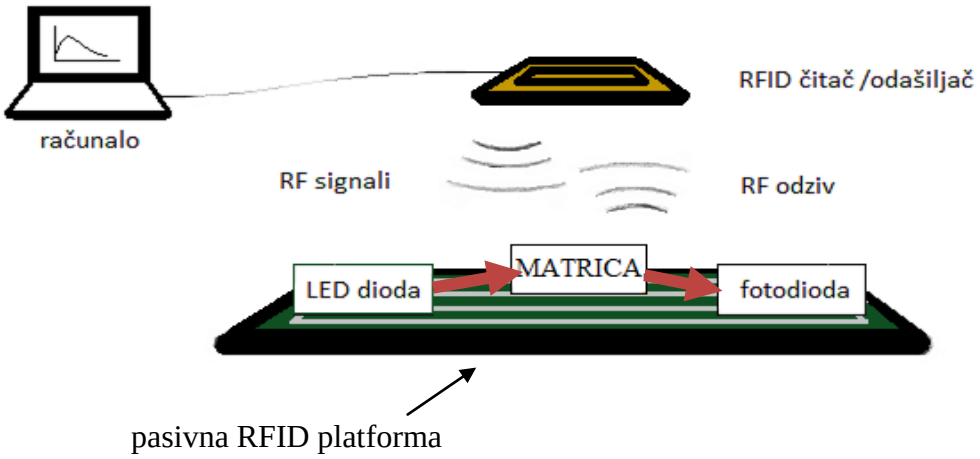
Promatrajući funkciju A(535)= f(pH) vidimo da je srednja promjena boje jednaka točki infleksije promatrane funkcije. Točka infleksije odgovara vrijednosti $d^2[A(pH)]/dpH^2=0$.

Stoga, druga derivacija funkcije A(535)= f(pH) izjednačena s 0 je $1=e^{[(pH-8,314)/0,488]}$. Linearizacijom funkcije dobivena je jednostavna jednadžba:

0 = pH-8,345→ pH=8,345, pH=pKa pa je **pK_a= 8,345.**

Detaljan postupak određivanja p*K*a vrijednosti GJM-534 indikatorske boje je dan u prilogu 1.

Dinamičko područje osjetilne matrice pH= 7,3-9,4 moguće je iskoristiti upravo za praćenje tijeka zacjeljivanja rana ili analizu znoja. Zamisao je pH osjetljivo bojilo GJM-534 imobilizirati na tekstil, primjerice na dio majice. Kako je u prethodnim razmatranjima objašnjeno GJM-534 izvrsna je za imobilizaciju na takvu vrstu materijala jer se ne ispire, povećava se stabilnost te pri imobilizaciji na majice moguća su strojna pranja na povišenim temperaturama. Prilikom mjerenje pH znoja ili rane, shodno vrijednosti oksonijevog iona u krvi (rane) ili znoja, promijeniti će se boja imobiliziranog bojila. Intenzitet boje ovisiti će upravo o pH vrijednosti rane ili znoja. Na taj način moguće je pojednostaviti praćenje zacjeljivanja rana ili poboljšati djelovanje sportaša, ali i pospješiti svakodnevnu rekreaciju. Ukoliko je potrebno odrediti točnu vrijednost pH uzorka to je moguće učiniti pomoću optoelektroničkog bežičnog sustava u koji bi se tom prilikom ugradila osjetilna membrana te LED dioda koja emitira valnu duljinu karakterističnu za uzorak. Nosivi bežični optički kemijski senzor temeljen na radiofrekvencijskom prijenosu podataka prikazan je na slika 16. Led dioda će u blizini RFID čitača emitirati svjetlost određene valne duljine u ovom slučaju ta valna duljina odgovara maksimumu apsorbancije deprotoniranog oblika osjetilnog bojila, λ=534 nm. Svjetlost emitirana od strane LED diode djelomično će se apsorbirati, a onaj dio svjetlosti koji se reflektira obasjati će fotodiodu na čijem će se kraju pojaviti razlika potencijala, elektromotorna sila (napon) proporcionalan intenzitetu reflektirane zrake. Bežična platforma potom čitaču šalje analitički signal, koji je u korelaciji s pH uzorka. Radi poboljšanja senzora moguće je ugraditi i drugu LED diodu koja će emitirati valnu duljinu izozbestičke točke, λ=487 nm. Na taj način sprječava se opasnost od netočnog mjerenja koju može izazvati ispiranje bojila.



Slika 16. Shema bežičnog optičkog senzora baziranog na radiofrekvencijskom prijenosu podataka s pasivnim RFID senzorom.

Odabir prikladnog bežičnog standarda ovisit će o primjeni senzora. Tako bi za praćenje pH rane bilo uputno integrirati ovakav senzor s RFID platformom zbog moguće pasivne komunikacije koja uvelike snižava potrošnju energije i omogućava primjenu tijekom više dana. Za sportske primjene bolje je koristiti Bluetooth standard jer se praćenje izvodi u kraćem vremenskom roku (maksimalno nekoliko sati) te je podatke o pH vrijednosti moguće zaprimiti na pametni telefon.

U ovakvu vrstu bežične platforme moguće je ugraditi osjetilnu membranu po želji, ovisno o analitu koji se prati. Korištenjem matrice s imobiliziranim pH osjetljivim bojilom, kao u prethodnom primjeru, moguće je pratiti pH vrijednost željenog uzorka. Također, korištenjem ion-selektivnih optoda moguće je pratiti i koncentraciju olova [45], kalija i mnogih drugih iona.

5. ZAKLJUČAK

Snimanjem spektra GJM-534 pH osjetljivog bojila imobiliziranog na poliesterski nosač određene su tri karakteristične valne duljine koje se mogu koristiti kao valne duljine svjetlosti koju emitiraju LED diode bežičnog nosivog kemijskog senzora. Kako je u raspravi navedeno, mjerni šum je rezultat svjetlosne nepropusnosti matrice. Stoga je za karakterizaciju i izvedbu nosivog bežičnog optičkog senzora bolje provesti mjerenje refleksije svjetlosti.

Kao što je prethodno rečeno nosivi bežični optički kemijski senzori imaju široku upotrebu u medicini, zaštiti okoliša i svakodnevnom životu. Klasični analitički instrumenti poput kromatografa i spektofotometra su veliki i njihova upotreba je ograničena na određene uzorke. Nosivi bežični optički kemijski senzori su minijaturizirani i pokrivaju područje djelovanja koje nije u domeni ostalih kemijskih senzora. Prednosti nosivih optičkih kemijskih senzora su brojne, od toga da ne zahtjevaju referentni signal, jednostavno ih je minijaturizirati, omogućuju daljinska određivanja, mjerenje se može obaviti u kratkom roku, omogućena je višestruka analiza s jednim kontrolnim uređajem, jednostavna je integracija s tekstilom te je vrlo bitno napomenuti kako optički signal ne podliježe električnim smetnjama. Uz brojne prednosti postoje i mane koje karakteriziraju navedenu vrstu senzora, a to su: vanjski izvor svjetla, optički filmovi imaju ograničenu dugoročnu stabilnost, prijenos tvari je nužan prije uspostavljanja ravnoteže, ograničen dinamički raspon u odnosu na elektrode, čvrsta podloga (staklo, folija) tankih filmova može sadržavati nečistoće koje se očituju u pojavi šuma, mnogi indikatori pokazuju smanjenje osjetljivosti ili promjenu p*K*a nakon imobiliziranja.

Minijaturizirani optički senzori mogu olakšati i pospješiti život ljudi oboljelih od npr. kroničnih rana, poboljšati učinak sportaša i pojednostaviti praćenje u svrhu zaštite okoliša. Većina navedenih senzora ima prilično kratko vrijeme odziva te visoku pouzdanost. U odnosu na skupe kromatografe i spektrofotometre nosivi bežični kemijski senzori su jeftini i jednostavne su izvedbe. Pregled literature je pokazao kako je u mnogo slučajeva potrebno provesti dodatnu minijaturizaciju kako bi senzor zbilja bio nosiv.

6. LITERATURA

1. Llorente-Alonso, A., Peña-Poza, J., de Arcas, G., García-Heras, M., López, J.M., Villegas, M.A., Interface electronic system for measuring air acidity with optical sensors, Sensors and Actuators A, **194** (2013) 67-74.

2. Curto, V.F., Fay, C., Coyle, S., Byrne, R., O'Toole, C., Barry, C., Hughes, S., Moyna, N., Diamond, D., Benito-Lopez, F., Real-time sweat pH monitoring based on a wearable chemical barcode micro-fluidic platform incorporating ionic liquids, Sensors and Actuators B, **171–172** (2012) 1327-1334.

3. Hulanicki, A., Geab, S., Ingman, F., Chemical sensors definition and classification, Pure&App/. Chern., **63** (1991) 1247-1250.

4. Piljac, I., Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode, Mediaprint, Zagreb, 2010., str.593-625.

5. Wencel, D., Abel, T., McDonagh, C., Optical Chemical pH Sensors, Analytical Chemistry, **86** (2014) 15–29

6. Seller, K., Simon, W., Theoretical aspects of bulk optode membranes, Analyitica Chemica Acta, **266** (1992) 73-87.

7. Matzeu, G., Larisa Floreaa, L., Diamond, D., Advances in wearable chemical sensor design for monitoring biological fluids, Insight Centre for Data Analytics, Dublin City University

8. Hulth, S., Aller, R. C., Engstrom, P., Selander, E. Limnol., Oceanogr., **47** (2002) 212−220.

9. Liu, Z. H.; Liu, J. F.; Chen, T. L., Phenol red immobilized PVA membrane for for an optical pH sensor with two determination ranges and long-term stabilitiy, Sensors and Actuators B, **107** (2005) 311−316.

10. Filetin, T., Suvremeni materijali i postupci, Hrvatsko društvo za materijale i tribologiju, Zagreb, 2005., str. 167.-187.

11. Shan, A. Y., Mohd Ghazi, T.I., Rashid, S. A., Immobilisation of titanium dioxide onto supporting materials in heterogeneous photocatalysis: A review, Applied Catalysis A, **389** (2010) 1-8.

12. Rivera, L., Puyol, M., Villuendas, F., Alonso, J., Miniaturized setup for fluorescence sensing with optodes: Characterization of a new hemicyanine ion-selective-based membrane, Sensors and Actuators B, **134** (2008) 863-868.

13. Wencel, D., MacCraith, B. D., McDonagh, C., High performance optical ratiometric sol-gel-based pH sensor, Sensors and Actuators B, **139** (2009) 208−213.

14. BioBoard/Documentation/Oxygen (preuzeto 05. 03. 2015.)

15. Mohr, G. J., Müller, H., Bussemer, B., Stark, A., Carofiglio, T., Trupp, S., Heuermann, R., Henkel, T., Escudero, D., González, L., Design of acidochromic dyes for facile preparation of pH sensor layers, Anal Bioanal Chem., **392** (2008) 7-8.

16. Trupp, S., Alberti, S., Carofiglio, T., Lubian, E., Lehmann, H., Heuermann, R., Yacoub-George, E., Bock, K., Mohr, G. J.: Development of pH-sensitive indicator dyes for the preparation of micro-patterned optical sensor layers, Sensors and Actuators B, **150** (2010) 206-210.

17. Verten, T., Schuck, H., Richter, M., Klink, G., Bock, K., Khan Malek, C., Polster, S., Bolt, P., Microfluidics on foil: state of the art and new developments, Proc. IMechE, 222 (2008) 107-116.

18. Ge, Y.,, Zhu, J., Zhao, W., Qin, Y., Ion-selective optodes based on near infrared fluorescent chromoionophores for pH and metal ion measurements, Sensors and Actuators B, **166–167** (2012) 480-484

19. Sorouraddin, M-H., Saadati, M., Aghaei, A., An optode membrane for determination of gold using a simple light-emitting diode-based device, Monatsh. Chem., **142** (2011) 439-445.

20. Whitehouse, A. G. R. : The dissolved constituents of human sweat, Proc. R. Soc. Lond. B, **117** (1935) 139–154.

21. Murkovic Steinberg, I., Steinberg, M. D., Radio-frequency tag with optoelectronic interface for distributed wireless chemical and biological sensor applications Sensors and Actuators B, **138** (2009) 120–125.

22. Movassaghi, S., Abolhasan, M., Lipman, J., Smith, D., Jamalipour, A., Wireless Body Area Networks: A Survey, Ieee Communications Surveys and Tutorials, **16** (2014) 1658-1686.

23. Pantelopoulos, A., Bourbakis, N.G., ASurvey on Wearable Sensor-Based Systems for Health Monitoring and Prognosis, Ieee Transactions on Systems Man and CyberneticsPart C-Applications and Reviews, **40** (2011) 171-193.

24. Chen, M., Gonzalez, S., Vasilakos, A., Cao, H., Leung, V.C.M., Body Area Networks: A Survey, Mobile Networks & Applications, **16** (2011) 171-193.

25. Pesonen, N., Jaakkola, K., Lamy, J., Marjonen, J., Smart RFID Tags, in: C. Turcu (Ed.) Development and Implementation of RFID Technology, InTech, 2009, str. 159-178.

26. Strommer, E., Hillukkala, M., Ylisaukko-oja, A., Ultra-low Power Sensors with Near Field Communication for Mobile Applications, in: Orozco-Barbosa, L., Olivares, T., Casado, R., Bermudez (Eds.) Wireless Sensor and Actor Networks, vol. 248, Springer US, 2007, str. 131-142.

27. L. Schrer, S.Pasche, C. Bosshard: Textile-based optical sensors, EMPA, Dubendorf, Smart Textile, 30. 09. 2011.

28. http://www.popularnaderma.com (pristup 10. ožujka 2015.)

29. Proksch, E., J. M. Brandner, J. M., Jensen, JM, The skin: an indispensable barrier, Exp Dermatol., **17** (2008) 1063-1072.

30. Webster, L., Lochlin, H., Cystic fibrosis screening by sweat analysis: a critical review of techniques, Med. J. Aust., **1** (1977) 923–927.

31. Granger, D., Marsolais, M., Burry, J., Laprade, L., Na+/H+ exchangers in the human eccrine sweat duct, American Journal Physiology- Cell Physiology, 285(5) (2003) C1047–C1058.

32. Kidwell, D. A., Holland, J.C., Athanaselis, S., Testing for drugs of abuse in saliva and sweat, J. Chromatogr. B, **713** (1998) 111–135.

33. Cristescu, S., Marchenko. D., Mandon, J., Hebelstrup, K., Griffith, G., Mur, L., et al., Spectroscopic monitoring of NO traces in plants and human breath: Applications and perspectives, Applied Physics B, **110** (2013) 203-211.

34. Horvath, E., P.R. Ribic, P. R., Hashemi, F., Forro, L., Magrez, A., Dye metachromasy on titanate nanowires: Sensing humidity with reversible molecular dimerization, Journal of Materials Chemistry, **22** (2012) 8778-84.

35. Higgins, C., Wencel. D, Burke, C. S., MacCraith B. D., McDonagh C., Novel hybrid optical sensor materials for in-breath O2 analysis, Analyst, **133** (2008) 241-247.

36. Xiong, Y., Ye, Z., Xu, J., Zhu, Y., Chen, C., Guan, Y., An integrated micro-volume fiber-optic sensor for oxygen determination in exhaled breath based on iridium (III) complexes immobilized in fluorinated xerogels, Analyst, **138** (2013) 1819-1827.

37. Morris, D., Coylea, S., Wua, Y., Laua, K.T., Wallace, G., Diamonda, D., Bio-sensing textile based patch with integrated optical detection system for sweat monitoring, Sensors and Actuators B, **139** (2009) 231–236 .

38. Coyle, S., Lau, K.-T., Moyna, N., O'Gorman, D., Diamond, D., Di Francesco, F., et al., BIOTEX- Biosensing textiles for personalised healthcare management, Information Technology in Biomedicine, IEEE Transactions on, **14** (2010) 364-370.

39. Curto, V. F., Coyle, S., Byrne, R., Angelov, N., Diamond, D., Benito-Lopez, F., Concept and development of an autonomous wearable micro-fluidic platform for real time pH sweat analysis, Sensors and Actuators B, **171-171** (2012) 1327–1334.

40. Curto, V. F., Coyle, S., Byrne, R., Angelov, N., Diamond, D., Benito-Lopez, F., Concept and development of an autonomous wearable micro-fluidic platform for real time pH sweat analysis, Sensors and Actuators B, **175** (2012) 263-270.

41. Saikia, G., Iyer, P. K., A remarkable superquenching and superdequenching sensor for the selective and noninvasive detection of inorganic phosphates in saliva, Macromolecules, **44** (2011) 3753-3758.

42. Baca, J. T., Finegold, D. N., Asher, S. A., Tear glucose analysis for the noninvasive detection and monitoring of diabetes mellitus, The ocular surface, **5** (2007) 280-293.

43. Badugu, R., Lakowicz, J. R., Geddes, C. D., Noninvasive continuous monitoring of physiological glucose using a monosaccharide-sensing contact lens, Analytical chemistry, **76** (2004) 610-618.

44. Mortellaro, M., DeHennis, A., Performance characterization of an abiotic and fluorescent-based continuous glucose monitoring system in patients with type 1 diabetes, Biosensors and Bioelectronics, **61** (2014) 227–231.

45. Steinberg, M. D., Kassal, P., Tkalčec, B., Murković Steinberg, I., Miniaturised wireless smart tag for optical chemical analysis applications, Talanta, **118** (2014) 375-381.

7. PRILOG

Postupak određivanja pKa vrijednosti GJM-534 pH osjetljivog bojila.

$$\left[\frac{0,172}{1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}}\right]' = \frac{-0,352\left(e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)}{\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^2}$$

$$\left[\frac{-0,352\left(e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)}{\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^2}\right]' = \frac{-0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^2}{\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^4} +$$

$$+ \frac{0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\, 2\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right) e^{[(pH-8,345)/0,488]}}{\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^4} = 0$$

Nije dozvoljeno dijeliti s 0, stoga se razlomak nazivnika izjednačuje s 0

$$-0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^2 + 0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\, 2\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right) e^{[(pH-8,345)/0,488]} = 0$$

$$-0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right)^2 = -\,0,721\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}\, 2\left(1+e^{[(pH-8,345)/0,488]}\right) e^{[(pH-8,345)/0,488]}$$

$$1+e^{[(pH-8,345)/0,488]} = 2\, e^{[(pH-8,345)/0,488]}$$

$$1 = e^{[(pH-8,345)/0,488]} \;/\; \ln$$

$$\ln 1 = \ln e^{[(pH-8,345)/0,488]}$$

$$0 = (pH-8,345) / 0,488$$

$$pH = 8,345$$

8. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 01. 02. 1994. godine u Požegi. Pohađao sam Osnovnu školu „Mladost“ Jakšić u Jakšiću te sam 2008. godine upisao Prirodoslovno-matematičku gimnaziju u Požegi. 2012. godine sam upisao Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Kemijsko inženjerstvo.