Silika nanočestice dopirane organskim bojilima

Galjer, Matija

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:149:213576

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
SVEUČILIŠNI PREDIPLOMSKI STUDIJ

Matija Galjer

SILIKA NANOČESTICE DOPIRANE ORGANSKIM BOJILIMA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Ivana Steinberg

Članovi povjerenstva: Doc. dr. sc. Ivana Steinberg
Dr. sc. Petar Kassal, poslijedoktorand
Dr. sc. Anamarija Rogina, poslijedoktorand

Zagreb, srpanj 2015.

Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Ivani Steinberg za pomoć i savjetima pri izradi rada i za vodstvo rada. Zahvaljujem dr. sc. Anamariji Rogini sa Zavoda za fizikalnu kemiju za omogućen rad i analizu na pretražnom elektronskom mikroskopu. Također, zahvaljujem Emi Horak, asistentici na Zavodu za opću i anorgansku kemiju, za puno korisnih savjeta, strpljenja, dobre volje i truda prilikom odrade eksperimentalnog dijela te pisanja rada. Hvala i svim djelatnicima na Zavodu za opću i anorgansku kemiju za ugodnu suradnju te obitelji, prijateljima i kolegama na podršci kroz godine obrazovanja.

SAŽETAK

Nanotehnologija je znanstveno područje od rastuće važnosti i interesa. Cilj ovog rada je upoznavanje i predstavljanje njegovog specifičnog dijela - silika nanočestica, čija su svojstva još uvijek nepotpuno istražena, a pronalaze potencijalnu primjenu u mnogim znanstvenim, medicinskim i tehnološkim područjima. U skladu sa znanstvenim istraživanjima koja se provode na Zavodu za opću i anorgansku kemiju, provedena je sinteza i karakterizacija silika nanočestica, silika nanočestica dopiranih organskim bojilima te istraživanje njihovih svojstava kao potencijalnih pH senzora.

Sinteza silika nanočestica provedena je modificiranom Stöberovom metodom (sol – gel pristupom). Organska bojila korištena za pripravu dopiranih nanočestica su rodamin B i 2-piperidinilbenzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonitril (spoj **1**), derivat benzimidazola pripravljen na Zavodu za organsku kemiju FKIT-a. Optimizacija priprave silika nanočestica dopiranih organskim bojilom provedena je na primjeru nanočestica dopiranih rodaminom B. Prema postupcima dostupnim u literaturi, nanočestice dopirane rodaminom B pripravljene su na tri različita načina; jednostavnim dodavanjem bojila u sol – gel proces, dodavanjem bojila uz prekursor (3-aminopropil)trietoksilan (APTES) te dodavanjem bojila, prethodno funkcionaliziranog silanolnim grupama, u sol – gel proces. Utvrđena je veličina i raspodjela pripravljenih nanočestica pretražnom elektronskom mikroskopijom, te apsorbancija i fluorescencija u UV-Vis dijelu spektra. Pripravljene čestice su veličine nanodimenzija te su monodisperzne. Spektralna analiza nanočestica s rodaminom nije bila uspješna zbog bliskih vrijednosti emisijske i apsorpcijske valne duljine zračenja, no utvrđeno je da bojilo ostaje vezano na nanočesticu, zbog čega silika može bili dobar nosač za bojilo rodamin.

Nanočestice dopirane organskim bojilom **1** pripravljene su prema prethodno optimiziranom postupku. Veličina i raspodjela pripravljenih nanočestica utvrđena je pretražnom elektronskom mikroskopijom, a utvrđene su i apsorbancija i fluorescencija u UV-Vis dijelu spektra. Također je kvalitativno ispitan utjecaj pH na spektralna svojstva pripravljenih nanočestica.

Ključne riječi: - silika nanočestice
- organska bojila
- optički senzori

SUMMARY

Nanotechnology is a scientific field of growing importance and interest. The aim of this work was introduction of its specific segment - silica nanoparticles, of which properties yet have not been completely examined, but are applicable in many scienfitic, medical and technological areas. synthesis and characterization of silica nanoparticles, dye-doped silica nanoparticles and examining their properties as potential pH sensors have been done.

The synthesis of silica nanoparticles included the modified Stöber method (the sol-gel approach). Rhodamine B and 2-piperidinylbenzimidazo[1,2-*a*]quinoline-6-carbonitrile (compound **1**), the derivative of benzimidazole prepared at the Institute of organic chemistry at Faculty of Chemical Engineering and Technology, have been used as organic dyes for the synthesis. Preparation of dye-doped silica nanoparticles has been optimized in accordance with nanoparticles doped with Rhodamine B. As reported in previous works, nanoparticles containing Rhodamine B were being prepared in three separate ways: by simply adding the dye to the sol – gel process, by adding the dye including a precursor (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES), and by adding the dye which had been previously functionalized with silanol groups, to the sol – gel process. The size and distribution of the prepared nanoparticles has been determined by scanning electron microscope, and by absorption and fluorescence in the UV-visible part of the spectrum. It has been found that the particles were in nanodimensions, and that they are monodispersed. Spectral analysis of the nanoparticles containing Rhodamine was unsuccessful due to adjasent values of emitting and absorbing wavelength. Still, the dye remained intact with the surface of the silica nanoparticles, and in that matter, silica can be considered as a good carrier for Rhodamine dye.

Nanoparticles doped with compound **1** were prepared according to the optimized procedure. The size and distribution of prepared nanoparticles has been determined by scanning electron microscope, and by absorption and fluorescence in UV-visible part of the spectrum. Likewise, the changes in optical properties of prepared nanoparticles caused by changing the pH value have been examined.

Keywords:
- silica nanoparticles
- organic dyes
- optical sensors

SADRŽAJ:

1. Uvod 1

2. Opći dio 3

2.1. Nanočestice i njihova primjena 4

2.1.1. Nanočestice plemenitih metala 4

2.1.2. Magnetske nanočestice 5

2.1.3. Kvantne točke 6

2.1.4. Silika nanočestice 6

2.2. Sinteza silika nanočestica 7

2.2.1. Stöberov postupak 7

2.2.2. Sinteza metodom mikroemulzije 8

2.3. Karakterizacija silika nanočestica 10

2.3.1. Pretražna elektronska mikroskopija 10

2.3.2. Spektrofotometrijske metode 11

2.3.2.1. UV-Vis apsorpcijska spektrofotometrija 13

2.3.2.2. UV-Vis fluorescencijska spektrofotometrija 13

2.4. Silika nanočestice dopirane organskim bojilima 14

2.4.1. Organska bojila 14

2.4.2. Sinteza dopiranih čestica 15

2.5. Optički senzori i primjena 17

2.5.1 Optički nanosenzori temeljeni na silika nanočesticama 18

3. Eksperimentalni dio 22

3.1. Materijali i instrumenti 23

3.1.1. Instrumenti 23

3.1.2. Materijali 24

3.2. Priprava silika nanočestica 25

3.2.1. Priprava čistih silika nanočestica 25

3.2.2. Priprava silika nanočestica dopiranih rodaminom B 25
3.2.2.1. Stöberova sinteza..... 25
3.2.2.2. Modificirana Stöberova sinteza (uz APTES) 26
3.2.2.3. Modificirana Stöberova sinteza (uz silanolni derivat rodamina) 26
3.2.3. Priprava silika nanočestica dopiranih spojem **1** 27
3.2.3.1. Priprava silika nanočestica dopiranih spojem **1** 27
3.3. Priprava otopina za spektrofotometrijsku analizu 28
3.3.1. Priprava *stock* otopine silika nanočestica 28
3.3.2. Priprava *stock* otopine bojila rodamina..... 28
3.3.3. Priprava *stock* otopine dopiranih nanočestica 29
3.2.4. Izvedba spektrofotometrijskih mjerenja 29
4. Rezultati 30
4.1. Silika nanočestice 31
4.2. Silika nanočestice dopirane rodaminom B..... 31
4.2.1. Vizualna zapažanja..... 31
4.2.2. Spektrofotometrijska karakterizacija 33
4.3. Silika nanočestice dopirane spojem 1..... 36
4.3.1. Vizualna zapažanja..... 37
4.3.2. Spektrofotometrijska karakterizacija 39
4.4. Karakterizacija pretražnim elektronskim mikroskopom 42

5. Rasprava 44
5.1. Vizualna zapažanja 45
5.2. Spektralna karakterizacija u otopini 47
5.3. Karakterizacija pretražnim elektoronskim mikroskopom 49

6. Zaključak 51

7. Literatura 53

1. Uvod

Nanoznanost je relativno mlada grana znanosti, otpočela sredinom 20. stoljeća. Temelji se na istraživanju čestica na nano - razini. Nanočestice su ljudskom oku nevidljive te se smatraju nakupinama, odnosno klasterima atoma do reda veličine od 100 nm [1]. Zbog svojih malih dimenzija te specifičnih svojstava, nanočestice neće reagirati kao čestice istog materijala sintetizirane na makro razini, zbog čega se primjena nanočestica može proširiti na mnoga područja.

Svojim djelovanjem, nanokemija je omogućila tumačenje raznih pojava vezanih uz područje materijala i strukture tvari, što je izuzetni doprinos medicini i bioanalizi [2,3]. Značajnije doprinose nanotehnologija je imala i u elektronici i tehnologiji informacija, proizvodnji energije, ekologiji, proizvodnji prehrambenih namirnica te vojnoj industriji i instrumentaciji [4]. Bitno je istaknuti da je nanotehnologija još uvijek u fazi razvoja, stoga neke primjene još uvijek nisu kompletno razrađene.

Silika nanočestice su kondenzati silikatnih skupina koji sačinjavaju manje jedinice reda veličine do 100 nm. Same po sebi ne pokazuju značajnija intrinzična svojstva i nisu izrazito reaktivne. U svojoj strukturi posjeduju pore zbog kojih imaju veliku kontaktnu površinu, pa im se mogu pripisati razne adsorpcijske namjene. Moguće ih je dopirati drugim tvarima, zbog čega silika nanočestice predstavljaju idealne nosače za ostale vrste nanočestica.

U ovome radu pripravljene su i karakterizirane silika nanočestice te silika nanočestice dopirane organskim bojilima. Silika nanočestice su bile kemijski modificirane organskim bojilima rodaminom B i spojem **1**.

2. Opći dio

2.1. Nanočestice i njihova primjena

Nanočestice su tvari čija veličina u barem jednoj od triju prostornih dimenzija ne prelazi red veličine od 100 nm. Njihova glavna prednost u odnosu na materijale na makro-skali je posjedovanje drukčijih svojstava, te mogućnost drugačijih interakcija s drugim molekulama i agregatima, a i između istih čestica. Tvari na nanoskali imaju povećanu funkcionalnost zbog smanjenja veličine potrebne tvari za izvršenje nekog cilja. Za nanotvari je isto tako moguće fino kontrolirati veličinu čestica. One posjeduju veću dodirnu površinu u odnosu na makrotvari, zbog čega se mogu primijenjivati u inženjerskoj katalizi kao učinkoviti katalizatori ili inhibitori. Također, zbog relativno male mase do izražaja dolaze njihova elektromagnetska svojstva, u odnosu na gravitacijska. Unutar njihove jednolike strukture pojavljuje se manja vjerojatnost za nalazak koncentracije naprezanja na vanjsko opterećenje, zbog čega krute nanočestice imaju bolja mehanička svojstva u odnosu na makromaterijale (veća rastezljivost i žilavost, bolja plastičnost). Od toplinskih svojstava najbitnije je istaknuti izrazito povećan toplinski kapacitet u odnosu na makrotvari. Gledajući elektronsku strukturu, na makrorazini elektroni zauzimaju kontinuirane elektronske vrpce, što će određivati njihova elektromagnetska svojstva. Na nanorazini vrpci gotovo da i nema – energije izmjene elektrona između razina su puno diskretnije i njihova analiza je lakša i točnija. Nanočestice će pokazivati i bolja optička svojstva, što je pogotovo bitno za vidljivi spektar, jer veličina jednog kristala može biti istih dimenzija kao i valna duljina vidljivog dijela elektromagnetskog spektra (400-750 nm).

Nanočestice su relativno nove tvari, otkrivene krajem prošlog stoljeća, te predstavljaju novu granu znanosti koja puno obećava. Nanočestice predstavljaju velik doprinos znanosti zbog širokog područja primjene, od medicine, biologije i prehrambene industrije [2 - 4].

2.1.1. Nanočestice plemenitih metala

Ovo su agregati plemenitih metala čija barem jedna od tri prostorne dimenzije ne prelazi red veličine od 100 nm. Kod njih dolazi do pojave rezonancije površinskih plazmon-polaritona. To je efekt pri kojemu elektroni površinskih atoma (ili klastera) koloidne otopine

nekog metala (npr. zlata) imaju manju širinu zabranjene zone između vrpci, za razliku od elektrona atoma koji su unutar otopine.

Rezultat tog efekta je tzv. *red shifting*, odnosno crveni pomak, što je pomicanje emisijskog spektra atoma prema većin valnim duljinama [5]. Taj efekt moguće je iskoristiti za različite modifikacije foto - svojstava tvari, pogotovo korisno pri detekciji npr. peptida ili nekih antitijela.

2.1.2. Magnetske nanočestice

Magnetske nanočestice su čestice izrazitih magnetnih svojstava čija veličina u barem jednoj dimenziji ne prelazi vrijednost od reda veličine 100 nm. Kod njih do izražaja najviše dolazi njihovo svojstvo magnetizacije, odnosno, one nose vektorski magnetski moment.

Pretpostavimo da imamo željezo, koje je sastojak magnetita, često korištene tvari za magnetne nanočestice. Kada željezo izložimo eksternom magnetskom polju, spinovi njegovih elektrona raspoređenih u orbitalama se slažu u smjeru narinutog magnetskog polja. Ovakvu pojavu, specifičnu za željezne elektrone koji su sami po sebi usmjereni u prostoru, nazivamo feromagnetičnost. To je sposobnost da tvar zadrži magnetski moment jednom kada je magnetizirana, odnosno izložena vanjskom magnetskom polju [6].

Ukoliko je čestica dovoljno mala, unutar nje nema razdvajanja momenata, kao kod većih nakupina istovrsnih atoma. Ova činjenica dovodi do pojma superparamagnetičnosti. To je pojava koja opisuje zakretanje momenta malog klastera u smjeru narinutog magnetskog polja, te ostajanje magnetskog polja takvim na dulje vrijeme. Nanočestice s ovim svojstvom imaju primjenu u medicini, pogotovo pri magnetskoj rezonanciji (MRI) [7].

Također, bitno je naglasiti termičku stabilnost ovako pripravljenih magnetnih čestica, koje se mogu koristiti pri liječenju karcinoma visokom temperaturom [8].

2.1.3. Kvantne točke

Kvantne točke su klasteri atoma, čija veličina u barem jednoj od tri dimenzije ne prelazi red veličine od 100 nm. Ovisno o veličini klastera, kvantne točke mogu mijenjati valnu duljinu emisijskog spektra, odnosno boju emisijskog spektra, ukoliko govorimo o vidljivom spektru. Sastoje se od jezgre i ljuske. Jezgra je obično sastavljena od poluvodičkog metala, a najčešće se upotrebljava kadmij i njegovi spojevi.

Vanjsku ljusku obično sačinjava neki metal, no mora imati veću energiju zabranjene zone u odnosu na metal jezgre (često korišten cink i njegovi spojevi), kako bi svojstvo došlo do izražaja.. Njihove prednosti u odnosu na fotosenzibilne tvari na makrorazini su: velika i duga fotostabilnost, uski emisijski spektar te jak intenzitet emisijskog spektra, što omogućuje detekciju vrlo malih količina analita. Sve to ih čini učinkovitim za primjenu u optičkim senzorima.

2.1.4. Silika nanočestice

Silika nanočestice su kondenzati metasilikatnih skupina reda veličine klastera do 100 nm. Oni se razlikuju od ostalih prethodno navedenih vrsta nanočestica, jer ne posjeduju nikakva značajnija intrinzična svojstva. Štoviše, moguće ih je koristiti kao robusne nosače raznih organskih ili anorganskih molekula. Zbog svojstva hidrofobnosti, one se koriste za poboljšanje svojstava raznih emulzija, zatim u prehrambenoj industriji, te kao promotori granulacije, te hidrofobnosti [9].

U ovom radu, istraživane su silika nanočestice dopirane organskim bojilima za potencijalne primjene u optičkim senzorima. Za silika-nanočestice specifično je to da mogu sadržavati veliki broj fotokemijski aktivnih vrsta, što im omogućuje sjajnu luminescenciju i blage i optimalne procesne uvjete [2]. Moguće ih je koristiti u biomedicini, dijagnostici, biokemiji te detekciji kemijskih vrsta općenito.

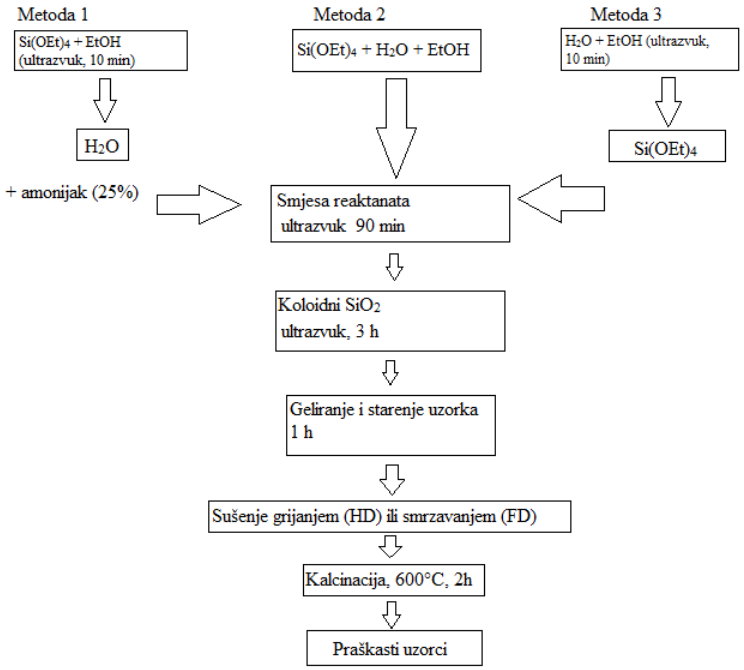
2.2. Sinteza silika nanočestica

Sinteza samih silika nanočestica može se odvijati na dva najčešće korištena načina: Stöberovim postupkom i metodom mikroemulzije.

2.2.1. Stöberov postupak

Stöberov postupak [10] je skup reakcija koje dozvoljavaju kontroliran rast sferičnih silika čestica, jedinstvene veličine, preko hidrolize alkilnih silikata (najčešće tetraetil-ortosilikat), te kondenzacijom u alkoholnim otopinama. Kao katalizator reakcije se najčešće koristi amonijak.

Veličina dobivenih čestica tipično seže od 150 do 20000 nm, dok pore unutar njih najčešće dosežu promjer od 2 do 10 nm. Glavna prednost ove metode je mogućnost stvaranja monodisperznih sferičnih čestica, za razliku od kiselo kataliziranih reakcija, gdje bi se čestice nalazile u obliku gela, te monodisperznost ne bi bila izrazita [11].



Slika 1. Ukratko navedeni načini izvođena Stöberova procesa, s aproksimativnim vremenima reakcija, preuzeto iz [11].

Reakcija kondenzacije se provodi u smjesi alkohola, amonijaka i vode. Koristi se amonijak koncentracije 5 M, te jednostavan alkohol. Miješanjem u pripravljenom mediju prekursor silike, tetraetoksi-ortosilikat, hidrolizira prema reakciji:

$Si(OR)_4 + 4\ H_2O \rightarrow Si(OH)_4 + 4\ ROH$

Produkt hidrolize je koloidna silika, koja stajanjem prelazi u silika gel. Daljnjim stajanjem, te grijanjem i sušenjem na zraku dobiva se čvrsti, kruti silika prah.

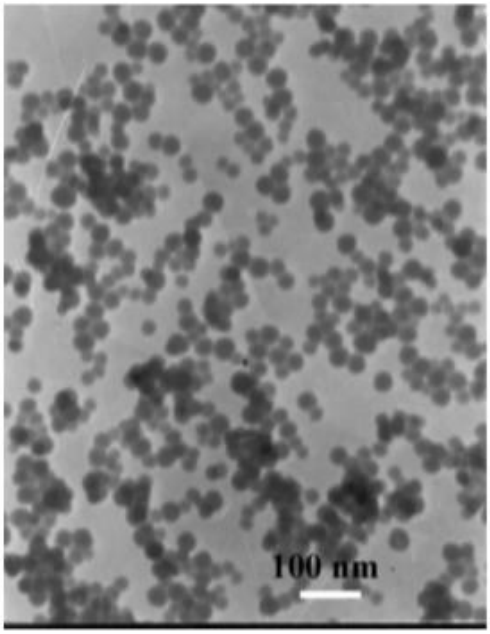
$Si(OH)_4 \rightarrow SiO_2 + 2\ H_2O$

Monodisperznost je moguće povećati povećanjem vremena reakcije, te uvođenjem aniona (klorid, bromid) kao promotora monodisperznosti.

2.2.2. Sinteza metodom mikroemulzije

Sinteza metodom mikroemulzije [12] je način priprave nanočestica korištenjem dviju nemješljivih otopina, koje sadrže čestice nanodimenzija. Otopine mogu biti stabilizirane surfaktantima. Ova metoda daje monodisperzne čestice, preciznije veličine s obzirom čak na nanorazinu te omogućuje kontrolu nad veličinom čestica preko omjera voda-ulje. Reakcija se zbiva u izotropnom i termodinamički stabilnom sustavu voda-ulje-surfaktant, gdje se nanokapljice vode, zarobljene unutar uljne faze, koriste kao mikroreaktor za nastajanje silika nanočestica [13].

Za nastajanje silika nanočestica potrebna je smjesa n-heksanola i TEOS-a kao prekursora, cikloheksanol, voda, amonijak, ulje (inertno s obzirom na ostale reaktante), dok je za vodu potrebno da bude što čišća zbog mogućih interferencija nečistoća. Reakcija traje 24 sata, na sobnoj temperaturi, te se nakon reakcije prah silika nanočestica ispire acetonom i etanolom, kako bi se uklonile nečistoće u porama. Time završava proces polimerizacije.



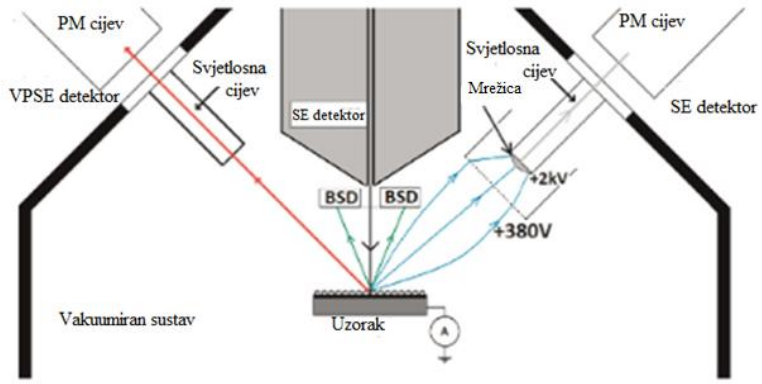
Slika 2. TEM prikaz nanočestica silike dobivenih postupkom reverzne mikroemulzije, preuzeto iz [13].

2.3. Karakterizacija silika nanočestica

Prilikom karakterizacije tvari određuju se njena fizikalno-kemijska svojstva. Karakterizaciju je moguće provesti na puno načina, ovisno o određivanju željenih svojstva. U nanotehnologiji, bitno je odrediti veličinu dobivenih čestica, što je moguće odrediti pretražnim elektronskim mikroskopom. Pošto su u radu određivana i optička svojstva, korištene su UV-vidljiva apsorpcijska i fluorescencijska spektrofotometrija.

2.3.1. Pretražna elektronska mikroskopija

Za optičko detektiranje i karakterizaciju silika nanočestica moguće je koristiti pretražni elektronski mikroskop, čija je moć razlučivanja i do 0.1 nm. Mikroskop se temelji na detekciji najčešće sekundarnih te povratno-raspršenih elektrona, preko kojih je moguće skeniranje topografske površine i sastava uzorka. Uzrok emisije obiju vrsti elektrona je usmjerena zraka elektrona koja pada na uzorak. Usmjerena zraka prodire do par mikrometara u površinu te uzrokuje razne interakcije s elektronima. Ovisno o kutu upada zrake te tipu interakcije i raspršenja (elastično ili neelastično), nastat će željeni sekundarni elektroni, koji padaju na detektor i tako tvore sliku površine. Nakon detektora, signal se može eventualno pojačati pojačalom, te biva registriran na procesoru [14].

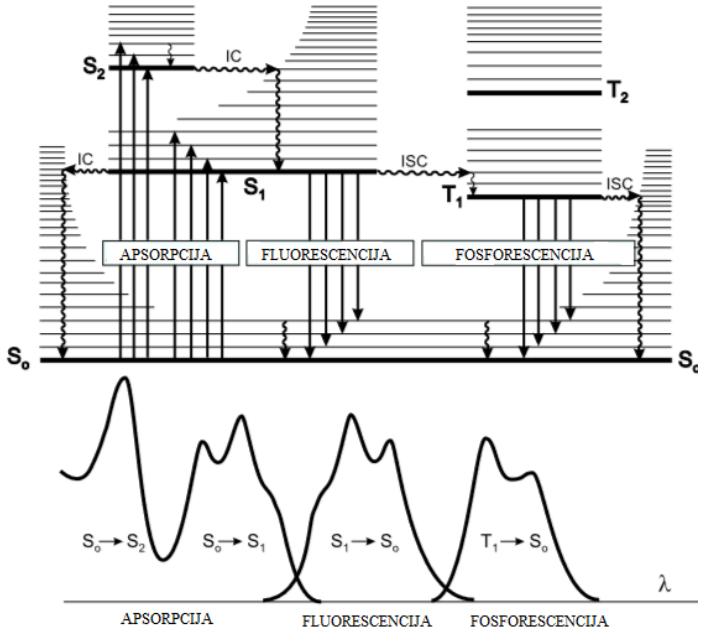


Slika 3. Shematski prikaz pretražnog elektronskog mikroskopa s fosforskom nabijenom mrežicom, preuzeto iz [14].

2.3.2. Spektrofotometrijske metode

Spektroskopske metode karakterizacije temelje se na analiziranju interakcije elektromagnetskog zračenja i tvari. Unutar određenih tvari, vidljivo zračenje kojem su tvari izložene može uzrokovati promjenu elektronske strukture tvari. Zračenjem se izbija elektron iz ljuske atoma, koji kratkotrajno biva pobuđen. Povratkom u svoje elementarno stanje, elektron emitira energiju. Moguće je odrediti valne duljine apsorbirane energije, te emitirane energije koristeći se raznim analitičkim tehnikama [15].

Transferi elektrona s pripadajućim energijama prikazuju se Perrin-Jablonski dijagramom:



Slika 4. Perrin – Jablonski dijagram, preuzet iz [15].

Prilikom prijelaza S_0 – S_1događa se apsorpcija. Foton koji je apsorbiran u elektronskom omotaču predaje svoju energiju elektronu, koji biva pobuđen i odlazi u stanje S_1. Povratkom iz pobuđenog S_1 stanja u osnovno S_0 stanje, događa se emisija fotona, odnsono otpuštanje energije elektrona uzrokovano relaksacijom. Ovaj efekt nazivamo fluorescencijom energije. Fluorescencija se događa vrlo kratko nakon apsorpcije elektrona te je njena energija uvijek manja od apsorpcijske energije. Ukoliko se fluorescencija događa nakon određenog većeg

vremena govorimo o pojavi fosforescencije, gdje pobuđeno stanje elektrona traje dulje od onoga u fluorescenciji.

Potaknut apsorpcijom fotona (energije), elektron vraćanjem u svoje osnovno energetsko stanje emitira energiju, i to manju nego energiju apsorpcije. Što je veća razlika u energijama, veći su razmaci između apsorpcijske i emisijske vrpce, odnosno valne duljine makimuma apsorpcije i emisije će biti razmaknutiji. Sama razlika između položaja maksimuma, odnosno razlika valnih duljina maksimuma, naziva se Stokesov pomak. Za spektrofotometrijsko određivanje je povoljno da je pomak što veći, radi lakšeg određivanja signala.

Sljedeći važni parametar kojeg pratimo je molarni apsorpcijski koeficijent, ε. On predstavlja količinu energije koje je bojilo sposobno apsorbirati, za određenu valnu duljinu. Bojilima pogoduje što veći koeficijent, jer će tada boje biti osjetljivije na koncentracije. Koeficijent ovisi o koncentraciji analiziranog uzorka c, i duljini puta svjetlosti kroz kivetu, L. Za opisivanje njihovog odnosa služimo se Lambert-Beerovim zakonom.

Pošto govorimo o optičkim senzorima, poželjno bi bilo da djelovanje senzora biva zamijećeno ljudskim okom. Zbog toga je esencijalno da emisijske valne duljine organskih bojila upadaju u vidljivi spektar elektromagnetskog zračenja, odnosno između 400 i 750 nm.

Ukoliko ozračimo uzorak fotonima, ne možemo očekivati da energije apsorbiranih i emitiranih elektrona budu ujednačene. Da bi se pobliže opisao „gubitak“, uveden je pojam kvantno iskorištenje. To je omjer emitiranih fotona u odnosu na apsorbirane. Za organska bojila je bitno da je omjer što veći, odnsono da iskorištenje bude što povoljnije za sustav.

Za bojila je još poželjno da imaju veliku fotostabilnost (broj ciklusa koje ista boja može dokazati bez da se raspadne), optimalnu valnu duljinu pobude (da tokom mjerenja fluorescencije bojilo pobuđujemo sa energijom valne duljine što bližoj apsorpcijskom maksimumu), te da boja bude inertna i postojana za kemijske i fizikalne promjene koji su nebitni za proces (temperatura, pH, hidrofilnost itd.).

2.3.2.1. UV-Vis apsorpcijska spektrofotometrija

UV-Vis apsorpcijska spektrofotometrija [16] je analitička tehnika određivanja apsorpcije zračenja tvari unutar područja UV i vidljivog dijela elektromagnetskog spektra. Temelji se na određivanju promjena energija elektrona iz osnovnog u pobuđeno stanje. Opisuje se Lambert–Beerovim zakonom:

$$A = \log_{10}(I_0/I) = \varepsilon cL \quad (1)$$

Lambert-Beerov zakon povezuje intenzitete zračenja prije (I_0) i poslije (I) prolaska kroz uzorak, te preko njihove razlike ih dovodi u odnos sa koncentracijom uzorka (c), molarnim adsorpcijskim koeficijentom (ε), te duljini puta zračenja kroz kivetu (L). Logaritamski omjer koeficijenta upadnog i izlaznog zračenja zove se apsorbancija, te se prilikom UV-Vis spektrofotometrijske analize mjeri njena ovisnost o valnoj duljini.

2.3.2.2. UV-Vis fluorescencijska spektrofotometrija

Komplementarna analitička tehnika UV-Vis apsorpcijskoj spektrofotometriji je fluorescencijska spektrofotometrija. To je metoda koja se temelji na određivanju emisijskog spektra tvari. Njome se prati energija povratka elektrona iz pobuđenog stanja u osnovno. Povratkom elektrona događa se emisija energije, čija valna duljina može pripadati u vidljivi spektar [16].

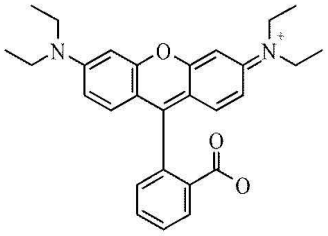
Kako bi fluorescirale, organske tvari u svojoj strukturi moraju imati što veći konjugirani sustav veza, odnosno periodičko strukturalno izmjenjivanje jednostruke i dvostruke veze. Ovakva stuktura omogućuje unutrašnjeorbitalni prijelaz elektrona između π veznih i π protuveznih orbitala, poznatiji kao $\pi - \pi^*$ prijelaz. Što je konjugacija sustava veća, to je potrebna manja energija za pobuđivanje elektrona. Također, tom pojavom kvantno iskorištenje biva veće, odnosno bojilo se smatra prikladnijim [15].

2.4. Silika nanočestice dopirane organskim bojilima

Silika nanočestice same po sebi nemaju značajnih intrinzičnih svojstava te su time vrlo pogodne za modifikaciju, odnosno dopiranje. U svrhu korištenja kao optički senzor, moguće ih je kovalentno dopirati raznim organskim bojilima, odnosno fluoroforima.

2.4.1. Organska bojila

Organska bojila su spojevi kojii apsorbiraju u vidljivom području, odnosno ljudsko oko vidi njihovu boju. Bojila u svojoj strukturi posjeduju visoko konjugirani sustav veza, čime su im omogućena zavidna optička svojstva. Najčešće korištena organska bojila su fluorescein i određeni rodamini.



Slika 5. Strukturni prikaz molekule rodamina

Organsko bojilo prikazano na slici 5. u svojoj strukturi ima visoko konjugirani sustav (izmijenjivanja dvostruke i jednostruke veze), zbog čega emitira boju u vidljivome spektru elektromagnetskog zračenja. Takvo svojstvo emisije je vrlo poželjno pri nekim kemijskim procesima u kojima se mijenja struktura molekule bojila. Sama promjena strukture utjecat će na konjugirani sustav veza, odnosno, uzrokovat će promjenu emisijske valne duljine spoja. Dakle, spoj će emitirati drugačiju boju u vidljivome spektru. Organske boje također mogu davati višestruke i međusobno različite odzive, ovisno o sustavu te emitiraju jačim intenzitetom u odnosu na standardna bojila. Isto tako, organska bojila imaju veći molarni apsorpcijski koeficijent, emisijski spektar u rasponu valnih duljina prepoznatljivih ljudskome oku (400-750 nm) te visoku fotostabilnost i veći Stokesov pomak [16]. Zbog tih svojstava organska bojila smatramo prikladnima za pripravu optičkih nano-senzora [17].

2.4.2. Sinteza dopiranih silika nanočestica

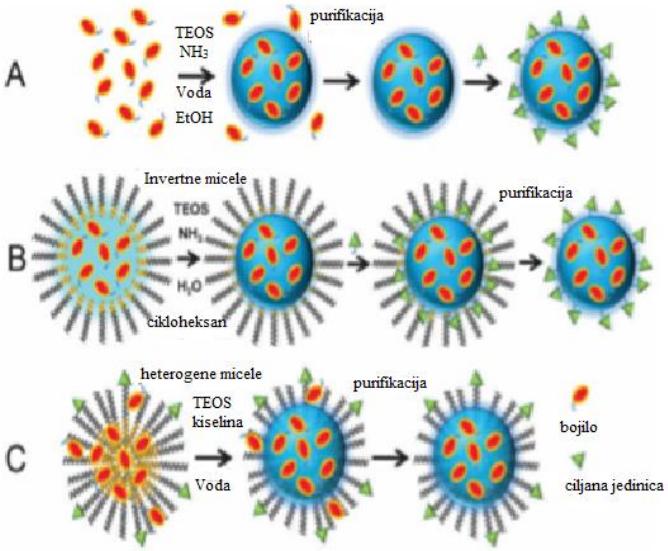
Fluorofori se na silika nanočestice mogu vezati kovalentno (kemijski), ili adsorpcijom (fizikalno).

Pri sintezi kovalentno dopiranih silika nanočestica, moguće je prethodno modificirati, odnosno aktivirati površinu silike. Najčešće se modifikacija odvija *click* reakcijom, odnosno bakar-1-kataliziranom azid-alkiln cikloadicijom, ili pomoću 3-aminopropil-trietoksisilana ili -3-glicidiloksipropil-trimetoksisilana, koji sudjeluju kao poveznice [18]. Aktivira se amino-kraj APTES-a, koji se kovalentno veže za silika nanočesticu (ili klaster) te na drugom kraju omogućuje vezivanje većeg fluorofora [19]. Kod ovakvog vezivanja, moguće je vezati kompletno antitijelo na siliku.

Navedene reakcije su moguće u nevodenim i blago vodenim medijima. Previše vode može pomaknuti ravnotežu hidrolize silika nanočestica prema nepoželjnom smjeru. Negativna strana ove metode je stvoreni prostor koji nastaje između silike i fluorofora, unutar kojeg su moguće brojne interakcije površina koje uzrokuju desorpciju fluorofora te slabiju iskoristivost procesa.

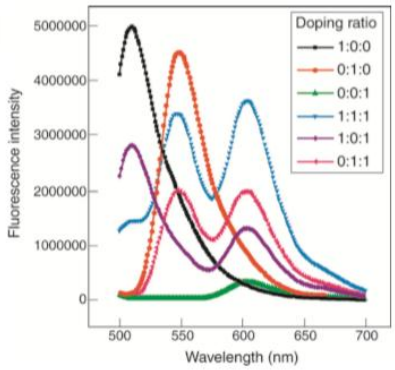
Pri sintezi silika nanočestica s adsorbiranim fluoroforima nije nužno potrebno modificirati silika nanočestice, no on će tada biti slabije vezan za nanočesticu u odnosu na kovalentni način vezivanja. Odnosno, ukoliko u reakcijskoj smjesi imamo neki adsorbens s većim afinitetom vezivanja od fluorofora, vezivanje će biti neuspješno. Prednosti ove metode su što je jednostavnija za izvođenje te ne zahtjeva puno koraka čišćenja, odnosno purifikacije [19].

Važno je napomenuti da se u većini istraživanja nije zamjetilo kapanje organskog pigmenta iz pora silika nanostruktura, premda nikakva teza još nije sa sigurnošću ustanovljena.



Slika 6. Prikaz sinteze silika nanočestica dopiranih bojilima; A – Stöberova metoda, B – metoda reverzne mikroemulzije, C – metoda potpomognuta direktnim micelama, preuzeto iz [20].

Sinteza kompletnih dopiranih nanočestica se odvija u šaržnom reaktoru, uz konstantno miješanje. Omjer aktiviranog fluorofora u odnosu na TEOS može varirati od 0.1% do 1% molova fluorofora na 1 mol TEOS-a. Smjesa se miješa minimalno 5 sati, pri sobnoj temperaturi [21].

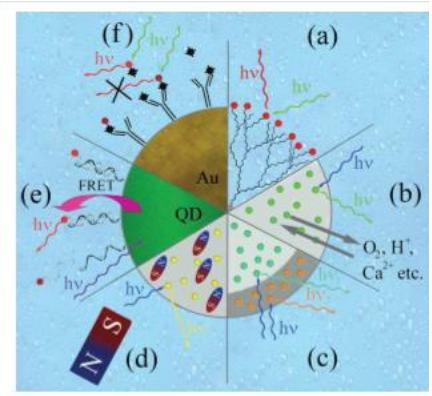


Slika 7. Grafički prikaz ovisnosti intenziteta emisijskog spektra silika nanočestica dopiranih organskim bojilima, u odnosu na omjer miješanja tri fluorofora: FITC, R6G, and 6-karboksil-X-rodamina, preuzeto iz [22].

2.5. Optički senzori i primjena

Optički senzori su vrsta senzora koji su sposobni detektirati razne tvari (pH, kisik, metalne katione itd.), uz davanje signala – promjenu boje. Uzrok promjene boje bit će promjena u strukturi bojila, čiji elektronski sustav promjenom strukture mijenja emisijsku valnu duljinu. Optički nanosenzori su vrsta senzora koja može detektirati tvari uz davanje vizualnog signala, a da im veličina čestica ne premašuje red veličine od 100 nm.

Općenite prednosti nanosenzora su da nemaju značajnu donju granicu detekcije u odnosu na analit, veća svjetlina (jači intenzitet), oštrije i jasnije boje (koje omogućuju detekciju više analita unutar istog uzorka), te duga postojanost i lako manevriranje signalom [17].



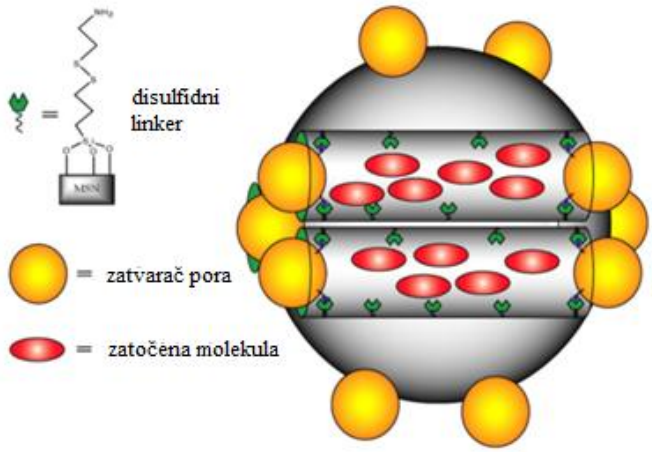
Slika 8. Shematski prikaz vrsta optičkih nanosenzora; a – makromolekulski nanosenzori; b – nanosenzori bazirani na polimerima i sol - gel postupku; c –nanosenzori bazirani na jezgra-ljuska sistemu; d – magnetske čestice; e – kvantne točke; f – nanosenzori s metalnom bazom, preuzeto iz [2].

Sa svime time na umu, optički nanosenzori, između kojih i silika nanočestice, koriste se uvelike pri detekciji gena i obilježavanju DNK [2], zatim, kao odlični kemijski senzori za pH, kisik, cink i kobalt [6, 23 - 26], te kao prenosnici tvari kroz organizam. [27, 3].

2.5.1. Optički nanosenzori temeljeni na silika nanočesticama

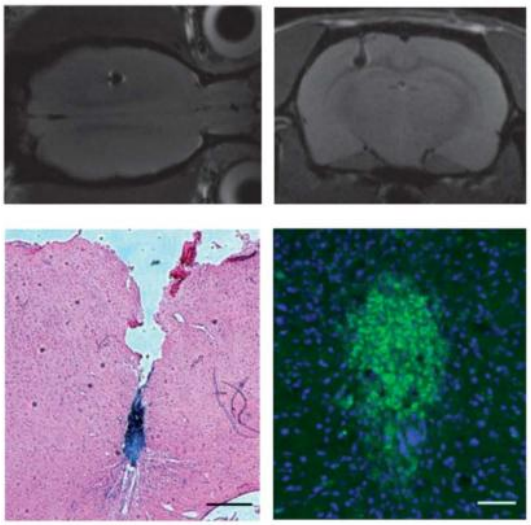
Silika nanočestice korištene u optičkim nanosenzorima su opisane u mnogim znanstvenim istraživanjima. U ovom poglavlju su predstavljene neke od najzanimljivijih upotreba i istraživanja dopiranih silika nanočestica.

Mezoporne silika nanočestica korištene su kao dostavljači tvari u stanicute kao međustanični transporteri, kako je opisano u radu I. I. Slowinga iz 2008. godine [3]. Željena molekula (npr. adenozin-trifosfat) je zarobljena unutar pora nanočestica, pomoću disulfidnih linkera. Krajevi pora se zatvoreni kadmijevim sulfidom te je tvar injektirana do stanica uz konačno otvaranje pora i oslobađanje tvari ka željenom odredištu.



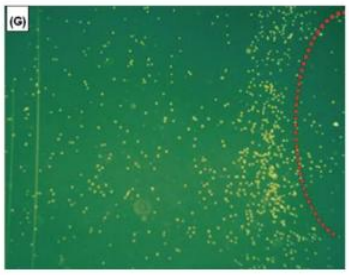
Slika 9. Prikaz korištene nanočestice punjene zatočenim molekulama, zatvorene zatvaračem pora, preuzeto iz [3].

N. Chekina i suradnici su 2011. godine [6] prikazali primjer primjene dopiranih silika nanočestica korištenih kao presvlaku nanočestica željezovog (III) oksida, gdje silika nanočestice bivaju modificirane kovalentno vezanim fluorescein izotiocijanatom. Navedeno bojilo nema direktnih veza sa željeznom jezgrom te ne utječe na njena supermagnetična svojstva. Nanočestice su motrene fluorescentnom mikroskopijom i magnetskom rezonancijom, te su njima obilježavane mesenkimalne matične stanice (fibroblasti, stanice zadužene za popravljanje fizički oštećenog tkiva).



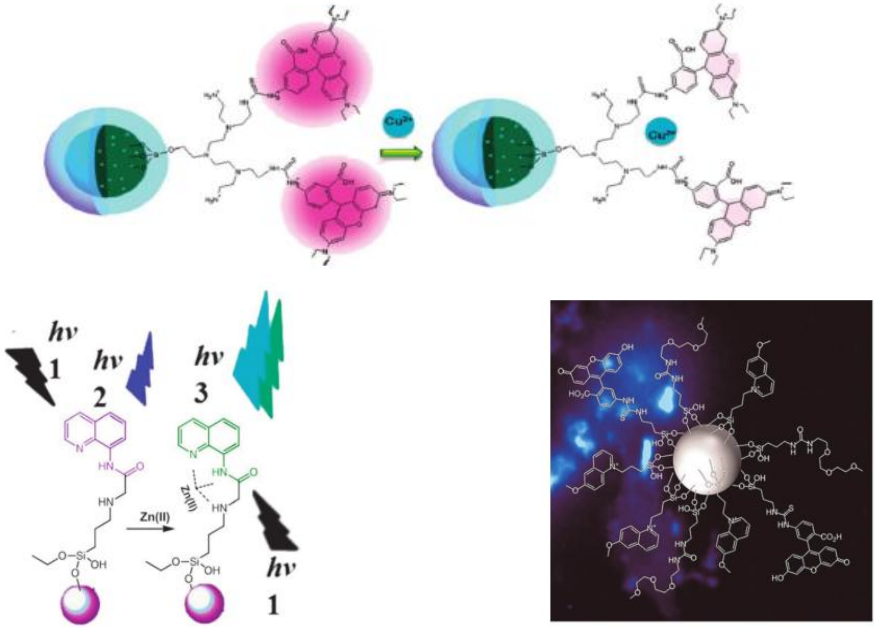
Slika 10. Slika koronalne (gore lijevo i desno) i aksijalne (dole lijevo i desno) magnetske rezonancije štakorovog mozga, implantiranog s 100 000 matičnih stanica dopiranih željeznim silika nanočesticama uz bojilo FITC, preuzeto iz [6].

Dopirane silika nanočestice su naširoko korištene u svrhu obilježavanja stanica [26]. Korišten je ORMOSIL kao prekursor (sličan tetraetoksi ortosilikatu spomenutom u poglavlju 2.2.1., ali umjesto nekih alkoksidnih terminalnih grupa ima organski ostatak, primjerice metilnu skupinu, čime je moguća kontrola veličine pora silika nanočestice). Kao bojilo je korišten fluorescentni rutenijev kompleks Ru(II)-tris(4,7-difenil-1,10-fenantrolin) klorid, $[Ru(dpp)_3]^{2+}$. Ovako stvorena nanočestica korištena je za obilježavanje ljudskih stanica leukemije, zbog svojstva bojila da fluoresciraju podvrgnute magnetskom polju. Nanočestice su omogućile optičko razlikovanje zdravih stanica preko antitijelo-antigen interakcija.



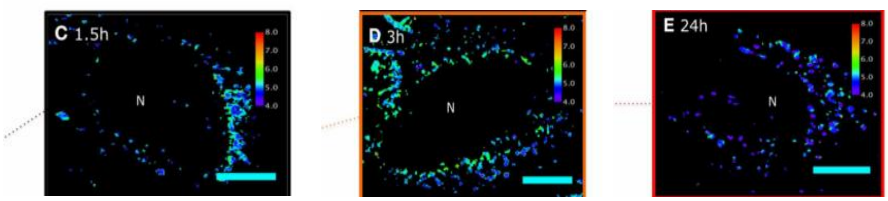
Slika 11. Prikaz stanica leukemije obilježenih fluorescentnim nanočesticama (na slici žuto) u blizini magneta (na slici crveno), preuzeto iz [26].

M. Monalti i suradnici su 2013. godine [25] prikazali mogućnost uporabe dopiranih silika nanočestica u sustavu jezgra-ljuska, u svrhu razvoja senzora za Cu^{2+}, Zn^{2+}, Hg^{2+} , Pb^{2+} i Cl^- ione. Površina silika nanočestica je modificirana alkoksisilanolnim derivatima te je na derivate kovalentno vezivan fluorofor, odnosno bojilo. Tako pripravljane nanočestice mijenjale su svoja fotofizička svojstva kada bi bile stavljene u sustav s navedenim ionima.



Slika 12. Shematski prikaz kompleksiranja bakrova kationa i posljedičnog fluorimetrijskog signala nanočestica (gore), Shematski prikaz fluorescencijske detekcije cinkovih kationa pomoći dopiranih silika nanočestica (dole lijevo), Struktura fluorescentnog nanosenzora za kloridne ione (dole desno), preuzeto iz [25].

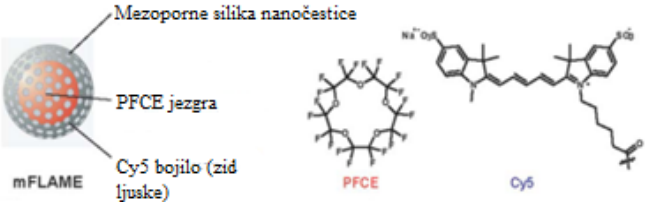
A.S. Desai i suradnici su 2014. godine predstavili primjer nanosenzora baziranog na dopirnim silika nanočesticama u svrhu nadgledanja i kontrole međustaničnih interakcija pri nižim pH vrijednostima [23]. Fotokemijska svojstva silika nanočestica mogu biti predviđena i prilagođena, kako bi se mogla motriti posebna odjeljenja staničnih dijelova te davati odgovor na vanjsku pobudu.



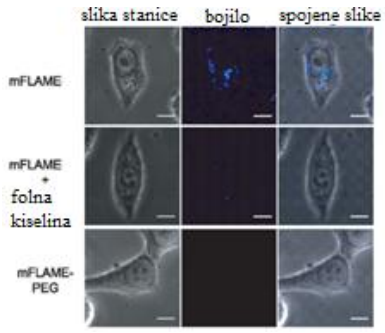
Slika 13. Prikaz raspodjele pH vrijednosti u stanicama u pripadajućim vremenskim intervalima, preuzeto iz [23].

Dopirane silika nanočestice se najviše koriste kao pH senzori, kao što je prikazao F. Gao i suradnici 2014. godine [24]. Rodamin-β-izotiocijanat je kemisorpcijski vezan na silika nanočestice te su se ovako pripravljene nanočestice pokazale kao odličan pH senzor u rasponu pH = 5.00 – 10.00.

T. Nakamura i suradnici su 2015. godine opisali uporabu dopiranih mezopornih silika nanočestica u svrhu dostave lijekova do stanica [27]. Silika nanočesticama je presvučen anglomerat izotopa ^{19}F, te je površina silike dopirana bojilom Cy5, izvanredne fluorescencije u otopinama. Izotopi fluora su praćeni preko magnetske rezonancije. Za magnetsku rezonanciju fluorom korištena je jezgra PFC, perfluorougljik.



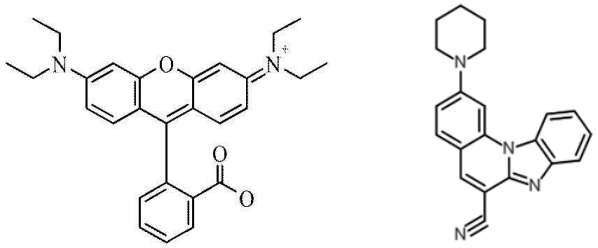
Slika 14. Prikaz strukture korištene nanočestice, preuzeto iz [27].



Slika 15. Prikaz stanice, aktivnosti bojila, te spojenih slika prilikom dolaska lijeka do stanice, preuzeto iz [27].

3. Eksperimentalni dio

U ovom radu pripravljene su i karakterizirane silika nanočestice te silika nanočestice dopirane organskim bojilima. Kao organska bojila u zasebim reakcijama korišteni su rodamin B i spoj **1** - benzimidazol[1,2-a]kinolin-6-karbonitril sintetiziran na Zavodu za Organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, u grupi pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec.



a) b)

Slika 16. Prikazi molekulskih struktura rodamina B (a), i spoja **1** (b)

3.1. Materijali i instrumenti

3.1.1. Instrumenti

Tokom karakterizacije, za spektralnu analizu je korišten UV-Vis spektrofotometar Cary 100 Scan, te fluorimetrijski spektrofotometar Cary Eclipse, dok je kao pretražni elektronski mikroskop korišten Tescan Vega EasyProbe SB mikroskop. Tokom priprave otopina korištena je ultrazvučnu kupelj Transsonic T 460/H, Elma Hans Schmidbauer, GmbH & Co KG, uređaj za uparavanje IKA HB 10 te uređaj za centrifugu MLW T23D.

3.1.2. Materijali

- etanol, *Carlo Erba Reagens*

- aceton, *Sigma Aldrich*

- retanol, *Sigma Aldrich*

- rodamin B, *FisherScientific UK, Loughborough, Leica*

- spoj **1**, Benzimidazol[1,2-a]kinolin-6-karbonitril

- 3-Glicidiloksipropil-trimetoksisilan (GLYMO), *Arcos organics, Belgija*

- 3-aminopropiltrietoksisilan (APTES), *Sigma Aldrich*

- demineralizirana voda

- tetraetil-ortosilikat (TEOS), *Sigma Aldrich*

- amonijak, *Kemika d.d., Zagreb*

- klorovodična kiselina, *Carlo Erba Reagens*

- kloroform, *Sigma Aldrich*

- diklormetar, *Carlo Erba Reagens*

3.2. Priprava silika nanočestica

3.2.1. Priprava čistih silika nanočestica

Priprava silika nanočestica je provedena prema modificiranoj Stöberovoj metodi [10]. U reakcijsku Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL pomiješano je 30 mL etanola, 2 mL amonijeva hidroksida (25%), 0,5 mL deionizirane vode i 1 mL TEOS-a. Reakcija je provođena 18 sati, uz stalno miješanje pomoću magnetne miješalice. Produkt reakcije centrifugiran je 1 sat na 3500 okretaja u minuti. Dobivene čestice dvaput isprane acetonom te centrifugirane dvaput po 30 minuta, na 3500 okretaja u minuti. Krajnji produkt je sušen u sušioniku preko noći na 70°C. Dobiveni produkt je bijeli prah silika nanočestica, m = 247,5 mg.

3.2.2. Priprava nanočestica dopiranih rodaminom B

3.2.2.1. Stöberova sinteza

Korištena je spomenuta Stöberova metoda, uz dodatak rodamina B kao organskog bojila. U Erlenmeyerovu reakcijsku tikvicu od 250 mL pomiješano je 30 mL etanola, 2 mL amonijaka, 0,5 mL deionizirane vode, 1 mL TEOS-a, te 11,5 mg rodamina B. Reakcija je ostavljena preko noći u digestoru, poklopljena aluminijskom folijom, te zabrtvljena parafilmom.

Po završetku reakcije, smjesa je centrifugirana 35 minuta na 3500 okretaja u minuti. Sedimentirane nanočestice su potom dvaput isprane u acetonu te centrifugirane dvaput po 30 minuta, na 3000 okretaja. Krajnji produkt se sušio u sušioniku preko noći, na 60°C. Masa dobivenih ružičastih čestica je iznosila m = 236,5 mg.

3.2.2.2. Modificirana Stöberova sinteza (uz APTES)

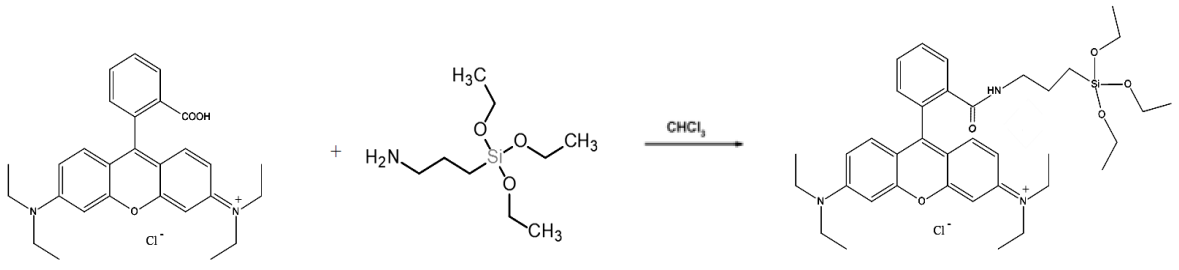
Korišena je modificirana Stöberova metoda [28], uz dodatak rodamina B kao organskog bojila, te APTESA kao poveznice. U Erlenmeyerovu reakcijsku tikvicu od 250 mL ubačeno je 30 mL etanola, 2 mL amonijaka, 0,5 mL deionizirane vode, 1 mL TEOS-a, 5,5 µL APTES-a, te 11,8 mg rodamina B. Reakcija je ostavljena preko noći u digestoru, poklopljena aluminijskom folijom, te zabrtvljena parafilmom.

Po završetku reakcije, smjesa je centrifugirana 35 minuta na 3500 okretaja u minuti. Sedimentirane nanočestice su potom dvaput isprane u acetonu, te centrifugirane dvaput po 30 minuta, na 3000 okretaja. Krajnji produkt se sušio u sušioniku preko noći, na 60°C.

Dobiveni produkt je ružičasti prah silika nanočestica, m = 213,3 mg.

3.2.2.3. Stöberova sinteza (uz silanolni derivat rodamina B)

Derivat rodamina modificiran silanolnim grupama pripravljen je prema Nedelčevoj metodi [29]. U okruglu tikvicu od 200 mL pomiješano je 30 mL kloroforma, 0,9600 g rodamina B, te 0,465 mL APTES-a. Tikvica je postavljena na aparaturu za refluksiranje, te je ostavljena preko noći. U smjesu je zatim naknadno dodano 0,233 mL APTES-a i 30 mL diklormetana te je reakcija ostavljena preko noći. Krajnji produkt reakcije se upario pod sniženim tlakom.



Rodamin APTES Silanolni derivat rodamina

Slika 17. – Reakcijska shema silanolne modifikacije rodamina B, preuzeto iz [29].

Na kruti produkt, odnosno modificirani rodamin, dodano je 30 mL etanola, 1 mL TEOS-a, 0,5 mL deionizirane vode, 2 mL amonijaka te je smjesa ostavljena preko noći na magnetnoj miješalici.

Produkt te reakcije se potom centrifugirao na 3500 okretaja, 30 minuta. Sedimentirani talog se dvaput ispirao u acetonu, te centrifugirao dvaput na 3000 okretaja 35 minuta. Krajnje krute nanočestice su sušene u sušioniku, na 60°C preko noći. Dobiveni produkt je ružičasti prah silika nanočestica, m = 256,9 mg.

3.2.3. Priprava nanočestica dopiranim spojem 1

Prilikom dopiranja korišten je i derivat benzimidazola – spoj **1**. Njegova struktura je prikazana na str. 23, a u svojoj strukturi sadrži piperidinski i imidazolni prsten.

*3.2.3.1. Priprava nanočestica dopiranim spojem **1***

Za pripravu silika nanočestica dopiranih spojem **1** korištena je modificirana Stöberova metoda [10]. U tikvicu od 50 mL s okruglim dnom pomiješano je 3 mL etanola, 0,2 mL amonijaka, 0,1 mL TEOS-a, 0,05 mL deionizirane vode te 1 mg spoja **1**. Reakcijska smjesa je ostavljena preko noći na magnetskoj mješalici u digestoru.

Završni produkt reakcije centrifugiran je na 3500 okretaja u minuta 30 minuta, te je sediment ispran u deioniziranoj vodi. Smjesa je potom odekantirana, te triput isprana sediment u vodi uz iste uvjete centrifugiranja. Dobiveni produkt je žuti prah silika nanočestica, m = 18,7 mg.

3.3. Priprava otopina za spektrofotometrijsku analizu

Snimani su spektri za smjese:

- čistih silika nanočestica
- rodamina B
- rodamina modificiranog APTES-om
- silika nanočestica dopiranih rodaminom (reakcijska tikvica 1)
- silika nanočestica dopiranih rodaminom (sinteza uz APTES,reakcijska tikvica 2)
- silika nanočestica dopiranih rodaminom (sinteza uz silanolno modificirani rodamin, reakcijska tikvica 3)
- silika nanočestica dopiranih spojem **1**

3.3.1. Priprava stock otopine silika nanočestica

Za pripravu matičnih (*stock*) otopina silika nanočestoca odvagano je 5,0 mg čistih silika nanočestica u 5 mL vode ili 5 mL etanola. Smjesa je potom stavljena u ultrazvučnu kupelj 30 min.

3.3.2. Priprava stock otopine bojila rodamina

Odvagano je po 1,2 mg Rodamina, te 1,2 mg modificiranog rodamina te otopljeno u 3,0 ml etanola. Snimljen je UV-Vis apsorpcijski spektar te fluorescencijski emisijski spektar navedenih otopina.

3.2.3. Priprava stock otopine dopiranih nanočestica

Odvagano je 5 mg svake vrste dopiranih nanočestica. Nanočestice koje su sadržavale rodamin pomiješane su u 5 mL vode ili 5 mL etanola. Nanočestice koje su sadržavale spoj **1** pomiješane su u 10 mL vode. Za spoj **1** nije korišten etanol kao otapalo jer se spoj **1** odlično otapa u etanolu, te se predvidjelo da bi se bojilo ispralo s nanočestica u etanolnim otopinama. Smjese su potom stavljene u ultrazvučnu kupelj 30 min.

3.2.4. Izvedba spektrofotometrijskih mjerenja

Snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri radnih smjesa nanočestica u vodi i / ili etanolu. Od navedenih matičnih otopina rađene su razrjeđenije otopine tokom spektralnih analiza tako da masene koncentracije radnih otopina budu između 0,4 mg / mL i 0,0104 mg / mL. Apsorpcijski spektri su snimani u kvarcnoj kiveti optičkog puta 10 mm, na valnim duljinama 200 do 800 nm. Kod spoja **1** ispitivan je utjecaj pH vrijednosti na emisijski i apsorpcijski spektar zakiseljavanjem otopine u mjernoj kiveti (pH = 1,8).

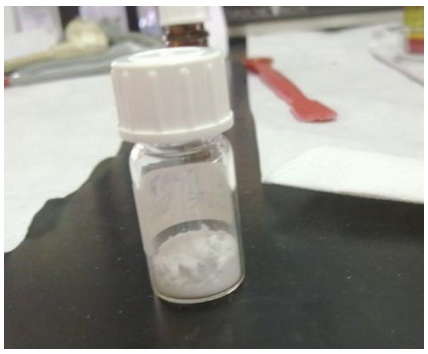
Valnu duljina pobude pri snimanju emisijskih spektara je vrijednost maskimuma apsorpcije dopiranog bojila (za rodamin λ =548 nm, spoj **1** λ = 422 nm), dok su slitovi pri fluorimetrijskoj spektralnoj analizi bili 5-5 ili 20-20. Emisjijski spektri su snimljeni pri području spektra od 400-800 nm.

4. Rezultati

4.1. Silika nanočestice

Modificiranom Stöberovom metodom pripravljene su silika nanočestice (sol –gel pristup). Masa dobivenog produkta iznosila je *m* = 247,5 mg te su čestice nakon sušenja bijele boje. Nanočestice same po sebi ne pokazuju značajna spektrofotometrijska svojstva, pa kod njih takva vrsta analize nije bila potrebna.

Na slici 18. prikazane su čiste silika nanočestice dobivene Stöberovom metodom.



Slika 18. Prikaz pripravljenih čistih silika nanočestica.

4.2. Silika nanočestice dopirane rodaminom B

Dobivene silika nanočestice dopirane rodaminom B pripravljene su na tri različita načina načina - jednostavnim dodatkom rodamina u proces stvaranja nanočestica – čestice **1**, dodatkom rodamina i APTES-a u proces stvaranja nanočestica – čestice **2**, te dodatkom funkcionaliziranog rodamina u proces stvaranja nanočestica – čestice **3**. Čestice su karakteristične ružičaste boje na danjem svjetlu.

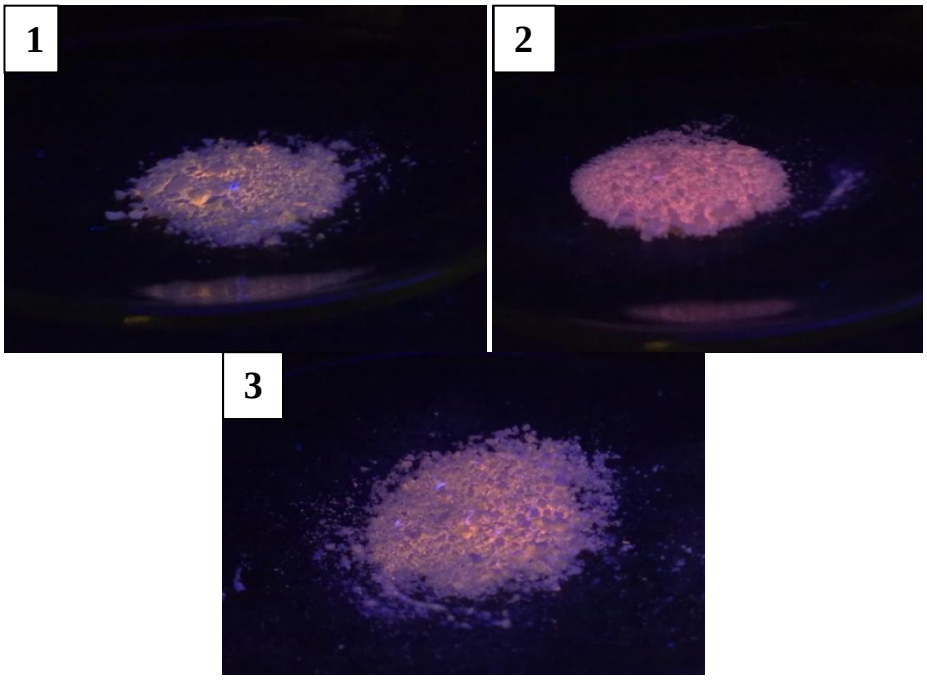
4.2.1. Vizualna zapažanja

U vizualnim zapažanjima bilježena su okom zamjećena svojstva produkata, prvenstveno boja. Boja dopiranih čestica je drukčija u odnosu na čiste silika nanočestice.

Na slikama 19. i 20. nalaze se produkte reakcija sinteze, za čiste silika nanočestice, te uz korišten rodamin.



Slika 19. Dobivene nanočestice na danjem svjetlu. Slijeva nadesno – čiste silika nanočestice, silika nanočestice dopirane rodaminom bez linkera (čestice **1**), silika nanočestice dopirane rodaminom uz korišten linker (čestice **2**), silika nanočestice dopirane APTES-om modificiranim rodaminom (čestice **3**).

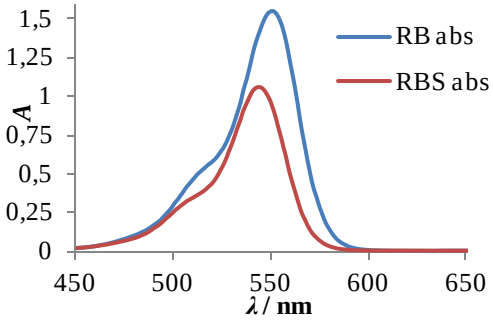


Slika 20. Dobivene silika nanočestice dopirane rodaminom, promatrane pod UV-lampom. Gore lijevo – silika nanočestice dopirane rodaminom (čestice **1**), gore desno – silika nanočestice dopirane rodaminom uz korištenje APTES-a (čestice **2**), dolje – silika nanočestice dopirane APTES-om modificiranim rodaminom (čestice **3**).

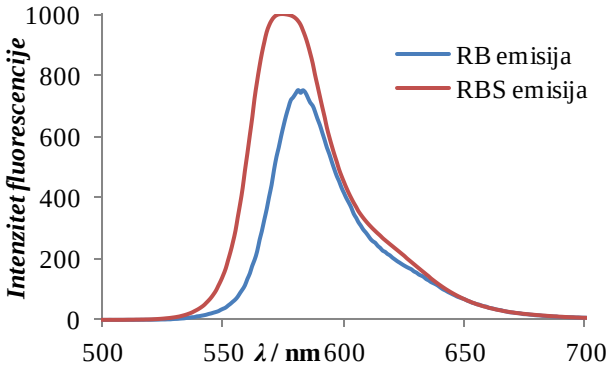
4.2.2. Spektrofotometrijska karakterizacija

Pripravljene silika nanočestice dopirane rodaminom spektralno su okarakterizirane UV – Vis apsorpcijskom i fluorescencijskom spektrofotometrijom. Priprava dopiranih nanočestica provedena je na tri načina opisana u poglavlju 3.2., str. 26.

Na slikama 21. i 22. usporedbeno su prikazani apsorpcijski i emisijski spektri etanolnih otopina čistog rodamina B, te silanolnog derivata rodamina (rodamin modificiran uz APTES).

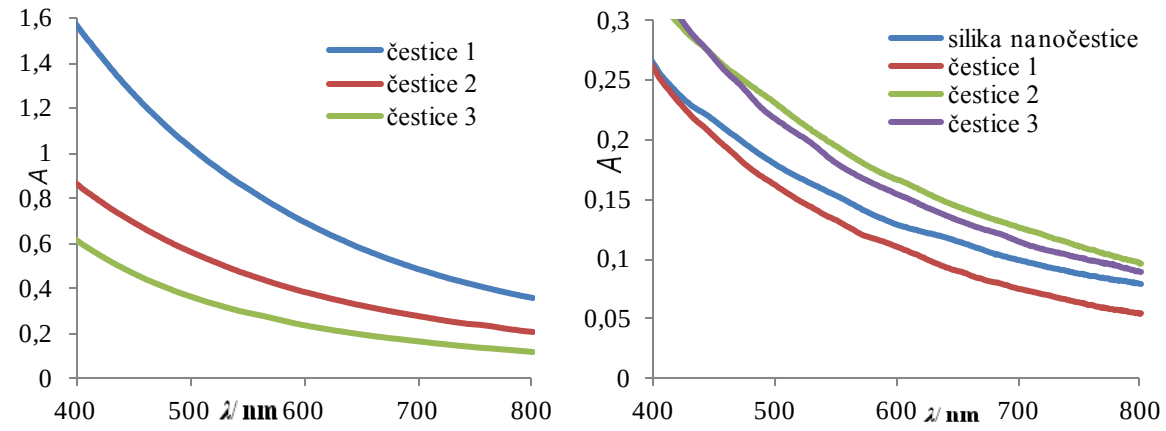


Slika 21. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije u odnosu na valnu duljinu, mjereno na UV-Vis spektrometru, za etanolne otopine čistog rodamina B (RB), te silanolnog derivata rodamina B (RBS).

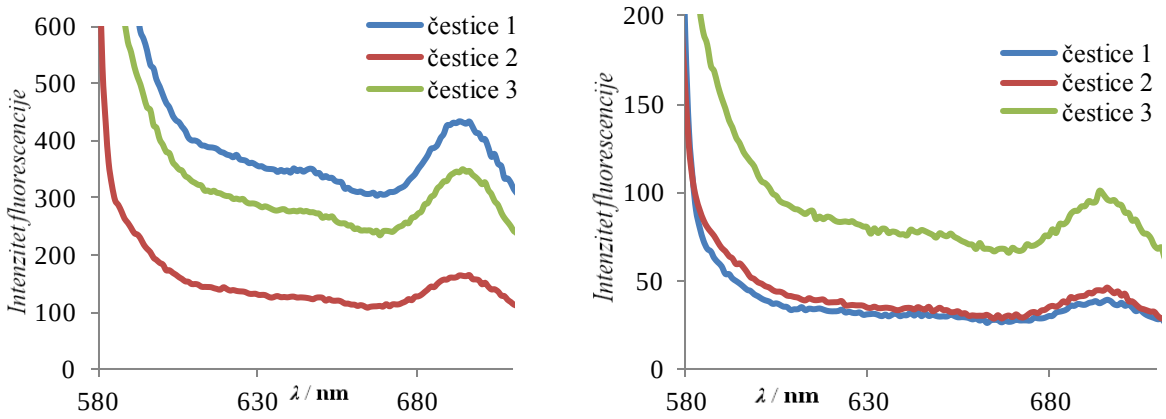


Slika 22. Grafički prikaz ovisnosti intenziteta fluorescencije u odnosu na valnu duljinu, mjereno na fluorimetru, uz slitove 2,5 – 5, za etanolne otopine čistog rodamina B (RB), te silanolnog derivata rodamina (RBS).

Na slikama 23.-24. su prikazane grafičke ovisnosti apsorbancije odnosno intenziteta fluorescencije, u odnosu na valnu duljinu za smjese istih masenih koncentracija nanočestica dopiranih rodaminom u vodi, odnosno etanolu.

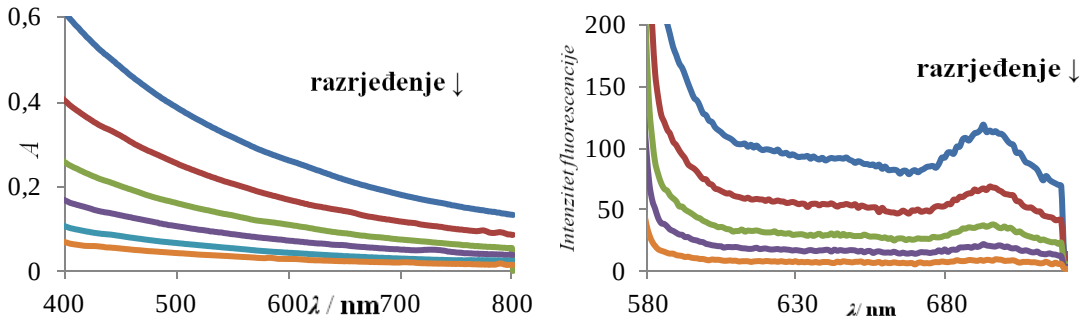


Slika 23. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o valnoj duljini vodene otopine silika nanočestica dopiranih rodaminom γ = 0,4 g/L (lijevo) etanolne otopine čistih silika nanočestica te silika nanočestica dopiranih rodaminom, koncentracije γ = 0,178 g/L (desno).

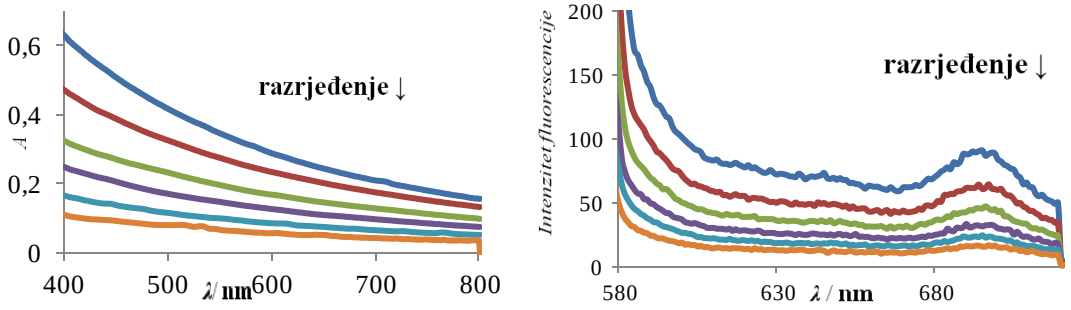


Slika 24. Grafički prikaz ovisnosti intenziteta fluorescencije u odnosu na valnu duljinu a) vodene otopine silika nanočestica dopiranih rodaminom, koncentracije γ = 0,4 g/L (lijevo), b) etanolne otopine silika nanočestica dopiranih rodaminom koncentracije γ = 0,178 g/L (desno).

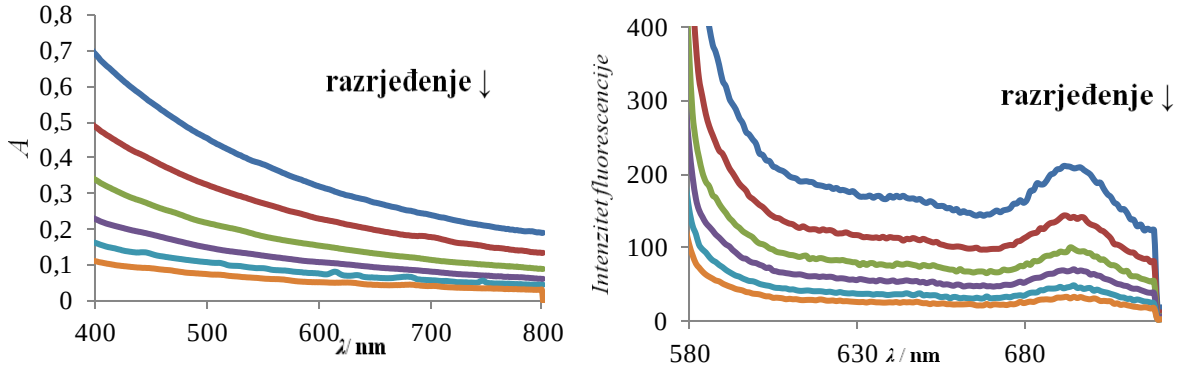
Na slikama 25.-27. prikazane su ovisnosti apsorbancije ili intenziteta fluorescencije u odnosu na valnu duljinu, dobivene na UV-Vis spektrofotometru za otopine čistih silika nanočestica te silika nanočestica dopiranih rodaminom u vodi i etanolu, različitih masenih koncentracija.



Slika 25. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije (lijevo) i intenziteta fluorescencije (desno) o valnoj duljini, za otopine silika nanočestica dopiranih rodaminom koncentracije γ = 0,4 g/L, u etanolu, pri porastu razrjeđenja (čestice **1**).



Slika 26. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije (lijevo) i intenziteta fluorescencije (desno) o valnoj duljini, za otopine silika nanočestica dopiranih rodaminom uz APTES, koncentracije γ = 0,4 g/L, u etanolu, pri porastu razrjeđenja (čestice **2**).



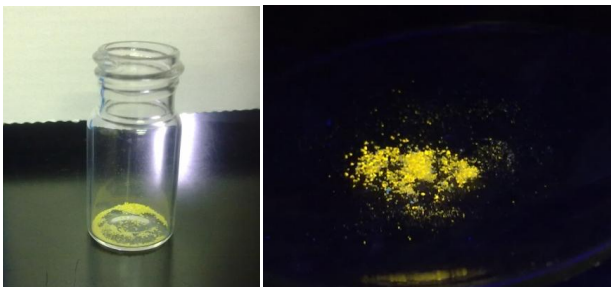
Slika 27. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije (lijevo) i intenziteta fluorescencije (desno) o valnoj duljini, za otopine silika nanočestica dopiranih modificiranim rodaminom koncentracije γ = 0,4 g/L, u etanolu, pri porastu razrjeđenja (čestice **3**).

4.3. Silika nanočestice dopirane spojem 1

Dopiranjem silika nanočestica spojem **1**, derivatom benzimidazola, dobivene su nanočestice žute boje i izraženih optičkih svojstava.

4.3.1. Vizualna zapažanja

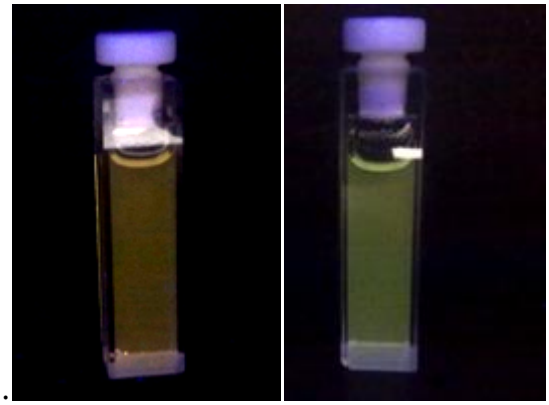
Na slici 28. su prikazane krute silika nanočestice dopirane spojem **1**.



a) b)

Slika 28. Krute silika nanočestice dopirane spojem **1**, na danjem svjetlu (a), te pod UV lampom.

Na slici 29. prikazane su fotografije smjese nanočestica dopiranih spojem **1** pod UV lampom u vodi (pH = 7) (a) i kiselom mediju (pH = 1,8) (b)



a) b)

Slika 29. Smjesa nanočestica dopiranih spojem **1** pod UV lampom u vodi (pH = 7)(a) i kiselom mediju (pH = 1,8) (b).

Kako bi se usporedila boja nanočestica dopiranih spojem **1** te samog spoja **1**, na slici 30. prikazane su otopine spoja **1** u etanolu (a) te u vodi (b), promatrane pod UV lampom.



a) b)

Slika 30. Otopine spoja **1** promatrane pod UV lampom u etanolu (a) i vodi (b).

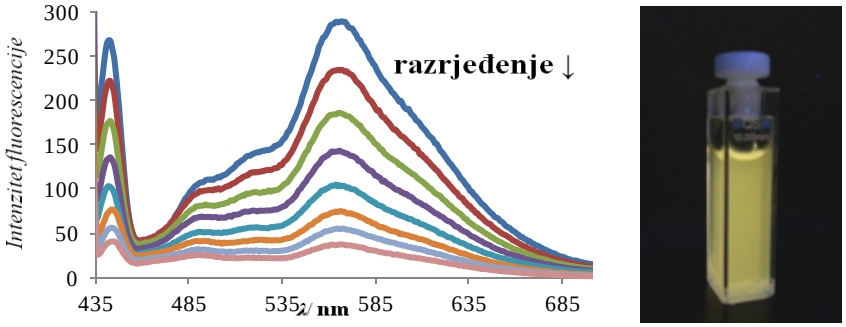
Prilikom analize pripravljenih nanočestica izvedena je proba na Tyndallov efekt. To je pojava raspršenja svjetlosti unutar koloidnih otopina, a izvodi se tako da kroz dvije otopine (razrjeđeni koloid i prozirnu otopinu) istovremeno puštamo zraku svjetlosti. Ukoliko se u jednoj od otopina nalaze suspendirane čestice, unutar te otopine će se događati ogib svjetlosti. Takav kratki eksperiment izveden je s otopinom spoja **1,** koncentracije γ = 50,2 mg, koristeći laser kao izvor svjetlosti. Eksperiment je prikazan na slici **31.**



Slika 31. Prikaz probe na Tyndallovog efekt, na česticama otopine spoja **1** (lijevo), i deionizirane vode (desno).

4.3.2. Spektrofotometrijska karakterizacija

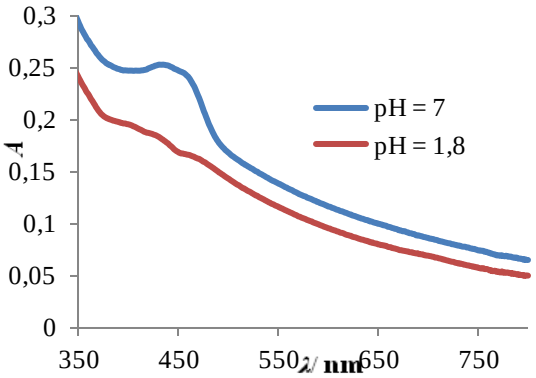
Na slici 32. dani su grafički prikazi ovisnosti intenziteta fluorescencije za otopine silika nanočestica dopiranih spojem **1** raspršenih u vodi pri različitim masenim koncentracijama.



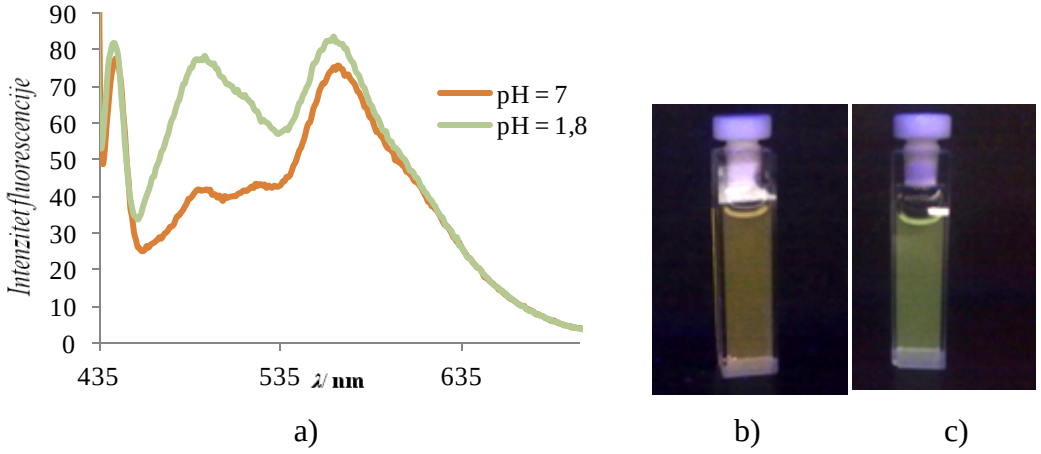
Slika 32. Grafički prikaz ovisnosti intenziteta fluorescencije o valnoj duljini emisije (lijevo), za otopine silika nanočestica dopiranih spojem **1** početne koncentracije γ = 0,178 g/L (desno), otopljenih u vodi, razrjeđivanjem do masene koncentracije γ = 0,0104 g/L.

Kako bi se ispitao odziv pripravljenih silika nanočestica dopiranih spojem **1** na vrijednost pH, ispitana je promjena spektralnih svojstava u ovisnosti o pH.

Na slikama 33. i 34. prikazane su grafičke ovisnosti apsorbancije (33), odnosno intenziteta fluorescencije (34) za vodene otopine nanočestica dopiranih spojem **1**, uz promjenu pH vrijednosti.

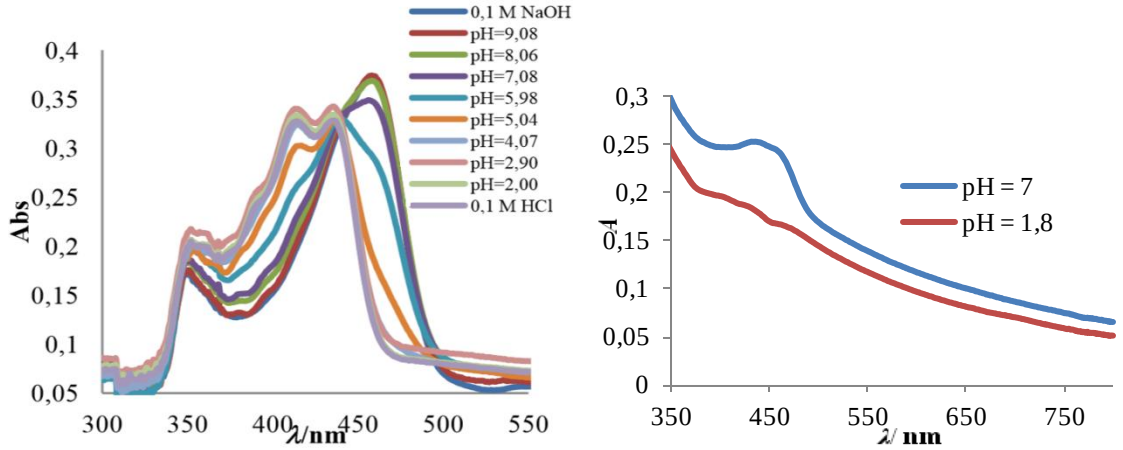


Slika 33. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o valnoj duljini, za otopine silika nanočestica dopiranih spojem **1** koncentracije γ = 0,178 g/L, otopljenih u vodi, pri neutralnom pH (plavo), te pri kiseljenju s 0,5 mL otopine 0.1 M HCl, čiji je pH = 1,8 (crveno).



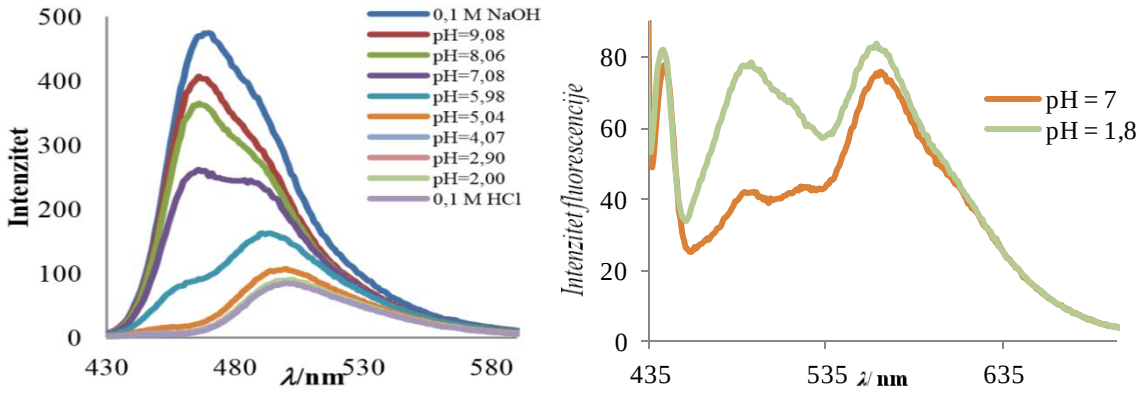
Slika 34. a) Grafički prikaz ovisnosti intenziteta fluorescencije o valnoj duljini emisije, za otopine silika nanočestica dopiranih spojem **1** koncentracije γ = 0,178 g/Lu vodi pri neutralnom pH (narančasto), te otopina zakiseljena s 0,1M HCl, pH = 4,77 (sivo), b) navedena otopina silika nanočestica dopiranih spojem **1** prije kiseljenja c) kisela otopina silika nanočestica dopiranih spojem **1**.

Kako bi se usporedila spektrofotometrijska svojstva nanočestica dopiranih spojem **1** i spoja **1** u otopini, na slikama 35. i 36. prikazana je ovisnost apsorbancije (35) i intenziteta fluorescencije (36) spoja **1** u vodi, preuzete iz [30].



a) b)

Slika 35. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o valnoj duljini a) spoja **1** u vodi, pri promjeni pH vrijednosti iz kiselog u lužnato, preuzeto iz [30], b) za smjese silika nanočestica dopiranih spojem **1** u vodi, pri pH = 7 i pH = 1,8.

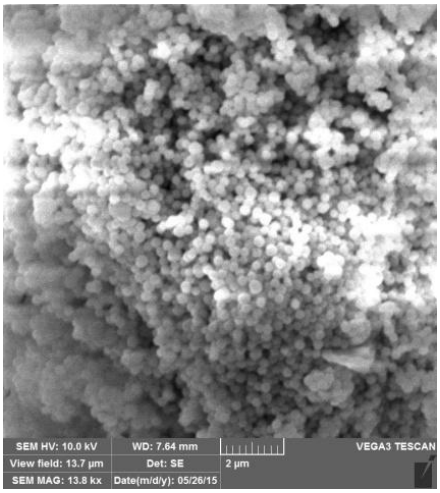


a) b)

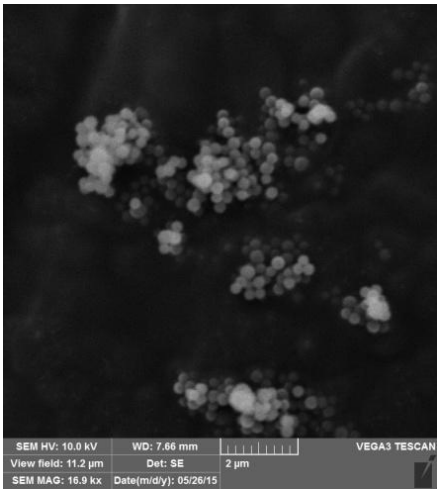
Slika 36. Grafički prikaz ovisnost intenziteta fluorescencije o valnoj duljini a) spoja **1** u vodi, pri promjenama pH vrijednosti iz kiselog u lužnato, preuzeto iz [30], b) silika nanočestica dopiranih spojem **1**, pri neutralnom pH (narančasto), te pri pH = 1,8 (zeleno).

4.4. Karakterizacija pretražnim elektronskim mikroskopom

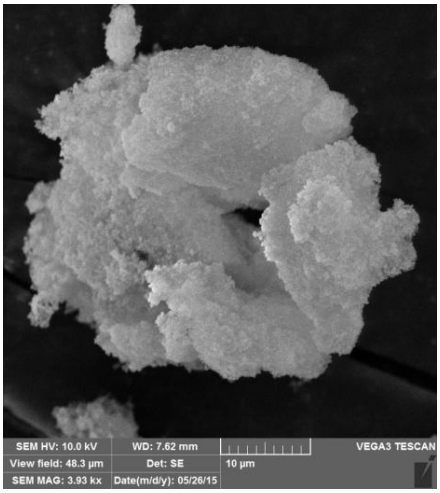
Prilikom utvrđivanja veličine i raspodjele pripravljenih čestica korišten je pretražni elektronski mikroskop. Na slikama 37.-40. su slike svih vrsta dobivenih silika nanočestica, dobivene na pretražnom elektronskom mikroskopu.



Slika 37. Čiste silika nanočestice promatrane pretražnim elektronskim mikroskopom.



Slika 38. Silika nanočestice dopirane rodaminom promatrane pretražnim elektronskim mikroskopom.



Slika 39. Silika nanočestice dopirane modificiranim rodaminom promatrane pretražnim elektronskim mikroskopom.



Slika 40. Silika nanočestice dopirane spojem **1** promatrane pretražnim elektronskim mikroskopom.

5. Rasprava

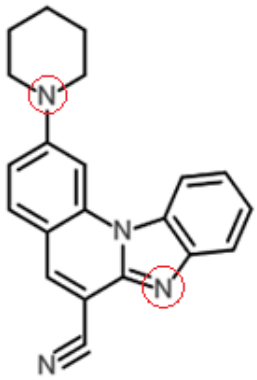
5.1. Vizualna zapažanja

Uspješno su sintetizirane čiste silika nanočestice sol – gel pristupom, kako je prikazano na slici 18. Pripravljene nanočestice su bijele boje te se njihov izgled i svojstva podudaraju s teorijskim pretpostavkama.

Uspješno su pripravljene silika nanočestice dopirane organskim bojilom. U svrhu optimizacije procesa priprave, odabran je komercijalno dostupni fluorofor rodamin B, čija su svojstva i proces priprave poznati i opisani u literaturi. Na nanočesticama dopiranim rodaminom zadržava se ružičasta boja u odnosu na čiste silika nanočestice (slika 19.). Ružičasta boja je karakteristična za rodamin, što znači da se rodamin zadržao i nakon ispiranja nanočestica u acetonu. Sva tri načina dopiranja opisana u poglavlju 3.2.2., str. 25-26. su uspješna za dobivanje nanočestica, te se zaključuje da je moguće koristiti silika nanočestice kao nosač za rodamin. Na slici 20. prikazane su sve tri vrste nanočestica dopiranih rodaminom promatrane pod UV lampom. Sve vrste pokazuju fluorescenciju, koja je intenzivna i daje ružičasto-narančasto obojenje. Rodamin se zadržao u strukturi nanočestica neovisno o načinu dopiranja, što je dovelo do konačne odluke o načinu priprave silika nanočestica dopiranih novosintetiziranim spojem **1**.

Jednostavnim dodavanjem spoja **1** u sol – gel proces nastajanja nanočestica uspješno su pripravljene silika nanočestice. Čestice su intenzivno žute boje te fluoresciraju žuto pod UV lampom (slika 28.). Bojilo se zadržalo u strukturi silika nanočestica tijekom izvođenja eksperimenata te su uspješno spektralno i strukturno okarakterizirane.

Nanočestice dopirane spojem **1** su okarakterizirane i u kiselom mediju te se uočava promjena boje zakiseljavanjem medija u kojem se nalaze (slika 29.a i 29.b). Dodavanjem protona preko HCl dolazi do promjene strukture spoja **1**. Protoni od HCl-a mogu okupirati sljedeća mjesta na spoju **1**:



Slika 41. Strukturni prikaz molekule spoja **1**, sa crveno označenim mjestima najvjerojatnijeg protoniranja.

Navedena mjesta su pogodna za protoniranje, jer oba mjesta sadrže trovalentni dušik sa slobodnim elektronskim parom. Time se dušik smatra elektron donorom, odnosno proton akceptorom unutar molekule, i zato će se kiseljenjem nastali proton najvjerojatnije vezati ili na piperidinski dušik, ili na imidazolni dušik u strukturi spoja **1.** Samim vezivanjem protona, dušiku je onemogućen intramolekulski prijenos naboja ka cijano skupini, što mijenja i valnu duljinu emisijskog spektra spoja **1** [30].

Spoj **1** ima znatno drugačija spektralna svojstva u različitim otapalima, odnosno mijenja boju ovisno o mediju u kojem je otopljen Kako je prikazano na slici 30., uočava se razlika boja otopina spoja **1** u vodi i silika nanočestica dopiranih spojem **1** u vodi. Navedeno opažanje je još jedan od dokaza da je spoj **1** uspješno zarobljen u ili na silika nanočestice, a ne otopljen u vodi. Također, spoj **1** je vrlo dobro topljiv u etanolu. Zbog moguće intenzivne desorpcije bojila, nanočestice sa spojem **1** nisu karakterizirane u etanolu.

5.2. Spektralna karakterizacija u otopini

Čiste silika nanočestice ne sadržavaju bojila pa ih nije bilo potrebno spektralno karakterizirati.

U svrhu optimizacije procesa sinteze dopiranih silika nanočestica od bojila je odabrano bojilo rodamin B kako je opisano u poglavlju 3.2.2., na str. 25-26. Rodamin B je zarobljen u silika nanočestice na tri različita načina – jednostavnim dodavanjem bojila u sol – gel process (čestice **1**), uz pomoć linkera, APTES-a (čestice **2**) i uz prethodno funkcionaliziran rodamin B silanolnim grupama (čestice **3).** Kako bi se organsko bojilo bolje vezalo na silika nanočestice, koristi se linker APTES [2]. Istraživana je promjena apsorbancije i fluorescencije molekule rodamina i molekule rodamina s vezanim APTES-om. Na slici 21. je prikazana promjena maksimuma apsorbancije pri vezivanju APTES-a na molekulu rodamina. Kod apsorbancije rodamina bez APTES-a izražen je maksimum na 551 nm, dok uz vezani APTES maksimum je manji po intenzitetu, te se nalazi na 548 nm. Radi se o hipsokromnom i hipokromnom pomaku u odnosu na spektar čistog rodamina. Pošto molekule rodamina nisu bile podvrgnute nikakvom drugom procesu osim vezivanja APTES-a, došlo je do promjene u strukturi molekule, odnosno stvaranja silanolnog derivata rodamina. Ovakva molekula je povoljna za daljnju primjenu upravo zbog silanolnih grupa. Vezivanjem linkera APTES-a na molekulu rodamina mijenja se i fluorescencija ispitivanog silanolnog derivata rodamina (slika 22.). Kod emisije čistog rodamina maksimum se nalazi na 580 nm, dok se za rodamin modificiran APTES-om maksimum nalazi na 570 nm. Modificiranjem je došlo do hiperkromnog i hipokromnog pomaka.

Silika nanočestice dopirane rodaminom raspršene su u vodi ili etanolu kako bi im se spektrofotometrijski odredila optička svojstva. Snimanjem apsorpcijskih spektara pripravljenih nanočestica vidljivo je da u vodi, uz jednake koncentracije produkata, najveća apsorbancija se uočava kod otopine nanočestica sa čistim rodaminom (čestice **1**). Ondje se rodamin najbolje zadržao. Apsorpcijski maksimumi rodamina nisu vidljivi, nego se uopčava široko područje apsorbancije bez izraženog maksimuma (slika 23a). Na slici 23.b vidljivo je da u etanolu, uz jednake koncentracije produkata nastala na sva tri načina dobivanja nanočestica, najveću apsorbanciju daje otopina nanočestica s rodaminom uz APTES (čestice **2**).

Fluorescencija dopiranih nanočestica u vodenim otopinama, pri jednakim koncentracijama, pokazuje najveći intenzitet za nanočestice dopirane čistim rodaminom (čestice **1**). Na slici 24.b vidljivo je da u etanolu, uz jednake koncentracije produkata nastala na sva tri načina dobivanja nanočestica, najveći intenzitet fluorescencije daje otopina nanočestica s modificiranim rodaminom (čestice **3**). Otopina nanočestica najvišeg intenziteta imat će najviše zadržane optički aktivne tvari, dakle, za etanolne otopine je rodamin najučinkovitiji kao bojilo. Unatoč tome, nije vidljivo izdvajanje karakterističnog signala za rodamin, nego se uočava blagi maksimum na λ = 700 nm.

Kako bi se ispitala spektralna svojstva pripravljenih nanočestica, izvedene su spektrofotometrijske analize ispitivanih dopiranih nanočestica u ovisnosti o postepeno razrjeđivanoj otopini početne masene koncentracije γ = 0,4 g/L. Generalno gledano, razrjeđivanjem ispitivane otopine dolazi do smanjenja sveukupnog intenziteta apsorbancije ili fluorescencije (slike 25.-27.), no ne uočava se promjena spektralnih signala. Prema postupku optimiziranom na primjeru rodamina uspješno su pripravljene i spektralno karakterizirane silika nanočestice dopirane novim organskim bojilom **1**. Izvedene su spektrofotometrijske analize ispitivanih nanočestica dopiranih spojem **1** u ovisnosti o postepeno razrjeđivanoj otopini početne masene koncentracije γ = 0,4 g/L (slika 32.). Intenzitet fluorescencije opada razrjeđenjem otopine nanočestica sa spojem **1**, no ne dolazi do promjene oblika signala odziva S obzirom da je signal pobude iznosio λ = 422 nm, nema interferencija za razliku od eksperimenta s rodaminom te šumovi ne utječu na očitavanje spektralnih signala. Očekivani signal emisije spoja **1** u vodi se nalazi na λ = 472 nm, no uočeni maksimum fluorescencije nanočestica dopiranih spojem **1** nalazi se na λ = 561 nm.

U svrhu ispitivanja spektralnih svojstava spoja **1** zarobljenog u silika nanočestice, ispitan je utjecaj pH. Protoniranje spoja **1**, odnosno promjena strukture uzrokovana protoniranjem, utječe na spektrofotometrijska svojstva spoja **1**. Kako bi spoj **1** bio protoniran, otopina dopiranih silika nanočestica je bila zakiseljena te su snimljeni su spektri otopina silika nanočestica dopiranih spojem **1** u vodi pri neutralnom pH, te uz dodanu klorovodičnu kiselinu. Dodavanjem 0,5 mL 0,1 M klorovodične kiseline dolazi do protoniranja atoma dušika u strukturi spoja **1** opisanog na slici 41. Izvedena su mjerenja apsorbancije i fluorescencije za navedene otopine. Promjenom pH vrijednosti otopine dolazi do jasnih promjena u oblicima spektralnih signala odziva. Pri spektralnoj analizi apsorpcijskog spektra

dolazi do hipokromnog pomaka na λ = 433 nm prilikom kiseljenja. U emisijskom spektru se uočava hiperkromni porast signala na λ = 488 nm. (Slika 33. i 34.).

Usporedbom spoja **1** otopljenog u vodi i spoja **1** zarobljenog na/u silika nanočesticama uočene su razlike u apsorpcijskim i fluorescencijskim svojstvima. Iz rada [30] preuzeti su podaci spektrofotometrijskih analiza vodenih otopina čistog spoja **1**, danih na slikama 35.a i 36.a. Uspoređujući promjene grafičkog prikaza na slici 35.a s podacima dobivenih analizom apsorpcije silika nanočestica dopiranih spojem **1** (slika 35.b), dolazi do sličnog pomaka na 445 nm – intenzitet signal slabi pri kiseljenju. Spoj **1** zatočen u silika nanočesticama ima slična apsorpcijska spektrofotometrijska svojstva kao kad je sam otopljen u vodenoj otopini. Uspoređujući promjene grafičkog prikaza na slici 36.a s podacima dobivenih analizom intenziteta fluorescencije silika nanočestica dopiranih spojem **1** (slika 36.b), dolazi do različitih pomaka. Spoju **1** otopljenom u vodi generalno opada intenzitet fluorescencije povećanjem kiselosti otopine, dok spoju **1** kemisorbiranom na silika nanočestice intenzitet signal na 485 nm raste kiseljenjem. Spoj **1** pokazuje različita fluorescencijska svojstva kada je sam otopljen u vodi, te kada je adsorbiran na silika nanočestice otopljene u vodi.

5.3. Karakterizacija pretražnim elektronskim mikroskopom

Veličina i raspodjela pripravljenih silika nanočestica određena je pretražnom elektronskom mikroskopijom (slike 37.-40.). Veličine nanočestica su u rangu reda veličine 100 nm.

Na slikama 37. i 38. prikazane su pripravljene čestice najmanjih dimenzija (čiste silika nanočestice i čestice **1**). Čestice su relativno monodisperzne po veličini te su velike oko 200 nm.

Slika 39. prikazuje SEM-sliku nanočestica dopiranih rodaminom, uz korišten APTES kao linker. Ovdje nije bilo moguće ustvrditi točnu veličinu nanočestica, pošto se radi o većem aglomeratu čestica. No, vidimo da se pri površini pojavljuju sitne jedinice, koje su uniformne po veličini.

Silika nanočestice dopirane spojem **1** su veličine približno 500 nm. Čestice su također monodisperzne po veličini, te se nalaze aglomerirane u većoj strukturi (slika 40.).

6. Zaključak

Sinteza čistih i fluorescentnih nanočestica modificiranom Stöberovom metodom uspješno je provedena. Čiste silika nanočestice su monodisperzne i uniformne te je moguća njihova daljnja primjena.

Uspješno su pripravljene silika nanočestice dopirane organskim fluorescencentim bojilom. Pripravljene silika nanočestice dopirane rodaminom su također monodisperzne, no daljnju uporabu kao pH senzor nije moguće predvidjeti zbog neprecizne UV-Vis spektrofotometrijske i fluorimetrijske analize, odnosno bliskih valnih duljina pobude i emisije. Unatoč tome, bojilo se zadržalo na ili unutar nanočestica te sama silika može poslužiti kao dobar nosač za organsko bojilo rodamin.

Silika nanočestice dopirane spojem **1** su uspješno pripravljene, te su monodisperzne po veličini. Pokazuju izražene i precizne signale u spektrima te je bojilo spoj **1** uspješno zadržano unutar ili na nanočesticama tijekom izvedbe mjerenja. Zakiseljavanjem vodene otopine nanočestica spoja **1** mijenja se boja ispitivane otopine jer se protoniranjem mijenja struktura samog spoja **1**. Zbog toga je moguće daljnje istraživanje u svrhu korištenja ovako dobivenih nanočestica kao pH senzora.

7. Literatura

1. Williams, D., Biomaterials, publ. Elsevier Amsterdam 29 (2008), 1737 - 1738

2. Borisov, S. M. and Klimant I., Optical nanosensors - smart tools in bioanalytics, Analyst 133, **10** (2008) 1302-1307.

3. Slowing, II, et al., Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers, Adv. Drug Deliv. Rev. 60 **11** (2008) 1278-1288.

4. Wood, S.; Jones, R.; Geldart, A., The Social and Economic Challenges of Nanotechnology, Swindon: Economic and Social Research Council (ESRC), **1** (2005) 118-120

5. Skoog D.A., Holler F.J., Crouch S.R., Principles of Instrumental Analysis, publ. Brooks/Cole, 6 (2007) 367-390

6. Chekina, N., et al., Fluorescent magnetic nanoparticles for biomedical applications, Journal of Materials Chemistry **21** (2011) 7630.

7. Qiao F. et al., Nanotheragnostic colloids in disase, Nanomedicine in health and disease, **21** (2009) 146 - 155

8. Giustini, P. et al.,Magnetic nanoparticle hyperthermia in cancer, Nano Life, (2010) 17

9. Jesionowski, T., Preparation of Silica Particles in Emulsion Systems, Journal of Dispersion Science and Technology **4** (2001) 363-371.

10. Stöber, W., Fink A., Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range, Journal of colloid and interface science, **26** (1968) 62 -69

11. Rahman, I. A. and Padavettan V., Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, and Applications in Silica-Polymer Nanocomposites—A Review, Journal of Nanomaterials **1** (2012) 1-15.

12. Mishima, S., et al., Preparation of porous thin-film polymethylsiloxane microparticles in a W/O emulsion system. Polymer Journal, **12** (2015) 23-25.

13. Gao, F., et al., A fluorescence ratiometric nano-pH sensor based on dual-fluorophore-doped silica nanoparticles, Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc **67 (**2007) 517-521.

14. Engelsen, M., Ireland H. et. al, Contrast and decay of cathodoluminescence of phosphor particles in scanning electron microscope, Ultramicroscopy **157** (2015) 27-34

15. Valeur, B. and Berberan-Santos M.N., Molecular fluorescence: principles and applications. John Wiley & Sons. (2012) 30 - 56

16. Demchenko, A.P., Introduction to fluorescence sensing. Vol. 105.: Springer, (2009) 119 - 143

17. Genovese, D., et al. Energy transfer processes in dye-doped nanostructures yield cooperative and versatile fluorescent probes, Nanoscale **6** (2014) 3022-3036.

18. Burglova, K., et al., Click approaches to functional water-sensitive organotriethoxysilanes. J Org Chem, **76 (**2011) 7326-7333.

19. Korzeniowska, B., et al., Silica nanoparticles for cell imaging and intracellular sensing, Nanotechnology **24** (2013) 442002.

20. Montalti, M., Prodi, L., Rampazzo E. and Zaccheroni, N., Dye-doped silica nanoparticles as luminescent organized systems for nanomedicine, Adv. Funct. Materals, **17** (2014) 2746–2756

21. Bonacchi, S., et al., Luminescent chemosensors based on silica nanoparticles, Top Curr Chem **300** (2011) 93-138.

22. Bae, S. W., et al. Fluorescent dye-doped silica nanoparticles: new tools for bioapplications, Chem Commun (Camb) **48 (**2012) 2270-2282.

23. Desai, A. S., et al., Fluorescent nanosensors for intracellular measurements: synthesis, characterization, calibration, and measurement, Front Physiol **4** (2013) 401.

24. Gao, F., et al., A Novel Nano-Sensor Based on Rhodamine-β-Isothiocyanate – Doped Silica Nanoparticle for pH Measurement, Microchimica Acta **152** (2005) 131-135.

25. Montalti, M., et al., Luminescent chemosensors based on silicananoparticles for the detection of ionic species, New J. Chem. **37** (2013) 28-34.

26. Schulz, A. and C. McDonagh, Intracellular sensing and cell diagnostics using fluorescent silica nanoparticles, Soft Matter **8** (2012) 2579.

27. Nakamura, T., et al., Mesoporous silica nanoparticles for magnetic resonance imaging, fluorescence imaging, and drug delivery, Chem. Sci. **3** (2015) 1986-1990.

28. Enrichi, F., Rico R., Meneghello A., et al. Luminescent dye-doped or rare-earth-doped monodisperse silica nanospheres as efficient labels in DNA microarrays, Nanophotonic Materials **6** (2009), 73930 (1-10)

29. Nedelčev, R., Račko D., Krupa I., Preparation and characterizaton of a new derivative of rhodamine B with alkoxysilane moiety, Dyes and Pigments 76 (2009) 550 - 556

30. Kelava, V., Optička senzorska svojstva novih fluorescentnih derivata benzimidazo[1,2-a] kinolina, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, (2014) str. 40

ŽIVOTOPIS

Rođen sam 6. siječnja 1993. u Zagrebu. Osnovnu školu Jakovlje u Jakovlju sam završio 2007. godine, s odličnim uspjehom. Nakon osnovne škole, pohađao sam Gimnaziju Lucijana Vranjanina, prirodoslovno-matematički smjer. Maturirao sam 2011. godine sa sveukupno odličnim uspjehom. Iste godine upisao sam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, na kojem trenutno završavam preddiplomski studij.