# Nosivi optički (bio)kemijski senzori na tekstilu i papiru

**Kasač, Juraj**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*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:149:206968

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-20**

*Repository / Repozitorij:*

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ PRIMIJENJENA KEMIJA

Juraj Kasač

# Nosivi optički (bio)kemijski senzori na papiru i tekstilu

DIPLOMSKI RAD

**Voditeljica rada**

izv.prof.dr.sc. Ivana Steinberg

**Članovi ispitnog povjerenstva**

izv.prof.dr.sc. Ivana Steinberg

dr.sc. Petar Kassal

dr.sc. Ema Horak

Zagreb, rujan 2018.

# *Zahvale*

*Prije svega, zahvaljujem se svojoj mentorici, izv.prof.dr.sc. Ivani Murković Steinberg, bez koje ovaj rad ne bi bio moguć. Zahvaljujem se na ogromnom strpljenju i nesebičnoj pomoći prilikom istraživanja i konzultacija za vrijeme kojih su razvijene brojne inspiracije koje su reflektirane u izradi ovog rada. Preneseno znanje i vještine su mi uvelike pomogle za uspješan završetak studija.*

*Zahvaljujem se i asistentici Mariji Sigurnjak te dr.sc. Petru Kassalu na susretljivosti i svim korisnim savjetima koji su bili od velike pomoći za uspješan završetak ovog diplomskog rada.*

*Ne smijem zaboraviti i na ostatak osoblja na Zavodu za opću i anorgansku kemiju koji su sa svojim vedrim tonom uvijek stvorili vrlo ugodnu radnu atmosferu. Hvala!*

# Sadržaj

Sažetak ..... i

Abstract ..... iii

Popis korištenih kratica i simbola ..... v

1 Uvod ..... 1

1.1 Nosivi optički (bio)kemijski senzori na papiru i teksitlu ..... 2

1.2 Cilj istraživanja ..... 4

2 Opći dio ..... 5

2.1 Kemijski i (bio)kemijski senzori ..... 6

2.1.1 Klasifikacija (bio)kemijskih senzora ..... 7

2.1.2 Karakterizacija (bio)kemijskih senzora ..... 8

2.2 Implementacija optičkih (bio)kemijskih senzora ..... 10

2.2.1 Dizajn i princip optičke detekcije analita ..... 12

2.2.1.1 Spektroskopske tehnike ..... 13

2.2.2 Optički indikatori i imobilizacijske matrice ..... 16

2.2.2.1 Polimerne matrice ..... 17

2.2.2.2 Sol-gel matrice ..... 18

2.2.2.3 Tehnike imobilizacije ..... 19

2.2.3 Ion-selektivne optode ..... 20

2.3 Nosivi (bio)kemijski senzori ..... 23

2.3.1 Senzori na papiru i tekstilu ..... 25

2.3.2 Nosivi optički (bio)kemijski senzori ..... 26

2.3.2.1 Literaturni pregled ..... 26

3 Eksperimentalni dio ..... 33
3.1 Materijali i kemikalije ..... 34
3.2 Instrumenti ..... 35
3.3 Priprema reagensa ..... 35
3.3.1 Osjetilni kokteli ..... 35
3.3.2 Acetatni pufer ..... 36
3.3.3 Otopine analita ..... 36
3.4 Preliminarno istraživanje ..... 37
3.5 Priprava optoda na različitim supstratima ..... 38
3.5.1 Tankoslojni filmovi ..... 38
3.5.2 Optode na kromatografskom papiru ..... 39
3.5.3 Optode na tekstilu ..... 39
3.6 Ispitivanje osjetljivosti ..... 39
3.7 Spektroskospka karakterizacija ..... 40
3.7.1 Karakterizacija tankoslojnih filmova ..... 40
3.7.2 Karakterizacija optoda na kromatografskom papiru i tesktilu ..... 41
3.7.3 Određivanje parametara karakterizacije ..... 41
4 Rezultati i rasprava ..... 42
4.1 Rezultati preliminarnog istraživanja ..... 43
4.2 Tankoslojni filmovi ..... 44
4.3 Optode na kromatografskom papiru i tekstilu ..... 46
4.4 Parametri karakterizacije optoda ..... 50
4.4.1 Selektivnost ..... 51
4.4.2 Dinamičko područje i limit detekcije ..... 51

4.4.3 Vrijeme odziva ..... 52
4.4.4 Ponovljivost ..... 53
4.4.5 Obnovljivost i histereza ..... 54
4.4.6 Stabilnost ..... 56
5 Zaključak ..... 59
6 Literatura ..... 61
Životopis ..... 71

# Sažetak

*Nosivi optički (bio)kemijski senzori na papiru i tekstilu*

*Diplomski rad*

Zahvaljujući današnjim brojnim tehnološkim dostignućima, fokus istraživanja (bio)kemijskih senzora usmjeren je prema realizaciji nosivih analitičkih uređaja. Nosivi (bio)kemijski senzori su alati koji omogućavaju kontinuiranu i neinvazivnu analizu sadržaja bioloških fluida (npr. znoj, suze, slina, međustanična kapljevina ili dah) kao i detekciju određenih supstanci u okolišu nositelja senzora.

Optički (bio)kemijski senzori su vrsta (bio)kemijskih senzora pomoću kojih se dolazi do željene informacije pomoću interakcije s elektromagnetskim zračenjem. U literaturi se često spominju pod ključnom riječi „optode“, zbog velike sličnosti s njihovim elektrokemijskim ekvivalentima-elektrodama. Problemi kao što su odabir pogodnih materijala, izvor napajanja te vjerodostojnost prikupljenih podataka za analizu glavni su razlog komercijalne nedostupnosti nosivih kemijskih senzora. U zadnje vrijeme, sve je veći interes za korištenjem papira i tekstila kao supstratnih materijala. Dostupnost, pristupačnosti te niska cijena papira sasvim su opravdani razlozi za odabir takvog supstrata. S druge strane, tekstilni senzori su s praktičnog stajališta najinteresantniji kako bi se već nalazili integrirani u odjevnim predmetima.

Cilj ovog rada bio je ispitati dobro utvrđeni mehanizam ion-selektivnih optoda na različitim supstratima. Pripravljeni su senzori za kalij na bazi valinomicina i lipofiliziranog Nile Blue indikatorskog bojila, te je provedena njihova analitička karakterizacija s potencijalnom primjenom u analizi sadržaja znoja. U okviru ovog istraživanja, kromatografski papir se pokazao kao najbolji supstrat.

Eksperimentalni rezultati ispitivanja optoda na kromatografskom papiru su pokazali da dinamičko područje obuhvaća preko tri reda veličine ($10^{-1}$ M - $10^{-4}$ M $K^+$) koje je zadovoljavajuće za praktičnu primjenu s obzirom na činjenicu da se prosječna koncentracija kalijevih iona u znoju nalazi upravo u tom intervalu.

Treba naglasiti da je upotrebljivost ovih senzora limitirana zbog poznatog problema s ispiranjem osjetilnih komponenti senzora što pokazuju rezultati karakterizacije; obnovljivost, ponovljivost i stabilnost. Ovako pripravljene papirne kalij-selektivne optode bi se mogle koristiti za predviđenu aplikaciju u obliku jednokratnih test-traka.

**Ključne riječi:** (Bio)kemijski senzori · Optički · Nosivi · Ion-Selektivne Optode · Indikatorsko bojilo · Senzori na bazi papira · Senzori na bazi tekstila · Kalij · Znoj · Jednokratne test-trake

# Abstract

*Wearable paper and textile based optical (bio)chemical sensors*

*Master's thesis*

Numerous advancements in today's technology had impact on research of (bio)chemical sensors. Focus has been shifted towards realization of wearable analytical devices. Wearable (bio)chemical sensors are analytical tools that provide the opportunity for continuous and non-invasive analysis of body fluid content (such as sweat, tears, saliva, interstitial fluid or breath), as well as the ability to detect substances in the environment of their user.

Optical (bio)chemical sensors represent the subclass of (bio)chemical sensors where interaction with electromagnetic radiation is employed in order to extract useful information. They are most commonly named "optodes" in the literature, due to great similarity with their electrochemical equivalents-electrodes. Certain problems such as choosing appropriate materials, external power sources and credibility of harvested data still represent the challenge that needs to be resolved in order to start commercial production of wearable (bio)chemical sensors. A growing interest in using paper and textile as substrate materials has been observed. Availability and affordability of low-cost paper are main reasons to choose this material. On the other hand, textile-based sensors would be most practical due to simple integration with existing clothing material.

The ultimate goal of this thesis was to investigate the mechanism of ion-selective optodes on different substrates. Potassium-selective optodes based on valinomycin carrier and lipophilized Nile Blue indicator dye were fabricated with potential application in analyzing the sweat content. Fabrication of sensors was followed with their analytical characterization.

Experimental results have shown that chromatography grade paper seems to be the most appropriate substrate material, considering the investigated mechanism. Such paper-based optodes were characterized in greater detail, exhibiting dynamic range that covers over three orders of magnitude ($10^{-1}$ M - $10^{-4}$ M $K^+$), making them suitable for predicted application. Average potassium concentration in human sweat lies within that range.

It should be emphasized that the usability of these sensors is limited owing to the well-known leaching problem, where sensing components are being washed out of the system. Characterization parameters such as repeatability, reproducibility and stability have clarified that apparent problem. Paper-based potassium-selective optodes investigated in this research could therefore be used for predicted application as single-use, disposable paper strips.

**Keywords:** (Bio)chemical sensors · Optical · Wearable · Ion-selective optode · Indicator Dye · Paper-based senors · Textile-based sensors · Potassium · Sweat · Disposable paper strips

## Popis korištenih kratica i simbola

| | |
|---|---|
| $\varepsilon$ | Apsorptivnost (drugi naziv: molarni apsorpcijski koeficijent) |
| $\lambda$ | Valna duljina zračenja |
| $\tau_c$ | Životni vijek luminiscencije |
| $\Phi$ | Kvantni prinos |
| $A$ | Apsorbancija |
| $b$ | Duljina puta kojeg svjetlost mora prevaliti u mediju za vrijeme spektroskopskih mjerenja |
| $c$ | Množinska koncentracija tvari |
| $I_0$ | Intenzitet upadnog zračenja |
| $I_R$ | Intenzitet reflektiranog zračenja |
| $I_T$ | Intenzitet prolaznog zračenja |
| IoT | (eng. Internet of Things); sustav međusobno povezanih elektroničkih objekata („stvari“) koji posjeduju jedinstvene identifikacijske jedinice i sposobnost da razmjenjuju informacje putem mreže bez ljudske interakcije |
| IR | Infracrveno područje spektra elektromagnetskog zračenja |
| ISE | Ion-selektivne elektrode |
| ISO | Ion-selektivne optode |
| IUPAC | Međunarodna Unija za Čistu i Primijenjenu Kemiju (eng. International Union of Pure and Applied Chemistry) |
| LED | Svjetleća dioda (eng. Light Emitting Diode) |
| LOD | Limit detekcije (eng. Limit of Detection) |
| NFC | Komunikacija bliskog polja (eng. Near-Field Communication) |

| | |
|---|---|
| NIR | Područje spektra elektromagnetskog zračenja blizu IR (eng. Near Infrared) |
| NPT | (eng. Near Patient Testing); oblik testiranja pacijenata izvan bolnica zahvaljujući dostupnoj tehnologiji |
| PAD | Analitički uređaj na bazi papira (eng. Paper-based Analytical Device) |
| POC | (eng. Point of Care); noviji termin koji se počeo koristiti umjesto NPT |
| *R* | Reflektancija |
| RFID | Radio-frekvencijska identifikacija (eng. Radio Frequency Identification) |
| RGB | Kolorimetrijska detekcija na osnovu prepoznavanja tri glavnih boja; crvena (eng. Red), zelena (eng. Green), plava (eng. Blue) |
| *S* | Koeficijent raspršenja svjetlosti |
| SB | Solvatokromna bojila |
| UV | Ultraljubičasto područje spektra elektromagnetskog zračenja |
| VIS | Vidljivi dio spektra elektromagnetskog zračenja |

# 1 Uvod

## 1.1 Nosivi optički (bio)kemijski senzori na papiru i teksitlu

Zbog sve većih zahtjeva za *in-situ* kemijskim informacijama započet je globalni trend decentralizacije analitičkih laboratorija.[1–3] To se posebno reflektirao na zdravstveni sustav. Potreba za inovativnim rješenjima koja omogućuju brzu, jeftinu te učinkovitu njegu pacijenata bez prenapučenih bolnica je uzrokovala paradigmatsku promjenu; od reaktivne do proaktivne, preventivne medicine. Tranzicijom iz medicinskih laboratorija prema *near-patient testing* (NPT)[2] odnosno *point-of-care* (POC)[2,3] pristupu je omogućeno dijagnosticiranje i pružanje potrebne njege pacijentima kada i gdje god je to potrebno, bez posrednih institucija.

Kemijski i biokemijski senzori su analitički alati konstruirani s ciljem preoblikovanja (bio)kemijskih veličina iz ispitnog uzorka u razumljive izlazne signale. Sklonost prema sve manjim analitičkim alatima koji zamjenjuju ulogu masivnih laboratorijskih uređaja je rezultirala sve većim razvojem (bio)kemijskih senzora.[1] Razvijeni su brojni senzori koji se međusobno razlikuju po principu pretvaranja kemijskih veličina u ekvivalentne mjerljive fizikalne veličine. Među njima su prevladavajući optički i elektrokemijski senzori. Potonji tip je već preuzeo dominantnu ulogu u kliničkoj dijagnostici zahvaljujući izuzetnoj učinkovitosti, jednostavnosti te ekonomskoj pristupačnosti. Brojni komercijalno dostupni POC elektrokemijski analizatori su prenosivi, dimenzija ljudskog dlana, no ograničeni na invazivan pristup prikupljanja (bio)kemijskih informacija iz ljudske krvi.[4]

Dostignuća u nosivoj tehnologiji su privukla ogroman interes u području istraživanja. Fokus se usmjerio prema realizaciji nosivih (bio)kemijskih senzora, iza kojih stoji motivacija za izradom minimalno ili potpuno neinvazivnih analizatora. Takvi alati bi omogućili kontinuirano praćenje (bio)kemijskih supstanci u biološkim fluidima njihovog korisnika ili u njegovom okolišu. Kako bi se izbjeglo bolno i neugodno prikupljanje važnih (bio)kemijskih informacija, alternativni fluidi poput sline, suza, međustanične kapljevine, znoja[4–6] i daha[5] su u središtu interesa.

Za razliku od prenosivih analizatora, nosivi (bio)kemijski senzori u obliku ukrasnih (npr. narukvica) ili funkcionalnih (npr. pametni sat) naprava bi priuštili mogućnost nenametljivom pristupu (bio)kemijskim informacijama. Prema tome, takvi alati moraju biti lagani, odgovarajućih dimenzija te estetski prihvatljivi. A kada su u izravnom kontaktu s našim tijelima moraju biti ugodni, fleksibilni i naravno biokompatibilni.[6] Zahvaljujući lakoj integraciji sa jeftinim bežičnim komunikacijskim tehnologijama (kao npr. bluetooth), prikupljeni podaci bi se jednostavno prebacivali na pametne telefone ili slične uređaje. S razvojem ovih tehnologija je potaknut veliki interes za implementacijom nosivih (bio)kemijskih senzora za razne medicinske svrhe te potrebe učinkovitijeg fitness monitoringa.[4–6]

Optički (bio)kemijski senzori (tzv. „optode“) koriste elektromagnetsko zračenje za pretvorbu kemijskih veličina u mjerljive optičke signale. Prilikom interakcije sa uzorkom dolazi do promjena u različitim optičkim fenomenima u kojim je sadržana (bio)kemijska informacija.[7] U usporedbi sa dominantnim elektrokemijskim konkurentima, za optičku detekciju tvari nije potrebna dodatna referentna ćelija (kao što je to referentna elektroda kod elekrokemijskih), zbog čega je njihova minijaturizacija puno jednostavnija. Pored toga su otporne na utjecaj električnih interferencija što među ostalim uključuje i statički elektricitet našeg tijela.[8] Potonja činjenica je posebno važna za implementaciju nosivih optoda.

Interes za materijalima poput papira[9] i tekstila[10] je znatno porastao u istraživanju. Osim što su vrlo praktični supstrati u sustavu nosivih (bio)kemijskih senzora,[9–12] sve je veći interes i za implementacijom papirnih[13] odnosno tekstilnih[14] mikrofluidičkih *„lab-on-a-chip“* platforma. Za mikrofluidičke sustave je potreban vrlo mali volumen uzorka iz kojeg se može ekstrahirati ista (bio)kemijska informacija kao u klasičnom laboratorijskom pristupu.[15] Mikrofludičke POC platforme će sigurno zauzeti vrlo važnu ulogu u budućem zdravstvenom sustavu.[16] Zbog toga su potaknuta istraživanja usmjerena prema međusobnoj integraciji mikrofluidike i (bio)kemijskih senzora, kao osnove vrlo moćnih POC alata.[17–19]

## 1.2 Cilj istraživanja

U literaturnom istraživanju (poglavlje 2) su razjašnjenje ključne riječi diplomskog rada, od klasifikacije i karakterizacije (bio)kemijskih senzora s posebnim naglaskom prema implementaciji optoda te njihove integracije u sustav nosivih (bio)kemijskih senzora. Izdvojeni su praktični primjeri dostignuća u implementaciji nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora (2.3.2.1).

Izdvojeno je i posebno poglavlje za pojašnjenje mehanizma ion-selektivnih optoda (2.2.3) koje nude alternativno i praktično rješenje za detekciju biološki važnih elektrolita, u odnosu na njihove elektrokemijske ekvivalente; ion-selektivne elektrode.

Cilj eksperimentalnog istraživanja (poglavlje 3) jest izrada i spektroskopska karakterizacija ion-selektivnih optoda za analizu kalijevih iona za ciljani uzorak ljudskog znoja. Implementirane su kalij-selektivne optode na bazi valinomicina i lipofiliziranog *Nile Blue* optičkog indikatora, na različitim supstratima.

Nakon usporedbe eksperimentalnih rezultata (poglavlje 4) su izneseni argumenti za njihovu potencijalnu implementaciju u sustav nosivog optičkog (bio)kemijskog senzora.

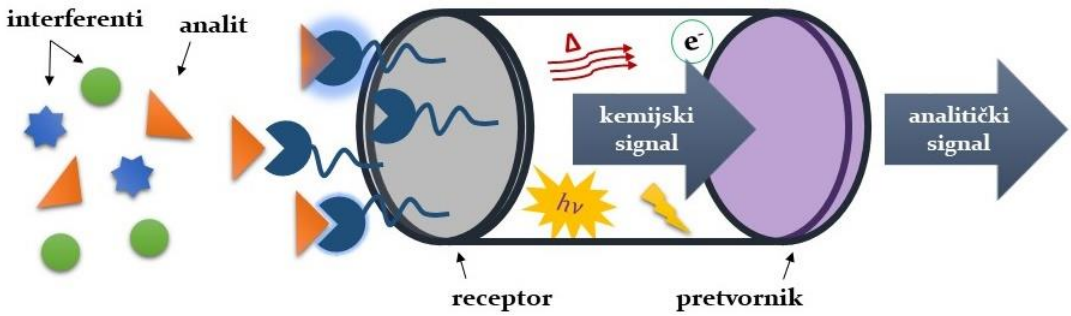
# 2 Opći dio

## 2.1 Kemijski i (bio)kemijski senzori

Senzor je uređaj koji je sposoban preoblikovati korisne informacije iz ispitivanog medija u mjerljive izlazne veličine, najčešće električne ili optičke.[20] IUPAC je definirao kemijske senzore kao uređaje koji pretvaraju kemijsku informaciju o uzorku, od koncentracije pojedinačne komponente (analita) pa sve do ukupnog sastava, u analitički koristan signal.[7]

Tipičan kemijski senzor sadržava dvije ključne funkcionalne jedinice (**slika 2.1**):

- ✓ Osjetilnu fazu, odnosno ***receptor***, gdje dolazi do prepoznavanja analita i generiranja kemijskog signala u kojem je sadržana tražena informacija.
- ✓ Fizikalno-kemijski ***pretvornik***, koji će prenijeti signal iz prethodne faze i preoblikovati njegovu energiju u mjerljivu izlaznu veličinu (analitički signal).




***Slika 2.1:*** *Shematski prikaz sastavnica i principa rada kemijskih senzora*

U implementaciji kemijskih senzora, funkcionalno djelovanje receptora je najčešće ostvareno uz pomoć tankog kemijskog sloja koji omogućava selektivnu interakciju s analitom, sudjelujući pritom u reakciji kao reaktant ili katalizator.[1] Uporaba bioloških aktivnih supstanci poput enzima ili antitijela u osjetilnoj fazi tvori osnovu biokemijskih senzora (ili skraćeno-biosenzora).[7,21]

(Bio)kemijski senzori se obično izrađuju za detekciju samo jednog, ciljanog analita. Za analizu potpunog sadržaja ispitivanog uzorka, različite vrste (bio)senzora se mogu udružiti u mnoštvo tvoreći tzv. senzorski niz (eng. sensor array).[7]

### 2.1.1 Klasifikacija (bio)kemijskih senzora

U literaturi je prevladavajući princip IUPAC-ove klasifikacije kemijskih i biokemijskih senzora prema načelu rada pretvorničke jedinice.[1,7] Tako se razlikuju:

**( a )** **Optički (bio)kemijski senzori;** interakcija analita i receptora uzrokuje promjene u optičkim fenomenima koje se preoblikuju u mjerljive optičke signale. Za detekciju optički neaktivnih analita se koriste indikatori koji mijenjaju vlastita optička svojstva prilikom interakcije.[7]

**( b )** **Elektrokemijski (bio)senzori;** elektrokemijska interakcija s analitom koja se odvija na površini modificirane elektrode se preoblikuje u izlazne veličine poput struje ili potencijala.[7] Mjerni pristup razvrstava:

**( b.1 )** Potenciometrijske senzore; kojima se mjeri potencijal indikatorske elektrode u odnosnu na referentnu elektrodu, pri konstantnoj struji.

**( b.2 )** Amperometrijske senzore; kojima se mjeri količina struje koja je produkt oksidacije ili redukcije reaktanta (analita) pri konstantnom potencijalu. Voltametrijski senzori, kao podgrupa amperometrijskih, služe za praćenje profila struje pri promjenjivom potencijalu.

**( c )** **Električni (bio)kemijski senzori;** interakcija s analitom uzrokuje promjene električnih svojstava poput vodljivosti ili otpornosti, ali u ovom slučaju analit nije konzumiran u elektrokemijskoj reakciji.[7]

**( d )** **(Bio)kemijski senzori osjetljivi na masu;** akumulacija analita na posebno modificirane površine se registrira kao analitički signal. Tipičan primjer ovakvog tipa su piezoelektrični senzori koji se temelje na adsorpciji analita na kvarcnu površinu, što uzrokuje promjenu u frekvenciji oscilacije kristala.[7]

**( e )** **Magnetski (bio)kemijski senzori;** preoblikuju promjene paramagnetskih svojstva plinovitih analita (implementirani uglavnom za detekciju $O_2$).[7]

**( f )** **Termometrijski (bio)kemijski senzori;** zasnivaju se na mjerenju toplinskih svojstva koja se oslobađaju uslijed fizikalnog vezanja analita ili za vrijeme (bio)kemijske reakcije.[7]

### 2.1.2 Karakterizacija (bio)kemijskih senzora

Postoje točno definirani analitički kriteriji prema kojima se provodi karakterizacija analitičkih postupaka i validacija dobivenih rezultata. Neki od tih kriterija se mogu primijeniti i na analitičke uređaje.[1] Ispitivanjem određenih parametra se definira njihova učinkovitost te određuje područje moguće primjene.

Izdvojeni su tipični parametri karakterizacije (bio)kemijskih senzora:

**( 1 )** **Osjetljivost;** sposobnost da se izlazni signal mijenja s promjenom koncentracije analita. Nagib kalibracijske krivulje jasno ukazuje na ovaj parametar (bio)kemijskog senzora;[1] što je strmiji, to je osjetljivost izraženija.

**( 2 )** **Dinamičko područje;** mjerno područje omeđeno koncentracijskim rasponom od najmanje vrijednosti koju je moguće detektirati (limit detekcije) do gornje limitirajuće koncentracije.[1] (Bio)kemijski senzori se ciljano izrađuju da pokriju određeno dinamičko područje. Izlazne signale izvan tih granica će biti nemoguće interpretirati, a osim toga u nekim slučajevima može doći do fizičkog oštećenja samog senzora.[22]

**( 3 )** **Limit detekcije;** vrijednost definirana kao najniža koncentracija analita koju je moguće detektirati u točno definiranim uvjetima mjerenja (eng. limit of detection, LOD). Postupak određivanja limita detekcije će se razlikovati od slučaja do slučaja, ovisno o tipu ispitivanog (bio)kemijskog senzora.[1]

**( 4 )** **Selektivnost;** sposobnost detekcije analita u prisustvu interferenata (npr. senzor za $O_2$ koji neće davati nikakve izlazne signale u prisustvu $CO_2$ ili $NO_x$ se smatra izrazito selektivnim).[22] Za određene tipove (bio)kemijskih senzora, ovaj parametar se može izraziti kvantitativno. U slučaju elektrokemijskih senzora se definira *koeficijent selektivnosti*.[1]

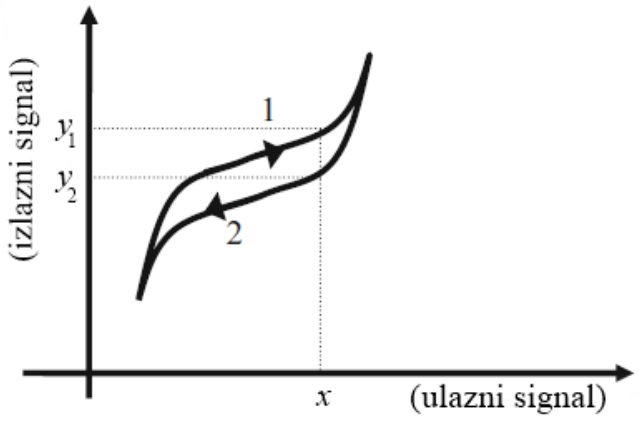
**( 5 )** **Vrijeme odziva;** interval koji je potreban da se registrira potpuna promjena izlaznog signala do stabilne vrijednosti. Kvantitativno se iskazuje u dimenzijama vremena kao ona vrijednost koja je potrebna da se dostigne određeni postotak izlaznog signala (najčešće 95%).[22]

**( 6 )** **Ponovljivost;** sposobnost generiranja istih izlaznih vrijednosti prilikom niza uzastopnih mjerenja, obavljenim pri istim mjernim uvjetima. Time se utvrđuje i mogućnost korištenja senzora kao jednokratnog ili višekratnog.[22]

**( 7 )** **Obnovljivost;** sposobnost generiranja istih izlaznih vrijednosti dok su mjerenja obavljena pri različitim mjernim uvjetima. To uključuje slučajeve kada se mjerenja uzorka provode sekvencijalno kroz dulje vremenske periode ili ih ne obavlja uvijek isti analitičar.[22]

**( 8 )** **Stabilnost;** sposobnost da se zadrži ista izlazna vrijednost kada se mjerenje istog uzorka provodi kroz određeni vremenski period.[22] Kod optičkih (bio)kemijskih senzora može doći do ispiranja indikatora iz osjetilne faze ili njihovog foto-izbjeljivanja, što će znatno utjecati na stabilnost.[8]

**( 9 )** ***Histereza*;** najveća razlika u izlaznim signalima kada se mjerenja provode uz postupnu promjenu koncentracije analita, u različitim smjerovima.[1] Na slici je prikazan primjer krivulje histereze (**slika 2.2**)[22]; smjer „1“ pokazuje rezultate mjerenja s postupnim povećanjem koncentracije analita (ulazni signal, $x$), dok smjer „2“ prati padajući trend. Razlika u izlaznim vrijednostima je očita (primjer $y_1$ i $y_2$ za vrijednost koncentracije $x$).




***Slika 2.2:*** *Primjer krivulje histereze [22]*

## 2.2 Implementacija optičkih (bio)kemijskih senzora

Optički (bio)kemijski senzori koriste elektromagnetsko zračenje kao izvor pobude analitičkog signala u pretvorniku. Interakcija analita i receptora uzrokuje promjene u optičkim fenomenima koje je moguće mjeriti u različitim spektralnim područjima (UV, VIS, IR, NIR).[23] Prve izvedbe optičkih (bio)kemijskih senzora su sadržavale (bio)senzorske komponente imobilizirane na optičkom vlaknu, koje je služilo za prijenos kemijskog signala putem svjetlosti do detektora. U literaturi su kolokvijalno prozvane „optroda“ prema lingvalnoj analogiji sa njihovim elektrokemijskim ekvivalentima, elektrodama.[24] Time je naglašena sličnost u prikupljanju (bio)kemijskih informacija putem interakcije s fotonima, odnosno elektronima. Optičko vlakno je u ovom pogledu optički ekvivalent elektrode, koja kod elektrokemijskih senzora služi za prijenos kemijskog signala putem elektrona i zatim se preoblikuje u izlazne veličine poput struje ili potencijala. Prema tome, implementacija optičkih (bio)kemijskih senzora je ekvivalentna elektrokemijskim (bio)senzorima. Kasnije je u literaturi prevladao jednostavniji naziv „optoda“, što iz grčkih korijena riječi (οπτιχοσ οδοσ) znači „optički princip“[24] i taj je termin uvažen za sve izvedbe (bio)senzora za optičkim preoblikovanjem kemijskih signala.

Kvaliteta izlaznih optičkih signala ovisit će o svim radnim komponentama jedne opt(r)ode, što osim osnovnih funkcionalnih jedinica (pretvornik i receptor) uključuje vanjski izvor svjetlosti te elektroniku i software za prikupljanje (fotodetektor) i obradu podataka.[25] Prilikom implementacije, posebnu pažnju treba obratiti na intrinzična optička svojstva ciljanog analita. Za optički neaktivne analite se u (bio)senzorski sustav moraju uvesti optički indikatori. To su najčešće sintetičke molekule bojila koje u prisustvu analita mijenjaju vlastita optička svojstva.[25–27] Prilikom interakcije sa elektromagnetskim zračenjem indikatori će generirati odgovarajući optički signal koji je proporcionalan sadržaju (bio)kemijske informacije. Dakle, optički indikatori preuzimaju ulogu kemijskih pretvornika za tvari koje se spektroskopski ne mogu izravno detektirati.[27]

U neizravnom pristupu optičke detekcije analita, osjetilna faza se izrađuje na način da se receptorske komponente (bio)kemijskog senzora imobiliziraju zajedno sa optičkim indikatorima na površini ili unutar organskih i anorganskih matrica,[25,26] koje se mogu proizvesti u nekoliko različitih konfiguracija i integrirati sa optičkim vlaknima[26–29] ili jednostavnijim supstratima poput stakla, plastike ili silikona,[26] te papirom[30] odnosno tekstilom.[31]

Interes za istraživanjem i razvojem optoda je porastao zbog raspoloživosti jeftinih minijaturiziranih izvora svjetlosti i fotodetektora.[26] Komercijalno dostupne te energetski minimalno zahtjevne LED-ice, kompatibilne sa brojnim raspoloživim fotodetektorima, su uvelike doprinijele istraživanju.[32] Time je omogućen još jednostavniji dizajn minijaturiziranih optičkih analizatora. Od svih dotaknutih načina preoblikovanja kemijskih veličina u analitičke signale (poglavlje 2.1.1), optički i elektrokemijski su dva najrasprostranjenija tipa u istraživanju. U njihovoj usporedbi, optode odlikuju brojne prednosti, a izdvojene su sljedeće:[8]

**p.1)** Referentna ćelija (elektroda) nije potrebna.

**p.2)** Jednostavna minijaturizacija omogućava implementaciju vrlo malih, laganih i fleksibilnih senzora.

**p.3)** Dostupnost svjetlovodnih platformi na bazi optičkih vlakna omogućuje prijenos optičkih signala na velikim udaljenostima.

**p.4)** Optički signal je otporan na električke interferencije, snažna magnetska polja i površinski potencijal senzorskog sučelja.

Također se moraju napomenuti i najčešće istaknuti nedostaci:[8]

**n.1)** Ambijentalno svjetlo djeluje kao interferent. Zbog toga su primjenjive samo u mračnim ili zatamnjenim okruženjima, odnosno u ostalim slučajevima moraju biti dobro izolirane.

**n.2)** Optički indikatori su podložni ispiranju iz sustava i foto-izbjeljivanju.

**n.3)** Materijali koji se koriste za izradu optički vodljivih platformi (vlakna) mogu uzrokovati šum u izlaznom signalu.

### 2.2.1 Dizajn i princip optičke detekcije analita

Cjelokupni dizajn optičkog (bio)kemijskog senzora ima vrlo važnu ulogu za kvalitetu izlaznih rezultata. Prije same izrade, treba pomno razmotriti sve korake koji vode do pretvorbe signala, što će u konačnici rezultirati razvojem i implementacijom vrlo učinkovitih optoda sa integriranim sustavom dovoda svjetlosti i intrinzične funkcionalnosti senzora. Prema geometriji, razlikuju se dva osnovna dizajna; optode na bazi optičkih vlakna i planarne optode.[26]

U početku istraživanja je dominantni dizajn bio na bazi optičkih vlakna. Takve optode omogućuju *in-situ* mjerenja na lokacijama inače teško dostupnim za konvencionalnu spektroskopsku analizu, zbog jednostavnog prijenosa svjetlosti od izvora do detektora na velikim udaljenostima.[28] Danas se mogu nabaviti vrlo kvalitetna mikro-optička vlakna po povoljnim cijenama koje odlikuje visoka preciznost, fleksibilnost i velika otpornost na utjecaj vanjskih interferencija.[29]

Nešto jednostavnije planarne optode u suštini tvore osnovu senzorskog čipa. U takvom pristupu, (bio)senzorske komponente su imobilizirane na planarnim supstratima poput stakla, plastike ili silikona, a princip rada se zasniva na osvjetljavaju supstrata eksternim izvorom svjetlosti (najčešće LED) dok se izlazni signali prikupljaju u odgovarajućem fotodetektoru (fotodioda). Interes za planarnim optodama je sve veći zbog jednostavnosti njihove izvedbe i geometrije koja omogućava laku integraciju sa mikrofluidičkim platformama odnosno *lab-on-a-chip* sustavima.[26] Primjer planarnih supstrata su također papir i tekstil te su mnoga istraživanja usmjerena prema realizaciji papirnih[13] i tekstilnih[14] mikrofluidičkih platforma koje se mogu integrirati sa (bio)senzorskim komponentama.[17,18] Za razliku od elektroda i svih potrebnih radnih žica, optoelektronički elementi ne moraju biti mehanički povezani sa platformom, što omogućuje fleksibilnost u dizajnu. Zato su optički (bio)kemijski senzori preferirani u odnosnu na elektrokemijske (bio)senzore prilikom konstrukcije mikrofluidičkih analizatora.[18]

*2.2.1.1 Spektroskopske tehnike*

Osim u dizajnu, princip optičke detekcije analita će se razlikovati prema primijenjenoj spektroskopskoj tehnici. Za optičku detekciju analita je moguće primijeniti tehnike koje se temelje na mjerenju apsorpcije, raspršenja i refleksije svjetlosti, intenziteta luminiscencije, indeksa refrakcije i rezonancije površinskih plazmona, te fototermalnih efekta koji se oslobađaju prilikom apsorpcije.[7]

U implementaciji prenosivih ili nosivih (bio)senzorskih sustava treba uzeti u obzir i energetsku zahtjevnost potrebne instrumentacije. Npr. za mjerenje indeksa refrakcije i rezonancije površinskih plazmona su potrebni laserski izvori i vrlo kompleksne konfiguracije mjernog sustava[33] što bi energetski, a i ekonomski dodatno opteretilo cjelokupnu izvedbu. Također, mjerenja fototermalnih efekta nisu najpraktičnija za nosive (bio)kemijske senzore zbog interferencija koje bi uzrokovala termalna emisija naših tijela, posebno prilikom sportskih aktivnosti. Sljedeće minimalno zahtjevne spektroskopske tehnike su najrasprostranjenije;

**( i )  Apsorbancija;** ova spektroskopska tehnika se temelji na mjerenju intenziteta svjetlosti koju apsorbira optički aktivan analit ili odgovarajući indikator, prilikom prolaska elektromagnetskog zračenja u transparentnom mediju.[7] Apsorpcijom energije fotona dolazi do promjene u energetskim stanjima molekula u uzorku; elektroni iz osnovnog energetskog stanja bivaju ekscitirani u kratkoživuća pobuđena stanja. Kapacitet apsorpcije optički aktivnih supstanci se definira apsorbancijom ($A$), kao dekadski logaritam omjera intenziteta upadnog ($I_0$) i prolaznog zračenja ($I_T$). Lamber-Beer-ovim zakonom je povezan odnos intenziteta zračenja točno definirane valne duljine ($\lambda$) i koncentracije optički aktivne vrste:[34]

$$(A)_\lambda = \left(\log \frac{I_0}{I_T}\right)_\lambda = \varepsilon \cdot b \cdot c \qquad (1)$$

, gdje su: $c$ = koncentracija apsorbirajuće vrste (analit ili indikator); $b$ = duljina puta kojeg elektromagnetsko zračenje mora prevaliti u mediju; $\varepsilon$ = konstanta proporcionalnosti koja se naziva apsorptivnost ili molarni apsorpcijski koeficijent.

U suštini, apsorptivnost govori o vjerojatnosti elektronskih tranzicija među energetskim stanjima molekule. Što je taj koeficijent veći, to su posljedično moguće niže detekcije optički aktivnih vrsta.[34] Prema tome, prilikom odabira optičkih indikatora valja uzeti u obzir i njihovu vrijednost $\varepsilon$.

**( ii )  Luminiscencija;** fenomen emisije koji nastaje kada ekscitirani elektron povrati svu ili dio apsorbirane energije izvornog zračenja pri povratku u osnovno stanje.[34] Svjetlost može intrinzično emitirati analit ili luminiscencijski indikator. Ovaj fenomen može biti fizikalnog podrijetla, kao posljedica apsorpcije energije elektromagnetskog zračenja (fotoluminiscencija), ili rezultat energetskih promjena za vrijeme (bio)kemijske reakcije (kemiluminiscencija). Neki živi organizmi (npr. krijesnice) mogu također izazvati emisiju svjetlosti kao nusprodukt metaboličkih reakcija (bioluminiscencija). Nakon apsorpcije energije fotona, emisija svjetlosti će trajati određeno vrijeme koje se naziva životnim vijekom ili vremenom gašenja ($\tau_c$). Prema tome se razlikuju fluorescencija ($\tau_c < 10^{-8}$ s) i fosforescencija ($\tau_c > 10^{-8}$ s).[35]

Osim mjerenja intenziteta emisije (najčešće fluorescencije), također se može mjeriti i životni vijek luminiscencije ($\tau_c$). Treba uzeti u obzir da je u potonjem slučaju instrumentacija puno skuplja.[25] Važan fotokemijski parametar koji je povezan za životnim vijekom luminiscencije jest kvantni prinos ($\Phi$), a predstavlja omjer broja fotona koji je emitiran u odnosu na broj apsorbiranih fotona.[36] Prilikom odabira luminiscencijskih indikatora, također valja uzeti u obzir i njihovu vrijednost $\Phi$.

Intenzitet fluorescencije ($I_f$) u odnosu na apsorbirano izvorno zračenje ($I_0$) se može opisati sljedećim linearnim odnosom;[34]

$$I_f = 2{,}303 \cdot I_0 \cdot \Phi \cdot \varepsilon \cdot b \cdot c \qquad (2)$$

gdje su: $c$ = koncentracija luminiscirajuće vrste (analit ili indikator); $b$ = duljina puta kojeg elektromagnetsko zračenje mora prevaliti u mediju; $\varepsilon$ = apsorptivnost ili molarni apsorpcijski koeficijent; $\Phi$ = kvantni prinos.

**( iii )  Reflektancija;** ova tehnika se primjenjuje kada je potrebno obaviti mjerenja u svjetlosno nepropusnim medijima (kao što su papir i tekstil), uglavnom uz korištenje optičkih indikatora.[7] U suštini se mjeri intenzitet reflektirane zrake ($I_R$) u odnosu na izvornu ($I_0$), nakon što je odbijena od površine mjerenog medija. Reflektancija je definirana kao omjer tih dvaju intenziteta[37];

$$R = \frac{I_R}{I_0} \tag{3}$$

Za povezivanje odnosa intenziteta zračenja i koncentracije optički aktivnih vrsta se najčešće primjenjuje model kojeg su postavili Kubelka i Munk. Osnovna pretpostavka KM modela jest da je upadno i reflektirano zračenje savršeno difuzno. Mjerni principi difuzne reflektancije su analogni mjerenju apsorbancije, a K-M model definira reflektanciju kao funkciju apsorpcije i raspršenja svjetlosti koju uzrokuju optički aktivne supstancije (indikatori) i čestice u supstratnim materijalima (poput papira ili tekstila);[38]

$$f(R)_\lambda = \left(\frac{(1-R)^2}{2R}\right)_\lambda = \frac{\varepsilon \cdot c}{S} \tag{4}$$

, gdje su gdje su: $c$ = koncentracija apsorbirajuće vrste (uglavnom indikator); $\varepsilon$ = molarni apsorpcijski koeficijent (apsorptivnost); $S$ = koeficijent raspršenja svjetlosti. Treba naglasiti da je KM model, poput Lambert-Beer-ovog zakona, primjenjiv samo za monokromatsko zračenje. Na taj način se dobiveni rezultati mogu usporediti sa mjerenjima apsorbancije. Koeficijenti apsorpcije i raspršenja u KM modelu su konstante koje se mogu odrediti za svaku valnu duljinu upadnog zračenja.[39]

### 2.2.2 Optički indikatori i imobilizacijske matrice

Prema promatranom optičkom fenomenu, indikatori se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine; kolorimetrijski i luminiscencijski. Indikatori za kolorimetrijska mjerenja (apsorbancija i reflektancija) sadržavaju kromofore, dijelove molekule (atomi ili skupine) koji su odgovorni za specifičnu promjenu boje. S druge strane, indikatorske molekule sa luminoforama izazivaju emisiju svjetlosti.[26,27]

Odabir indikatora ovisit će o aplikaciji. Prve optode za detekciju kisika su predstavljene kao konkurencija Clarkovoj kisikovoj elektrodi.[40] Princip rada takvih optoda se zasniva na fenomenu kojeg je prvi objasnio Kautsky,[41] a riječ je o gašenju fluorescencije prilikom sudara s molekulama plina (eng. quenching). U osjetilnoj fazi se nalaze luminiscencijski indikatori poput porfirinskih ili rutenijevih kompleksa čiji se intenzitet emitiranog zračenja smanjuje proporcionalno parcijalnom tlaku kisika, $pO_2$.[24,40] Postoje brojni raspoloživi „quenching“ indikatori za potpuno reverzibilno mjerenje intenziteta ili životnog vijeka luminiscencije.[42]

Indikatori za kontrolu pH su uglavnom slabe kiseline (rijetko kad i slabe baze) čija boja ili intenzitet luminiscencije ovisi o stupnju disociranosti. Njihova $pK_a$ vrijednost će u konačnici odrediti dinamičko područje optičkog (bio)kemijskog senzora. Indikatori se pri toj vrijednosti nalaze u ekvimolarnoj distribuciji njihovog protoniranog (asociranog) odnosno deprotoniranog (disociranog) oblika, a dinamičko područje obuhvaća raspon u kojem je moguća njihova asocijacija odnosno disocijacija.[27] Azo bojila su najčešće korišteni pH indikatori te kombinacijom nekoliko takvih molekula sa različitim vrijednostima $pK_a$ moguće je ostvariti vrlo široko dinamičko područje.[43]

Za detekciju ionskih vrsta se koriste sustavi u kojima je glavna receptorska komponenta ionofor; ligand koji služi za selektivno kompleksiranje i reverzibilni transport ciljanog iona (analita) u osjetilnu matricu.[44] U optičkom pristupu detekcije se koriste ionofori sa kromofornim ili luminofornim aktivnim skupinama, izravno kao jedinstvene molekule ili u obliku dvostruko-ionoforskog sustava.[44,45]

U prvom slučaju, kromofor ili luminofor se nalazi direktno na koordinacijskim mjestima liganda, tvoreći tako kromogenizirani odnosno luminogenizirani ionofor koji može izravno generirati odgovarajuće optičke signale. S druge strane, u dvostruko-ionoforskom sustavu analit se detektira neizravno. U takvom pristupu jedan optički neaktivan ionofor služi kao receptor, a drugi kao indikator. Indikatorski ionofori se u literaturi često nazivaju kromoionoforama odnosno luminoionoforama. To su uglavnom lipofilne molekule koje prilikom stvaranja kompleksa receptor-analit (ionofor-ion) otpuštaju proton te mijenjaju optička svojstva prema stupnju disocijacije. U suštini, kromo/luminoionofori su lipofilni pH indikatori jer su selektivne isključivo za $H^+$ ione.[44,45]

Još jedan pristup u indikatorskoj kemiji jest korištenje dvo-indikatorskog sustava u kojem jedan indikator služi kao referent, pa se umjesto jednog apsolutnog izlaznog signala generiraju dva i zapravo se mjeri njihov omjer. Na taj način se može eliminirati utjecaj vanjskih interferencija poput fluktuacija u izvoru zračenja.[25]

#### *2.2.2.1 Polimerne matrice*

Najčešće korištene imobilizacijske matrice su na bazi polimera. Osnovna uloga polimerne matrice jest da drži senzorske komponente fiksiranim kako bi se spriječilo njihovo ispiranje iz osjetilne faze. Odabrani polimer mora omogućiti dobru permeabilnost analita i ne smije posjedovati intrinzična optička svojstva. Sposobnost polimerne matrice da spriječi ispiranje indikatora i ostalih komponenti te njena kemijska i fizikalna postojanost znatno će utjecati na karakteristike senzora, posebice na stabilnost. Polimeri sa visokom temperaturom stakliša su lako lomljivi zbog čega bi u izvornom obliku podbacili u osnovnim zahtjevima. No korištenje odgovarajućih plastifikatora rješava taj problem. Prednost plastificiranih membrana jest što se kombinacijom polimera sa različitim plastifikatorima može utjecati na njihovu polarnost odnosno lipofilnost, što posljedično utječe na osjetljivost i selektivnost (bio)kemijskog senzora.[46]

Polimeri koji su najčešće u primjeni su polistiren (PS), polivinil klorid (PVC), polimetil metakrilat (PMMA), polidimetil siloksan (PDMS), politetrafluoretilen (PTFE) te razni derivati celuloze.[26,46]

#### *2.2.2.2 Sol-gel matrice*

Sol-gel postupak za izradu anorganskih matrica je krajnje jednostavan. Hidrolizom i polikondenzacijom alkoksidnih prekursora nastaju anorganske mreže, a indikatori i ostale senzorske komponente se zarobe prilikom njihovog formiranja. Tako nastala mreža je transparentna i omogućuje difuziju analita, što je čini prikladnom za optičke senzorske aplikacije. Mogućnost samostalne izrade jeftinih i prilagođenih matrica je velika prednost u odnosu na korištenje već dostupnih polimera, a osim toga sol-gel matrice pokazuju znatno izraženiju fotostabilnost. No njihov glavni nedostatak je slaba postojanost na visokim temperaturama, gdje većina polimernih matrica prednjači.[26] Sol-gel proces se sastoji od sljedećih koraka:

$$\equiv Si–OR + H_2O \rightarrow \equiv Si–OH + ROH \qquad \text{Hidroliza}$$

$$\equiv Si–OR + HO–Si\equiv \rightarrow \equiv Si–O–Si\equiv + ROH \qquad \text{Kondenzacija}$$

Najčešće korišteni prekursori su tetrametoksilani (TMOS) i tetraetoksilani (TEOS). Standardni postupak izrade sol-gel matrice jest otapanje monomerskih prekursora u mješavini vode i pomoćnog otapala (alkohola) čime se dobiva heterogena „sol“ otopina, sastavljena od dispergiranih koloida. Uz korištenje kiselih ili baznih katalizatora, otopina polako postaje sve viskoznija te povezivanjem alkoksida u procesu polikondenzacije se počinje stvarati porozan „gel“. Fizikalno-kemijska svojstva dobivene mreže ovise o svim prethodnim koracima; vrsta prekursora, pH i koncentracija katalizatora, omjer vode i monomerskih jedinica te priroda pomoćnog otapala. Njihovom kontrolom se utječe na poroznost, površinu, prozirnost, debljinu i mehanička svojstva matrice. Prilikom „sol“ faze, u otopinu se mogu dodati indikatori i ostale komponente koje su onda zarobljene u „gel“ fazi.[23]

*2.2.2.3 Tehnike imobilizacije*

Osim odabira indikatora i imobilizacijske matrice, na radne karakteristike (bio)senzora će znatno utjecati i način na koji su senzorske komponente imobilizirane, odnosno vezane s matricom. Ukoliko je ta veza slaba, intuitivno je jasno da će upotrebljivost senzora biti ograničena. Jedan od najčešćih problema koji se pojavljuje u istraživanju jest ispiranje sadržaja membrane u uzorak, što osim kontaminacije ispitivanog uzorka utječe i na stabilnost senzora.

Prema prirodi veze, razlikuju se fizikalni i kemijski načini imobilizacije. Najjednostavnije fizikalno vezanje jest adsorpcija, no zbog prirode takve veze se dugoročno gubi stabilnost radi neizbježnog ispiranja. Jedna od najčešćih strategija fizičkog zarobljavanja u polimernu matricu jest priprava tzv. „osjetilnog koktela" koji se sastoji od lipofilnih osjetilnih komponenti koje su topive u lipofilnom polimeru, a sastojci su pomiješani u „privremenom otapalu" (npr. tetrahidrofuran). Tako pripravljeni koktel se zatim nanosi na odabrani supstrat (vrh optičkog vlakna, komad plastike, stakla, papir ili tekstil), nakon čega će pomoćno otapalo ispariti dok (bio)senzorske komponente ostaju matrično imobilizirane na supstratu.[27] Fizičko zarobljavanje u sol-gel anorganske mreže je već opisano u prethodnom poglavlju; osjetilne komponente su dopirane u „sol" fazi i kasnije zarobljene u „gel" fazi.[23,47]

Takvi pristupi su ekonomski opravdani i krajnje jednostavni, no uvijek popraćeni neizbježnim ispiranjem sadržaja membrane. Stoga bi ostvarivanje jačih veza, poput kovalentne kemijske veze, eliminiralo takav problem. Neki indikatori se mogu kovalentno vezati za polimere zbog reaktivnih kemijskih grupa na molekulama ili u samom procesu polimerizacije, gdje se kemijski povezuju sa monomerima.[46] Dok je problem ispiranja tako riješen, kovalentni način vezanja znatno utječe na njihova svojstva i često dolazi do pomaka u $pK_a$ vrijednosti u slučaju (lipofilnih) pH indikatora, što znatno utječe na karakteristike senzora.[27,46] Kovalentnim vezanjem sa sol-gel matricama je također dokazano da ne dolazi do ispiranja, no ispostavilo se da je takva priroda veze odgovorna za slabiju osjetljivost i duže vrijeme odziva.[47]

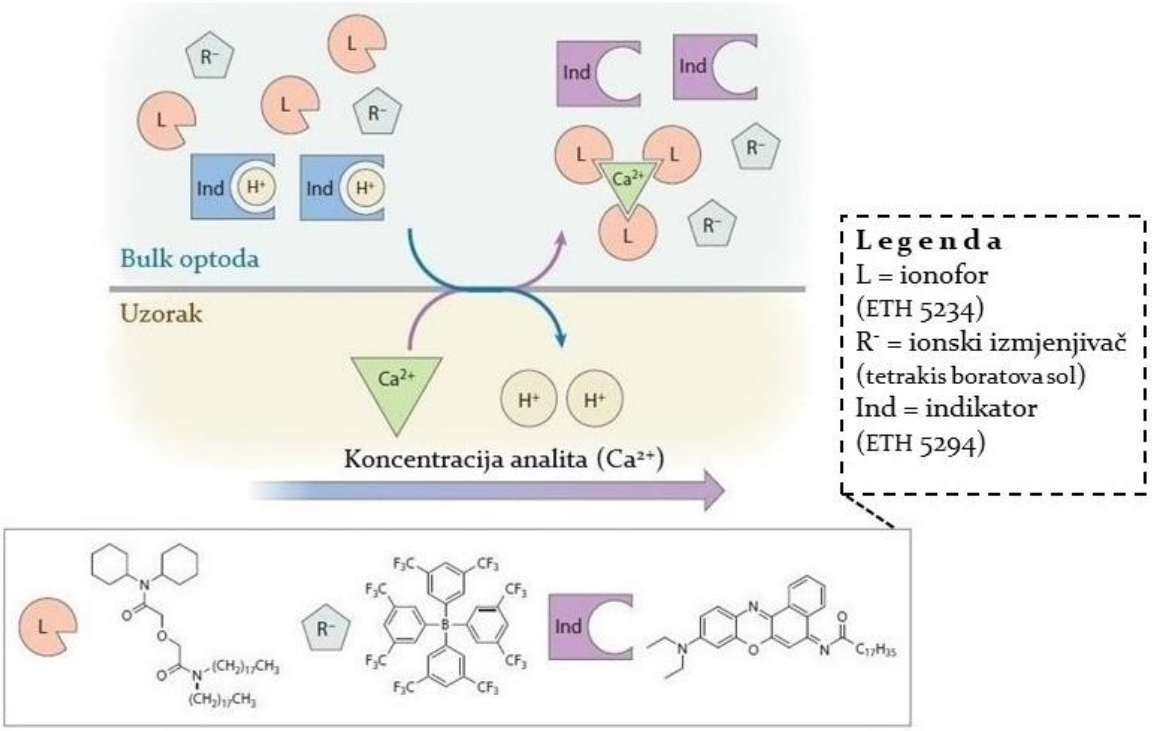
### 2.2.3 Ion-selektivne optode

Na razvoj optoda za detekciju ionskih vrsta je znatno utjecao razvitak ion-selektivnih elektroda (ISE) kroz broja inovativna dostignuća.[48] Fokus se usmjerio prema implementaciji ISE na bazi polimernih membrana koje sadržavaju ionofore kao glavnu receptorsku komponentu i ne zahtijevaju unutarnju referentnu kapljevinu, što je predstavljalo probleme u klasičnom dizajnu ISE. Osim što bi time bila otežana minijaturizacija, referentne kapljevine su podložne isparivanju.[48,49] Posljedično su razvijene tzv. čvrstofazne referentne elektrode i ISE,[49] a kasnije i njihovi optički ekvivalenti, ion-selektivne optode (ISO).[44,45,50,51]

Prema načinu na koji su osjetilne komponente imobilizirane u/na matrici, razlikuju se ISO temeljene na površinskim fenomenima i tzv. bulk optode.[50] U prvom slučaju, komponente se nalaze na površini matrice te su u neposrednom kontaktu sa ispitivanim uzorkom. S druge strane, potonji pristup podrazumijeva da su komponente vezane odnosno zarobljene unutar matrice te se princip detekcije analita zasniva na transportu mase iz uzorka u središte (eng. bulk) matrice. Optički signal je tada rezultat postignute termodinamičke bulk-uzorak ravnoteže.[45,50] Površinske optode nisu toliko istražene i glavnina istraživanja je usmjerena prema implementaciji bulk ISO koje su potpuno ekvivalentne čvrstofaznim ISE.[44,45,51]

Dok je u nekim istraživanjima demonstriran optički princip detekcije ionskih vrsta pomoću kromogeniziranih[52–54] i luminogeniziranih ionofora,[55–57] bulk optode na temelju dvostruko ionoforskog sustava su daleko rasprostranjenije. Njihova velika prednost jest što je „preuzeta“ odlična selektivnost prema ciljnom analitu od dostupnih optički neaktivnih ionofora koje se koriste kod njihovih elektrokemijskih ekvivalenata.[44,45] Dokazano je da je selektivnost istih ionofora jednako učinkovita u ISO sustavu kao kod membranskih ISE.[58] Dvostruko ionoforski sustav omogućuje jednostavan i fleksibilan dizajn ISO, zahvaljujući brojnim različitim kombinacijama ionofora sa lipofilnim pH indikatorima čime se određuje dinamičko područje i selektivnost optičkog (bio)senzora.[45]

Postoji širok spektar dostupnih ionofora za detekciju ionskih vrsta u ISO ili ISE sustavima,[59] koje se mogu kombinirati za različitim lipofilnim pH indikatorima u dvostruko ionoforskom ISO sustavu.[44,45] Najčešće kombinacije tvore ISO sustav čiji se mehanizam temelji na selektivnoj ekstrakciji analita (iona) iz uzorka u bulk matrice, što je popraćeno koekstrakcijom referentnog iona suprotnog naboja ($H^+$ ion od indikatora) ili ionskom izmjenom gdje se analit zamjenjuje sa referentnim ionom istog naboja. Sustavi temeljeni na koekstrakciji iona se obično koriste za detekciju aniona, dok se princip ionske izmjene koristi za detekciju kationa. Zbog toga se u membranu dodaju i lipofilne soli koje imaju ulogu ionskih izmjenjivača te održavaju njenu elektroneutralnost.[44,45] Kationske ISO najčešće sadržavaju lipofilnu sol i neutralne ionofore u kombinaciji sa neutralnim indikatorima, dok anionske ISO pored izmjenjivačke soli i neutralnih ionofora sadržavaju električki nabijene molekule indikatora.[51] Shematski je prikazan mehanizam rada ISO za detekciju kationa (**slika 2.3**), koje su istražene u eksperimentalnom dijelu ovog rada.




***Slika 2.3:*** *Princip rada kation-selektivnih optoda [45]*

Za razliku od njihovih elektrokemijskih ekvivalenta (membranske ISE) kod kojih je analitički signal izravno proporcionalan aktivitetu analita, na odziv dvostruko ionoforskih ISO će također utjecati i aktivitet referentnog iona (protona, $H^+$). Za kation-selektivne ISO će odziv biti razmjeran omjeru aktiviteta analita i protona, dok je u slučaju anion-selektivnih ISO odziv razmjeran njihovom produktu.[44]

U prikazanom slučaju (**slika 2.3**) dolazi do ionske izmjene analita ($Ca^{2+}$) sa ekvimolarnom količinom referentnog $H^+$ iona. Stupanj deprotonacije kolorimetrijskog indikatora (ETH 5294) je proporcionalan koncentraciji analita. Plava boja odgovara većem stupnju asociranosti indikatora, odnosno maloj koncentraciji analita, dok ljubičasta boja odgovara većem stupnju disociranosti indikatora, odnosno velikoj koncentraciji analita. Boja, odnosno promjene boje su karakteristične za svaki primijenjeni kolorimetrijski indikator (tj. kromoionofor). Prema opisanom mehanizmu te imajući na umu da su kromoionofori u suštini izrazito proton-selektivni, odmah postaje jasno da je princip rada ovakvih optoda vrlo osjetljiv na pH analiziranog uzorka. Prema tome, uzorci moraju biti puferirani kako bi izlazni optički signal bio odgovor samo na ciljani ion (analit).[45]

Ovisnost o pH uzorka očigledno ograničava praktične aplikacije ISO. Zbog toga su razvijene brojne strategije kako premašiti tu ovisnost. Solvatokromna bojila (SB) se mogu koristiti kao kemijski pretvornici umjesto kromo/luminoionofora. SB su električki nabijena bojila koja se u prisustvu analita istog naboja jednostavno izbace izvan organske faze (matrice), a njihova boja je ovisna o polarnosti faze u kojoj se nalaze. Zbog toga moraju biti hidrofobne kako bi njihova ekstrakcija u vodenu fazu (uzorak) bila isključivo popratni rezultat ekstrakcije analita, a ne otapanja.[60] Drugačije taktike razmatraju implementaciju ISO čiji mjerni princip nije temeljen na uspostavljanju ravnoteže bulk-uzorak, nego na totalnom iscrpu analita iz uzorka u matricu. Ukoliko bi sve molekule analita bile konzumirane u matrici, izlazni signal bi bio ovisan samo o njihovoj koncentraciji i takvi senzori u suštini ne bi zahtijevali kalibraciju. Iscrpni način detekcije je moguć samo ukoliko je koncentracija osjetilnih komponenti u matrici veća od očekivane koncentracije analita u uzorku.[61,62]

## 2.3 Nosivi (bio)kemijski senzori

Infrastruktura poznata kao „internet stvari“ (eng. internet of things-IoT) u današnje vrijeme sve više dobiva na značaju, zahvaljujući velikom razvoju različitih tehnologija koje omogućuju jednostavnu integraciju „stvari“ u takav sustav. IoT ekosustav se sastoji od pametnih naprava koje mogu prikupljati i prenositi podatke putem interneta. Svaka naprava ima svoju vlastitu identifikacijsku jedinicu. Također mogu međusobno komunicirati i samostalno obavljati potrebne radove na temelju prikupljenih informacija, bez ljudske interakcije. Dijeljenje korisnih informacija između povezanih uređaja pomaže njihovom napretku, optimizaciji i razvoju pametne mreže za brojne aplikacije; pametne kuće, samoupravljajući vozni objekti, kontinuirani okolišni monitoring i mnoge druge. „Stvari“ u IoT-u su u suštini bilo koji elektronički uređaji koji pomoću vlastitih senzorskih jedinica prikupljaju podatke o različitim aktivnostima, ovisno u kojem se okolišu nalaze.[63]

Sve je veći interes za primjenom (bio)medicinskih uređaja koji omogućuju decentralizaciju i demokratizaciju zdravstvenog sustava u IoT infrastrukturi. Osim što se time eliminira problem prenapučenih bolnica, pojam zdravstva bi postao svojevrstan stil života zbog pristupačnih i jeftinih senzorskih naprava koje omogućuju kontinuirano praćenje vitalnih funkcija. Zbog toga je jasno da će nosivi senzori odigrati važnu ulogu u IoT mreži. Postoje brojni komercijalno dostupni nosivi fizikalni senzori za praćenje otkucaja srca ili tjelesne temperature, no još uvijek nije u potpunosti realiziran održivi sustav nosivih (bio)kemijskih senzora za kontinuirani monitoring važnih (bio)kemijskih parametara.[64] Princip rada (bio)senzora je kompleksniji u odnosu na fizikalne, jer ipak mora doći do vezanja analita sa (bio)senzorskim komponentama, što zbog prethodno opisanih problema (kao npr. ispiranje sadržaja imobilizacijske matrice) ne garantira stabilnost i ponovljivost čime je onemogućena upotrebljivost za praktične 24/7 aplikacije.[65] Nosivi fizikalni i (bio)kemijski senzori kao rudari važnih zdravstvenih informacija u IoT-u se mogu međusobno povezati u tzv. bežične tjelesne senzorske mreže.[66]

Do sada su u istraživanju uglavnom demonstrirati prototipovi nosivih (bio)kemijskih senzora sa optičkim i elektrokemijskim principom pretvorničke jedinice. Fokus je usmjeren prema realizaciji neinvazivnih analizatora koji bi priuštili neometan pristup važnim (bio)kemijskim informacijama; umjesto invazivne analize ljudske krvi, informacije bi se prikupljale iz alternativnih fluida poput sline, znoja, međustanične kapljevine, suze ili daha. U tim uzorcima se nalaze brojni biološki važni analiti u obliku elektrolita odnosno metabolita.[4–6,64,65] Osim toga, nosivi (bio)kemijski senzori mogu detektirati potencijalno opasne supstancije u okolišu njihovog nosioca, omogućavajući pritom bolju sigurnost kao npr. nosivi CO i $CO_2$ senzori za vatrogasno osoblje ili drugi za vojne i sigurnosne jedinice.[6,65]

Glavni izazovi koji kroče put prema komercijalnoj dostupnosti nosivih (bio)kemijskih senzora obuhvaćaju nekoliko različitih kategorija, poput odabira prikladnog supstratnog materijala, izvore napajanja za potrebnu elektroniku, precizno prikupljanje i vjerodostojna obrada podataka, sigurnost i privatnost korisnika, komunikacija sa uređajem te postavljeni analitički zahtjevi.[64] U nekoliko istraživanja su demonstrirani različiti primjeri nosivih izvora energije koji bi se mogli integrirati sa tehnologijom (bio)kemijskih senzora, poput nosivih superkondenzatora[67], baterija[68], solarnih ćelija[69] i (bio)gorivnih članaka.[70] Jeftine bežične komunikacije tehnologije omogućuju jednostavni prijenos podataka i mogu se integrirati za sveprisutnom *smart* tehnologijom. Većina istraživanja nastoji iskoristiti prednosti pametnih telefona za interakciju sa nosivim senzorima. Najčešće komunikacijske tehnologije su Bluetooth[71], ZigBee[72], RFID[73,74] (eng. radio frequency identification) i NFC[74] (eng. near field communication), koje se međusobno razlikuju po energetskoj zahtjevnosti i dometu ostvarive komunikacije.

U ovom radu je posebna pažnja usmjerena prema odabiru supstratnog materijala te su istražene mogućnosti korištenja papira i tekstila u implementaciji nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora.

### 2.3.1 Senzori na papiru i tekstilu

Papir je jeftin, izrazito dostupan biorazgradivi materijal koji se jako lako povezuje sa (bio)senzorskim komponentama, zbog čega je vrlo zanimljiv kao supstrat u izradi prenosivih ili nosivih dijagnostičkih uređaja. Poroznost i hidrofilnost papira omogućava izradu mikrofluidičkih kanala koji mogu samostalno upijati uzorak bez potrebe za vanjskim elementima poput pumpe. Zbog toga se razvio veliki interes za razvojem senzora na pazi papira odnosno tzv. PAD-ova (eng. paper-based analytical devices).[9] Papirni supstrati se mogu integrirati sa komponentama za optičku ili elektrokemijsku detekciju analita i zaštiti sa hidrofobnim slojevima poput voska ili silikona tvoreći tako jednostavne (bio)kemijske senzore u obliku flastera.[9,11] Zbog odličnog svojstva pasivnog kapilarnog upijanja uzorka, brojna istraživanja su usmjerena prema $\mu$PAD mikrofluidičkim platformama koje su kompatibilne sa senzorskim aplikacijama.[13,18]

S druge strane, tekstilni senzori predstavljaju praktično rješenje s kojim bi dostupni odjevni predmeti postali pametni analizatori. Zbog toga se istražuju mogućnosti integracije (bio)senzorskih komponenti za tekstilnim vlaknima.[10] Tekstil se također može iskoristiti za mikrofluidičke aplikacije jer tekstilna vlakna omogućuju neometan pasivni transport kapljevine. Brojna istraživanja se fokusiraju na implementaciju „nitne“ mikrofluidike, gdje se tekstilne niti (vlakna) koriste za skupljanje uzorka i takav sustav se isto može iskoristiti za različite senzorske aplikacije.[10,14]

Tekstilni (bio)kemijski senzori pronalaze praktičnu primjenu u (bio)medicinskim istraživanjima jer su u direktnom epidermalnom kontaktu što omogućuje analizu raznih bioloških fluida. Kako je znoj najdostupniji uzorak za odjevne predmete, veliki je interes za implementacijom pametnih (bio)tekstila za analizu sadržaja znoja, s ciljem učinkovitijeg fitness monitoringa i poboljšanja učinkovitosti profesionalnih sportaša.[12]

### 2.3.2 Nosivi optički (bio)kemijski senzori

Optički (bio)kemijski senzori (optode) zbog svojih brojnih opisanih prednosti[8] nad dominantnim elektrokemijskim (bio)senzorima i dostupnosti minijaturizirane optoelektronike[26,32] nude praktična rješenja u implementaciji nosivih senzora.

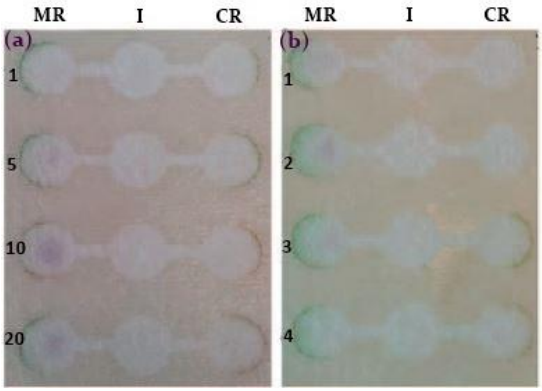
Optode se mogu lako integrirati sa tekstilom u planarnim konfiguracijama, tako da se određeni dio materijala oboji ili isprinta sa osjetilnim komponentama, ili koristeći optička vlakna koja se mogu zašiti zajedno sa tekstilnim vlaknima. Na taj način se mogu proizvesti fleksibilni i ugodni optički neinvazivni analizatori za različite aplikacije.[75]

Pored svih opisanih odlika $\mu$PAD-ova, prednost optoda na bazi papira jest što papir odlično upija osjetilne komponente, zbog čega je moguće direktno imobilizirati lipofilne molekule na supstrat, bez potrebe za korištenjem polimernih odnosno sol-gel matrica. Ista taktika se može primijeniti i za tekstilne optode.[76]

U literaturnom pregledu su izdvojeni primjeri dostignuća u realizaciji nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora na različitim supstratima.

#### *2.3.2.1 Literaturni pregled*

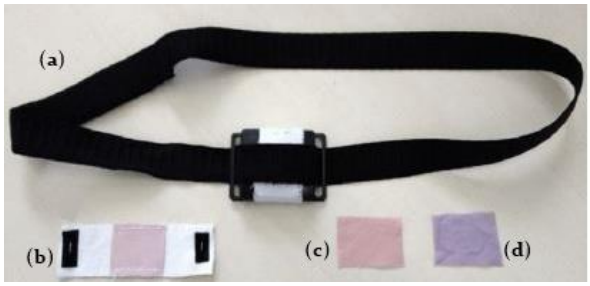
Baysal *et al.*[78] su demonstrirali primjer nosivog optičkog biosenzora na tekstilu za neinvazivnu detekciju laktata u znoju (**slika 2.4**). U istraživanju je fotolitografski implementirana nosiva tekstilna mikrofluidička platforma koja se sastoji od hidrofilnih mikro kanala i rezervoara zaštićenih u hidrofobnom epoksidu (SU-8). Sastav korištene tkanine je na bazi poliesterskih i najlonskih mikro vlakana. Unutar rezervoara se nalaze ko-imobilizirani enzimi laktat oksidaza (LOX) i peroksidaza (POX). Produkt interakcije laktata u obliku L-(+)-askorbinske kiseline i LOX jest vodikov peroksid ($H_2O_2$) kojeg zatim POX oksidira u prisustvu 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeve soli (ABTS). ABTS u suštini služi kao indikator i prilikom oksidacije $H_2O_2$ dolazi do specifičnog obojenja.




***Slika 2.4:*** *Optički biosenzor za detekciju laktata [78]*

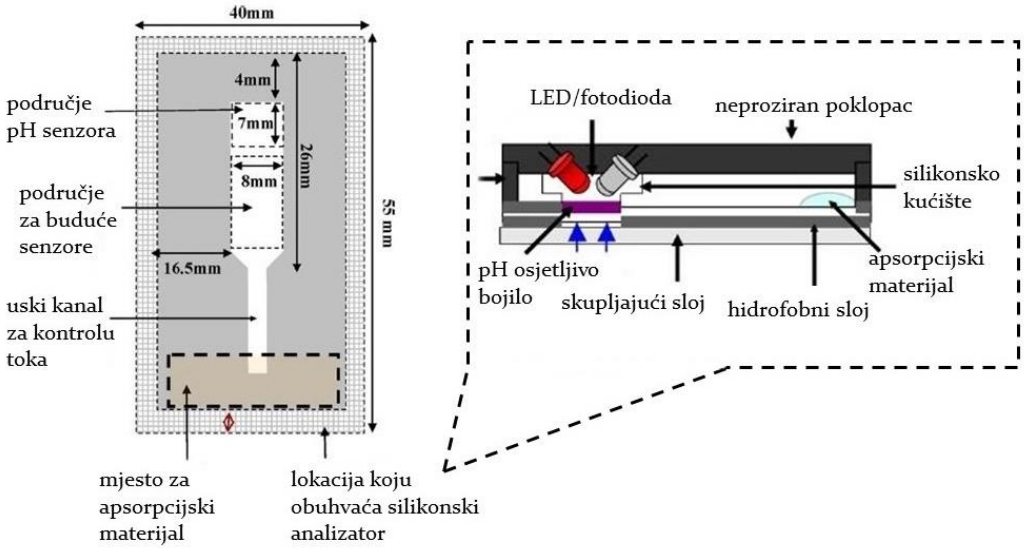
Ovakva semi-kvantitativna platforma može poslužiti kao nosivi biosenzor za laktat, gdje se koncentracije prosuđuju prema boji; normalne (<5 mM) koncentracije daju zeleno obojenje (b), dok visoke (≥5 mM) daju ljubičasto obojenje (a).

U mnogim istraživanjima su demonstrirani tekstilni senzori za praćenje pH znoja, koji je povezan sa brojnim vitalnim parametrima i stanjem dehidracije organizma. Tako su Caldara *et al.*[79] izradili nosivi fleksibilni tekstilni pH senzor od 100%-tnog pamuka (**slika 2.5**). Tkanina je funkcionalizirana sol-gel matricom u kojoj je zarobljen litmus (pH indikator), a 3-glicidoksipropiltrimetoksilan (GPTMS) je korišten kao prekursor u sol-gel razvijanju. Čitav sustav je implementiran u obliku elastičnog zavoja sa integriranim izvorom svjetlosti (LED), detektorom (RGB fotodioda) i komunikacijskom jedinicom (Bluetooth).




***Slika 2.5:*** *Nosivi tekstilni pH senzor; (a) elastični zavoj sa mjernim kućištem, (b) tekstil sa imobiliziranim bojilom koje ima roza boju pri pH = 5 (c) odnosno ljubičastu pri pH = 8 (d) [79]*

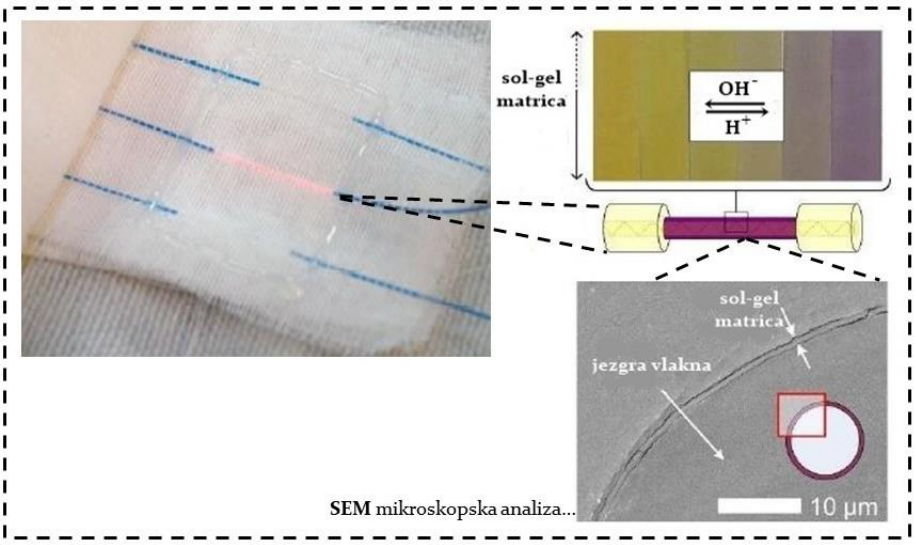
Još jedan primjer nosive tekstilne mikrofluidičke platforme su razvili Morris *et al.*[80] Demonstriran je pH senzor u obliku flastera koji pasivno skuplja uzorak znoja zahvaljujući kapilarnom transportu kapljevine uzduž apsorpcijskog materijala, te ga razvrstava u kanale predodređene za analizu (**slika 2.6**). Korištena je tkanina za sportske aplikacije, na bazi poliester/licre®, a čitava mjerna platforma je zaštićena silikonom. Senzor je izrađen za detekciju pH, no platforma omogućuje razvoj sustava za višekomponentnu analizu, što je predviđeno za daljnja istraživanja. Mjerni princip pH senzora se zasniva na paru LED/fotodioda, a korišteni indikator je bromkrezol ljubičasto bojilo upijeno u tekstilu. U ovom pristupu je korištena *Mica*$^2$ komunikacijska platforma za prijenos podataka na računalo.




***Slika 2.6:*** *Nosivi tekstilni pH senzor [80]*

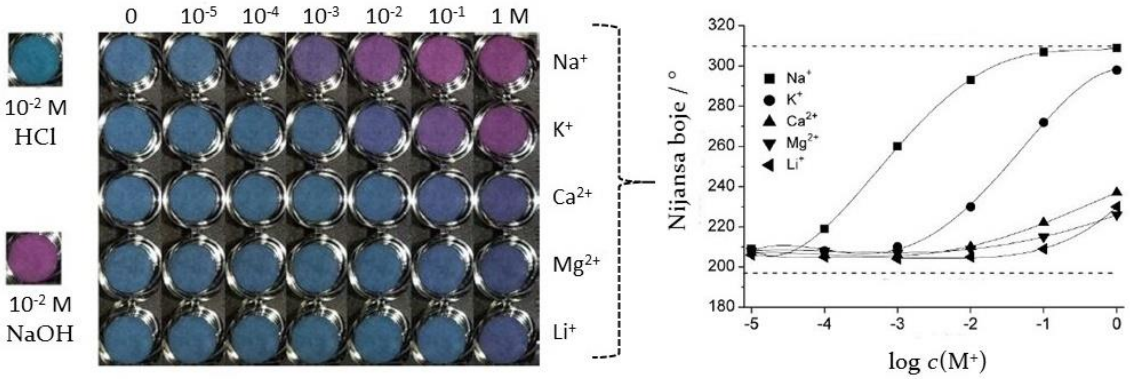
Prethodni primjeri su bili bazirani na planarnoj konfiguraciji. Pasche *et al.*[81] su demonstrirali uporabu optoda na bazi optičkih vlakna (**slika 2.7**). Izdvojen je primjer pH optoda koje se temelje na sol-gel matrici imobiliziranoj unutar jezgre vlakna. Tetraetil ortosilikat i metiltrietoksilan su korišteni kao prekursori za izradu matrice, u kojoj su dopirana tri indikatorska pH bojila (bromkrezol plavo, fenol crveno i bromkrezol ljubičasto) kako bi se ostvarilo široko dinamičko područje.

Mjerni princip se sastoji na mjerenju apsobancije (s obzirom na promjenu boje indikatora). Takva vlakna bi se mogla iskoristiti u izradi nosivih tekstilnih pH senzora, zašivajući se zajedno sa tekstilnim vlaknima.




***Slika 2.7:*** *Optička pH vlakna integrirana sa tekstilom [81]*

U posljednje vrijeme pojavio se interes za implementacijom ion-selektivnih optoda (ISO) na papiru. Papirne ion-selektivne optode bi omogućile realizaciju jeftinih nosivih alata za praćenje koncentracije elektrolita. Tako su Wang *et al.*[77] imobilizirali osjetilne komponente za detekciju natrijevih iona na filter papiru. Izrađene su kation-selektivne papirne optode gdje su komponente dvostruko ionoforskog sustava (ionofor, kromoionofor i ionski izmjenjivač) imobilizirane na supstratu bez korištenja matrice (i plastifikatora). Filter papir je odlično upio osjetilne komponente čime je dokazano da nije potrebno primijeniti imobilizacijsku matricu. Selektivnost ISO na bazi lipofilnog Nile Blue indikatora i krunskih ionofora za $Na^+$ je ispitana u puferiranim otopinama analita i interferenata (**slika 2.8**). Demonstrirana je praktična uporaba pametnog telefona kao izvora LED osvjetljenja i detektora; fotografiranjem optoda na papiru je moguće odrediti koncentraciju analita prema odnosu koncentracije i nijanse obojenja. Want *et al.* su demonstrirali isti princip i za detekciju fluorida.[76]



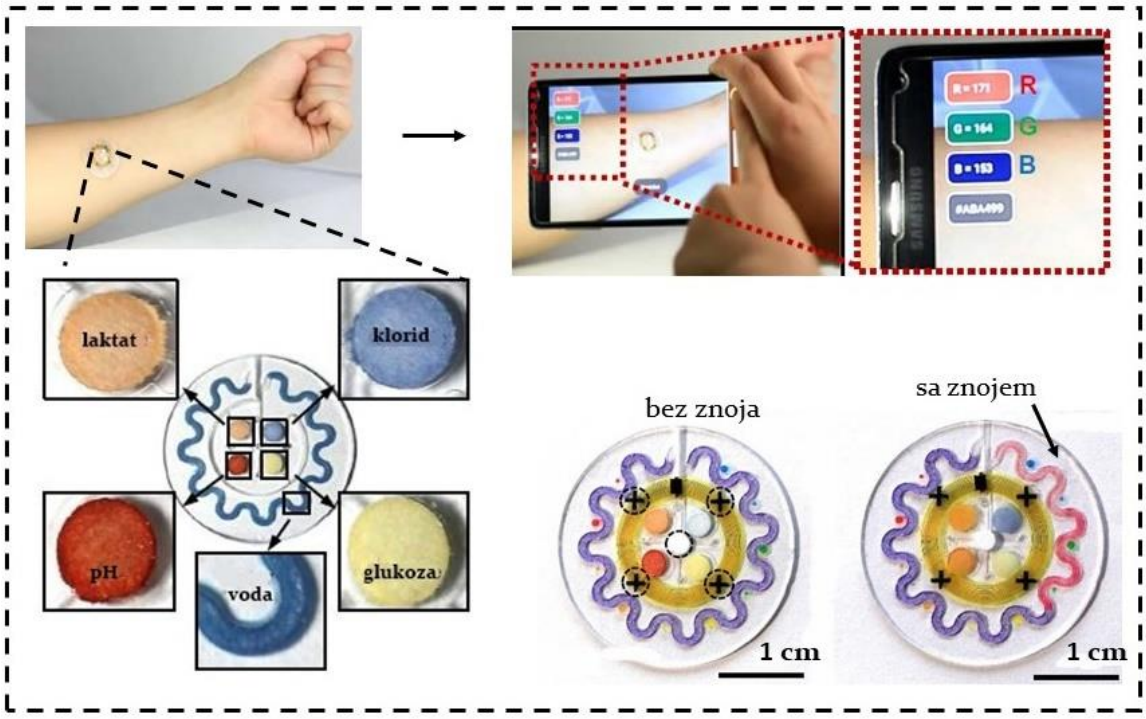

***Slika 2.8:*** *Kalij-selektivne optode na filter papiru; kamera mobilnog telefona je korištena za kolorimetrijsku detekciju (nijansa boje vs. log c) [77]*

Koh *et al.*[82] su demonstrirali epidermalnu rastezljivu mikrofluidičku platformu koja se može se aplicirati u obliku flastera kao nosivi senzor za multikomponentnu analizu sadržaja znoja. Platforma na bazi polidimetil siloksana (PDMS) je priređena tehnologijom meke litografije, unutar koje se nalaze rezervoari na bazi papira za kolorimetrijsku analizu. Rezervoari su okruženi zmijolikim kanalom u kojem se skuplja znoj za kolorimetrijsku procjenu stope znojenja i proizvedenog volumena (**slika 2.9**). Ukupno je 4 rezervoara, za detekciju laktata, glukoze, klorida i pH.

Rezervoar za detekciju laktata se temelji na biokemijskoj reakciji sa kofaktorom $NAD^+$ (nikotinamid adenin dinukleotid) uz korištenje enzima laktat dehidrogenaze zbog čega nastaje NADH, te enzima diaforaze koji nakon stvaranja NADH inducira promjenu boje indikatora (formazinskih bojila).

Detekcija glukoze u drugom rezervoaru se temelji na biokemijskom mehanizmu Clarkove enzimske elektrode; oksidacija glukoze uz pomoć enzima glukoza oksidaze te redukcija kisika prilikom obnove enzima čime nastaje $H_2O_2$. U rezervoaru se također nalazi otopina kalijevog jodida u citratnom puferu. Nakon razvijanja vodikovog peroksida, uz enzim peroksidazu dolazi do oksidacije jodida u jod što je popraćeno karakterističnim promjenama boje iz žute u smeđu.

Za detekciju klorida se koriste reagensi na bazi 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) koji sadržavaju živine ($Hg^{2+}$) i željezne ($Fe^{2+}$) ione. Hg-TPTZ kompleks je preferiran u odnosu na Fe-TPTZ i optički je neaktivan. No u prisustvu klorida, isti kompleks se raspada i dolazi do precipitacije $HgCl_2$, zbog čega se formira optički aktivan Fe-TPTZ karakterističnog plavog obojenja. Zadnji rezervoar je namijenjen za praćenje pH; korištenjem univerzalnog pH indikatora koji sadržava tri pH osjetljiva bojila (bromtimol plavo, metil crveno i fenolftalein) je ostvareno široko dinamičko područje za kontrolu pH znoja. U kružnom zmijolikom kanalu se nalazi kobaltov (II) klorid ($CoCl_2$) otopljen u polihidroksietil metakrilatu (PHEMA), kao kolorimetrijski indikator za praćenje stope znojenja i totalnog izlučenog volumena. Kada znoj uđe u kanal, anhidridni $CoCl_2$ prelazi u heksahidrat $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ što uzrokuje promjenu boje iz plave u rozu. Nosiva platforma sadržava NFC komunikacijsku jedinicu koja prilikom interakcije sa pametnim telefonom automatski starta aplikaciju za RGB kolorimetrijsku analizu putem kamere.




***Slika 2.9:*** *Nosivi epidermalni senzor za multikomponentnu analizu sadržaja znoja [82]*

**Tablica 2.1:** Izdvojeni primjeri (mogućih) nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora.

| uzorak | analit | Kemijski pretvornik | Detekcijska tehnika | Supstrat | Komunikacijska jedinica | Ref. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| N/A | $F^-$ | Bromfenol plavo | Nijanse boje putem kamere pametnog telefona | Filter papir | / | [76] |
| N/A | $Na^+$ | ETH 5294 | Nijanse boje putem kamere pametnog telefona | Filter papir | / | [77] |
| znoj | laktat | ABTS | Vizualna procjena | Tekstil (poliester/najlon) | / | [78] |
| znoj | pH | Litmus | Reflektancija (LED/fotodioda) | Tekstil (100% pamuk) | Bluetooth | [79] |
| znoj | pH | Bromkrezol ljubičasto | Reflektancija (LED/fotodioda) | Tekstil (poliester/licra®) | Mica[2] | [80] |
| N/A | pH | Bromfenol plavo / Fenol crveno /Bromkrezol ljubičasto | Apsorbancija | Optičko vlakno | / | [81] |
| znoj | glukoza | $I^-$ / $I_2$ /w peroksidaza | RGB kolorimetrijska analiza putem aplikacije za kameru pametnih telefona | Filter papir (rezervoar) | NFC | [82] |
| znoj | laktat | Formazinska bojila | RGB kolorimetrijska analiza putem aplikacije za kameru pametnih telefona | Filter papir (rezervoar) | NFC | [82] |
| znoj | $Cl^-$ | TPTZ | RGB kolorimetrijska analiza putem aplikacije za kameru pametnih telefona | Filter papir (rezervoar) | NFC | [82] |
| znoj | pH | Bromtimol plavo / metil crveno / fenolftaiein | RGB kolorimetrijska analiza putem aplikacije za kameru pametnih telefona | Filter papir (rezervoar) | NFC | [82] |

# 3 Eksperimentalni dio

## 3.1 Materijali i kemikalije

Za izradu osjetilnog koktela su korištenje sljedeće kemikalije:

- Ionofor za kalij (I) (valinomicin), *Sigma-Aldrich*
- Kromoionofor I (*N*-oktadekanoil-Nile blue; ETH 5294), *Sigma-Aldrich*
- Kalijev tetrakis(4-klorofenil)borat (PTCB), *Sigma-Aldrich*
- Dioktil sebacat (DOS), *Sigma-Aldrich*
- Dibutil sebacat (DBS), *Sigma-Aldrich*
- Poli(vinil-klorid) (PVC), *Sigma-Aldrich*
- Tetrahidrofuran (THF), *Sigma-Aldrich*

Kemikalije za izradu pufera:

- Octena kiselina ($\rho$ = 1,05 kg dm$^{-3}$, 99,8% p.a.), *Kemika*
- Natrijev acetat (bezvodni), *Kemika*
- Kalijev klorid (99,5-101.0%), *AnalaR NORMAPUR*
- Deionizirana voda, čistoće mili-Q (0,060 MΩ cm)

Supstratni materijali za izradu optoda:

- Kromatografski papir, *Munktell* FN1 90 g m$^{-2}$
- Filter papir, *Munktell* Z1/N 80 g m$^{-2}$
- Poliesterski film, *HiFi INDUSTRIAL FILM*
- Umjetna tkanina (tekstilni materijal-poliester), komad odjevnog predmeta

Ostale korištene kemikalije prilikom istraživanja:

- Etilni alkohol (p.a.)
- Klorovodična kiselina
- Natrijev hidroksid

## 3.2 Instrumenti

- Chemat Technology Spin-Coater KW-4A
- pH metar ISKRA MA 5740
- Flame Series Spectrometer + DH-2000-BAL light source, *Ocean Optics*
- RPH Reflection probe, *Ocean Optics*
- Protočna ćelija + peristaltička pumpa, *Masterflex* C/L, model 77120-62

## 3.3 Priprema reagensa

Reagensi koji su korišteni za izradu i ispitivanje optoda u ovom radu uključuju pripravu osjetilnog koktela, acetatnog pufera te otopine analita. Pripravljeni su različiti kokteli za dvostruko ionoforski mehanizam prema klasičnoj recepturi otapanja lipofilnih osjetilnih komponenti u hifdrofobnoj polimernoj matrici. Zbog intrinzične ovisnosti optoda o pH medija, za svrhe laboratorijskih ispitivanja su pripremljene otopine sa različitim koncentracijama analita ($K^+$) u acetatnom puferu.

### 3.3.1 Osjetilni kokteli

Pripremljena su dva osjetilna koktela koja se međusobno razlikuju u sastavu; **Tablica 3.1**: Osjetilni kokteli korišteni u istraživanju

| Koktel **#1** | | Koktel **#2** | |
|---|---|---|---|
| *m*(ETH 5294) = 1,04 mg | (0,48%) | *m* (ETH 5294) = 2,30 mg | ( 1,06%) |
| *m*(valinomicin) = 2,16 mg | (1,00%) | *m* (valinomicin) = 4,40 mg | (2,04%) |
| m(PTCB) = 0,95 mg | (0,44%) | *m* (PTCB) = 2,20 mg | (1,02%) |
| *m*(DOS) = 142,67 mg | (66,05%) | *m* (DBS) = 140,00 mg | (64,80%) |
| *m*(PVC) = 69,18 mg | (32,03%) | *m* (PVC) = 67,00 mg | (31,00%) |

Plastifikatori DOS odnosno DBS su kapljevine pri sobnoj temperaturi stoga je preračunat volumen potrebnog reagensa u odnosu na gustoću pri temperaturi laboratorija od 25 °C (156,10 µL DOS odnosno 150,00 µL DBS). Svi sastojci su otopljeni u 1,50 mL tetrahidrofurana (THF) (pomoćno otapalo) i smjesa je homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji 10 minuta. Recepture su preuzete iz [83] za osjetilni koktel **#1** odnosno [84] za osjetilni koktel **#2**.

### 3.3.2 Acetatni pufer

U ovom istraživanju je korišten acetatni pufer. Pripremljeno je ukupno 2 L pufera pH vrijednosti 5,2 -koja odgovara prosječnom pH ljudskog znoja.

Potrebne kemikalije:

- 0,1 M otopina natrijevog acetata (NaAc), dobivena otapanjem izvorne kemikalije; 16,4040 g NaAc (bezvodni) je otopljeno u 2 L destilirane vode (odmjerna tikvica)
- 0,1 M otopina octene kiseline (HAc), dobivena razrjeđenjem koncentrirane kiseline (Octena kiselina, *Kemika*, $\rho$ = 1,05 kg $dm^{-3}$ / $c$ = 17,45 M ); 2,865 mL izvorne kiseline je razrijeđeno u odmjernoj tikvici volumena 0,5 L

Miješanjem 1536 mL 0,1 M NaAc i 464 mL 0,1 M HAc dobiva se 2000 mL acetatnog pufera pH vrijednosti 5,2 koja je provjerena i potvrđena pH metrom (ISKRA).

### 3.3.3 Otopine analita

Otapanjem kalijevog klorida (KCl) u acetatnom puferu je pripremljeno šest različitih otopina analita ($K^+$) koje pokrivaju koncentracijsko područje od $10^{-1}$ M do $10^{-6}$ M; otapanjem 1,8635 g KCl u 250 mL acetatnog pufera (odmjerna tikvica) pripremljena je *stock* otopina koncentracije $10^{-1}$ M. Razrjeđenjem iz *stock* otopine pripremljene su preostale otopine analita: $10^{-2}$, $10^{-3}$, $10^{-4}$, $10^{-5}$ te $10^{-6}$ M.

## 3.4 Preliminarno istraživanje

Na samom početku istraživanja je provedeno preliminarno istraživanje radi izbora jednog od pripravljenih osjetilnih koktela, koji će se kasnije koristiti za daljnju izradu i detaljnu karakterizaciju optoda. U ovom ispitivanju su korišteni kromatografski i filter papir kao supstratni materijali.

Izrezani su uzorci papira dimenzija 5 x 5 cm. Pripravljene su četiri različite papirne optode na način da je po 100 µL koktela **#1** otpipetirano na kromatografski pa zatim na filter papir i po 100 µL koktela **#2** otpipetirano na drugi par supstrata. Na taj način su dobivene 4 optode koje se međusobno razlikuju u kombinaciji osjetilnog koktela i papirnog supstrata. Optode su potom pohranjene u petrijevoj zdjelici da se osuše preko noći i spremljene u ladicu tako da se nalaze u okolišu gdje nisu izložene utjecaju ambijentalnog svjetla.

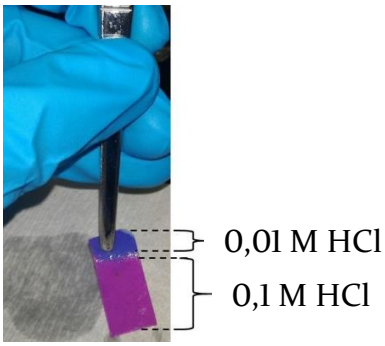
Odabir osjetilnog koktela, a u konačnici i vrste papirnog supstrata se zasnivao na temelju vizualnih zapažanja prilikom uranjanja pripravljenih optoda u različite medije gdje optički indikator (ETH 5294) mijenja ravnotežno stanje prema potpuno protoniranom odnosno deprotoniranom obliku. Parametri od interesa su bili brzina difuzije kapljevine od vrha uronjenog papira uzduž optode te brzina promjene boje.

Korištene kemikalije:

- Klorovodična kiselina (HCl) koncentracije 0,01 M
- Otopina natrijevog hidroksida (NaOH) koncentracije 0,1 M

Na slici je prikazan primjer eksperimentalnog zapažanja (**slika 3.1**). Optoda je prvo bila uronjena u kiseli medij (0,01 M HCl) te poprimila intenzivno plavo obojenje, što je i očekivana karakteristika za protonirani oblik korištenog optičkog indikatora. Nakon uranjanja optode u bazični medij (0,1 M NaOH), uočava se promjena boje u ljubičastu, što je karakteristično za njegov deprotonirani oblik.

Rezultati preliminarnog istraživanja su pokazali da je osjetilni koktel **#2** bolji u odnosu na **#1** te da je kromatografski papir bolji izbor za supstratni materijal u implementaciji papirnih optoda u odnosu na filter papir. Obrazloženje tih rezultata je izneseno u raspravi (poglavlje 4.1).




***Slika 3.1:*** *Opažanja prilikom preliminarnog istraživanja*

## 3.5 Priprava optoda na različitim supstratima

Na osnovu dobivenih rezultata iz preliminarnog istraživanja, pripravljene su optode na tri različita supstrata na kojima je imobiliziran osjetilni koktel **#2**;

- Optode na poliesterskom filmu (tankoslojni filmovi)
- Papirne optode (kromatografski papir)
- Optode na tekstilu (poliesterska tkanina)

### 3.5.1 Tankoslojni filmovi

Izrezani su uzorci poliesterske folije dimenzija 2,5 x 2,5 cm te je svaki uzorak prebrisan obrokom etilnog alkohola. Za imobilizaciju osjetilnog koktela **#2** je korištena *spin coating* tehnika (Chemat Technology Spin-Coater KW-4A) pri sljedećim uvjetima:

- Volumen otpipetiranog koktela = 100 µL
- Brzina okretaja = 1200 RPM
- Vrijeme okretaja = 40 s

Na taj način su osjetilne komponente bulk optode imobilizirane na površini plastičnog supstrata (folije) u obliku tankog filma. Tankoslojni filmovi su zatim pohranjeni u petrijevu zdjelicu i skladišteni na prethodno opisani način.

### 3.5.2 Optode na kromatografskom papiru

Kromatografski papir kao favorizirani supstrat iz preliminarnog istraživanja se nastavio koristiti za izradu papirnih optoda. Na uzorke kromatografskog papira (5 x 5 cm) otpipetirano je 100 µL osjetilnog koktela **#2**.

### 3.5.3 Optode na tekstilu

Iz odjevnog materijala umjetnog sastava (poliesterska tkanina), namijenjenog za sportske aplikacije, izrezani su uzorci za pripremu optoda na tekstilu ekvivalentni papirnim uzorcima (5 x 5 cm, 100 µL osjetilnog koktela **#2**).

## 3.6 Ispitivanje osjetljivosti

Nakon što su pripravljene optode na odabranim supstratima i osušene preko noći, provedeno je kratko ispitivanje njihovog vizualnog odziva na analit ($K^+$) prije detaljnije analitičke karakterizacije.

Korištene otopine:

- $10^{-1}$ M KCl (pH = 5,2); gdje je očekivan visok stupanj deprotoniranosti indikatora (ljubičasta boja)
- $10^{-3}$ M KCl (pH = 5,2)
- $10^{-6}$ M KCl (pH = 5,2); gdje je očekivan visok stupanj protoniranosti indikatora (plava boja)

Obrazloženje karakterističnih promjena boje korištenog indikatora u odnosu na koncentraciju analita je izneseno u raspravi (poglavlje 4.2).

Za daljnja ispitivanja bitna su sljedeća vizualna zapažanja; tankoslojni filmovi pokazali su jasnu promjenu boje u svim ispitivanim medijima, dok su kod optoda na kromatografskom papiru i tekstilu promjene boje bile slabo uočljive. Rezultat ovog vizualnog eksperimenta je od velike važnosti za daljnje istraživanje optoda te je ustanovljeno da je izvorni sastav osjetilnog koktela **#2** prekoncentriran za ispitivanje optoda na kromatografskom papiru odnosno tekstilu. Stoga su pripremljena različita razrjeđenja:

- 67% (200 µL izvornog koktela + 100 µL THF)
- 33% (100 µL izvornog koktela + 200 µL THF)
- 20% (100 µL izvornog koktela + 400 µL THF)

## 3.7 Spektroskospka karakterizacija

Za spektroskopsku karakterizaciju korišten je modularni spektrometar (Flame Series, *Ocean Optics*) s eksternim izvorom svjetlosti (DH-2000-BAL). U ovoj instrumentaciji se koriste optička vlakna za dostavu elektromagnetskog zračenja od izvora do detektora. Dostupna su različita vlakna za specifične aplikacije. Za potrebe laboratorijskog istraživanja, upotrijebljena su vlakna za mjerenje absorbancije (tankoslojni filmovi na transparentom mediju) i reflektancije (papirne/tekstilne optode na svjetlosno nepropusnom mediju).

### 3.7.1 Karakterizacija tankoslojnih filmova

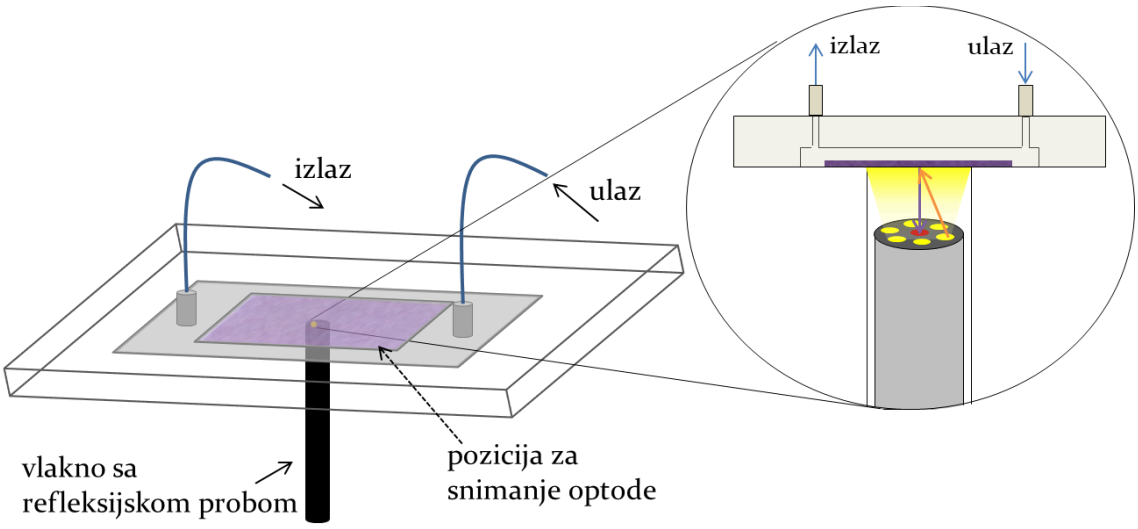
Iz pripravljenih uzorka (2,5 x 2,5 cm) na kojima je imobiliziran osjetilni koktel **#2** se izrežu test-trake dimenzija 0,8 x 2,5 cm tako da stanu u kivetu. Tankoslojni filmovi su karakterizirani snimanjem apsorpcijskih spektra u medijima s različitom koncentracijom analita. Za slijepu probu se koristila kiveta ispunjena deioniziranom vodom i komadom plastike istih dimenzija (0,8 x 2,5 cm) bez osjetilnog koktela. Test-trake su ostavljene jednu minutu u pojedinom mediju prije pohrane podataka.

### 3.7.2 Karakterizacija optoda na kromatografskom papiru i tesktilu

Pripravljena su po tri uzorka dimenzija 5 x 5 cm za oba materijala te je na svaki uzorak otpiptetirano po 100 µL jednog od pripremljenih razrijeđenih koktela (20–67%). Nakon sušenja su izrezane test trake ekvivalentne tankoslojnim filmovima (0,8 x 2,5 cm), koje su karakterizirane refleksijskom probom (RPH). Slijepa proba jest uzorak papira odnosno tekstila bez imobiliziranog koktela. Test trake su držane jednu minutu u pojedinom ispitivanom mediju, a zatim odložene na mikroskopsko stakalce na kojem je provedeno snimanje refleksijskom probom.

### 3.7.3 Određivanje parametara karakterizacije

Za određivanje parametara karaterizacije optode (poglavlje 2.1.2) korištena je protočna ćelija (**slika 3.2**). Za dostavu otopina do ćelije se koristila peristaltička pumpa, pomoću koje se regulirao protok, a čitava instrumentacija je bila zaštićena od utjecaja ambijentalnog zračenja pomoću mračne komore.

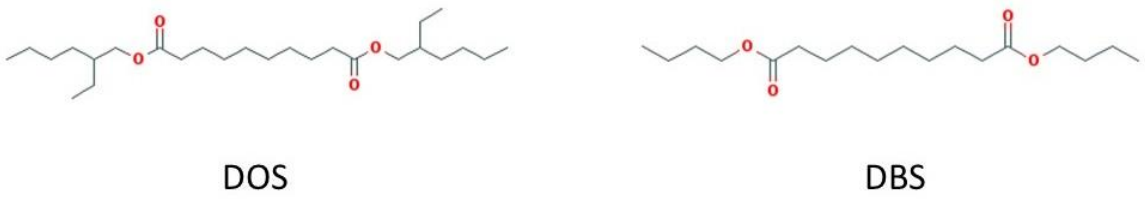



***Slika 3.2:*** *Protočna ćelija sa potrebnom instrumentacijom*

# 4 Rezultati i rasprava

## 4.1 Rezultati preliminarnog istraživanja

Osjetilni kokteli **#1** i **#2** se međusobno razlikuju u sastavu (**tablica 3.1**). Osim u masenim udjelima komponenti, osnovna je razlika između dva ispitivana koktela u primijenjenom plastifikatoru (**slika 4.1**). Prvi koktel sadržava dioktil sebacat (DOS), koji je zbog dodatnih etilnih skupina na osnovnom lancu hidrofobniji od dibutil sebacata (DBS), plastifikatora korištenog u drugom koktelu.



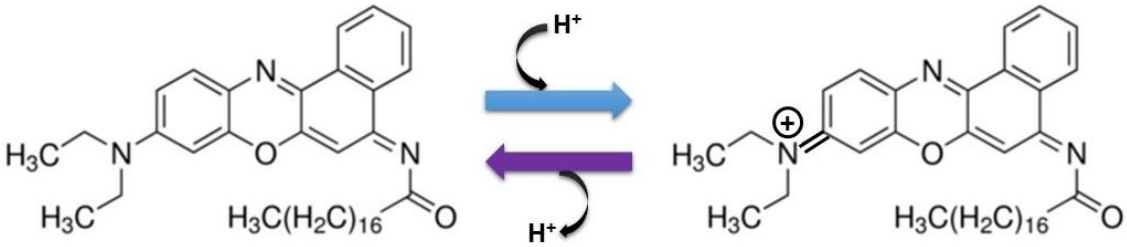

***Slika 4.1:*** *Usporedba plastifikatora korištenih u osjetilnim koktelima*

Rezultati preliminarnog istraživanja su pokazali da optode na kojima je imobiliziran koktel **#2** na kromatografskom papiru daju najjasniju i najbržu promjenu boje. Kromatografski papir se izrađuje bez dodatka keljiva* te upija tekućine ravnomjernije od filter papira. Prilikom uranjanja papirnih optoda u eksperimentu prikazanom na slici **3.1**, promjena boje od mjesta uronjenosti uzduž optode je vidno brža na kromatografskom papiru nego na filter papiru, za oba ispitana koktela. U implementaciji osjetilne membrane se obično nastoje izbjeći hidrofilne komponente zbog problema sa ispiranjem komponenti iz imobilizacijske matrice (u ovom slučaju PVC), no u ovom ispitivanju je pretpostavljeno da je DBS zbog hidrofilnosti odgovoran za brži odziv u ovom ispitivanju. Zbog navedenih opservacija, osjetilni koktel **#2** je korišten u daljnjem istraživanju, a filter papir je eliminiran kao materijal za izvedbu papirnih optoda.

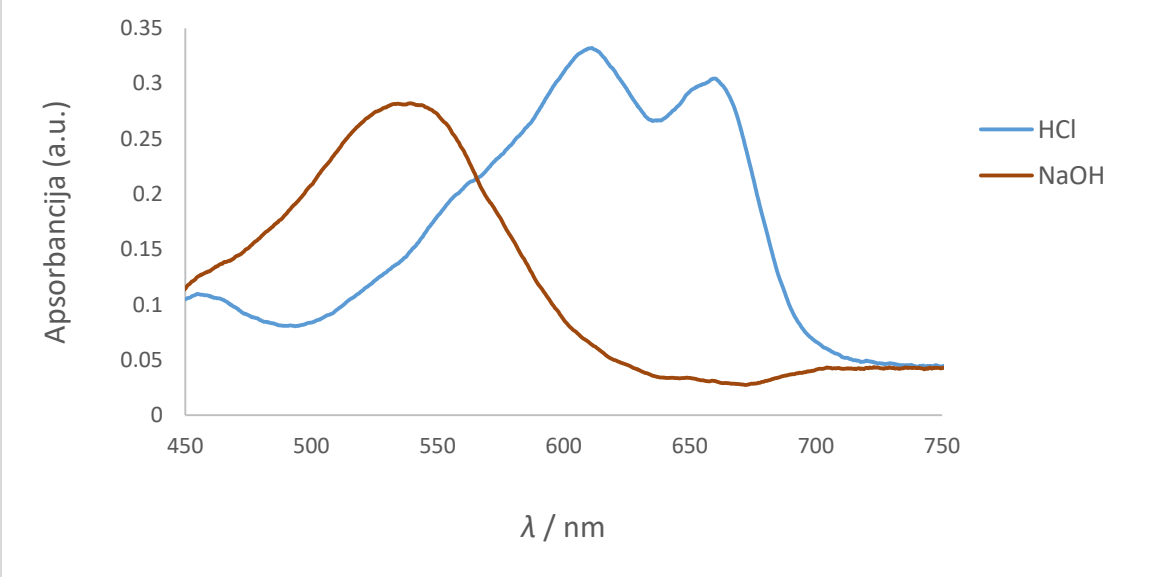
* Keljiva su dodaci koji se koriste prilikom izrade različitih vrsta papira, a služe za povezivanje celuloznih vlakna i poboljšavanje vlačne čvrstoće materijala

## 4.2 Tankoslojni filmovi

Uranjanjem test-traka u kiseli (0,01 M HCl) i bazični medij (0,1 M NaOH) uočavaju se promjene boje koje su karakteristične za ispitivani indikator (**slika 4.2**). Apsorpcijski spektar (**slika 4.3**) pokazuje pri kojim valnim duljinama indikator egzistira u potpuno protoniranom obliku (plava boja), odnosno potpuno deprotoniranom obliku.

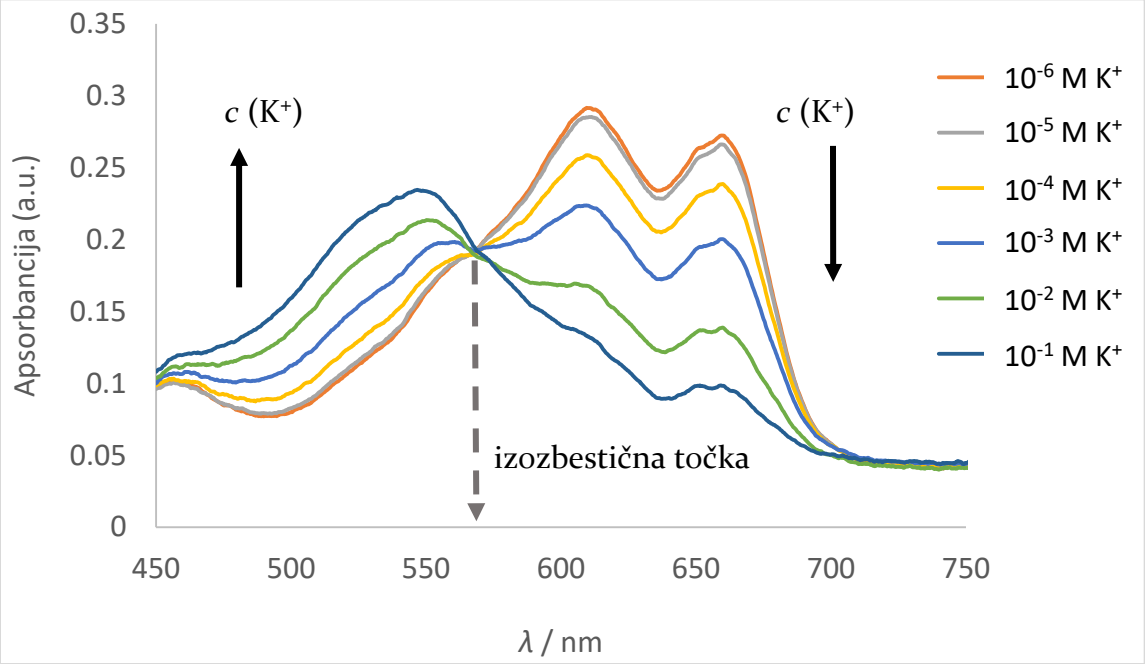



***Slika 4.2:*** *Kiselinsko-bazna ravnoteža ETH 5294*




***Slika 4.3.*** *Apsorpcijski spektar tankoslojnog filma u kiselom (0,01 M HCl) i bazičnom mediju (0,1 M NaOH)*

Princip rada pripravljenih optoda je temeljen na ionskoj izmjeni; selektivni transport analita u bulk matricu je popraćen deprotonacijom indikatora. Postupno povećanje koncentracije analita uzrokuje hipsokromni pomak u spektru, odnosno sve veći stupanj deprotoniranosti indikatora (**slika 4.4**).




***Slika 4.4:*** *Apsorpcijski spektar tankoslojnog filma u otopinama analita*

Spektroskopskom karakterizacijom tankoslojnih filmova utvrđene su sljedeće karakteristike:

- $\lambda_{MAX}$ (deprotonirani oblik ETH 5294) = 545 nm
- $\lambda$ (izozbestična točka) = 570 nm
- $\lambda_{MAX}$ (protonirani oblik ETH 5294) = 610 / 660 nm

Izozbestična točka u spektroskopiji predstavlja valnu duljinu pri kojoj se ukupna apsorbancija uzorka ne mijenja za vrijeme kemijske reakcije ili fizikalnih promjena pri interakciji sa elektromagnetskim zračenjem. Zbog toga se može iskoristiti kao referentna vrijednost za korekciju utjecaja različitih interferencija.

Tankoslojni filmovi na plastičnim supstratima su fleksibilni, što ih na prvu ruku čini dobrim potencijalnim supstratom u implementaciji nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora. No kada su isti supstrati izloženi snažnijim mehaničkim djelovanjima (**slika 4.5**), osjetilna membrana se fizički odvaja od supstrata što predstavlja veliki problem. Takvi problemi nisu uočeni na ostalim susptratima jer su osjetilne komponente dobro upijene u strukturu papira odnosno tekstila. Stoga u okviru ovog istraživanja koje je usmjereno prema potencijalnoj primjeni ispitivanih supstrata u nosivim senzorima, tankoslojni filmovi nisu dalje istraživani.

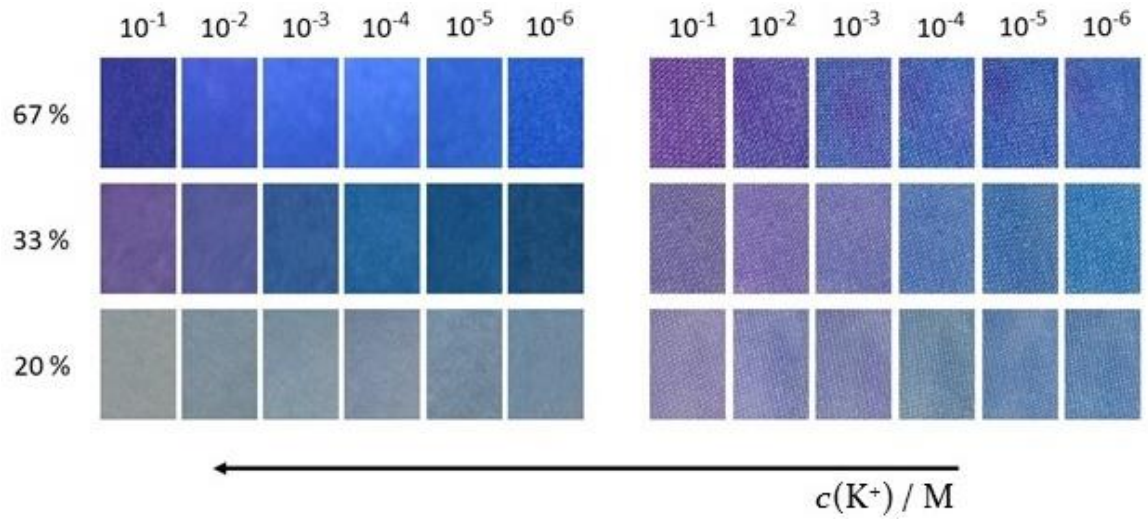
***Slika 4.5:*** *Mehaničke karakteristike tankoslojnih filmova; savitljivost i otpornost*

## 4.3 Optode na kromatografskom papiru i tekstilu

Na osnovu vizualnih zapažanja prilikom ispitivanja osjetljivosti nakon preliminarnog istraživanja, ustanovljeno je da se izvorna receptura osjetilnog koktela **#2** treba prilagoditi za kromatografski papir i tekstil. Koktel je razrijeđen prema sljedećim omjerima;

- 67% (200 µL izvornog koktela + 100 µL THF)
- 33% (100 µL izvornog koktela + 200 µL THF)
- 20% (100 µL izvornog koktela + 400 µL THF)

te su pripravljeni različiti uzorci papirnih i tekstilnih optoda (**slika 4.6**) na kojima je provedeno snimanje reflektiranog zračenja.

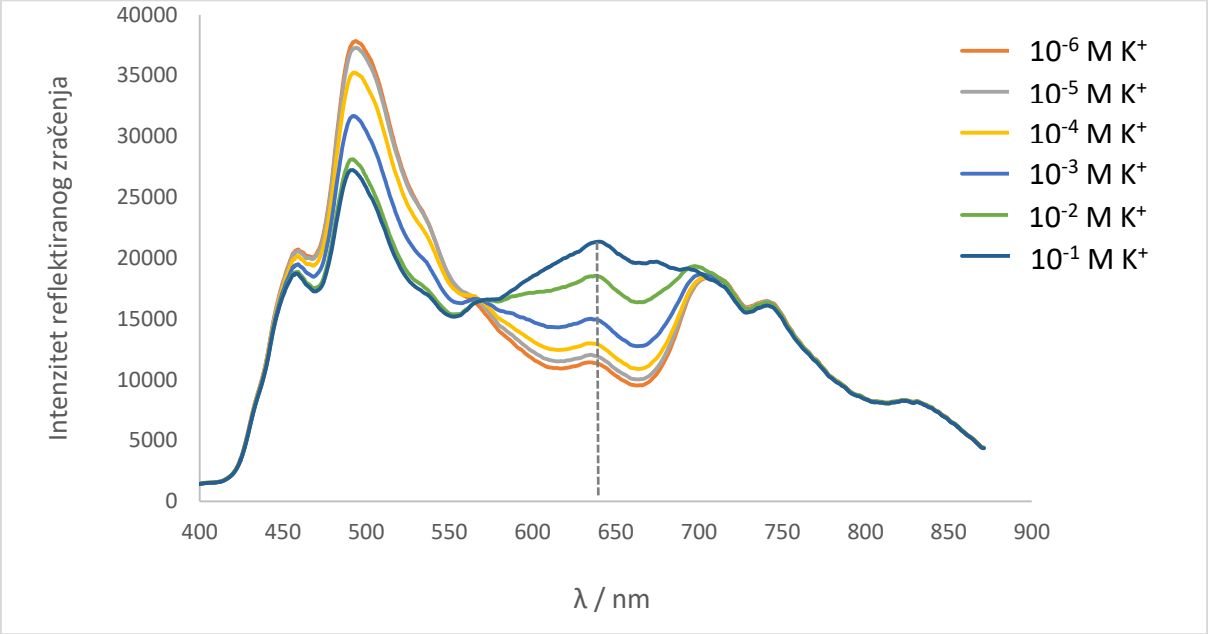



***Slika 4.6:*** *Odzivi optoda na kromatografskom papiru (lijevo) i tekstilu (desno) za sva pripremljena razrijeđenja*

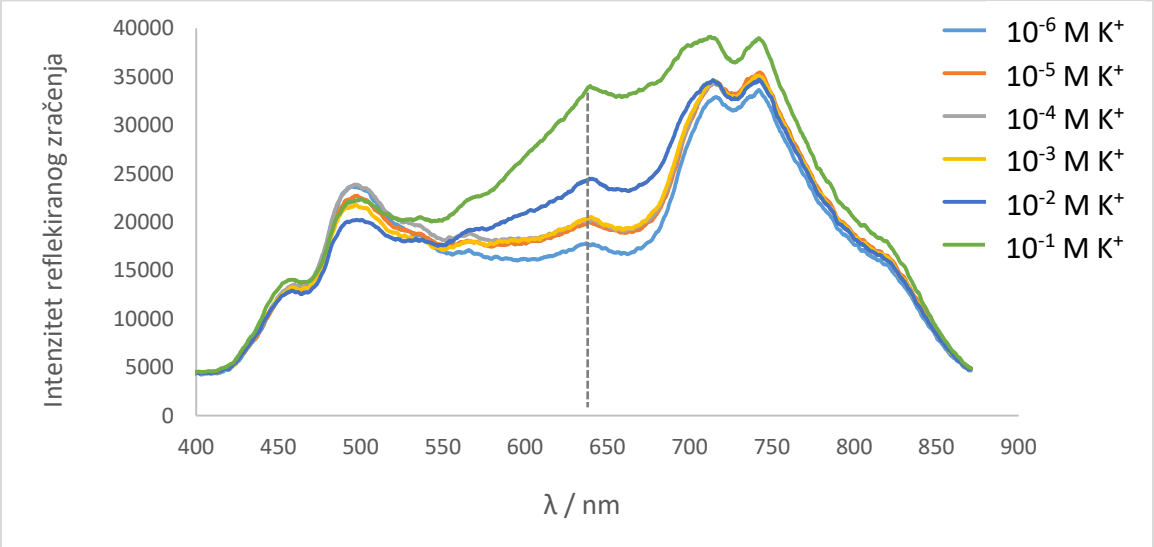
Na temelju vizualnog zapažanja (**slika 4.6**) se može donijeti zaključak da 33%-tno razrjeđenje daje najbolje odzive na kromatografskom papiru, odnosno 67%-tno na tekstilu. To je potvrđeno i spektroskopskom analizom; zbog slabih promjena boje, dobiveni spektri za ostala razrjeđenja su pratili nelogičan trend između ispitanih koncentracija analita i takvi izlazni signali su krajnje nerazumljivi. Isti stoga nisu priloženi u ovom radu.

Time je pokazan učinak razrjeđenja na odziv. Treba pažljivo optimirati sustav tako da se postignu adekvatne nijanse boje pogodne za detaljnu analizu.

Primijenjena instrumentacija paralelno snima apsolutan intenzitet reflektiranog zračenja i reflektancijske spektre (poglavlje 2.2.1.1, jednadžba **3**). U ovom istraživanju se ispostavilo da su izlazni signali apsolutnog intenziteta praktičniji. Prikazani su spektri (**slika 4.7**) za kromatografski papir (33%) i tekstil (67%).




***Slika 4.7:*** *Spektar reflektiranog zračenja optode na kromatografskom papiru (33 % razrijeđen osjetilni koktel #2)*

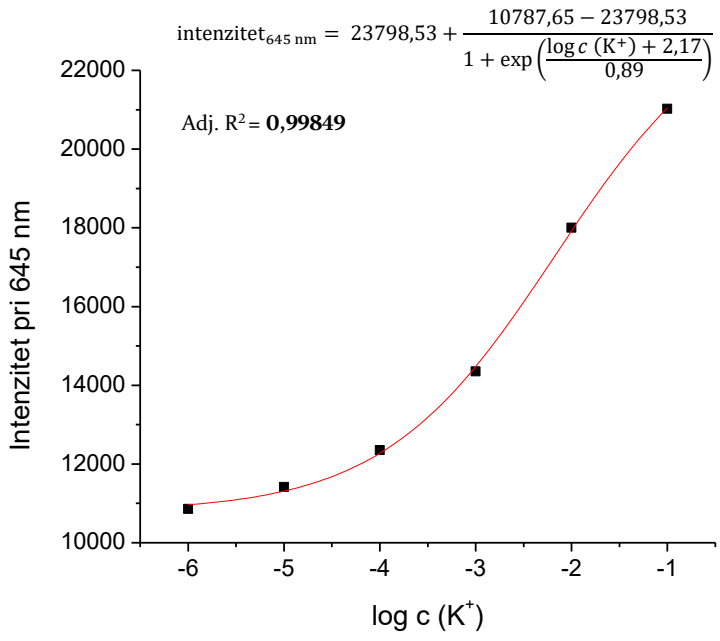



***Slika 4.8:*** *Spektar reflektiranog zračenja optode na poliesterskoj tkanini (67 % razrijeđen osjetilni koktel #2)*

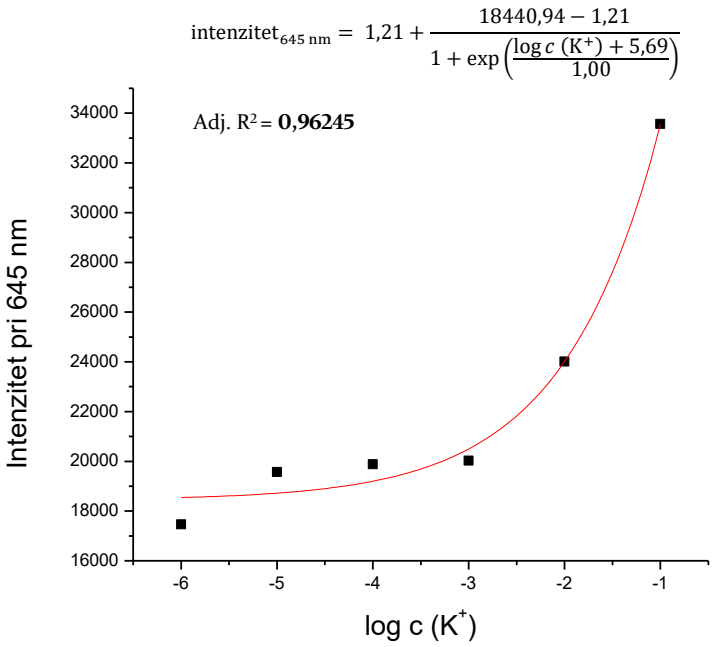
Reflektancijski spektri nisu prikazani. Njihovom analizom je utvrđeno da pokazuju lošu distinkciju između signala pojedinih koncentracija analita. Različiti oblici modela Kubelka-Munke za odgovarajuću valnu duljinu zračenja bi se mogli razmotriti za detaljniju analizu reflektancije, no za potrebe ovog istraživanja spektri apsolutnog intenziteta reflektiranog zračenja su bili zadovoljavajući.

Na prikazanim spektrima (**slika 4.7-8**), prema obliku spektralnih vrpci se može uočiti kako određeni supstrat utječe na ponašanje indikatora. U nekoliko istraživanja je dokazano da različiti supstrati različito mijenjaju svojstva bojila (npr. pomak u $pK_a$). Prema dobivenim rezultatima, vrijednost izozbestičke točke se podudara sa prethodnim mjerenjima (zanemarivši fluktuacije u nekim izlaznim signalima kod tekstilnih optoda).

Najjasniji trend među izlaznim signalima se može uočiti pri valnoj duljini od 645 nm (naznačeno sivom isprekidanom linijom na spektrima). Uzimajući u obzir vrijednost intenziteta pri toj valnoj duljini za sve ispitane koncentracije, izrađene su kalibracijske krivulje (**slika 4.9-10**). U oba slučaja je primijenjen Boltzmanov model za fitanje eksperimentalnih podataka.




***Slika 4.9:*** *Kalibracijska krivulja optode na kromatografskom papiru (λ = 645 nm)*




***Slika 4.10:*** *Kalibracijska krivulja optode na poliesterskoj tkanini (λ = 645 nm)*

## 4.4 Parametri karakterizacije optoda

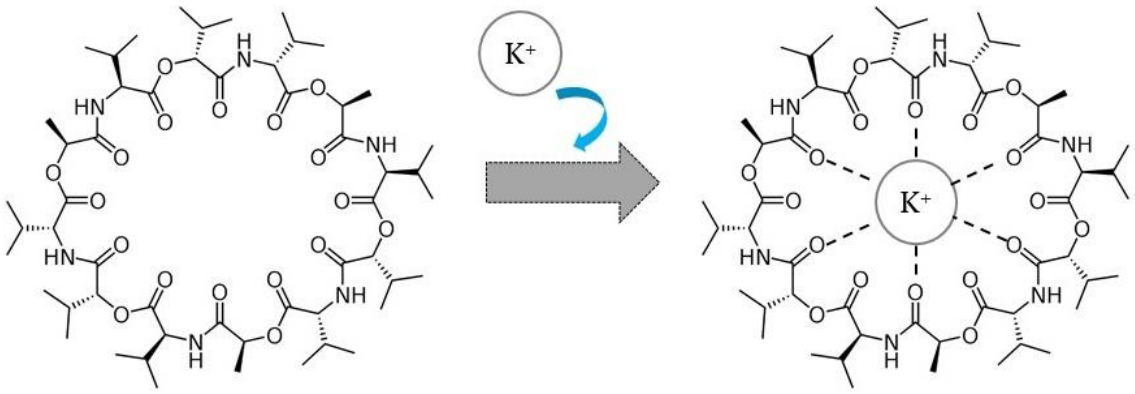
Na osnovi svih dobivenih rezultata, razmatrajući spektre reflektiranog zračenja i vrijednosti $R^2$ za kalibracijske modele, kromatografski papir se pokazao kao najbolji supstratni materijal u okviru ovog istraživanja. Stoga su sva daljnja ispitivanja provedena na tom supstratu uz korištenje 33 %-tnog razrijeđenog koktela.

Parametri za karakterizaciju optoda na kromatografkom papiru određene su u protočnoj ćeliji (slika **3.2**) snimanjem intenziteta reflektiranog zračenja pri 645 nm.

### 4.4.1 Selektivnost

U ovom istraživačkom radu su razvijene ion-selektivne optode na bazi valinomicina, za kojeg je poznato da je izrazito selektivan ionofor za kalij (**slika 4.11**). Valinomicin je makrociklički antibiotik sa 12 karbonilnih grupa unutar prstena od kojih su 6 odgovorne za specifično vezanje samo jednog iona kalija. Vanjske izopropilne i metilne grupe su odgovorne za hidrofobnost molekule.[85]

Poznavajući svojstva valimonicina, dodatni laboratorijski testovi selektivnosti nisu provedeni u ovom istraživanju.

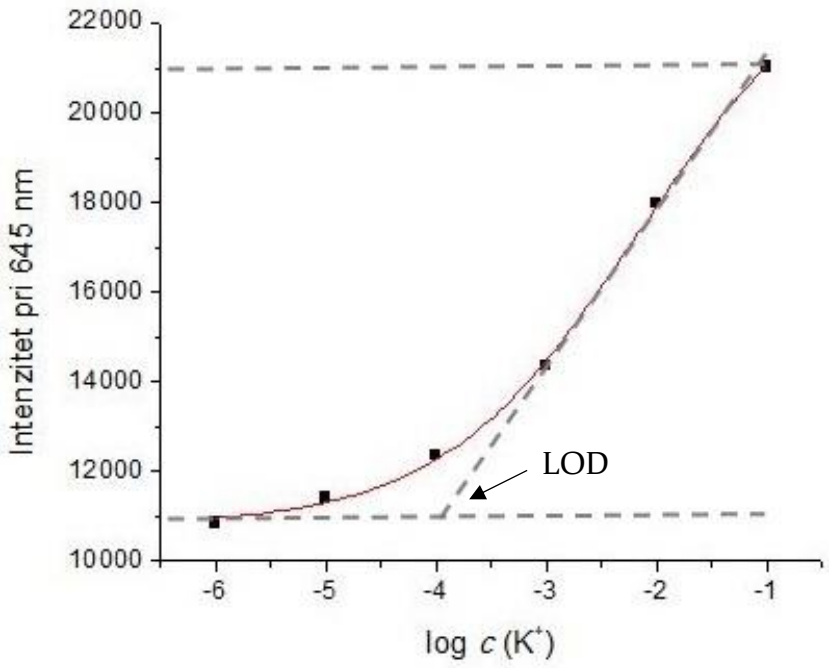



***Slika 4.11:*** *Struktura valinomicina i kompleksiranje sa kalijem*

### 4.4.2 Dinamičko područje i limit detekcije

Iz priložene kalibracijske krivulje (**slika 4.9**) je jednostavnom grafičkom metodom određeno dinamičko područje (**slika 4.12**). S obzirom da je dinamičko područje omeđeno točno definiranim odnosima (poglavlje 2.1.2), također se može odrediti granica detekcije (LOD) ispitivanog senzora (donja granica).

Prema dobivenim rezultatima, dinamičko područje pokriva preko tri reda koncentracijskih veličina, od granice detekcije, LOD = $10^{-4}$ M do gornje limitirajuće koncentracije u iznosu od $10^{-1}$ M.

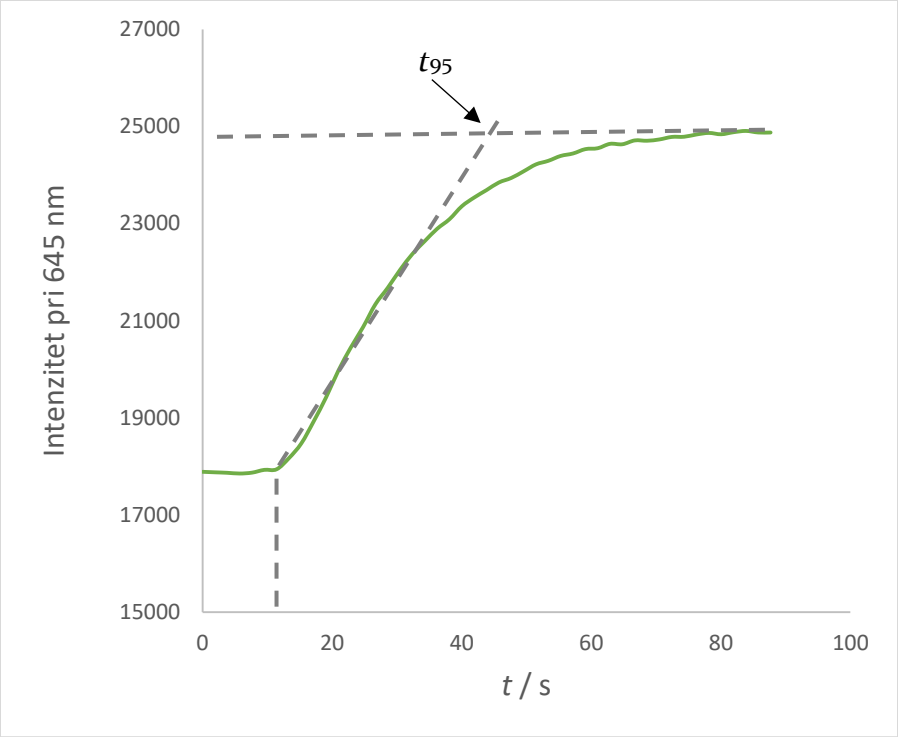



***Slika 4.12:*** *Određivanje dinamičkog područja papirne optode*

### 4.4.3 Vrijeme odziva

Ispitivanje vremena odziva (**slika 4.13**) je provedeno na način da je kroz protočnu ćeliju prvo puštena $10^{-4}$ M otopina KCl te je nakon stabiliziranja izlaznog signala puštena otopina druge koncentracije ($10^{-2}$ M). Uzorci su dostavljeni u ćeliju pri protoku od 1,40 mL/min.

Iz dobivene „S“ krivulje koja zorno opisuje promjenu koncentracije se može odrediti vrijeme odziva, koje u ovom slučaju iznosi $t_{95}$ = 47,64 sek. To je relativno brzo vrijeme odziva za bulk optode, uzimajući u obzir da mehanizam takve vrste senzora podrazumijeva transport mase iz uzorka u matricu i uspostavljanje termodinamičke ravnoteže.



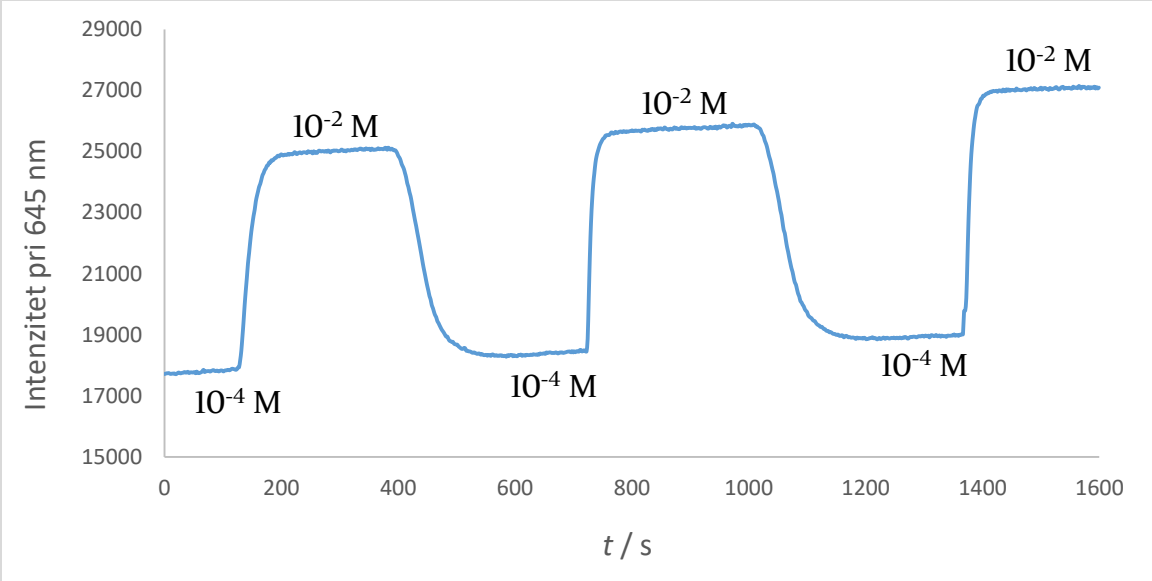

***Slika 4.13:*** *Ispitivanje vremena odziva optode na kromatografskom papiru*

### 4.4.4 Ponovljivost

Test ponovljivosti je proveden na isti način kao i prethodno ispitivanje. Uzastopnim prebacivanjem pumpe iz jedne otopine ($10^{-4}$ M) u drugu ($10^{-2}$ M) dobiven je stepeničasti izlazni signal (**slika 4.14**).

Mjerenja su obavljena unutar pola sata. Kako se mjerenja ponavljaju, uočljiv je blagi otklon signala prema višim intenzitetima, čime je implicirano da ovakav tip senzora dugoročno neće garantirati stabilan izlazni signal. Pretpostavljeno je da ispiranje komponenti zbog ne-kovalentne imobilizacije u matrici uzrokuje taj problem.

Iz rezultata ispitivanja ponovljivosti se može naslutiti da će upotrebljivost kromatografskih test traka biti ograničena.



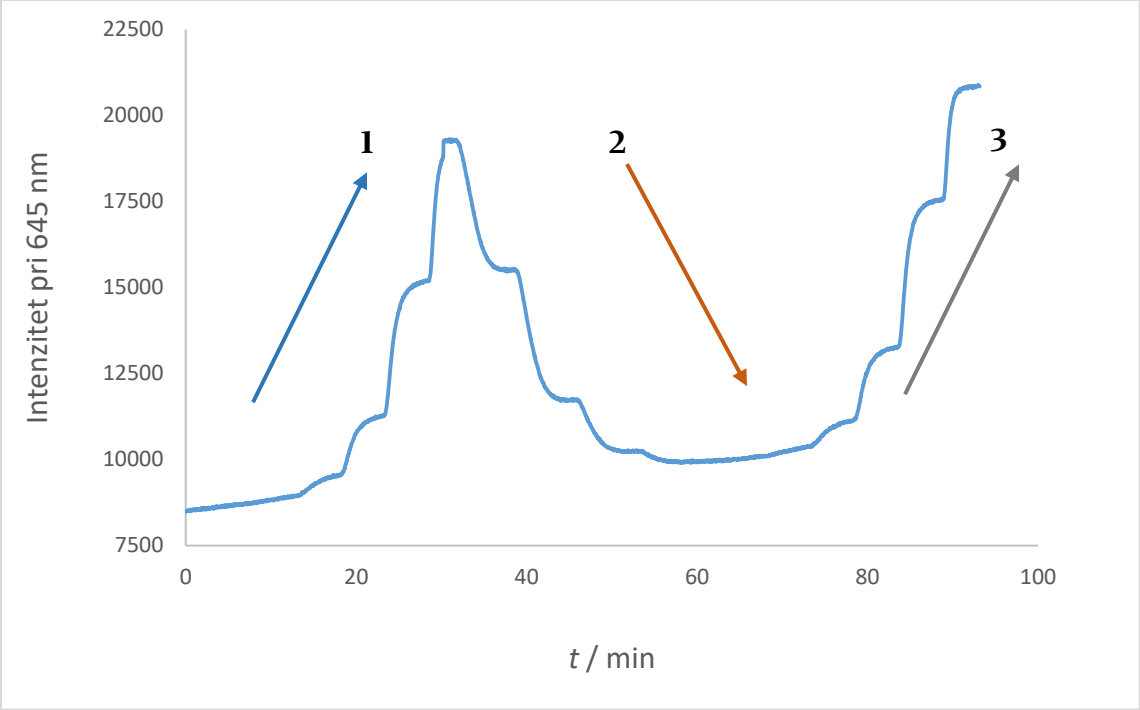

***Slika 4.14:*** *Ispitivanje ponovljivosti optode na kromatografskom papiru*

### 4.4.5 Obnovljivost i histereza

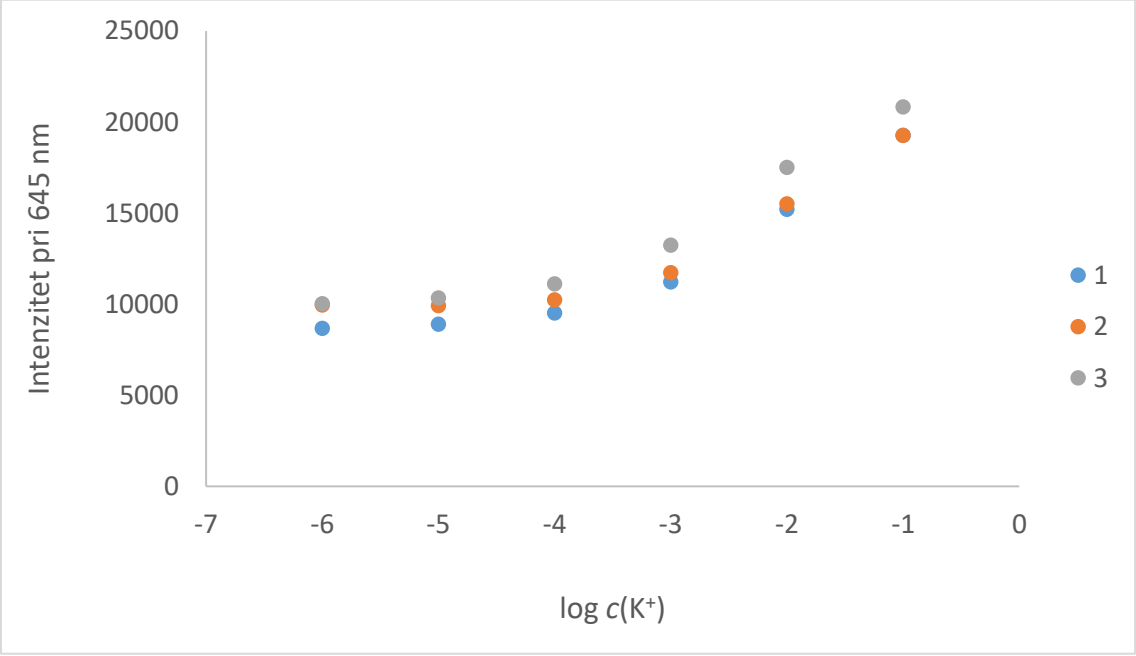
Obnovljivost je ispitana kroz više od sat vremena, na način da je testiran odziv kroz sve redove veličine koncentracije analita (**Slika 4.15**). Mjerenja su provedena u tri različita smjera, s postupnim povećanjem koncentracije (1) pa u drugom smjeru s postupnim smanjenjem (2) i završenim ponovnim inicijalnim smjerom (3).

Prema mjernom principu je na temelju rezultata obnovljivosti odmah određena i histereza; u ovom slučaju, krivulju histereze predstavljaju tri kalibracijske krivulje (**slika 4.16**) koje su konstruirane na temelju izlaznih signala iz testiranja obnovljivosti. Da bi se minimalizirala pogreška prilikom izrade kalibracijskih krivulja, za vrijednost intenziteta pri određenoj koncentraciji jest uzeta aritmetička sredina podataka pri stabiliziranim izlaznim signalima.

Oba testa samo potvrđuju prvobitnu sumnju iz testa ponovljivosti; isti trend je uočen u stepeničastim signalima obnovljivosti, a krivulja histereze jasno predočuje promjene koje se događaju u izlaznim vrijednostima kroz dulji vremenski period.



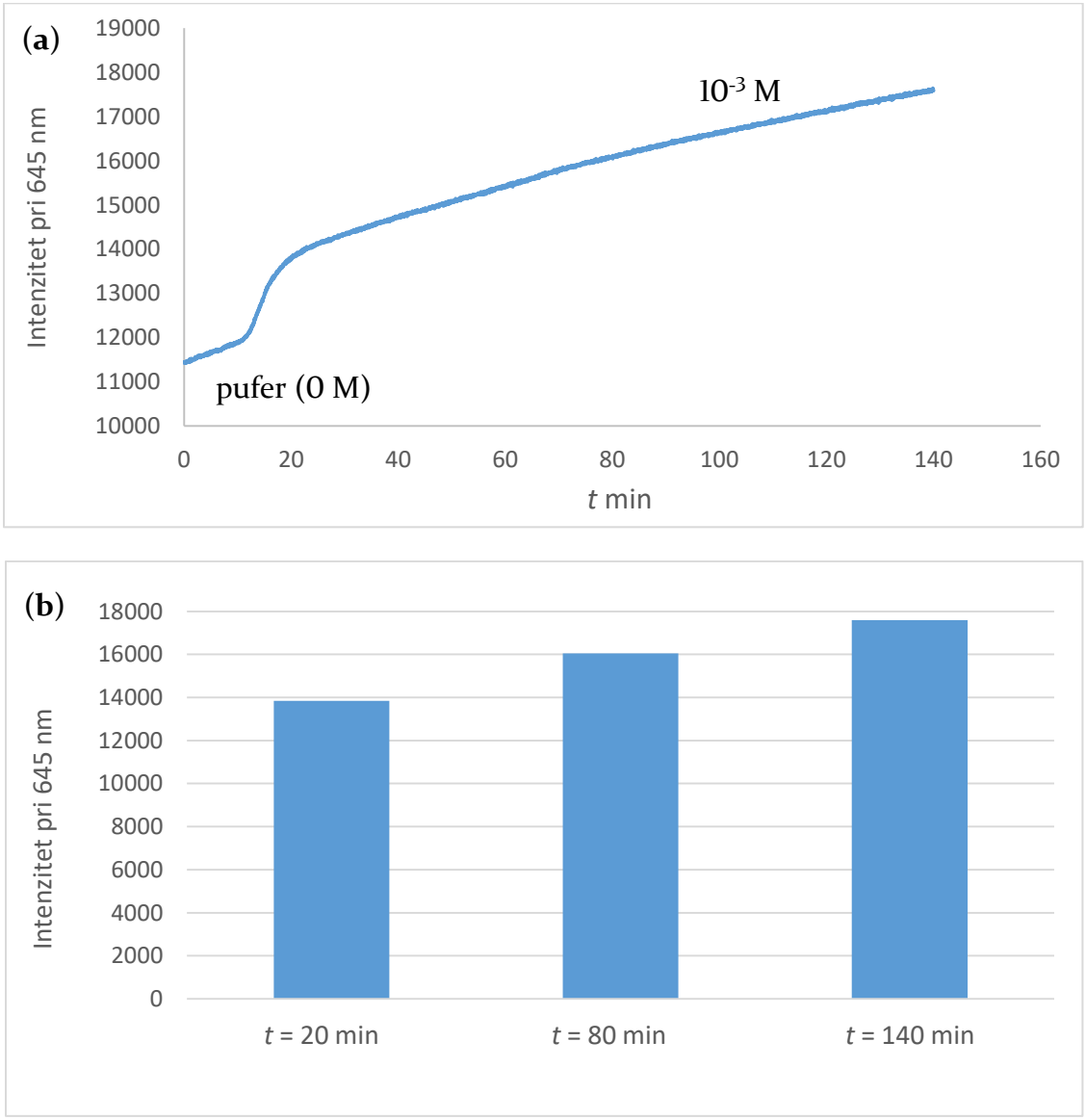

***Slika 4.15:*** *Ispitivanje obnovljivosti optode na kromatografskom papiru*




***Slika 4.16:*** *Histereza*

### 4.4.6 Stabilnost

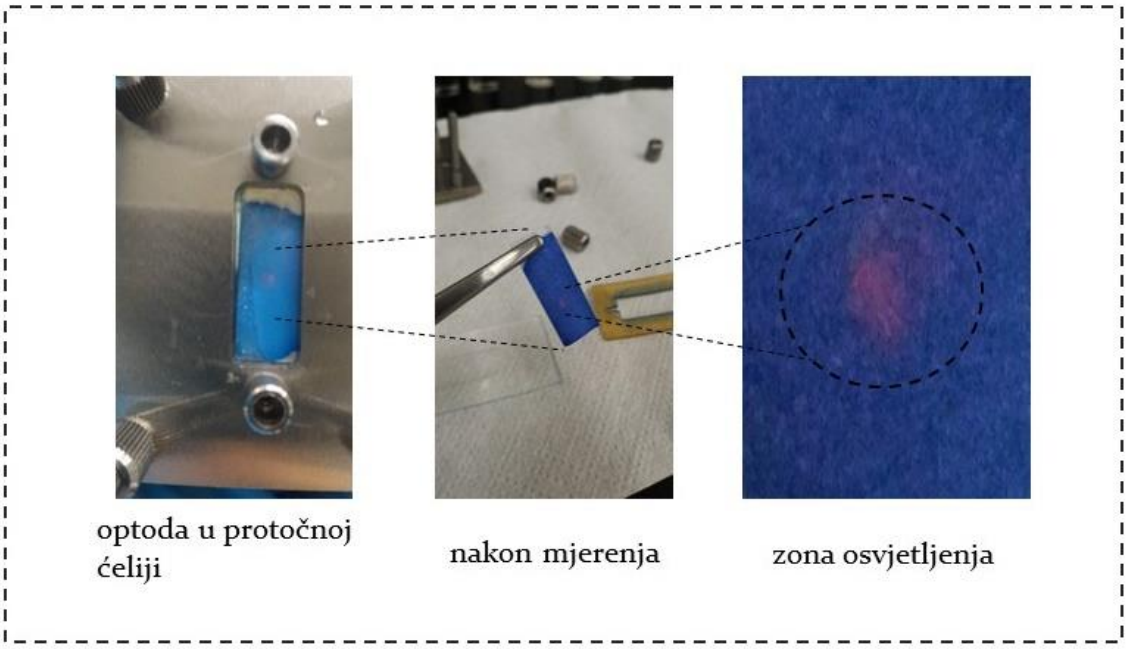
Stabilnost optoda na kromatografskom papiru je ispitana u $10^{-3}$ M otopini KCl, nakon inicijalnog močenja u puferu (**slika 4.17**). Odabrana je ona koncentracija otopine koja je najsličnija realnim koncentracijama $K^+$ u ljudskom znoju, što su uglavnom milimolarne (mM) vrijednosti. Testiranje je trajalo preko 2 sata, pri minimalnom protoku od 0,15 mL/min.




***Slika 4.17:*** *Ispitivanje stabilnosti optode na kromatografskom papiru*

Rezultati ispitivanja pokazuju da pripravljene optode definitivno nisu stabilne kroz dulji vremenski period, zbog čega ih nije moguće primijeniti za kontinuirane analize. Kroz 140-minutno ispitivanje, izlazni signal je u konstantnom otklonu od trenutka kontakta sa uzorkom (**a**). Unutar jednog sata je uočen porast od 14% (20-80 min), a pri završetku mjerenja se gotovo udvostručio (23%) (**b**). Ovaj problem limitira dugoročnu upotrebljivost ovakvih optoda u sustavu nosivih (bio)kemijskih senzora.

Nakon završenog eksperimenta, uočen je još jedan razlog koji znatno utječe na stabilnost optičkih senzora (**slika 4.18**); foto-izbjeljivanje indikatora na lokaciji gdje je bilo pozicionirano optičko vlakno za mjerenje reflektancije. To je nažalost često prijavljivan problem u istraživanju, zato što određeni indikatori još nisu u potpunosti optimizirati za optičke (bio)kemijske senzorske aplikacije.




***Slika 4.18:*** *Prikaz učinka foto-izbjeljivanja indikatora*

Prema svim prikupljenim rezultatima, jasno je da postoje brojni problemi koji limitiraju praktičnu uporabu ispitanih kalij-selektivnih optoda u implementaciji nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora.

Razmatrajući mogućnosti, ukoliko bi se primijenio sustav za kolorimetrijsku detekciju pomoću pametnih telefona, kao što je to demonstrirano u literaturnom pregledu (Wang *et al.*), pripravljene optode bi se mogle koristiti kao jednokratni flasteri prilikom sportskih aktivnosti. Nakon uporabe, flasteri bi se skinuli i podvrgnuli analizi putem kamere na telefonu. To je samo jedno od mogućih praktičnih rješenja.

U svakom slučaju treba razmotriti drugačije taktike u implementaciji ovakvih optoda za realizaciju nosivih papirnih kalij-selektivnih senzora za znoj, ili istražiti mogućnosti daljnje optimizacije već korištenog sustava.

# 5 Zaključak

Uspješno su implementirane ion-selektivne optode na bazi valinomicina i Nile Blue indikatorskog bojila na različitim supstratnim materijalima: poliesterskom filmu (tankoslojni filmovi), filter papiru, kromatografskom papiru i tesktilu. Istražena je mogućnost njihove integracije u sustav nosivih (bio)kemijskih senzora, s potencijalom primjenom u analizi sadržaja znoja. Pomnim ispitivanjem ponašanja osjetilnih komponenti na pojedinom supstratu je utvrđeno da je kromatografski papir najbolji od testiranih supstratnih materijala. Odabir je potkrijepljen rezultatima spektroskopske karakterizacije.

Ispitivanjem različitih parametra karakterizacije kalij-selektivnih optoda na kromatografskom papiru je ustanovljeno sljedeće:

- Dinamičko područje obuhvaća preko tri reda veličine ($10^{-1}$ M - $10^{-4}$ M $K^+$) koje je zadovoljavajuće za praktičnu primjenu s obzirom na činjenicu da se prosječna koncentracija kalijevih iona u znoju nalazi upravo u tom intervalu.
- Rezultati ispitivanja ponovljivosti, obnovljivosti i histereze upućuju da je upotrebljivost ovakvih senzora ograničena, zbog konstantnog otklona u izlaznim signalima kroz dulji vremenski period.
- Osim pretpostavljenog problema sa ispiranjem osjetilnih komponenti iz membrane, što bi uzrokovalo prethodne rezultate, ispitivanjem stabilnosti je potvrđeno da proizvedene optode nisu upotrebljive za kontinuirana mjerenja zbog foto-izbjeljivanja indikatora prilikom dužeg izlaganja vanjskom izvoru zračenja.

Na osnovi dobivenih rezultata, mogućnost implementacije nosivih optičkih (bio)kemijskih senzora na temelju ispitanog mehanizma je ograničena zbog elaboriranih problema. Ovako pripravljene papirne kalij-selektivne optode bi se mogle iskoristiti za predviđenu aplikaciju u obliku jednokratnih test-traka.

# 6 Literatura

[1] Gründler, P., Chemical Sensors An Introduction for Scientists and Engineers, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 2007., str. 1-13.

[2] Coleman, D., Analytical Chemistry – Time for a Change?, *Trends Analyt. Chem.*, **7** (1988) 126-127.

[3] Khunti, K., Near-Patient Testing in Primary Care, *Br. J. Gen. Prac.*, **60** (2010) 157-158.

[4] Bandodkar, A.J., Wang, J., Non-Invasive Wearable Electrochemical Sensors: A Review, *Trends Biotechnol.*, **32** (2014) 363-371.

[5] Matzeu, G., Florea, L., Diamond, D., Advances in Wearable Chemical Sensor Design for Monitoring Biological Fluids, *Sens. Actuators B: Chem.*, **211** (2015) 403-418.

[6] Steinberg, M.D., Kassal, P., Steinberg, I.M., System Architectures in Wearable Electrochemical Sensors, *Electroanalysis*, **28** (2016) 1149-1169.

[7] Hulanicki, A., Glab, S., Ingman, F., Chemical Sensors Definitions and Classification, *Pure Appl. Chem.*, **63** (1991) 1247-1250.

[8] Wolfbeis, O.S., Chemical Sensors – Survey and Trends, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **337** (1990) 522-527.

[9] Lopez-Marzo, A.M., Merkoci, A., Paper-Based Sensors and Assays: A Success of the Engineering Design and the Convergance of Knowledge Areas, *Lab Chip*, **16** (2016) 3150-3176.

[10] Coyle, S., Lopez, F.B., Radu, T., Lau, K.T., Diamond, D., Fibers and Fabrics for Chemical and Biological Sensing, *RJTA*, **14** (2010) 63-72.

[11] Cho, E., Mohammadifar, M., Choi, S., A Single-Use, Self-Powered, Paper-Based Sensor Patch for Detection of Exercise-Induced Hypoglycemia, *Micromachines*, **8** (2017) 1-11.

[12] Morris, D., Coyle, S., Wu, Y., Lao, K.T., Wallace, G., Diamond, D., Bio-Sensing Textile Based Patch With Integrated Optical Detection System for Sweat Monitoring, *Sens. Actuators B: Chem.*, **139** (2009) 231-236.

[13] Yang, Y., Noviana, E., Nguyen, M.P., Geiss, B.J., Dandy, D.S., Henry, C.S., Paper-Based Microfluidic Devices: Emerging Themes and Applications, *Anal. Chem.*, **89** (2017) 71-91.

[14] Nilghaz, A., Ballerini, D.R., Shen, W., Exploration of Microfluidic Devices Based on Multi-Filament Threads and Textiles: A Review, *Biomicrofluidics*, **7** (2013) 051501 (1-16).

[15] Whitesides, G.M., The Origins and the Future of Microfluidics, *Nature*, **442** (2006) 368-373.

[16] Gomez, F.A., The Future of Microfluidic Point-Of-Care Diagnostic Devices, *Bioanalysis*, **5** (2013) 1-3.

[17] Luka, G., Ahmadi, A., Najjaran, H., Alociljla, E., DeRosa, M., Wolthers, K., Malki, A., Aziz, H., Althani, A., Hoorfar, M., Microfluidics Integrated Biosensors: A Leading Technology Towards Lab-on-a-chip and Sensing Applications, *Sensors*, **15** (2015) 30011-30031.

[18] Gruber, P., Marques, M.P.C., Szita, N., Mayr, T., Integration and Application of Optical Chemical Sensors in Microbioreactors, *Lab Chip*, **17** (2017) 2693-2712.

[19] Rackus, D.G., Shamsi, M.H., Wheeler, A.R., Electrochemistry, Biosensors and Microfluidics: A Convergence of Fields, *Chem. Soc. Rev.*, **44** (2015) 5320-5340.

[20] D'Amico, A., Di Natale, C., A Contribution on Some Basic Definitions of Sensors Properties, *IEEE Sens. J.*, **1** (2001) 183-190.

[21] Thevenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson, G.S., Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification, *Pure Appl. Chem.*, **71** (1999) 2333-2348.

[22] Kalantar-Zadeh, K., Sensors: An Introductory Course, Springer Science + Business Media, New York, 2013., str. 11-28.

[23] Jeronimo, P.C.A., Araujo, A.N., Montenegro, M., Optical Sensors and Biosensors Based on Sol-gel Films, *Talanta*, **72** (2007) 13-27.

[24] Wang, X., Wolfbeis, O.S., Optical Methods for Sensing and Imaging Oxygen: Materials, Spectroscopies and Applications, *Chem. Soc. Rev.*, **43** (2014) 3666-3761.

[25] Lobnik, A., Turel, M., Urek, Š.K., Optical Chemical Sensors: Design and Applications, u: Wang, W., Advances in Chemical Sensors, InTech Open, **10** (2012) 1-28.

[26] McDonagh, C., Burke, C.S., MacCraith, B.D., Optical Chemical Sensors, *Chem. Rev.*, **108** (2008) 400-422.

[27] Wolfbeis, O.S., Chemical Sensing Using Indicator Dyes, u: Dakin, J., Culshaw, B., Optical Fiber Sensors (4. izdanje), Artech House, Boston/London, 1997., str. 53-107.

[28] Wolfbeis, O.S., Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors, *Anal. Chem.*, **78** (2006) 3859-3874.

[29] Wang. X., Wolfbeis, O.S., Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors (2013-2015), *Anal. Chem.*, **88** (2016) 203-227.

[30] Shibata, H., Henares, T.G., Yamada, K., Suzuki, K., Citterio, D., Impementation of a Plasticized PVC-Based Cation-Selective Optode System into a Paper-Based Analytical Device for Colorimetric Sodium Detection, *Analyst.*, **143** (2018) 678-686.

[31] Van der Schueren, L., De Clerck, K., Coloration and Application of pH-Sensitive Dyes on Textile Materials, *Color. Technol.*, **128** (2012) 82-90.

[32] O'Toole, M., Diamond, D., Absorbance Based Light Emitting Diode Optical Sensors and Sensing Devices, *Sensors*, **8** (2008) 2453-2479.

[33] Hoa, X.D., Kirk, A.G., Tabrizian, M., Towards Integrated and Sensitive Surface Plasmon Resonance Biosensors: A Review of Recent Progress, *Biosens. Bioelectron.*, **23** (2007) 151-160.

[34] Gründler, P., Chemical Sensors An Introduction for Scientists and Engineers, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 2007., str. 25-37.

[35] Murthy, K.V.R., Virk, H.S., Luminescence Phenomena: An Introduction, *Defect and Diffusion Forum*, **347** (2014) 1-34.

[36] Omary, M.A., Patterson, H.H., Luminescence, Theory, u: Lindon, J., Tranter, G.E., Koppenaal, D., Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (3. izdanje), Elsevier, New York, 2017., str. 636-653.

[37] Schaepman-Strub, G., Schaepman, M.E., Painter, T.H., Dangel, S., Martonchik, J.V., Reflectance Quantities in Optical Remote Sensing – Definitions and Case Studies, *Remote Sens. Environ.*, **103** (2006) 27-42.

[38] Narayanaswamy, R., Optical Chemical Sensors: Transducion and Signal Processing, *Analyst*, **118** (1993) 317-322.

[39] Džimbeg-Malčić, V., Barbarić-Mikočević, Ž., Itrić, K., Kubelka-Munk Theory in Describing Optical Properties of Paper, *Technical Gazette*, **18** (2011) 117-124.

[40] Wolfbeis, O.S., Luminescent Sensing and Imaging of Oxygen: Fierce Competition to the Clark Electrode, *Bioessays*, **37** (2015) 921-928.

[41] Kautsky, H., Quenching of Luminescence by Oxygen, *Trans. Faraday Soc.*, **35** (1939) 216-219.

[42] Quaranta, M., Borisov, S.M., Klimant, I., Indicators for Optical Oxygen Sensors, *Bioanal. Rev.*, **4** (2012) 115-157.

[43] Mohr, G.J., Wolfbeis, O.S., Optical Sensors for a Wide pH Range Based on Azo Dyes Immobilized on a Novel Support, *Anal. Chim. Acta*, **292** (1994) 41-48.

[44] Bakker, E., Bühlmann, P., Pretsch, E., Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics, *Chem. Rev.*, **97** (1997) 3083-3132.

[45] Mistlberger, G., Crespo, G.A., Bakker, E., Ionophore-Based Optical Sensors, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, **7** (2014) 483-512.

[46] Mohr, G.J., Polymers for Optical Sensors, u: Baldini, F., Chester, A.N., Homola, J., Martellucci, S., Optical Chemical Sensors (NATO Science Series,

II. Mathematics Physics and Chemistry, **224**), Springer, Dordrecht, 2006., str. 297-321.

[47] Lobnik, A., Oehme, I., Steinberg, I.M., Wolfbeis, O.S., pH Optical Sensors Based on Sol-Gels: Chemical Doping versus Covalent Immobilization, *Anal. Chim. Acta.*, **367** (1998) 159-165.

[48] Stradiotto, N.R., Yamanaka, H., Zanoni, M.V.B., Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry, *J. Braz. Chem. Soc.*, **14** (2003) 159-173.

[49] Hu, J., Stein, A., Bühlmann, P., Rational Design of All-Solid-State Ion-Selective Electrodes and Reference Electrodes, *Trends Analyt. Chem.*, **76** (2016) 102-114.

[50] Seiler, K., Simon, W., Principles and Mechanisms of Ion-Selective Optodes, *Sens. Actuators B: Chem.*, **6** (1992) 295-298.

[51] Xiaojiang, X., Bakker, E., Ion Selective Optodes: From the Bulk to Nanoscale, *Anal. Bioanal. Chem.*, **407** (2015) 3899-3910.

[52] Lan, B.T.T., Toth, K., Characterization of Chromogenic Calix[4]arene Derivative Based Ion-Selective Optical Sensors, *Anal. Sci.*, **14** (1998) 191-197.

[53] Helgeson, R.C., Czech, B.P., Chapoteau, E., Gebauer, C.R., Kumar, A., Cram, D.J., Host-Guest Complexation. 50. Potassium and Sodium Ion-Selective Chromogenic Ionophores, *J. Am. Chem. Soc.*, **111** (1989) 6339-6350.

[54] Le, N.T.N., Tan, L.V., Tu, L.N., Highly Selective Chromogenic Ionophores for Recognition of Cerium (IV) Based on a Water-Soluble Azocalixarene Derivative, *IPCBEE*, **10** (2011) 245-252.

[55] Yi, C., Song, B., Tian, W., Cui, X., Qi, Q., Wei, J., Qi, Z., Sun, Y., Fluorescent Sensor of Fluorene Derivatives Having Phosphonic Acid as a Fluorogenic Ionophore: Synthesis and Static Quenched Properties of Fe(III), *Tetrahedron Lett.*, **55** (2014) 5119-5123.

[56] Shamsipur, M., Poursaberi, T., Avanes, A., Sharghi, H., Copper(II)-Selective Fluorimetric Bulk Optode Membrane Based on a 1-Hydroxy-9,10-Anthraquinone Derivative Having Two Propenyl Arms as a Neutral

Fluorogenic Ionophore, *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **63** (2006) 9-14.

[57] Hosseini, M., Ganjali, M.R., Veismohammadi, B., Faridbod, F., Abkenar, S.D., Norouzi, P., Determination of Terbium in Phosphate Rock by $Tb^{3+}$-Selective Fluorimetric Optode Based on Dansyl Derivative as a Neutral Fluorogenic Ionophore, *Anal. Chim. Acta*, **664** (2010) 172-177.

[58] Bakker, E., Selectivity Comparison of Neutral Carrier-Based Ion-Selective Optical and Potentiometric Sensing Schemes, *Anal. Chim. Acta*, **350** (1997) 329-340.

[59] Bühlmann, P., Pretsch, E., Bakker, E., Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors, *Chem. Rev.*, **98** (1998) 1593-1687.

[60] Wang, L., Xie, X., Zhai, J., Bakker, E., Reversible pH-Independent Optical Potassium Sensor with Lipophilic Solvatochromic Dye Transducer on Surface Modified Microporous Nylon, *Chem. Commun.*, **52** (2016) 14254-14257.

[61] Xie, X., Zhai, J., Bakker, E., pH Independent Nano-Optode Sensors Based on Exhaustive Ion-Selective Nanospheres, *Anal. Chem.*, **86** (2014) 2853-2856.

[62] Xie, X., Zhai, J., Crespo, G.A., Bakker, E., Ionophore-Based Ion-Selective Optical NanoSensors Operating in Exhaustive Sensing Mode, *Anal. Chem.*, **86** (2014) 8770-8775.

[63] Farooq, M.U., Waseem, M., Mazhar, S., Khairi, A., Kamal, T., A Review on Internet of Things (IoT), *Int. J. Comput. Appl.*, **113** (2015) 1-7.

[64] Bandodkar, A.J., Jeerapan, I., Wang, J., Wearable Chemical Sensors: Present Challenges and Future Prospects, *ACS Sens.*, **1** (2016) 464-482.

[65] Coyle, S., Curto, V.F., Benito-Lopez, F., Florea, L., Diamond, D., Wearable Bio and Chemical Sensors, u: Sazonov, E., Neuman, M.R., Wearable Sensors Fundamentals, Implementation and Applications (1. izdanje), Elsevier, Amsterdam, 2016., str. 65-83.

[66] Hao, Y., Foster, R., Wireless Body Sensor Networks for Health-Monitoring Applications, *Physiol. Meas.*, **29** (2008) R27-R56.

[67] Zheng, Y., Yang. Y., Chen, S., Yuan, Q., Smart, Stretchable and Wearable Supercapacitors: Prospects and Challenges, *Cryst. Eng. Comm.*, **18** (2016) 4218-4235.

[68] Berchmans, S., Bandodkar, A.J., Jia, W., Ramirez, J., Meng, Y.S., Wang, J., An Epidermal Alkaline Rechargeable Ag-Zn Printable Tattoo Batery for Wearable Electronics, *J. Mater. Chem.*, **2** (2014) 15788-15795.

[69] O'Connor, T.F., Zaretski, A.V., Savagatrup, S., Printz, A.D., Wilkes, C.D., Diaz, M.I., Sawyer, E.J., Lipomi, D.J., Wearable Organic Solar Cells with High Cyclic Bending Stability: Materials Selecton Criteria, *Sol. Energ. Mat. Sol. C.*, **144** (2016) 438-444.

[70] Jia, W., Wang, X., Imani, S., Bandodkar, A.J., Ramirez, J., Mercier, P.P., Wang, J., Wearable Textile Biofuel Cells for Powering Electronics, *J. Mater. Chem. A*, **2** (2014) 18184-18189.

[71] Zhang, T., Lu, J., Hu, F., Hao, Q., Bluetooth Low Energy for Wearable Sensor-Based Healthcare Systems, *IEEE HI-POC Conference,* Seattle, Listopad 8.-10., 2014., str. 251-254.

[72] Lorwongtragool, P., Sowade, E., Watthanawisuth, N., Baumann, R.R., Kerdcharoen, T., A Novel Wearable Electronic Nose for Healthcare Based on Flexible Printed Chemical Sensor Array, *Sensors*, **14** (2014) 19700-19712.

[73] Steinberg, I.M., Steinberg, M.D., Radio-Frequency Tag With Optoelectronic Interface for Distributed Wireless Chemical and Biological Sensor Applications, *Sens. Actuators B: Chem.*, **138** (2009) 120-125.

[74] Azzarelli, J.M., Mirica, K.A., Ravnsbaek, J.B., Swager, T.M., Wireless Gas Detection with a Smartphone via RF Communication, *PNAS*, **111** (2014) 18162-18166.

[75] Lobnik, A., Wearable Optical Chemical Sensors, u: Kiekens, P., Jayaraman, S., Intelligent Textiles and Clothing for Ballistic and NBC Protection (NATO

Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics), Springer, Dordrecht, 2012., str. 29-52.

[76] Wang, X., Zhang, Q., Nam, C., Hickner, M., Mahoney, M., Meyerhoff, M.E., Ionophore-Based Anion-Selective Optode Printed on Cellulose Paper, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **56** (2017) 11826-11830.

[77] Wang, X., Qin, Y., Meyerhoff, M.E., Paper-Based Plasticizer-Free Sodium Ion-Selective Sensor with Camera Phone as a Detector, *Chem. Commun.*, **51** (2015) 15176-15179.

[78] Baysal, G., Önder, S., Göcek, I., Trabzon, L., Kizil, H., Kök, F.N., Kayaoglu, B.K., Microfluidic Device on a Nonwoven Fabric: A Potential Biosensor for Lactate Detection, *Text. Res. J.*, **84** (2014) 1-13.

[79] Caldara, M., Colleoni, C., Guido, E., Re, V., Rosace, G., Optical Monitoring of Sweat pH by a Textile Fabric Wearable Sensor Based on Covalently Bonded Litmus 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane coating, *Sens. Actuators B: Chem.*, **222** (2016) 213-220.

[80] Morris, D., Coyle, S., Wu, Y., Lau, K.T., Wallace, G., Diamond, D., Bio-Sensing Textile-Based Patch With Integrated Optical Detection System for Sweat Monitoring, *Sens. Actuators B: Chem.*, **139** (2009) 231-236.

[81] Pasche, S., Schyrr, B., Wenger, B., Scolan, E., Ischer, R., Voirin, G., Smart Textiles with Biosensing Capabilities, *ASTRJ*, **80** (2013) 129-135.

[82] Koh, A., Kang, D., Xue, Y., Lee, S., Pielak, R.M., Kim, J., Hwang, T., Min, S., Banks, A., Bestien, P., Manco, M.C., Wang, L., Ammann, K.R., Jang, K.I., Won, P., Han, S., Ghaffari, R., Paik, U., Slepian, M.J., Balooch, G., Huang, Y., Rogers, J.A., A Soft, Wearable Microfluidic Device for the Capture, Storage, and Colorimetric Sensing of Sweat, *Sci. Transl. Med.*, **8** (2016) 1-13.

[83] Fluka Analytical (Optical Transduction, Application 1, Potassium); https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Instructions/k_potassium.pdf

[84] Malavolti, E., Cagnini, A., Caputo, G., Ciana, L.D., Mascini, M., An Optimized Optrode for Continuous Potassium Monitoring in Whole Blood, *Anal. Chim. Acta*, **401** (1999) 129-136.

[85] Fong, C.W., Physiology of Ionophore Transport of Potassium and Sodium Ion Across Cell Membranes: Valinomycin and 18-Crown-6-Ether, *Int. J. Comput. Biol. Drug. Des.*, **9** (2016) 228-246.

# Životopis

Juraj Kasač [redacted] Nakon uspješno položene državne mature, 2012. godine upisuje preddiplomski studij Primijenjena Kemija na Fakultetu Kemijskog Inženjerstva i Tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu. U sklopu nastavnog kurikuluma, odradio je stručnu praksu u Plivi. Preddiplomski studij završava u rujnu 2015. godine sa obranom završnog rada pod naslovom *Obrada signala u analitičkoj kemiji*. Iste godine upisuje i nastavak studija na diplomskom programu Primijenjena Kemija. Za vrijeme diplomskog studija aktivno sudjeluje na konferencijama sa posterskim priopćenjima (2016. XI Susret mladih kemijskih inženjera; 2018. XII Susret mladih kemijskih inženjera). U ožujku 2017. odlazi na tromjesečnu volontersku stručnu praksu u Dublin putem Erasmus+ programa. Diplomski studij završava u rujnu 2018. godine sa obranom diplomskog rada pod naslovom *Nosivi optički (bio)kemijski senzori na papiru i tekstilu*.