

Prirodni pigmenti kao nosivi kemijski senzori na koži

Luketić, Zlatko

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:376004>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Zlatko Luketić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 17. rujna 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidat **Zlatko Luketić**

Predao je izrađen diplomski rad dana: 21. rujna 2023.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Ivana Steinberg, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije
Izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
Prof. dr. sc. Šime Ukić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije
Doc. dr. sc. Matija Cvetnić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 26. rujna 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Zlatko Luketić

PRIRODNI PIGMENTI KAO NOSIVI KEMIJSKI SENZORI NA KOŽI

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Ivana Steinberg

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Ivana Steinberg

Izv. prof. dr.-sc. Svjetlana Krištafor

Prof. dr. sc. Šime Ukić

Zagreb, 17. rujna 2023.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ivani Steinberg na ponuđenoj temi, savjetima i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Također se zahvaljujem asistentu Jakovu Tenžeri mag. appl. chem. na susretljivosti, strpljenju, pomoći pri izradi diplomskog rada i stvaranju ugodnog radnog okoliša.

Zahvaljujem se i svim zaposlenicima Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na stručnim savjetima i pomoći, pogotovo na početnim godinama fakultetskog obrazovanja.

Posebne zahvale upućujem svojoj djevojci Marti Margeti na podršci, bezuvjetnoj ljubavi i razumijevanju koje mi je pružila prije, tijekom i nakon pisanja ovog rada.

SAŽETAK

Razvoj tehnologije i broj objavljenih radova na temu bežičnih i nosivih (engl. *wearable*) optičkih kemijskih senzora je u konstantnom porastu od 2011. godine. Njihov jednostavan način rada, cjenovna pristupačnost i mogućnost komercijalizacije ih čini zanimljivim ne samo znanstvenicima, već i ekonomistima velikih korporacija.

Nosivi senzori koriste se danas rutinski za praćenje zdravstvenog stanja pacijenata i kondicije profesionalnih i rekreativnih sportaša. U tu svrhu najčešće se primjenjuju u obliku pametnih satova koji pomoću minijaturiziranog optoelektroničkog sučelja metodom fotopletizmografije (engl. *photoplethysmography*, PPG), mogu mjeriti broj otkucaja srca, zasićenost krvi kisikom te procjenjivati niz drugih parametara i digitalnih biomarkera.

U novije vrijeme znanstvena istraživanja usmjerena su prema razvoju nosivih kemijskih senzora, koji bi bili u stanju dati informacije o (bio)kemijskom sastavu dostupnih biofluida (npr. znoj, međustanična tekućina, suze, slina). Kontinuirano praćenje koncentracije (bio)kemijskih parametara u kombinaciji s fizičkim indikatorima predstavlja inovativni multimodalni pristup dijagnostici i terapiji, čiji izuzetan uspon je vidljiv u znanstvenoj i patentnoj literaturi posljednjih godina.

Cilj ovog rada bio je ispitati primjenjivost komercijalno dostupnog PPG optičkog senzorskog sustava (model MAX30101) za mjerenje odabranog kemijskog parametra (pH vrijednost) koristeći prirodni pigment kurkumin kao pH indikator. Kurkumin je prirodni pigment dobiven iz podzemne stabljike biljke *Curcuma longa*, te je kao takav privlačan jer predstavlja ekološki prihvatljivu alternativu umjetnim, i često štetnim pigmentima. Stoga je njegova potencijalna primjena u nosivim sensorima, u direktnom kontaktu s kožom/znojem, u potpunosti moguća. Osim toga, kurkumin je meta istraživanja i u medicini jer su dokazana njegova antikancerogena svojstva, što podcrtava njegovu biokompatibilnost. Neutralne i kisele otopine s kojima je kurkumin u kontaktu bojaju ga jarko žuto, a s porastom pH vrijednosti on mijenja boju u crveno-narančasto-smeđu. Imobilizacija kurkumina izvedena je na papiru, metodom isparavanja otapala. Papir je vrlo zahvalna podloga za nosive kemijske senzore jer je dostupan u različitim strukturnim izvedbama i svojstvima. Imobilizacijom tri otopine kurkumina različitih koncentracija dobiveni su jednokratni testni papirići koji su spektroskopski karakterizirani pri različitim vrijednostima otopina pH pufera u rasponu od 8 do 13. Mjerenja izvedena primjenom fotopletizmogrofskog (PPG) senzora uspoređena su s mjerenjima standardnog laboratorijskog instrumenta za mjerenje reflektancije. Zaključeno je

da odabrani PPG senzorski sustav primijenjen na prikazani način može razlikovati pH vrijednosti s određenom točnošću. Eksperimentalno su izračunate pK_{a1} vrijednosti kurkumina kao imobiliziranog indikatora na papiru dobivene u dva seta mjerenja PPG senzorom MAX30101 te iznose $pK_a = 8,91$ i $pK_a = 9,16$. Ista veličina određena standardnim instrumentom za mjerenje reflektancije spektrometrom *OceanOptics* mjerenjima istih uzoraka papirnih senzora iznosi $pK_a = 9,43$.

Ključne riječi

Optički kemijski senzor, prirodni pigment, kurkumin, fotopletizmografija, pH osjetljivi pigment

SUMMARY

The development of technology and the number of published papers on wearable optical chemical sensors is in a constant rise since 2011. Their simple way of work, financial accessibility and possibility of commercialisation makes them interesting not only to scientists, but to economists of big corporations too.

Wearable sensors today are routinely used to track medical states of patients and physical conditions of professional and amateur athletes alike. For that purpose, they are most often used in the form of smart watches that, using a miniaturised optoelectronic interface and the method of photoplethysmography (PPG), can measure heart rate, blood oxygen saturation, and evaluate a number of other parameters and digital biomarkers.

Recently, scientific research has been directed towards the development of wearable chemical sensors, which would be able to provide information about the (bio)chemical composition of available biofluids (eg. sweat, intercellular fluid, tears, saliva). Continuous monitoring of the concentration of (bio)chemical parameters in combination with physical indicators represents an innovative multimodal approach to diagnostics and therapy, the remarkable rise of which is visible in the scientific and patent literature in recent years.

The aim of this work was to examine the applicability of a commercially available PPG optical sensor system (model MAX30101) for measuring a selected chemical parameter (pH value) using the natural pigment curcumin as a pH indicator. Curcumin is a natural pigment obtained from the underground stem of the plant *Curcuma longa*, and as such is attractive because it represents an environmentally friendly alternative to artificial, and often harmful, pigments. Therefore, its potential application in wearable sensors, in direct contact with skin/sweat, is entirely possible. In addition, curcumin is the target of research in medicine as its anticancer properties have been proven, which underlines its biocompatibility. Neutral and acidic solutions with which curcumin is in contact color it bright yellow, and as the pH value increases, it changes color to red-orange-brown. Immobilization of curcumin was performed on paper, using the solvent evaporation method. Paper is a very useful substrate for wearable chemical sensors because it is available in different structural designs and properties. By immobilizing three curcumin solutions of different concentrations, disposable test papers were obtained, which were spectroscopically characterized at different values of pH buffer

solutions ranging from 8 to 13. Measurements performed using a photoplethysmographic (PPG) sensor were compared with measurements of a standard laboratory instrument for measuring reflectance. It was concluded that the selected PPG sensor system applied in the manner shown can distinguish pH values with a certain accuracy given that pK_{a1} values which were determined using the PPG sensor ($pK_a = 8,91$ and $pK_a = 9,16$) do not differ considerably from the one that was determined using the standard instrument *OceanOptics* ($pK_a = 9,43$).

Keywords

Optical chemical sensor, natural pigment, curcumin, photoplethysmography, pH sensitive pigment

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Kemijski senzori	2
2.1.1. Podjela kemijskih senzora.....	2
2.2. Optički kemijski senzori	3
2.2.1. Optički pH senzori	4
2.3. Nosivi kemijski senzori.....	5
2.4. Osjetilne podloge (podloge za senzore)	6
2.4.1. Papir	6
2.5. Način imobilizacije	7
2.5.1. Sol – gel	7
2.5.2. Isparavanje otapala.....	8
2.6. Kurkumin	8
2.6.1. Fizikalna i kemijska svojstva	9
2.6.2. Optička i spektroskopska svojstva	10
2.6.3. Kurkumin kao pH indikator	10
2.7. Berlinsko modrilo	12
2.7.1. Fizikalna i kemijska svojstva	13
2.7.2. Optička i spektroskopska svojstva	14
2.7.3. Primjena berlinskog modrila.....	15
2.8. Optička karakterizacija	16
2.8.1. DRS Metoda.....	17
2.9. Fotopletizmografija (PPG)	18
2.9.1. Senzor MAX30101	19
2.9.2. MAX30101 kao mjerni instrument.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	22
3.1. Materijali i metode.....	22
3.2. Instrumenti	22
3.3. Priprema kemikalija	23

3.3.1.	Priprema sintezne otopine za berlinsko modriilo.....	23
3.3.2.	Priprema puferskih otopina.....	23
3.3.3.	Priprema standardnih otopina kurkumina.....	24
3.4.	Sinteza berlinskog modrila	24
3.4.1.	Berlinsko modriilo na papirnim trakama	24
3.5.	Imobilizacija kurkumina	24
3.5.1.	Sol – gel postupkom.....	24
3.5.2.	Isparavanjem otapala	25
3.6.	Ispitivanje senzorom MAX30101	25
3.6.1.	Vidi li senzor MAX30101 nijanse i kakva je ponovljivost rezultata?	25
3.6.2.	Odziv senzora MAX30101 na promjenu pH	26
3.6.3.	Odziv OceanOptics-a na promjenu pH.....	26
3.6.4.	Usporedba odziva senzora MAX30101 i reflektancije <i>OceanOptics-a</i>	27
4.	REZULTATI I RASPRAVA	28
4.1.	Papirići s berlinskim modrilom.....	28
4.1.1.	Nijanse berlinskog modrila	28
4.1.2.	Ponovljivost	30
4.2.	Sol – gel papirići s kurkuminom.....	34
4.3.	Papirići s kurkuminom dobiveni isparavanjem otapala	35
4.3.1.	Odziv senzora MAX30101 na promjenu pH	35
4.3.2.	Odziv OceanOptics-a na promjenu pH.....	44
4.3.3.	Usporedba odziva senzora MAX30101 i reflektancije <i>OceanOptics-a</i>	45
5.	ZAKLJUČAK	55
	LITERATURA	57
	ŽIVOTOPIS	63

1. UVOD

Tehnologija optičkih senzora je meta istraživanja i razvoja od 80-ih godina prošlog stoljeća [1] s ciljem integracije u svakodnevni život u vidu primjene u industriji, okolišnom i biomedicinskom monitoringu [2]. Integracija takvih senzora u nosive uređaje omogućuje prikupljanje i obradu podataka u stvarnom vremenu što omogućuje pojedincu praćenje osobnih fizioloških parametara i osobina vanjskog okoliša. Općenito je tehnologija optičkih senzora temeljena na mjerenju promjene optičkih svojstava dodanog kemijskog reagensa pri selektivnoj interakciji s odabranim analitom. Ovisno o mjerenom optičkom svojstvu, optički senzori mogu biti apsorpcijski, reflektancijski, luminescencijski, fluorescencijski, optotermalni ili oni koji mjere rasipanu svjetlost [3].

Optički pH senzori sve više zamjenjuju dosadašnje elektrokemijske senzore tipa staklenu pH elektrodu, zato što pružaju slična svojstva mjerenja uz jeftiniju izvedbu i otpornost na električne interferencije. Ali osim potrebe prema takvim robusnim, selektivnim, stabilnim i jeftinim senzorskim platformama, razvila se i potreba prema zelenom, ekološki prihvatljivom kemijskom reagensu. Takvi reagensi se mogu pronaći u obliku umjetnih i prirodnih pigmenata [4].

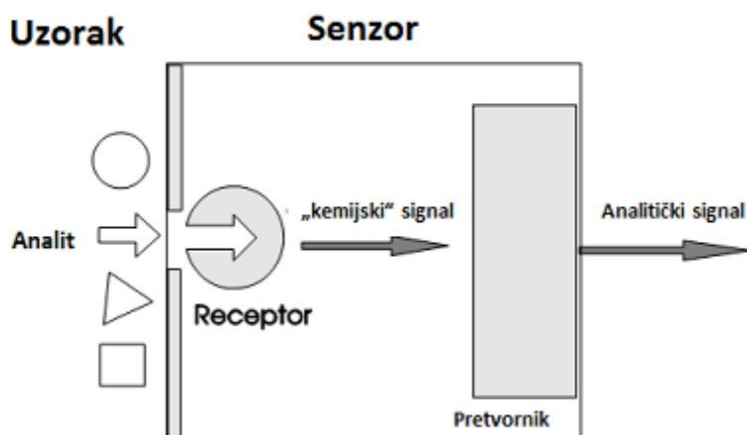
Berlinsko modrilo je umjetni pigment plave boje kemijske formule $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$. Redoks svojstva berlinskog modrila ga čine zanimljivima za primjenu u optičkim kemijskim sensorima jer su njegovi slojevi lako izbijeljeni utjecajem određenih reducensa, predstavljajući optički osjetilni element i istovremeno ponašajući se kao oksidans [5]. U okviru ovog rada su korišteni papirići s berlinskim modrilom različitih nijansi, od bijele do tamnoplave kako bi se ispitalo vidi li senzor MAX30101 promjene u nijansi iste boje.

Kurkumin je prirodni polifenolni pigment kojega proizvodi biljka kurkuma, *Curcuma Longa* (*L*), te koji se može pronaći u njoj podzemnoj stabiljci. Privlačan je za uporabu u nosivim sensorima na koži jer je biokompatibilan, lako dostupan te pokazuje pH – ovisne spektralne karakteristike. U ovom radu je istražena mogućnost integracije kurkumina kao optičkog kemijskog indikatora za mjerenje pH vrijednosti unutar već postojećeg sustava za praćenje brzine rada srca i zasićenosti krvi kisikom, senzora MAX30101 koji radi na principu fotopletizmografije, odnosno reflektancijskog praćenja promjene raspršene svjetlosti na površini kože zbog prirodnih i normalnih fluktuacija volumena krvi u kapilarama. Mjerenja izvedena primjenom fotopletizmografskog (PPG) senzora MAX30101 uspoređena su s mjerenjima standardnog laboratorijskog instrumenta za mjerenje reflektancije.

2. OPĆI DIO

2.1. Kemijski senzori

Kemijski senzor je uređaj koji pretvara kemijsku informaciju, bila ona koncentracija određenog analita u smjesi ili ukupan sastav smjese, u analitički koristan signal. Navedena kemijska informacija pritom može izlaziti iz kemijske reakcije ciljanog analita ili iz fizikalnog svojstva istraživanog sustava [3]. Kemijski senzor, čiji je shematski prikaz predstavljen na Slici 1, sadrži dva osnovna dijela koja su ključna za njegov rad, a to su receptor i pretvarač. Receptor prima kemijsku informaciju i pretvara ju u oblik energije kojeg pretvarač zatim pretvara u analitički koristan i mjerljiv signal [3]. Obzirom da u svakom istraživanom sustavu uz analit postoje i nečistoće, kemijski senzor mora biti selektivan prema danom analitu [6].



Slika 1. Shematski prikaz kemijskog senzora [7]

2.1.1. Podjela kemijskih senzora

Kemijski senzori se mogu podijeliti prema principu rada pretvarača:

- Optički kemijski senzori – pretvarač mjeri promjenu u optičkim svojstvima analita
- Elektrokemijski senzori – pretvaraju efekt elektrokemijske interakcije analit – elektroda u analitički koristan signal
- Električni senzori – signal nastaje zbog promjena u električnim svojstvima uslijed interakcija analita, ali on ne smije sudjelovati u reakciji

- Sensori osjetljivi na promjenu mase – promjena mase vezanjem analita na posebno modificiranoj površini mijenja svojstva te površine i daje koristan signal ovisan o masi vezanog analita
- Magnetski senzori – mjere promjenu paramagnetnih svojstava
- Termometrijski senzori – mjere upijenu ili oslobođenu toplinu neke kemijske reakcije u kojoj analit sudjeluje [3]

2.2. Optički kemijski senzori

Kemijski senzor je minijaturizirani analitički uređaj koji može trenutno dostaviti informacije o prisustvu određenih spojeva ili iona u kompleksnom sustavu [8]. Velik broj napredaka u optoelektroničkoj tehnologiji od 1980.-ih pa nadalje omogućili su konstantno poboljšanje razvoja i primjene optičkih kemijskih senzora rezultirajući jeftinim izvorima svjetlosti, fotodetektorima i optičkim vlaknima čije dimenzije zadovoljavaju uvjet minijaturizacije [9]. Rad optičkog kemijskog senzora temelji se na mjerenju promjene optičkih svojstava reagensa pri interakciji s određenim analitom. Tako se optički kemijski senzori mogu dodatno podijeliti ovisno o mjerenom optičkom svojstvu:

- a) Apsorbancijski – mjerenje apsorbirane svjetlosti određene valne duljine u optički prozirnem mediju
- b) Reflektancijski – mjerenje reflektirane svjetlosti određene valne duljine u ne-transparentnom mediju
- c) Luminescencijski – mjerenje intenziteta svjetlosti emitirane zbog kemijske reakcije
- d) Fluorescencijski – mjerenje emisije svjetlosti zbog ozračivanja fluorescencijskog materijala
- e) Refraktivni indeks – mjerenje promjene refraktivnog indeksa kao posljedica promjene sastava smjese
- f) Optotermalni efekt – mjerenje termalnog učinka zbog apsorpcije fotona
- g) Rasipanje svjetlosti – mjerenje rasipanja svjetlosti radi prisutnosti čestica različitih veličina u smjesi [3]

2.2.1. Optički pH senzori

Mjerenje pH podrazumijeva mjerenje koncentracije vodikovog iona H^+ u otopini. Najširu uporabu u praćenju pH vrijednosti trenutno ima pH staklena elektroda koju krase vrline poput visoke preciznosti i širokog raspona rada pri mjerenju pH. Mane staklene pH elektrode su u kratki radni vijek, interferencije elektromagnetskih zračenja ili radiofrekvencija te trovanje ukoliko se koristi u grubom okolišu, što dovodi do netočnih informacija [10]. Obzirom da je praćenje pH vrijednosti ključan faktor u različitim poljima znanosti, industrije i medicine, nije iznenađujuće što se u zadnje vrijeme pojavljuje sve više različitih izvedbi optičkih pH senzora. Prednosti optičkih pH senzora leže u njihovoj relativno maloj cijeni, otpornosti na električne interferencije, sigurnosti za analitičara te mogućnosti praćenja u pravom vremenu (*engl. real-time*) [11]. Optode su često temeljene na kiselo – baznim indikatorima, koji mogu biti adsorbirani na površinu osjetilne podloge [12,13], kemijski imobilizirani na podlozi [14-16] ili fizički zatočeni u polimernim matricama [17-20]. Odziv optičkih senzora, ili optoda, je temeljen na promjeni optičkih svojstava reagensa pri interakciji s analitom [21]. Nakon izbora prikladnih materijala i metoda detekcije, potrebno je karakterizirati senzor. Prikladna karakterizacija senzora mora uključivati:

- Odziv u pravom vremenu (*engl. real time*)
- Reverzibilnost
- Reproducibilnost
- Vijek trajanja
- Operacijska stabilnost
- Vrijeme odziva
- Rezolucija
- Fotostabilnost
- Stupanj curenja reagensa (ukoliko nije kovalentno vezan) [9]

Karakteristike senzora dakle određuju njegovu primjenu, koje pak određuju svojstva pH osjetljivog reagensa i matrice. Dodatna poželjna svojstva uključuju visok ekscitacijski koeficijent, emisijsku vrpce u vidljivom području elektromagnetskog zračenja, kemijsku, termalnu i mehaničku stabilnost, hidrofilnost, nisku cijenu te kompatibilnost s metodama imobilizacije. [9, 21, 22]

2.3. Nosivi kemijski senzori

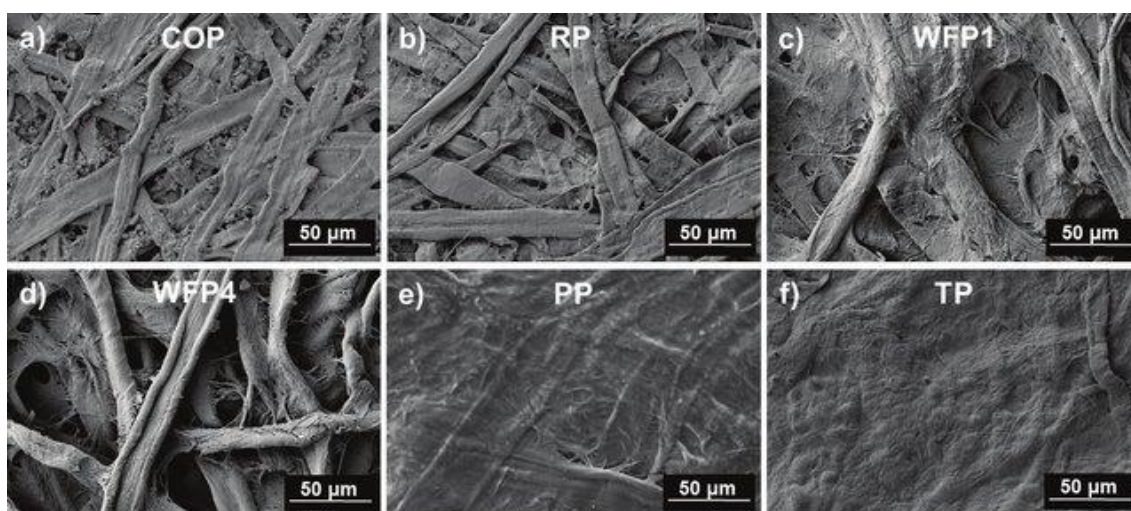
Tehnologija nosivih senzora je u prošlom desetljeću jedna od najbrže rastućih tehnologija, a ukupna tržišna vrijednost nosivih senzora procijenjena je na 3,88 bilijuna američkih dolara u 2023. godini te se očekuje njeno udvostručenje do 2028. godine [23]. Najpopularniji senzori kompanija poput Garmin-a, Fitbit-a, Apple Watch-a i Samsung Gear-a prate samo fizikalne parametre poput brzine otkucaja srca, brzine disanja ili vremena sna [24], dok je za potpunu sliku zdravstvenog stanja osobe potrebno pratiti i (bio)kemijske markere u vidu pH, elektrolita, metabolita, proteina i hormona [25]. Zlatni standard u praćenju navedenih (bio)kemijskih markera predstavlja krv, ali analiza krvi podrazumijeva invazivno uzorkovanje, stoga se fokus pomiče na druge tjelesne tekućine poput intersticijske tekućine, suza, sline i znoja [26]. Tako je opisana izrada jednokratnog pisanog i fleksibilnog senzora koji je sposoban istovremeno, a neovisno analizirati intersticijsku tekućinu i znoj. Intersticijska tekućina se u tom slučaju ekstrahira procesom reverzne iontoforeze, a iontoforetski se pilokarpin, tvar koja potiče znojenje, unosi pod kožu na različitim lokacijama, te se obavlja analiza glukoze u intersticijskoj tekućini i alkohola u znoju [27]. Analiza glukoze unutar suza je uspješno obavljena pomoću nosivog senzora unutar kontaktne leće kojeg su konstruirali Kim *i sur.* [28] koji omogućuje selektivno vezanje i detekciju glukoze na nanostrukturiranom grafenu, a podaci se bežično šalju do vanjske jedinice. Detekcija (bio)kemijskog markera mokraćne kiseline u slini je postignuta nosivim biosenzorom u obliku štitnika za zube. Sustav elektroda s enzimom – urikazom ispisan je i integriran unutar štitnika za zube skupa s pripadajućom instrumentacijom umanjene veličine [29]. Neinvazivno praćenje razine laktata u znoju je postignuto amperometrijski biosenzorima u obliku tetovaža, odnosno naljepnice s laktat-oksidazom u troelektrodnom sustavu [30]. Unatoč velikom broju napredaka i prijavljenih prototipova u tehnologiji nosivih senzora, mali broj njih doživi komercijalizaciju i širu uporabu, a glavni uzročnik tomu su utjecaji stvarnog vanjskog okoliša i veličina popratnih dijelova senzora [26]. Osvrt na trenutne probleme, načine njihova rješavanja i buduće perspektive dali su Bhandarkar *i sur.* pružajući osvrt na razne mehaničke i operacijske probleme samih senzora te probleme u popratnim dijelovima, ali i načine nošenja s navedenim problemima [31].

2.4. Osjetilne podloge (podloge za senzore)

Izrada naprednih osjetilnih uređaja zahtjeva uporabu različitih supstrata. Supstrati poput staklenih pločica, različitih oblika papira, polimera i granula zahtijevaju različite pristupe obrade kako bi se njihova svojstva u potpunosti iskoristila za namijenjenu svrhu. Kovalentna imobilizacija odabranih reagensa je postignuta kemijskom modifikacijom površine supstrata postupcima poput silanizacije ili dodavanjem agenasa za vezanje. Iako je takav postupak složen i relativno dugotrajan, time se dobivaju robusna sučelja koja bivaju otporna na naprezanja i rad u grubom okolišu. Za primjene koje ne zahtijevaju robusnost i dugotrajnu stabilnost, nekovalentno vezanje reagensa npr. Van der Waalsovima silama je dovoljno adekvatan pristup za uspješnu izradu takvog sučelja [32]. Obzirom da je cilj ovog rada istraživanje i mjerenje senzorom MAX30101, odnosno praćenje promjene boje kurkumina, odlučili smo se za papirnatu podlogu.

2.4.1. Papir

Papir je prisutan u svakom analitičkom laboratoriju već stotinama godina, ali tek u natrag nekoliko godina je otkrivena njegova sposobnost uporabe u ulozi supstrata u sensorima. Jednostavan celulozni supstrat, relativno dobra mehanička svojstva, trodimenzionalna vlaknasta struktura, biokompatibilnost, biorazgradivost, jednostavnost proizvodnje i modifikacije te dostupnost i niska cijena ga čine prvim izborom pri odabiru supstrata za jednokratne i integrirane osjetilne platforme [33]. Na Slici 2. prikazane su SEM mikrografije različitih vrsta papira.



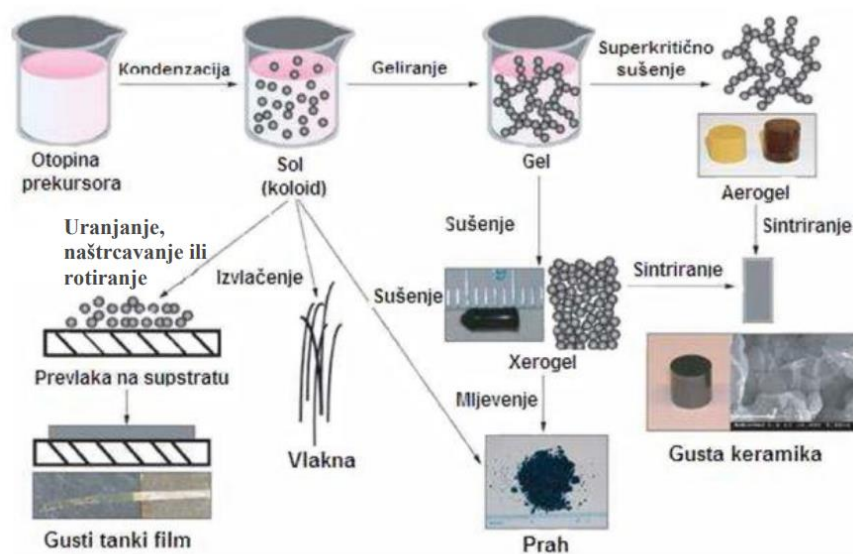
Slika 2. SEM slike 6 uzoraka papira: a) uredski papir, b) sirovi papir, c) Whatman filter papir 1, d) Whatman filter papir 4, e) pergament papir, f) papir za precrtavanje [34]

2.5. Način imobilizacije

Preformanse senzora, osim o odgovarajućoj osjetilnoj matrici i indikatorskom reagensu, znatno ovise i o načinu na kojega su komponente senzora imobilizirane ili vezane za matricu. Stoga je jasno da će uporaba senzora biti ograničena ukoliko je povezanost komponenti slaba. Općenito se indikatorski reagens imobilizira na organskom nosaču poput polimera, agaroze, hidrogela ili celuloze koristeći se metodama adsorpcije, kemijskog vezanja ili sol-gel metodom [10]. Staklene pločice su također pogodan materijal ali je prethodno potrebna kemijska funkcionalizacija kako bi se ostvario kontakt i vezanje reagensa za supstrat. Dobiveni sustav se može zatim fiksirati na sondu te je tako dobiven optički pH senzor [9].

2.5.1. Sol - gel

Sol – gel proces je formacija oksidnih mreža preko polikondenzacijskih reakcija molekularnog prekursora u tekućini [35]. Općenito se proces može opisati kroz nekoliko stupnjeva. Počinje se s otopinom silikata koja zatim formira „sol“. Sol je stabilna disperzija koloidnih čestica, koje mogu biti amorfne ili kristalinične, ili polimera u otapalu. Gel se formira preko trodimenzionalnih neprekinutih mreža koje također sadrže tekuću fazu ili spajanjem lanaca polimera. Shema sol – gel postupka dana je na Slici 3. Interakcije između čestica sola su najčešće Van der Waalsove privlačne sile ili vodikove veze, a pri sintezi u većini gel sustava dominira kovalentno vezanje te je tada taj proces ireverzibilan [36].



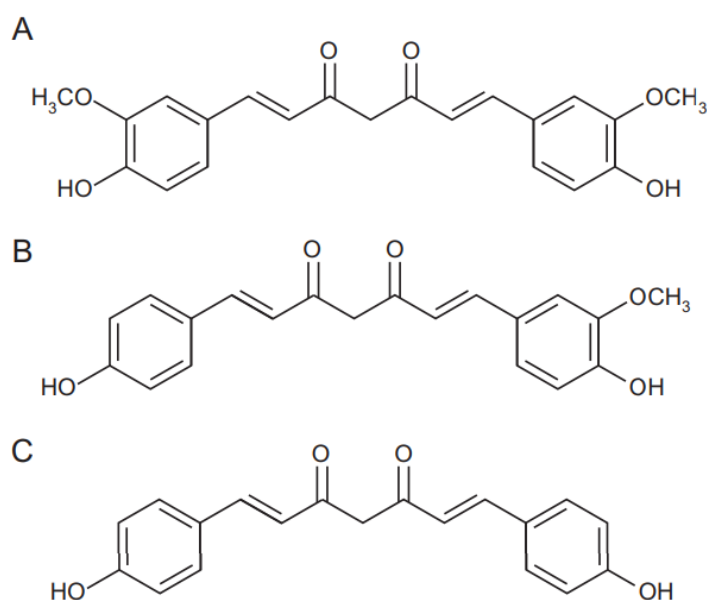
Slika 3. Shema sol – gel postupka [37]

2.5.2. Isparavanje otapala

Metoda imobilizacije isparavanjem otapala je iznimno jednostavna i može se provesti u nekoliko brzih koraka. Prvo se željena tvar otopi, ili ekstrahira, u odgovarajućem otapalu koje nema visoko vrelište. Tako dobivena otopina se može, ali ne mora, dodatno koncentrirati prije sljedećeg koraka. Zatim se u otopinu uroni komad filter papira željene veličine i osuši na odabrani način [38]. Ovaj mehanizam je još jednostavniji, manje toksičan i brži od sol – gel metode.

2.6. Kurkumin

Kurkumin, kemijskoga naziva [1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion] ili diferuloilmetan, je jedna od glavnih supstanci koje se mogu pronaći u rizomu biljke kurkume. *Curcuma longa* (L) i u drugim biljkama roda *Curcuma*. Komercijalno dostupan kurkumin sadrži još dva slična oblika spoja; demetoksikurkumin i bis-demetoksikurkumin. Svi navedeni spojevi pripadaju skupini diarilheptanoida, a ta tri spoja se još nazivaju kurkuminoidima (Slika 4). Kurkumin se često koristi kao prehrambeno bojilo i kao aditiv. Njegova terapijska svojstva se također istražuju te postoje potencijal korištenja u antikancerogene svrhe [39].

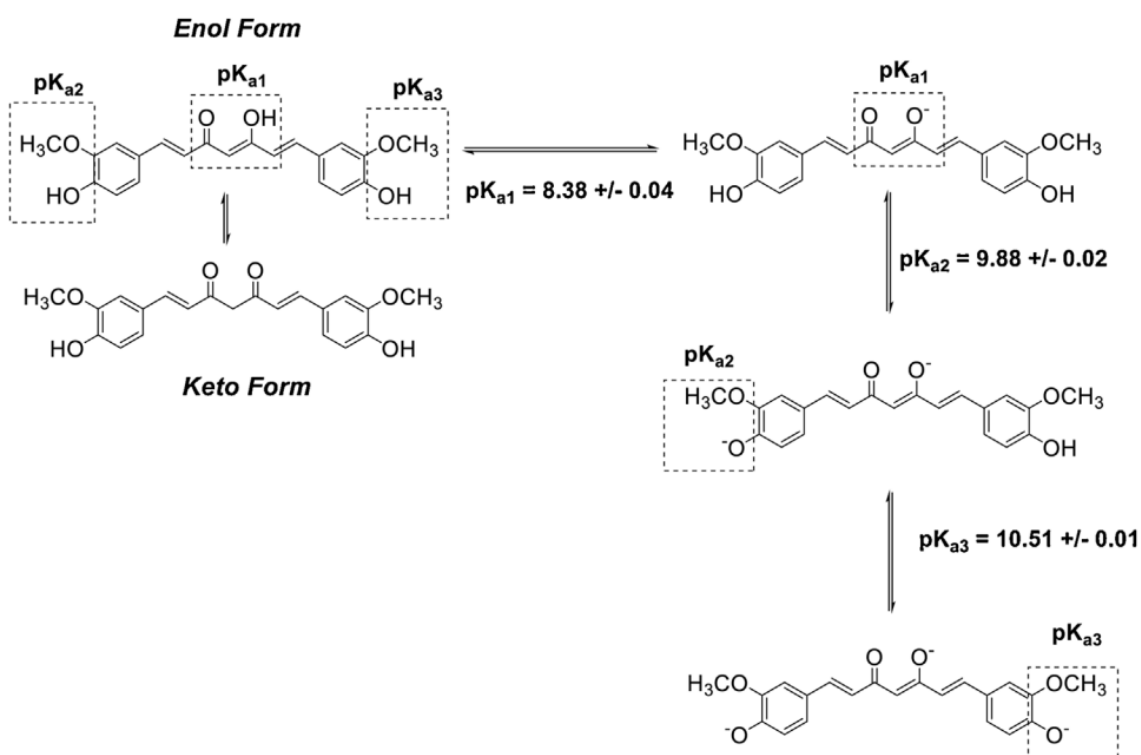


Slika 4. Kemijske strukture (A) Kurkumina, (B) demetoksikurkumina i (C) bis-demetoksikurkumina [39]

2.6.1. Fizikalna i kemijska svojstva

Kurkumin se pojavljuje kao kristalinična tvar intenzivno narančasto-žute boje i bez mirisa. Nije zapaljiv a u vodi pri kiselim i neutralnim pH vrijednostima je praktički netopljiv, a topljiv je u polarnim i nepolarnim organskim otapalima, kao i u lužnatim ili ekstremno kiselim otapalima poput ledene octene kiseline [39]. Molekula kurkumina je simetrična s dva aromatska prsena koji sadrže orto-metoksi fenolske skupine spojene preko sedmeročlanog ugljičnog lanca, koji sadrže α , β - nezasićene β -diketonske ostatke [40]. Kurkumin sadrži svojstvo keto-enolne tautomerije, odnosno ima keto- i enol-ni oblik tautomera koji su međusobno u ravnoteži i mogu se jedan u drugoga pretvoriti, ali pokazuju različita svojstva. Ta ravnoteža je shematski prikazana na Slici 5. Tako enolni oblik prevladava u nepolarnim i slabo polarnim otapalima te u lužnatom pH, dok keto-oblik prevladava u polarnim otapalima te u uvjetima kiselog i neutralnog pH [41]. Molarna masa iznosi 368,38 g/mol.

Kurkumin se ponaša kao slaba kiselina te posjeduje tri protona koja može otpustiti u otopinu, svaki od njih sadrži svoju pK_a vrijednost. Mehanizam otpuštanja protona i konstante kiseline su također dane na Slici 5.



Slika 5. Enol- i keto-oblici kurkumina te odgovarajuće konstante kiseline [41]

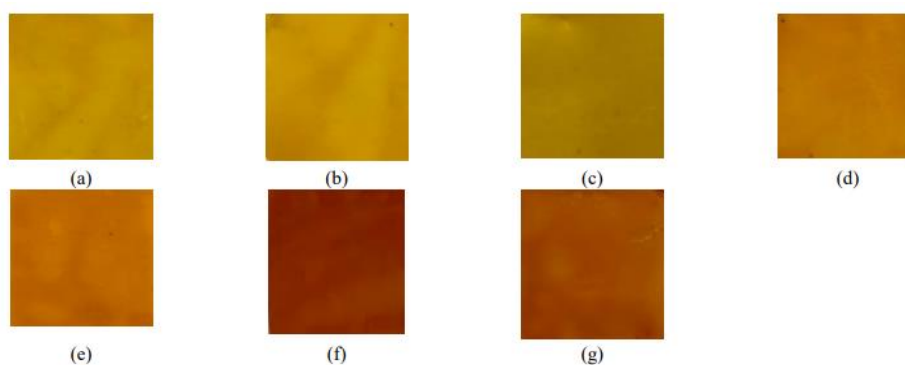
Snažan je agens za keliranje metala i dobar antioksidans te posjeduje dobra kromogenska svojstva poput velikog molarnog koeficijenta ekstinkcije, visokog fluorescencijskog kvantnog prinosa i ekscitacije vidljivom svjetlošću te emisije na visokim valnim duljinama. Za ljude u normalnim količinama (WHO: 0,3 mg/kg) nije toksičan, već je zdrav, i iznimno je fotostabilan što olakšava uporabu u tehnologiji [42].

2.6.2. Optička i spektroskopska svojstva

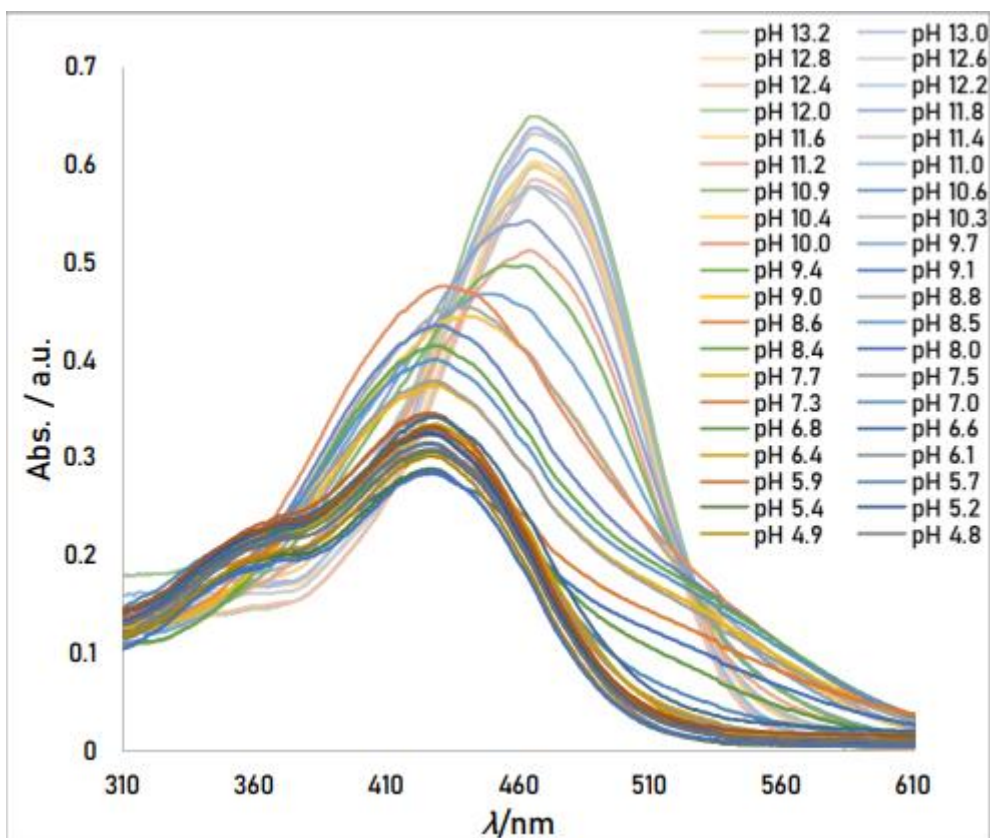
Detekcija kurkumina može biti obavljena detekcijom apsorpcije elektromagnetskog zračenja na valnim duljinama od 350 nm do 450 nm vidljivog dijela spektra, a u UV dijelu to se može obaviti detekcijom na od 250 nm do 270 nm [40]. Prijavljena je i mogućnost spektrofluometrijskog određivanja kurkumina u jogurtu i senfu, no ona ovisi o pH pa se tako u otopinama $\text{pH} < 8$ pojavljuje žuta fluorescencija, a u lužnatom dobivena crvena otopina ne fluorescira. Maksimum apsorpcije se u prosijeku nalazi na oko 418 nm, a otapalo ima blag efekt na njegov pomak, pa su tako prijavljeni maksimumi od 408 nm u tetraklorugljiku, 430 nm u DMSO, te 420 nm u etanolu. Kurkumin prati Beer – Lambertov zakon u području od 0,1 – 15 ppm. [39]

2.6.3. Kurkumin kao pH indikator

Kurkumin u kiselom području, od pH 3 do pH 7 postoji u svojem keto obliku i kao takav je snažan proton donor. Iznad te vrijednosti se prelazi njegova prva pK_a vrijednost između 7,5 i 8,5 (ovisno o izvoru), on mijenja oblik u enolni te se time i njegova boja mijenja u crvenu. Time raste i njegova topljivost te reaktivnost pa se u tom slučaju ponaša kao elektron donor. Zbog pojačane reaktivnosti kurkumin u bazičnom pH nije stabilan već se razgrađuje kroz 30 min [43]. Promjena boje kurkumina u doticaju s različitim pH vrijednostima se može vidjeti na Slici 6.



Slika 6. Boja kurkumina pri $\text{pH} =$ (a) 5 (b) 6 (c) 7 (d) 8 (e) 9 (f) 10 (g) 11 [44]

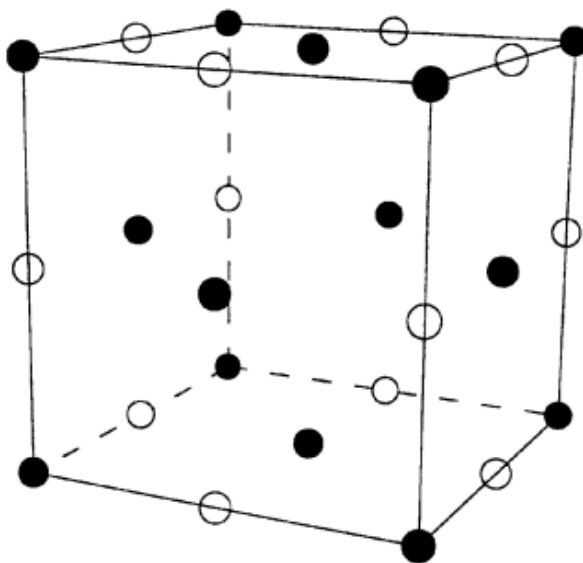


Slika 7. Apsorpcijski spektar kurkumina u EtOH ovisno o pH [45]

Slika 7. dodatno potkrjepljuje prethodno opisano ponašanje kurkumina ovisno o pH otopine u kojoj se nalazi. U kiselom i neutralnom okolišu pokazuje maksimum apsorpcije na $\lambda = 428$ nm što odgovara apsorpciji elektromagnetnog zračenja u području ljubičaste boje, te ~~da~~-stoga pokazuje žuto obojenje. Porastom pH prema vrijednostima koje odgovaraju lužnatom okolišu može se uočiti batokromni pomak maksimuma apsorpcije prema višim valnim duljinama, točnije prema $\lambda = 467$ nm, a s tim kurkumin pokazuje narančasto-crveno-smeđe obojenje [45].

2.7. Berlinsko modriilo

Pojam berlinsko modriilo podrazumijeva željezov(III) heksacijanoferat-(II) $\text{Fe}^{\text{III}}_4[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$, u kojemu je željezov Fe^{3+} ion koordiniran s dušikom, odnosno dušik ga oktaedarski okružuje, a istovjetno je željezovom ionu Fe^{2+} s ugljikom. Kristalizira u plošno centriranoj kubičnoj rešetki koja se sastoji od naizmjenično raspoređenih iona Fe^{2+} (na Slici 8. bijeli) i Fe^{3+} (na Slici 8. crni). Ioni Fe^{2+} se nalaze na sredinama bridova ćelije dok su ioni Fe^{3+} smješteni na kutevima ćelije te na sjecištima plošnih dijagonala. Duljina brida ćelije iznosi 10.2 Å [46]. Takav prostorni raspored rezultira nisko – spinskom, za Fe^{II} , i visoko – spinskom, za Fe^{III} , elektronskom konfiguracijom. Ostatak naboja je balansirano ili pomoću kalijevih iona u tzv. „topljivom“ berlinskom modrilu: $(\text{KFe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6)$ ili pomoću željezovih iona u tzv. „netopljivom“ berlinskom modrilu: $(\text{Fe}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)_3)$. Općenito su oba oblika u vodi izrazito netopljivi ($K = 10^{-40}$), pa nadimci „topljivi“ i „netopljivi“ dolaze od starih proizvođača boja a temeljeni su na jednostavnosti mogućnosti koloidnog raspršivanja pigmenta u otopini [5].

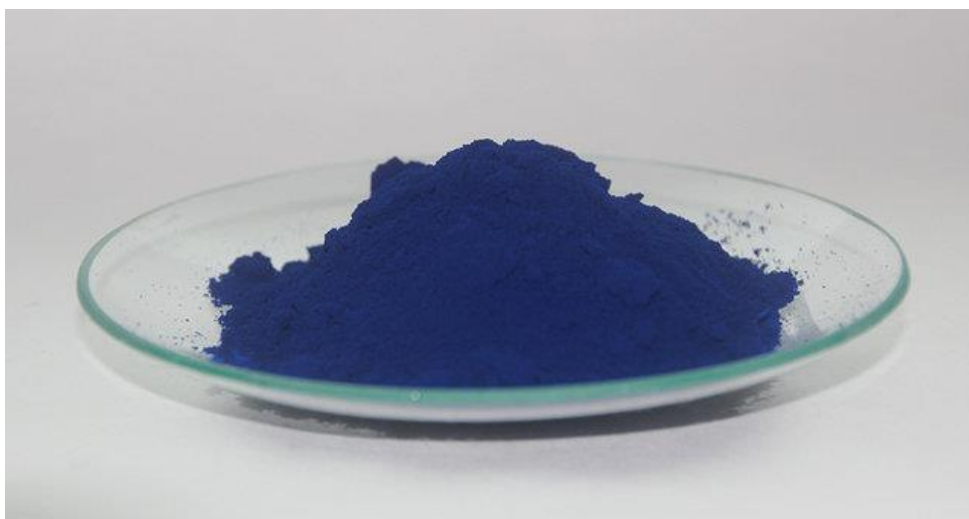


Slika 8. Jedinična ćelija željezovog(III) heksacijanoferata(II) [46]

Berlinsko modriilo je poznato od 1704. kad ga je slučajno otkrio Berlinski umjetnik Diesbach dok je pokušavao dobiti crvenu karmin boju iz kukaca roda *Cochineal* koja se i danas koristi [47]. Obzirom da je pigment berlinsko modriilo dobiveno reakcijom $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ kompleksnog aniona s Fe^{III} kationom, ono predstavlja prvi opisani koordinacijski spoj u znanstvenoj literaturi. Od tad do danas je opisan velik broj sličnih koordinacijskih spojeva, od kojih mnogi pokazuju razna zanimljiva svojstva [5].

2.7.1. Fizikalna i kemijska svojstva

Berlinsko modriilo, prikazano na Slici 9, se pojavljuje kao kristalinična tvar izrazito duboke plave boje i bez mirisa. U vodi je praktički netopljivo, kao i u razrijeđenim kiselinama i organskim otapalima. U etanolu je topljivost tri puta veća nego u vodi. Iako nije topljivo, u kapljevinama tvori koloidne otopine zahvaljujući maloj veličini čestica, često je manja od 20 nm, a specifična površina iznosi 100 m²/g. Gustoća berlinskog modrila je 1,80 g/cm³. Berlinsko modriilo samo po sebi nije zapaljivo, ali može biti ukoliko ga se rasprši u zraku pri temperaturi iznad 140°C. Termički je stabilno na kratkim vremenskim periodima do temperature od 180°C, a samozapaljivo je u temperaturnom intervalu od 600°C do 625°C. Rad s ovim spojem nije opasan jer se ne smatra toksičnim, ali treba paziti na udisanje njegovih čestica [48].

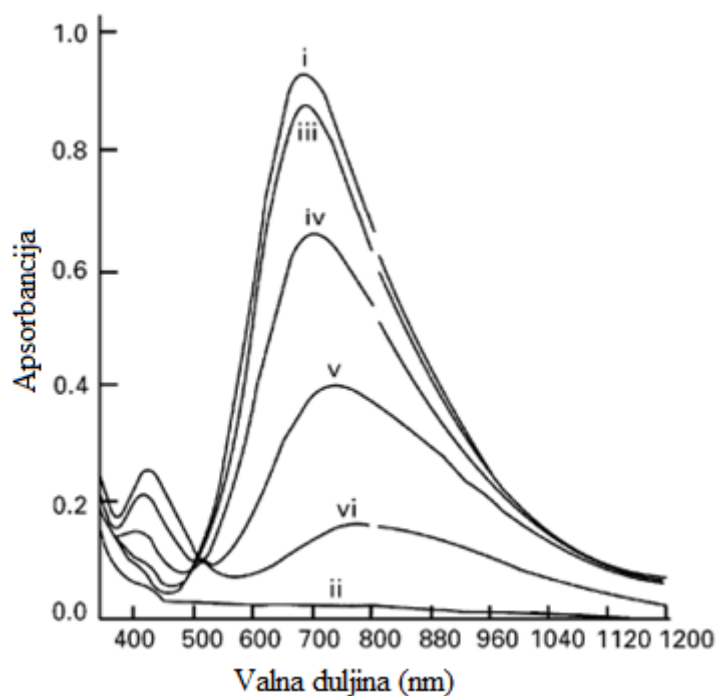


Slika 9. Pigment berlinsko modriilo [N49]

Tanki slojevi berlinskog modrila se mogu pretvoriti u prusko bijelu (everitnu sol) prilikom elektrokemijske redukcije, te u prusko žutu oksidacijom djelomično oksidiranog oblika prusko zelene. Obzirom na prisutne nepravilnosti u kristalnoj rešetki berlinskog modrila, moguća je interkalacija od strane alkalijskih iona, te upravo to svojstvo diktira elektrokemijsko ponašanje berlinskog modrila i njegovih analoga. Tako je transfer elektrona direktno povezan s jednostavnošću ulaska, odnosno izlaska, alkalijskih iona unutar, odnosno iz, kristalne rešetke [50]. Prisutnost kationa u redoks reakcijama metalnih heksacijanoferata pruža priliku razvoju kemijskih senzora za neelektroaktivne ione poput talija Tl⁺ i cezija Cs⁺, a kasnije i rubidija Rb⁺ te amonija NH₄⁺. Takvi senzori su elektrokemijske prirode, a mogu biti amperometrijski ili voltometrijski [46].

2.7.2. Optička i spektroskopska svojstva

Elektrokemijski procesi u kojima sudjeluje berlinsko modriilo rezultiraju u vidljivim promjenama optičkih svojstava njegova sloja. Slojevi željezovog heksacijanoferata pokazuju četverbojni elektrokromocitet, ovisno o njegovom redoks stanju. Njihovi spektri dani su na Slici 10.



Slika 10. Spektri sloja željezovog heksacijanoferata na ITO stakalcu pod različitim potencijalima: (i) +0,50 V PB plava, (ii) -0,20 V PW, bijela, prozirna, (iii) +0,80 V PG zelena, (iv) +0,85 V PG zelena, (v) +0,90 V PG zelena i (vi) +1,20 V PY žuta [51]

Plava boja berlinskog modrila dolazi od njegovog maksimuma apsorpcije elektromagnetskog zračenja na oko 694 nm u vodi [48], a za to je zaslužna tranzicija iz osnovnog u ekscitirano stanje gdje je elektron premješten iz $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ u stanje $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$. Druga apsorpcijska vrpca blizu 420 nm se pojavljuje na VIS spektru PG (*engl. prussian green* – prusko zelena). Zanimljivost je što se zelena boja može dobiti apsorpcijom svjetlosti blizu 400 nm i blizu 800 nm, a kod prusko zelene možemo vidjeti oboje. Kod PY (*engl. prussian yellow* – prusko žuta) se apsorpcijska vrpca na oko 700 nm ne vidi, već se vidi samo ona kod 420 nm što je apsorpcija plavog spektra, te je zato ona žuta. Vidimo da se redukcijom maksimumi apsorpcije pomiču „udesno“, odnosno prema većim valnim duljinama što nazivamo crvenim pomakom [5].

2.7.3. Primjena berlinskog modrila

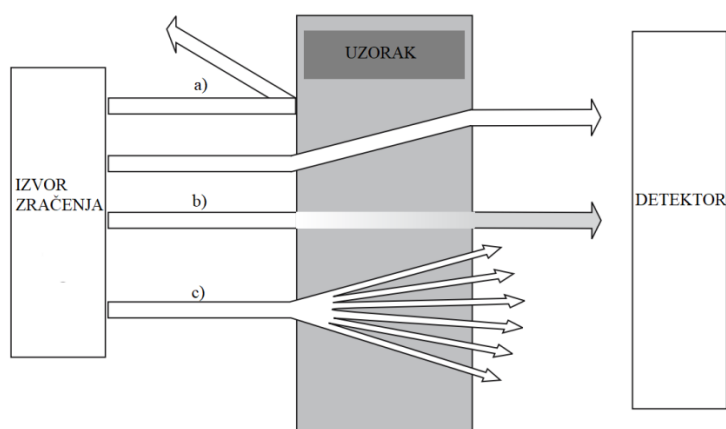
Berlinsko modrilo i slični spojevi su fascinantna skupina materijala s visokim potencijalom uporabe u području novih tehnologija i energetike. Obzirom da je sinteza moguća iz jeftinih i lako dostupnih tvari. U jediničnoj kristalnoj rešetci se nalaze dva atoma željeza koji imaju različite koordinacijske sfere što za posljedicu ima mogućnost prilagodbe različitim oksidacijskim stanjima i magnetskim konfiguracijama. Ovo svojstvo omogućuje širok spektar primjene poput elektrokromizma, prikazano na Slici 11, pohrani energije, katalizatora u cijepanju vode, analitičkim sensorima, detekciji radio otpada, magnetskim prekidačima, magnetima na sobnoj temperaturi [52], superkondenzatorima visoke gustoće energije na mikro veličini, UV fotodetektorima, a nanočestice berlinskog modrila (PBNP – *engl. Prussian Blue Nano Particles*) se proučavaju radi mogućnosti uporabe kao nano – nosači za dostavu lijekova, kao nano – sonde za magnetsku rezonancu (MRI – *engl. Magnetic Resonance Imaging*) te za teranostiku pri liječenju raka [53]. Osim ovih visokotehnoloških uporaba, berlinsko modrilo se i dalje koristi u proizvodnji u boja, pigmentata i lakova.



Slika 11. Dva elektrokromna prozora s berlinskim modrilom gdje je jedan obojen (desno), a drugi neobojen (lijevo) [49]

2.8. Optička karakterizacija

Dobivanje analitičke informacije mjerenjem optičkih svojstava nekog materijala je temeljeno na interakciji elektromagnetskog zračenja i tvari. Elektromagnetski valovi i tvari mogu međusobno djelovati na dva načina: bez gubitka energije tzv. elastičnom interakcijom, i sa gubitkom energije tzv. neelastičnom interakcijom. Elastične interakcije poput refleksije ili refrakcije daju informaciju o optičkim svojstvima uzorka, koja pak često ovise o samom sastavu uzorka i stoga svoju primjenu mogu pronaći u kemijskim sensorima. Neelastične interakcije podrazumijevaju apsorpciju fotona od strane proučavane tvari. Osnovne vrste interakcija između zračenja i uzorka su shematski pokazane na Slici 12. Količina energije koja se dovodi u molekulu apsorpcijom fotona izravno ovisi o energiji apsorbiranih fotona, te o tome ovise i posljedične promjene ili procesi unutar molekule. Zračenje najniže energije može promijeniti spin jezgri atoma unutar molekula, poput NMR-a (*engl. Nuclear Magnetic Resonance* – nuklearna magnetska rezonanca). Promjena u konfiguraciji ili energetskim razinama elektronskog omotača zahtjeva zračenje još veće energije, odnosno veće frekvencije ili manje valne duljine, stoga se tu koristi IR, Vis, UV i XRD spektroskopija. Procese u atomskoj jezgri potiče zračenje izrazito velike energije poput gama spektroskopije. Najveću primjenu u kemijskim sensorima nalaze spektroskopske metode čija energija zračenja leži negdje na sredini toga spektra, poput spektroskopije u UV i vidljivom području elektromagnetskog zračenja (UV-Vis) te infracrvene spektroskopije (IR). Rezultat spektroskopije ikojeg oblika je optički spektar, dvodimenzionalni dijagram na kojemu se prikazuje ovisnost kvantitete intenziteta, poput emisije ili apsorpcije zračenja, o kvantiteti energije, poput valne duljine ili frekvencije [54].



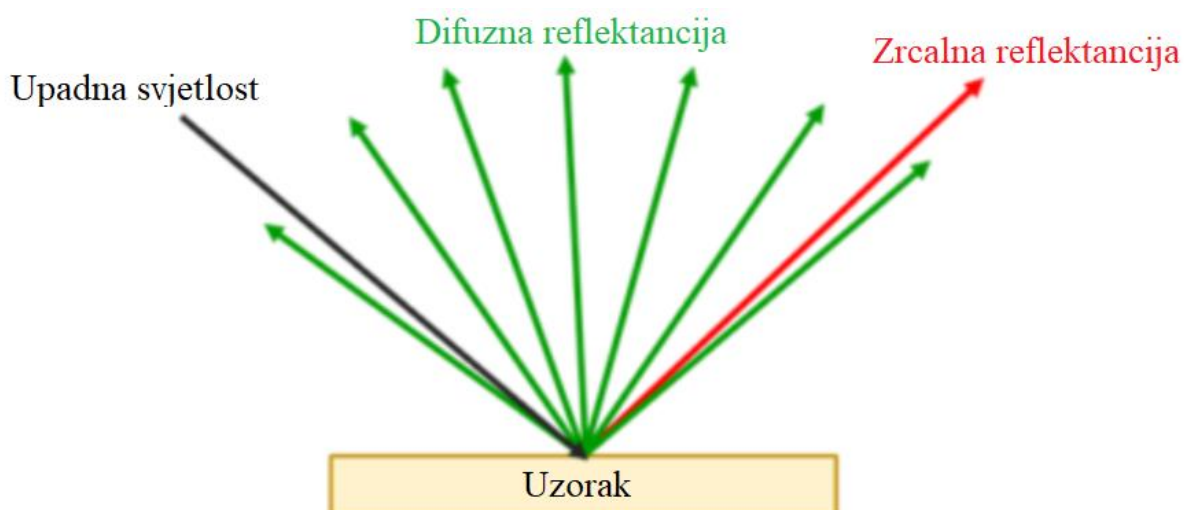
Slika 12. Tri osnovne vrste interakcija između zračenja i uzorka: a) Refleksija i refrakcija, b) Apsorpcija i c) Raspršivanje [54]

2.8.1. DRS Metoda

Reflektancija je osnovna kvantitativna veličina koja karakterizira proces refleksije. Matematička definicija reflektancije je omjer reflektirane svjetlosti u odnosu na ukupnu upadnu svjetlost koja je obasjala uzorak, a formula je dana u jednadžbi (1) [55]. Općenito je reflektancija nekog uzorka pri bilo kojoj valnoj duljini upadne svjetlosti jednaka sumi dvije komponente: regularne, odnosno zrcalne i difuzne reflektancije. Razlika između navedenih komponenti se može vidjeti na Slici 13., a osnovna je razlika u kutu refleksije. Zrcalna reflektancija je ona koja se odbija pod istim kutem pod kojim je upala upadna svjetlost. Obzirom da uzorak nije glatke površine kao zrcalo, svjetlost se odbija u svim smjerovima pod različitim kutovima što čini difuznu reflektanciju. Mjerenja reflektancije na terenu su često obavljena na uzorcima relativno velikih površina, $>10 \text{ cm}^2$, te u tom slučaju obje komponente reflektancije doprinose ukupnom rezultatu. Laboratorijska mjerenja se, nasuprot terenskima, provode na uzorcima manjih površina, $<10 \text{ cm}^2$, u kojem slučaju dominira spektroskopija difuzne reflektancije [56].

$$R = \frac{I_R}{I_0} \quad (1)$$

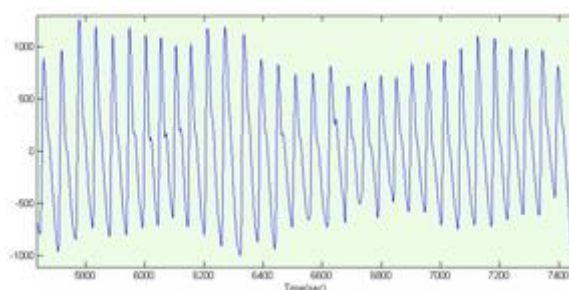
Gdje je R – reflektancija, I_R je intenzitet reflektirane svjetlosti, a I_0 je intenzitet upadne svjetlosti.



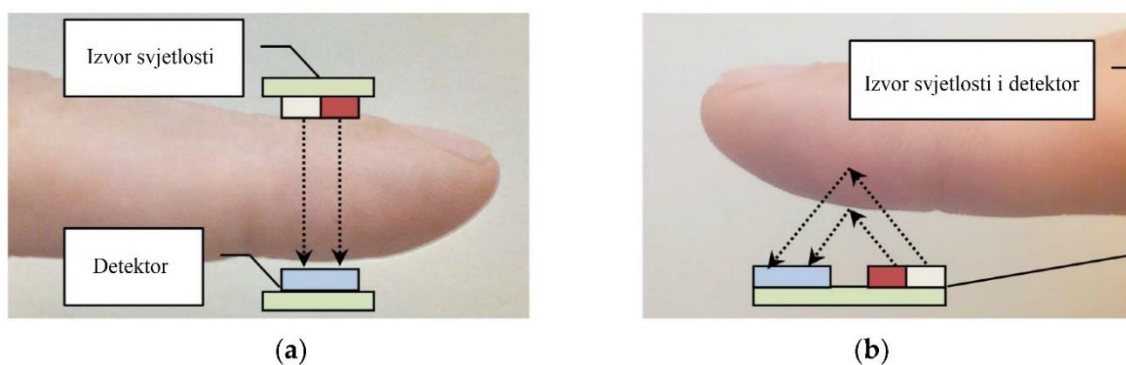
Slika 13. Shematski prikaz razlike dvaju komponenti reflektancije, difuzna i zrcalna [57]

2.9. Fotopletizmografija (PPG)

Fotopletizmografija (*engl. Photoplethysmography, PPG*) je neinvazivna i jeftina optička metoda koja koristi izvor i detektor svjetlosti za kontinuirano praćenje promjena u intenzitetu raspršene svjetlosti vaskularnog tkiva na površini kože. Promjena intenziteta raspršene svjetlosti dolazi od promjene količine krvi ili kisika u organima, tkivu ili cijelom tijelu zbog normalnog srčanog ciklusa. Instrument koji služi za mjerenje tih promjena se zove pletizmograf (*grč. Phlethysmos – puniti se, graphein – pisati*), a zapis signala se zove pletizmogram i njegov primjer se nalazi na Slici 14. Princip rada ove metode je sljedeći; izvor svjetlosti emitira svjetlost koja prodire kroz kožu i biva reflektirana, apsorbirana i raspršena u tkivu i krvi. Prikladni fotodetektor zatim mjeri izlazeću svjetlost promijenjenog intenziteta. Ovisno o međusobnom položaju izvora svjetlosti i fotodetektora, razlikuju se dva principa: ukoliko je dio tijela osvijetljen svjetlošću od 450 nm do 960 nm, te svjetlost putuje kroz taj dio tijela i mjeri ga detektor sa suprotne strane kože, to je transmisijska metoda i koristi se samo za tanke dijelove tijela poput ručnog ili nožnog prsta ili ušne školjke. Ako je svjetlost usmjerena prema koži, dio te svjetlosti se reflektira natrag tako da izađe iz kože odmah pored izvora svjetlosti, i ako se tu smjesti detektor, takva metoda se naziva refleksijskom i može se koristiti na bilo kojem dijelu tijela [58]. Usporedba tih dvaju metoda se nalazi na Slici 15.



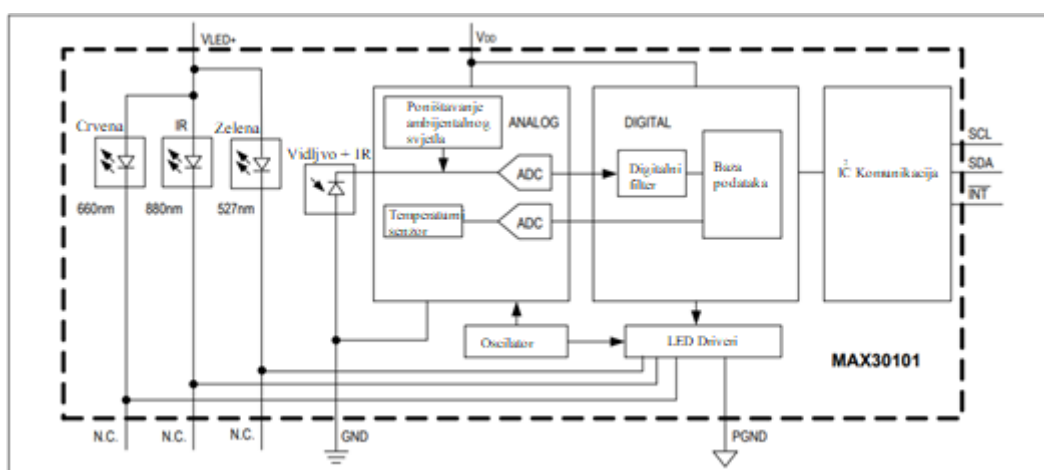
Slika 14. Fotopletizmogram [59]



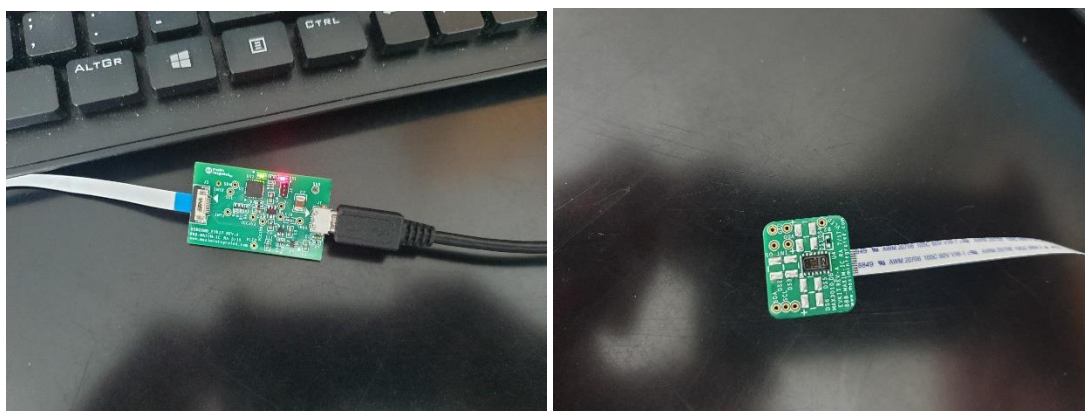
Slika 15. a) Transmisijska i b) Refleksijska fotopletizmografija [60]

2.9.1. Senzor MAX30101

MAX30101 je senzor za pulsnu oksimetriju i brzinu otkucaja srca koji radi na principu refleksijske fotopletizmografije. Uporabu u nosivim uređajima omogućuje njegov dizajn, odnosno njegove male dimenzije, relativno jednostavna elektronika i podsustavi za mjerenje zasićenosti krvi kisikom, temperature i otkucaja srca. Svaki podsustav sadrži ALC (*engl. Ambient Light Cancellation* – poništenje ambijentalnog svjetla). Zbog ovisnosti zasićenosti krvi kisikom o temperaturi, ta dva sustava rade skupa kako bi se dobili što točniji odzivi. Rezolucija sustava za mjerenje temperature je do $0,0625^{\circ}\text{C}$. Sustav za mjerenje brzine otkucaja srca sadrži 3 LED diode; crvenu, zelenu i infracrvenu. Koristeći prikladni softver, moguće je modulirati jakost struje u svakom podsustavu ovog senzora kako bi se njegova uporaba prilagodila danoj svrsi [61]. Shematski prikaz senzora je dan na Slici 16, a sam senzor na Slici 17.



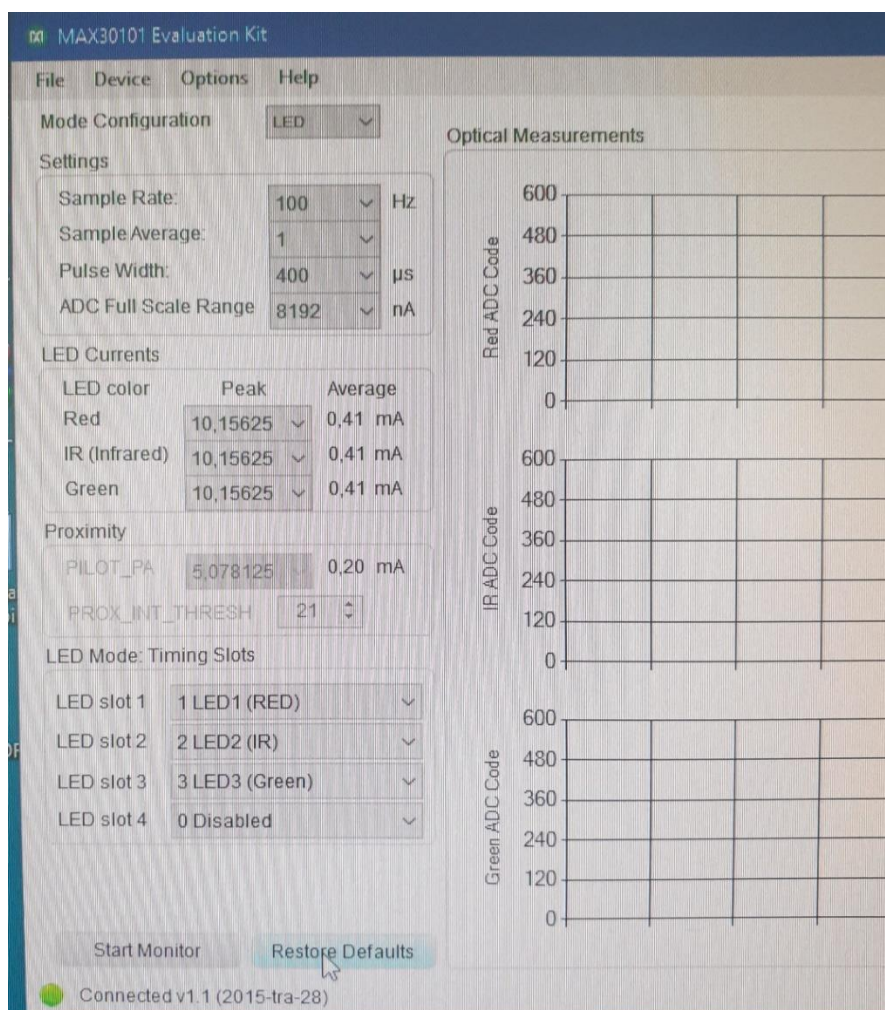
Slika 16. Shematski prikaz senzora MAX30101 [61]



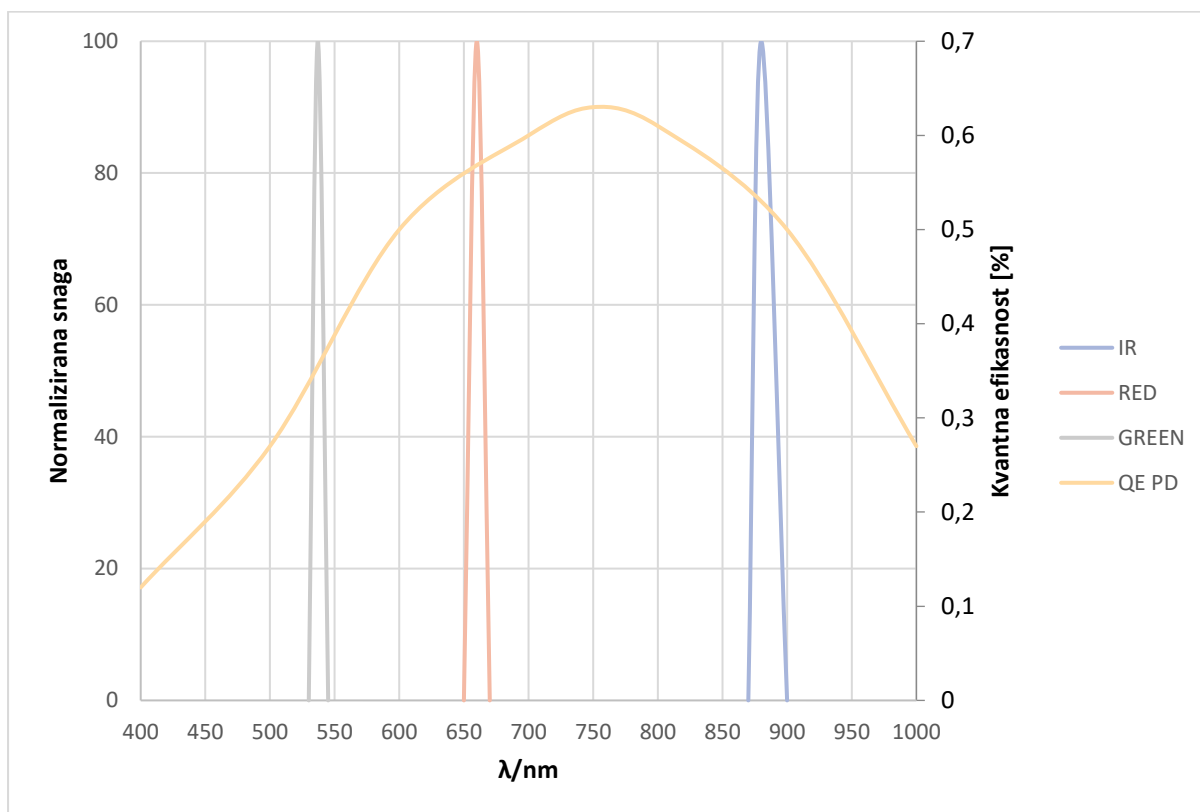
Slika 17. Spajanje senzora MAX30101 na računalo i njegova „glava“ koja sadrži izvore i detektor svjetlosti

2.9.2. MAX30101 kao mjerni instrument

Korištenje senzora MAX30101 kao mjernog instrumenta se zasniva na ADC vrijednosti koju sam senzor generira te koja nastaje kao odgovor na vanjski podražaj. Softverski program koji prati ovaj senzor u sebi ima 3 načina rada: mjerenje zasićenosti krvi kisikom, mjerenje brzine otkucaja srca i „LED“. Za mjerenja u ovom radu smo koristili treći, LED, način rada. Kad se senzorska glava, pokazana na Slici 17 desno, stavi iznad nekog predmeta i pokrene snimanje, senzor u pravom vremenu izbacuje ADC odzive u numeričkom i grafičkom obliku (u ovisnosti o vremenu), te se frekvencija bilježenja odziva može mijenjati. ADC odziv (*engl. Analog to Digital Conversion* – Konverzija analognog u digitalno) nastaje kao numerička vrijednost koju senzor pridružuje određenoj vrijednosti reflektancije za odgovarajuću LED diodu, pa je moguće bilježiti ADC odzive za crvenu, zelenu i infracrvenu LED diodu odjednom, ili zasebno, što se da odabrati unutar pratećeg programa čije je sučelje pokazano na Slici 18.



Slika 18. Sučelje programa MAX30101 Evaluation Kit



Slika 19. Spektralne karakteristike LED dioda (Infracrvene, crvene i zelene) i kvantne efikasnosti pripadajućeg fotodetektora

Na Slici 19 se mogu vidjeti valne duljine na kojima radi svaka od LED dioda senzora MAX30101; zelena LED dioda emitira svjetlost valne duljine $\lambda = 537$ nm, crvena LED dioda emitira svjetlost valne duljine $\lambda = 660$ nm, a infracrvena LED dioda emitira svjetlost valne duljine $\lambda = 880$ nm. Kvantna efikasnost pripadajućeg fotodetektora postiže svoj vrhunac na valnoj duljini $\lambda = 750$ nm [61].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

Pripremljene su otopine čiji pH je na spektru od 8 do 3 s korakom od 0,5:

pH 8: 100 mL 0,025 M Na₂B₄O₇ + 41 mL 0,1 M HCl/

pH 8,5: 100 mL 0,025 M Na₂B₄O₇ + 30,4 mL 0,1 M HCl

pH 9: 100 mL 0,025 M Na₂B₄O₇ + 9,2 mL 0,1 M HCl

pH 9,5: 100 mL 0,025 M Na₂B₄O₇ + 17,6 mL 0,1 M NaOH

pH 10: 100 mL 0,05 M NaHCO₃ + 21,4 mL 0,1 M NaOH

pH 10,5: 100 mL 0,05 M NaHCO₃ + 35,6 mL 0,1 M NaOH

pH 11: 100 mL 0,05 M Na₂HPO₄ + 8,2 mL 0,1 M NaOH

pH 11,5: 100 mL 0,05 M Na₂HPO₄ + 22,2 mL 0,1 M NaOH

pH 12: 50 mL 0,2 M KCl + 12 mL 0,2 M NaOH

pH 12,5: 50 mL 0,2 M KCl + 40,8 mL 0,2 M NaOH

pH 13: 50 mL 0,2 M KCl + 132 mL 0,2 M NaOH

Kemikalije potrebne za pripremu otopina i sol-gel prekursora:

- Kurkumin
- Tetraetil ortosilikat (TEOS)
- Etanol 96%
- Klorovodična kiselina 0,1 M
- Kalijev heksacijanoferat (III), *SigmaAldrich*
- Amonijev željezov (III) citrat, *SigmaAldrich*
- Dušična kiselina ($c = 0,01 \text{ mol/dm}^3$)
- Ultra čista voda. MilliporeDirect-Q UV 3 sistem, *Merck*

Drugi materijali:

- Filter papir s plavom vrpcom, *LLG*

3.2. Instrumenti

- pH metar MA 5740, *Iskra*
- Flame series Spektrometar + DH-2000-BAL izvor svjetlosti, *Ocean Optics*
- RPH Refleksijska sonda, *Ocean Optics*
- Ultrazvučna kupelj
- Senzor Maxim30101, *Maxim Integrated*

3.3. Priprema kemikalija

3.3.1. Priprema sintezne otopine za berlinsko modrilo

U okviru ovog diplomskog rada nije rađena sinteza materijala temeljenog na berlinskom modrilu, već su korišteni već pripravljeni papirići s nanočesticama berlinskog modrila pripravljeni u okviru drugog projekta [62]. Ukratko opisani postupak je sljedeći: Sintezna otopina pripravlja se uz pomoć 100 mililitarskih otopina kalijevog heksacijanoferata (III) i amonijevog željezovog (III) citrata. U svrhu istraživanja utjecaja koncentracije sintezne otopine na razvoj berlinskog modrila pripravljene su dvije sintezne otopine različitih koncentracija. Prva je otopina sadržavala otopinu kalijevog heksacijanoferata (III) ($c = 0,00547 \text{ M}$) te otopinu amonijevog željezovog (III) citrata ($c = 0,0097 \text{ M}$). Druga je sintezna otopina sadržavala deset puta veće koncentracije oba reaktanta pri čemu je koncentracija kalijevog heksacijanoferata (III) iznosila $0,0547 \text{ M}$, a otopina amonijevog željezovog (III) citrata imala je koncentraciju $0,097 \text{ M}$. Sukladno tome su prikladne izvagane mase svakog reaktanta stavljene u zasebnu odmjernu tikvicu volumena 100 mL , koje su potom nadopunjene destiliranom vodom do oznake i promućkane. Na kraju je otopina amonijevog željezovog (III) citrata u manjim volumnim obrocima dodana u otopinu kalijeva heksacijanoferata (III) uz miješanje na magnetskoj miješalici [62].

3.3.2. Priprema puferskih otopina

Prema uputi navedenoj u dijelu 3.1. Materijali i kemikalije, priređene su puferske otopine. Za raspon pH od 8 do 9,5 je korišten pufer borne kiseline i klorovodične kiseline / natrijeva hidroksida, za raspon pH od 10 do 10,5 je korišten pufer natrijeva hidrogenkarbonata i natrijeva hidroksida, za pH od 11 do 11,5 je korišten puferski sustav natrijev dihidrogenfosfat i natrijev hidroksid. Otopine pH raspona od 12 do 13 su bile dobivene dodavanjem adekvatnog volumena natrijeva hidroksida koncentracije $0,2 \text{ M}$ u 50 mL otopine KCl koncentracije $0,2 \text{ M}$. Vrijednosti pH svake otopine su provjerene na pH metru.

3.3.3. Priprema standardnih otopina kurkumina

Priprema standardnih otopina kurkumina je obavljena prema uputi danoj u diplomskom radu [45]—a—prema sljedećem postupku: pripremljene su četiri otopine kurkumina otapanjem odgovarajuće količine kurkumina u prahu u 96%-tnom etanolu i zatim su stavljene u ultrazvučnu kupku na 10 min. Otopine su bile koncentracija $4,17 \times 10^{-3}$ M, 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M i 1×10^{-5} M. Otopinu koncentracije $4,17 \times 10^{-3}$ M su se koristile za preparaciju sol-gel otopine prema sljedećoj tablici, kako bi se dobile sol-gel otopine istih koncentracija ($c = 1 \times 10^{-3}$ M, $c = 1 \times 10^{-4}$ M i $c = 1 \times 10^{-5}$ M).

Tablica 1. Kemikalije potrebne za sintezu sol – gel otopina kurkumina

c (kurkumin)/M	$V(c=0,00417 \text{ M})$ / mL	$V(\text{TEOS}) /$ mL	$V(\text{Etanol}) /$ mL	$V(\text{HCl}) / \text{mL}$
1×10^{-5}	0,0288	5	5	2
1×10^{-4}	0,2880	5	5	2
1×10^{-3}	2,8800	5	5	2

3.4. Sinteza berlinskog modrila na papirnim trakama

U radu su korištene papirne trake obojane nanočesticama berlinskog modrila pripremljene u okviru drugog diplomskog rada [62]. Ukratko, postupak je bio sljedeći: papiri dimenzija $3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ uronjeni su u sinteznu otopinu (opisano u 3.1.1). Nakon 5 minuta namakanja, papiri su stavljeni na postolje UV lampe i izlagani valnoj duljini od 365 nm. Odmah nakon izlaganja, papiri su isprani s 3 mL otopine HNO_3 i 3 mL destilirane vode. Nakon ispiranja, papiri su ostavljeni da se posuše na zraku u vremenskom periodu od 24 h.

3.5. Imobilizacija kurkumina

3.5.1. Sol - gel postupkom

Prema Tablici 1 su pripremljene otopine miješanjem odgovarajućeg volumena otopine kurkumina koncentracije 0,00417 M s 5 mL TEOS-a, 5 mL etanola i 2 mL HCl-a. Zatim su smještene u ultrazvučnu kupku na 10 min te ostavljene na tamnom mjestu tri dana (preko vikenda). Potom je 0,5 mL svake otopine nanešeno na komad priređenog filter papira kvadratnog oblika veličine $3 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ i ostavljeno da se suši do sljedećeg dana.

3.5.2. Isparavanjem otapala

Kako bismo mogli usporediti ponašanja dva načina imobilizacije kurkumina, uzeli smo priređene otopine kurkumina u etanolu koncentracija 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M te 0,5 mL od svake je naneseo na priređeni komad filter papira kvadratnog oblika veličine 3 x 3 cm, te su također ostavljeni na tamnom mjestu do sljedećeg dana kako bi etanol ispario, a na papiru ostao imobilizirani kurkumin.

3.6. Ispitivanje senzorom MAX30101

3.6.1. Vidi li senzor MAX30101 nijanse i kakva je ponovljivost rezultata?

Ispitivanje senzora MAX30101 je započeto ispitivanjem vidi li senzor uopće promjenu intenziteta obojenja i s kakvom ponovljivošću. To je odrađeno mjerenjem ADC odziva senzora na odabrane dobivene papirne trake s nanočesticama berlinskog modrila, koji su proveli pod UV lampom različitu količinu vremena, stoga je sintetizirana različita količina berlinskog modrila pa pokazuju različit intenzitet obojenja, od bijele papirne trake koja je provela najmanje vremena pod UV lampom, do tamnoplave papirne trake koja je provela najviše vremena pod UV lampom. Tako je sintetizirano deset papirnih traka s nanočesticama berlinskog modrila koji su, redom od najsvjetlije do najtamnije, proveli 30s, 1 min, 3 min, 5 min, 7 min, 9 min, 11 min, 13 min, 15 min i 20 min pod UV lampom, a za mjerenja su odabrani papirne trake 3 min (papirić 3), 5 min (papirić 4), 13 min (papirić 8) i 20 min (papirić 10).

Ponovljivost rezultata je vrlo bitna kako bi se utvrdilo koliko precizno senzor MAX30101 vidi sitne promjene u obojenju te hoće li svaki put dati iste, slične ili potpuno različite odzive dok mjeri istu papirnu traku. To je odrađeno mjereći ADC odziv četiri od deset prethodno navedenih papirnih traka s nanočesticama berlinskog modrila. Tako je u obzir uzet cijeli spektar od svjetlije do tamnije plave. Mjerenje je obavljeno umetanjem PPG senzora unutar 3D pisanog kućišta te je u jednom setu mjerenja prvo 10 sekundi bilježilo odziv papirića broj 3, zatim 10 sekundi odziv papirića broj 8 naizmjenično do ukupno 100 sekundi. Takvo mjerenje se ponovilo još 5 puta, do ukupno 6 mjerenja. Na istovjetan način je obavljeno mjerenje s papirićima broj 4 i broj 10. Kako MS Excel ne bi bio preopterećen, podaci su sažeti uzimanjem srednje vrijednosti svakih 100 mjerenja, jer senzor bilježi 100 ADC odziva po sekundi za svaku LED diodu, a rezultati su prikazani u formatu „Srednja

vrijednost \pm dvostruka standardna devijacija (u obliku broja i postotka)“. Uloga dvostruke standardne devijacije je opisivanje 95% dobivenih podataka, a uloga 3D pisanog kućišta je bila radi dobivanja rezultata sa što manjom standardnom devijacijom osiguravajući mjerenje istog dijela papirića s iste udaljenosti.

Sirove ADC vrijednosti dobivene u 10 sekundi jednog od mjerenja ispita ponovljivosti su grafički prikazane od najtamnije (10) do najsvjetlije (3) papirne trake obojane nanočesticama berlinskog modrila.

3.6.2. Odziv senzora MAX30101 na promjenu pH preko indikatora - kurkumina

Odziv senzora MAX30101 na pH je izmjeren izlaganjem prethodno napravljenih papirića s kurkuminom koji su pripremljeni isparavanjem otapala, etanola. Tako je priređeno 13 papirića za svaku koncentraciju (1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M i 1×10^{-5} M). Prije mjerenja je dodano 0,5 mL odgovarajućeg pufera na dno plastične kadice za vaganje na analitičkoj vagi, te je uronjen papirić i na njega još 0,5 mL odgovarajućeg pufera. Bilo je bitno da je papirić i dalje mokar s obje strane za vrijeme mjerenja jer bi se inače počeo sušiti i boja bi se počela mijenjati. Senzor nije bio u kontaktu s puferom jer je stajao na 3D pisanom kućištu koje ga je držalo iznad pufera i papirića. ADC odzivi senzora su prikupljeni u intervalu od 20 sekundi, nakon čega je senzor s kućištem uklonjen iz kadice na 20 sekundi i stavljen na stol, te je taj postupak ponovljen do ukupno 400 sekundi. Tako je dobiveno 40 000 podataka koji su bili sažeti na prethodno opisan način. Na kraju je određena vrijednost koja pripada određenom papiriću za određenu koncentraciju i određen pH, te standardna devijacija.

3.6.3. Odziv *OceanOptics*-a na pH – Uv-Vis reflektancija

Određivanje reflektancije dobivenih papirića je odrađeno paralelno u isto vrijeme s istim papirićima kao i određivanje odziva senzora MAX30101 na pH. Odmah po završetku mjerenja senzorom MAX3010, se mjerila reflektancija na OceanOptics-u. Raspon valnih duljina mjerenja reflektancije je bio od 400 nm do 800 nm. Papirić je bio osvijetljen i reflektancijska sonda je prikupljala podatke o reflektiranoj svjetlosti. Obzirom da se pratila promjena boje s pH, referentni papirić je bio onaj koji je bio namočen samo čistom destiliranom vodom. Nijedan papirić nije bio sušen jer se mjerenje vodilo načelom da će, u nekoj realnoj primjeni, senzor morati odmah vidjeti promjenu boje, tj. signal odziva će morati biti brz, znači da za sušenje neće biti vremena.

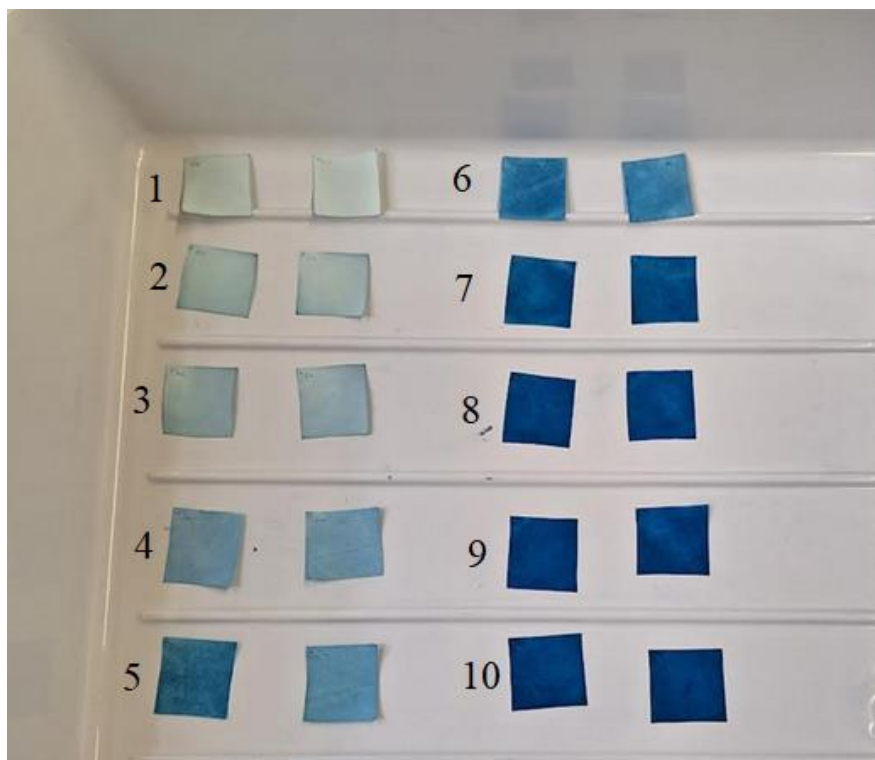
3.6.4. Usporedba odziva senzora MAX30101 i reflektancije *OceanOptics-a*

Usporedba odziva senzora MAX30101 i reflektancije standardnog instrumenta *OceanOptics* obavljena je kreiranjem grafičkih prikaza ADC odziva zelene odnosno crvene LED diode i intenziteta reflektancije na valnim duljinama koje odgovaraju onima na kojima rade LED diode, 537 nm za zelenu i 660 nm za crvenu LED diodu. Temeljeno na dobivenim podudaranjima, kreirani su dijagrami ovisnosti omjera reflektancije na 660 nm i 537 nm o pH, te ovisnosti omjera ADC vrijednosti crvene i zelene LED diode o pH. Obzirom da su se na oba dobivena grafička prikaza mogle uočiti točke koje bi se mogle opisati sigmoidalnom krivuljom, iz koje bi se mogla utvrditi pK_a vrijednost, to je i učinjeno u programskom paketu *Origin Lab*. U program su upisane točke s dijagrama na Slikama 45. i 46. u rasponu pH od 8 do 10, te je opcijom *fitting* odabrana Boltzmannova raspodjela i program je prilagodio krivulju podacima. Rezultati su zatim prikazani na Slikama 47. i 48.

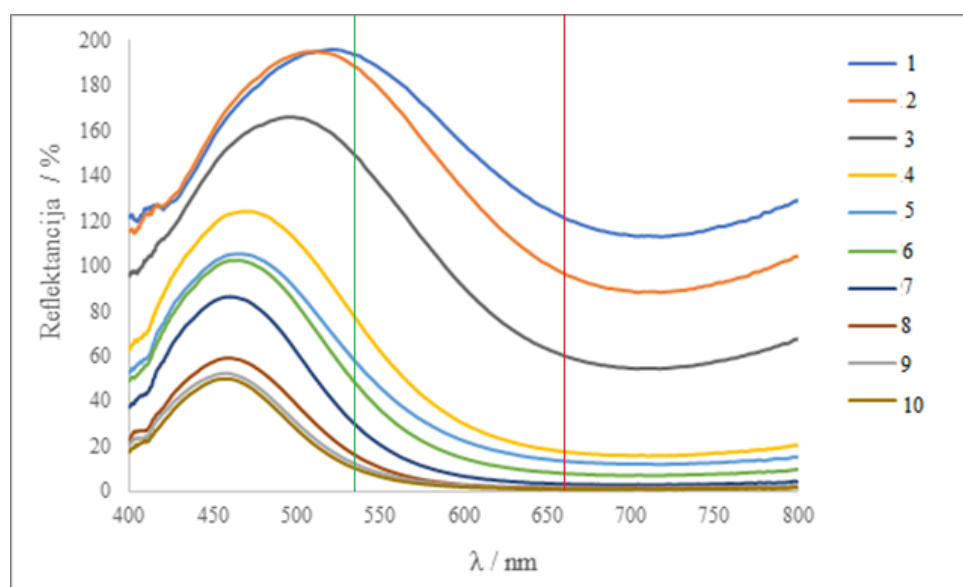
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Papirići s berlinskim modrilom

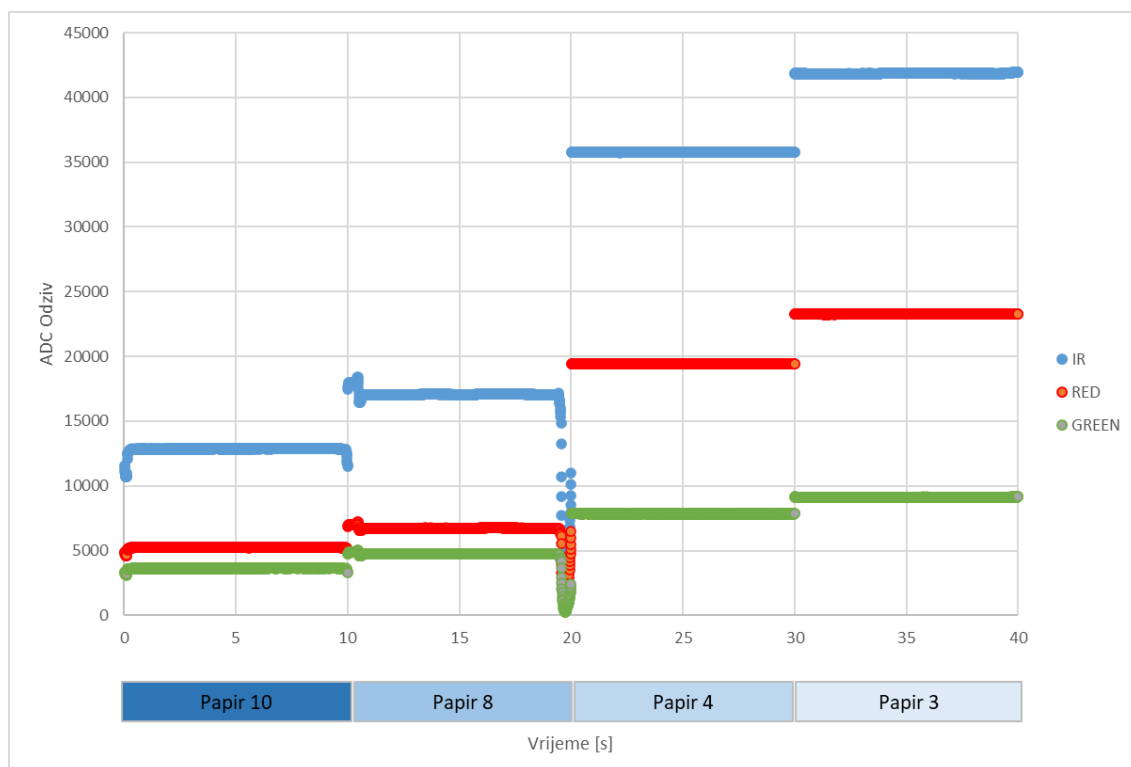
4.1.1. Nijanse berlinskog modrila



Slika 20. Dobiveni papirići od najsvjetlijeg do najtamnijeg



Slika 21. Reflektancijski spektri korištenih papirića s berlinskim modrilom s naznačenim valnim duljinama MAX30101 crvene (660 nm) i zelene (537 nm) LED diode



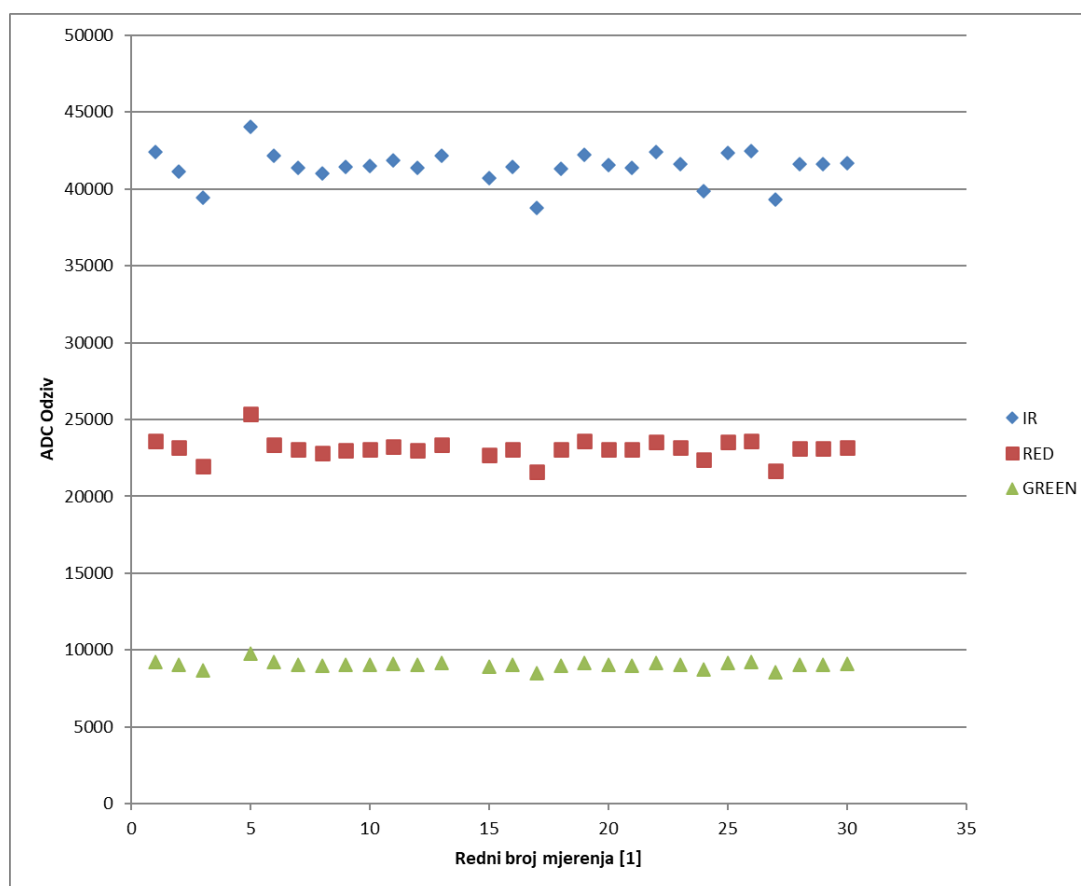
Slika 22. ADC Odzivi sve tri LED diode (infracrvena, crvena i zelena) u ovisnosti o boji papirića od natamnijeg (10) do najsvjetlijeg (3)

Na Slici 22. se može vidjeti rastući trend ADC odziva senzora MAX30101 na odabrane papirne trake s nanočesticama berlinskog modrila koji se nalaze na Slici 20. Slijeva nadesno se ide od tamnijeg prema svjetlijima i ADC odziv raste, što je smisleno jer svjetlije obojani papirići reflektiraju više svjetlosti, stoga im pripada viši ADC odziv. Obzirom na Sliku 20. i Sliku 21. ovakvi rezultati su smisleni jer papirići s berlinskim modrilom većeg broja reflektiraju najmanje u području valne duljine zelene LED diode, stoga joj pripada najmanja ADC vrijednost. Relativno srednje ADC vrijednosti pripadaju crvenoj LED diodi iako berlinsko modrilo manje reflektira u tom dijelu spektra vjerojatno zato što je kvantna efikasnost fotodetektora u tom području spektra bolja. Relativno najviše ADC vrijednosti pripadaju infracrvenoj LED diodi zbog porasta reflektancije u tom dijelu spektra.

4.1.2. Ponovljivost

Tablica 2. Srednji ADC odzivi i standardna devijacija svih LED dioda za papirić označen brojem 3

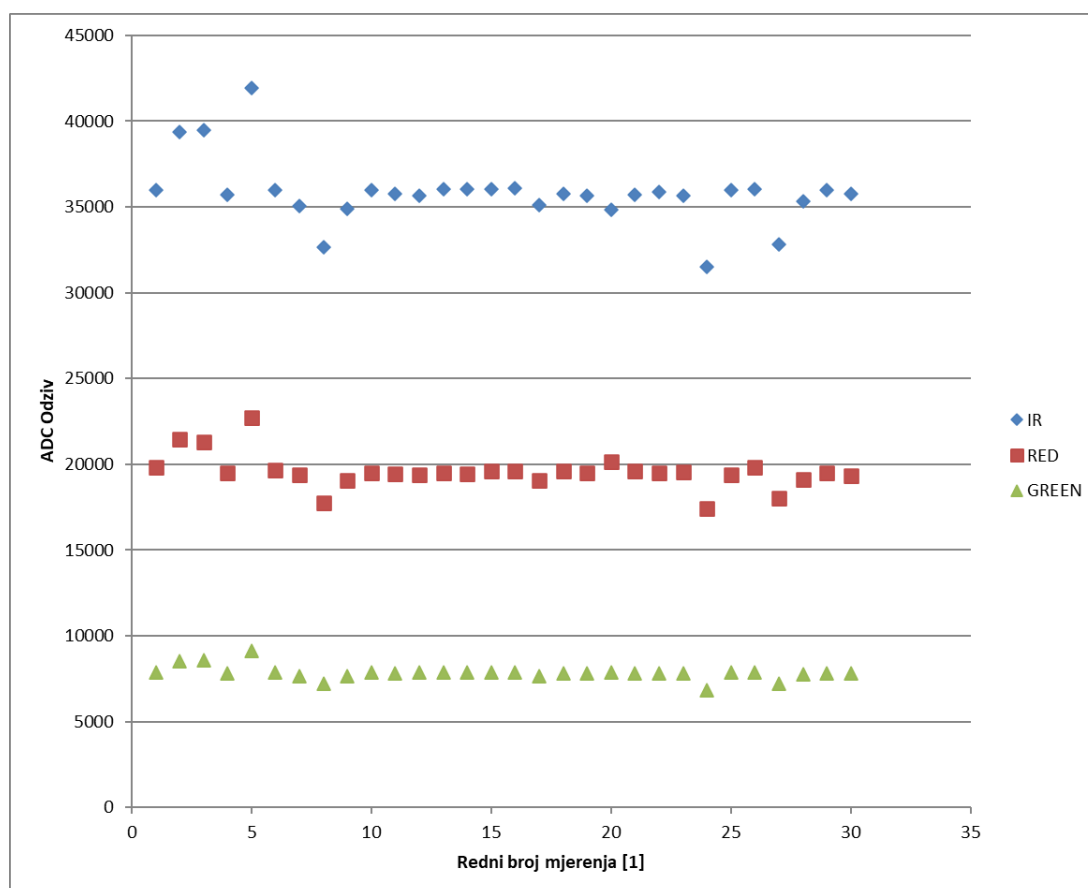
X srednji			Standardna devijacija				Postotak standardne devijacije				
IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN			IR	RED	GREEN
41440	23087	9043	1 sigma	1065.892	683.2431	237.1805	68%	1 sigma	2.57%	2.96%	2.62%
			2 sigma	2131.784	1366.486	474.3609	95%	2 sigma	5.14%	5.92%	5.25%
			3 sigma	3197.676	2049.729	711.5414	99.70%	3 sigma	7.72%	8.88%	7.87%
Rezultat za papir označen brojem 3											
	IR	41440 ± 5,14% za 95% podataka									
	RED	23087 ± 5,92% za 95% podataka									
	GREEN	9043 ± 5,25% za 95% podataka									



Slika 23. ADC Odzivi svih LED dioda za papirić označen brojem 3

Tablica 3. Srednji ADC odzivi i standardna devijacija svih ledica za papirić označen brojem 4

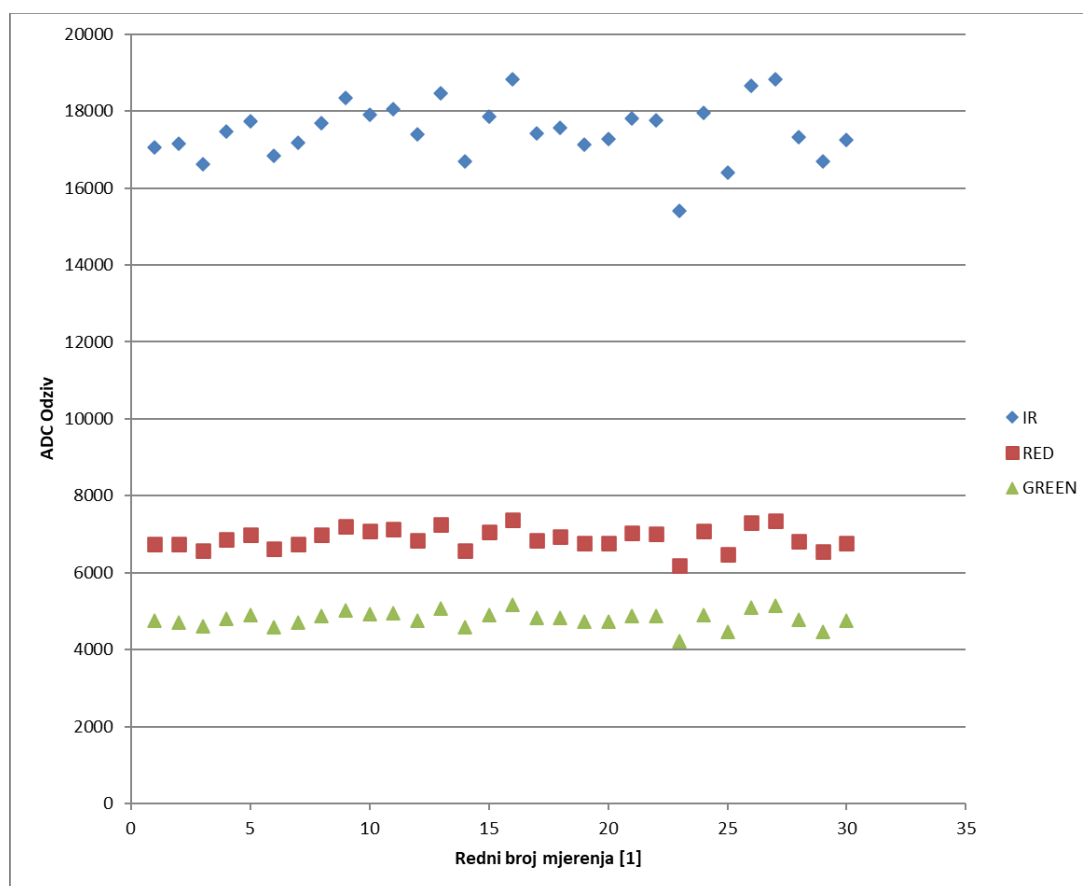
X srednji			Standardna devijacija				Postotak standardne devijacije				
IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN			IR	RED	GREEN
35822	19559	7833	1 sigma	1869.144	970.9211	388.5373	68%	1 sigma	5.22%	4.96%	4.96%
			2 sigma	3738.288	1941.842	777.0746	95%	2 sigma	10.44%	9.93%	9.92%
			3 sigma	5607.432	2912.763	1165.612	99.70%	3 sigma	15.65%	14.89%	14.88%
Rezultat za papir označen brojem 4											
			IR	35822 ± 10,44% za 95% podataka							
			RED	19559 ± 9,93% za 95% podataka							
			GREEN	7833 ± 9,92% za 95% podataka							



Slika 24. ADC Odzivi svih LED dioda za papirić označen brojem 4

Tablica 4. Srednji ADC odzivi i standardna devijacija svih ledica za papirić označen brojem 8

X srednji			Standardna devijacija				Postotak standardne devijacije				
IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN	
17491	6890	4799	1 sigma	738.9178	274.0687	206.0314	68%	1 sigma	4.22%	3.98%	4.29%
			2 sigma	1477.836	548.1374	412.0629	95%	2 sigma	8.45%	7.96%	8.59%
			3 sigma	2216.753	822.2061	618.0943	99.70%	3 sigma	12.67%	11.93%	12.88%
Rezultat za papir označen brojem 8											
			IR	17491 ± 8,45% za 95% podataka							
			RED	6890 ± 7,96% za 95% podataka							
			GREEN	4799 ± 8,59% za 95% podataka							

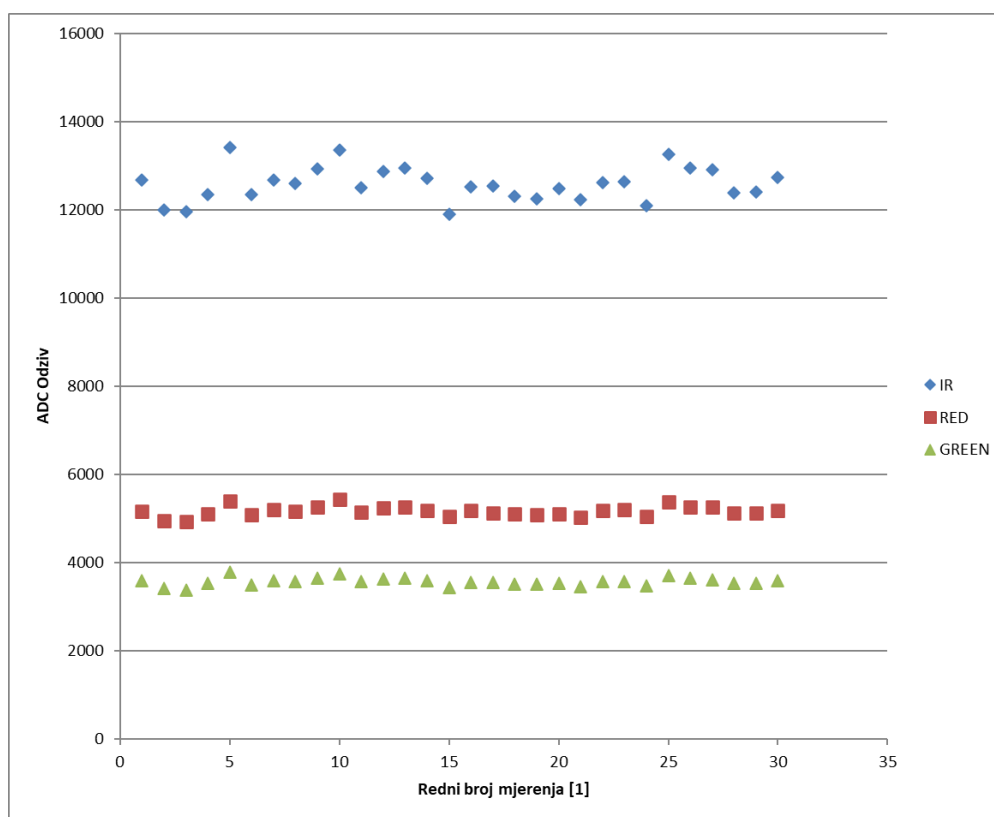


Slika 25. ADC Odzivi svih LED dioda za papirić označen brojem 8

Tablica 5. Srednji ADC odzivi i standardna devijacija svih ledica za papirić označen brojem

10

X srednji			Standardna devijacija				Postotak standardne devijacije				
IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN		IR	RED	GREEN	
12583	5164	3566	1 sigma	379.4218	113.6873	88.7559	68%	1 sigma	3.02%	2.20%	2.49%
			2 sigma	758.8436	227.3745	177.5118	95%	2 sigma	6.03%	4.40%	4.98%
			3 sigma	1138.265	341.0618	266.2677	99.70%	3 sigma	9.05%	6.60%	7.47%
Rezultat za papir pod brojem 10											
	IR	12583 ± 6,03% za 95% podataka									
	RED	5164 ± 4,40% za 95% podataka									
	GREEN	3566 ± 4,98% za 95% podataka									



Slika 26. ADC Odzivi svih LED dioda za papirić označen brojem 10

Tablice 2, 3, 4 i 5 pokazuju rezultate ispita ponovljivosti 4 različite nijanse papirnih traka s nanočesticama berlinskog modriloa. Ne postoji očiti trend porasta ili smanjivanja standardne devijacije njihova mjerenja. Rezultati svih mjerenja leže unutar, ili manje od ± 10,44% dobivene srednje vrijednosti. Slike 23, 24, 25 i 26 grafički prikazuju ADC odzive u odnosu na broj mjerenja za navedene papirne trake.

4.2. Sol – gel papirići s kurkuminom

Ovom metodom je dobiven papirić s izrazito heterogenim slojem kurkumina. Kontakt s puferom je ostvaren u plastičnoj kadici za vaganje čije dno je bilo veličine papirića, a volumen dodanog pufera je ponovno bio ukupno 1 mL. Promjena boje koja je uslijedila kao posljedica kontakta s puferom nije bila ujednačena nego je papirić bio šaren, što bi na senzoru MAX30101 dalo neujednačene i neponovljive rezultate, stoga smo odustali od nastavka rada s ovom metodom imobilizacije kurkumina.

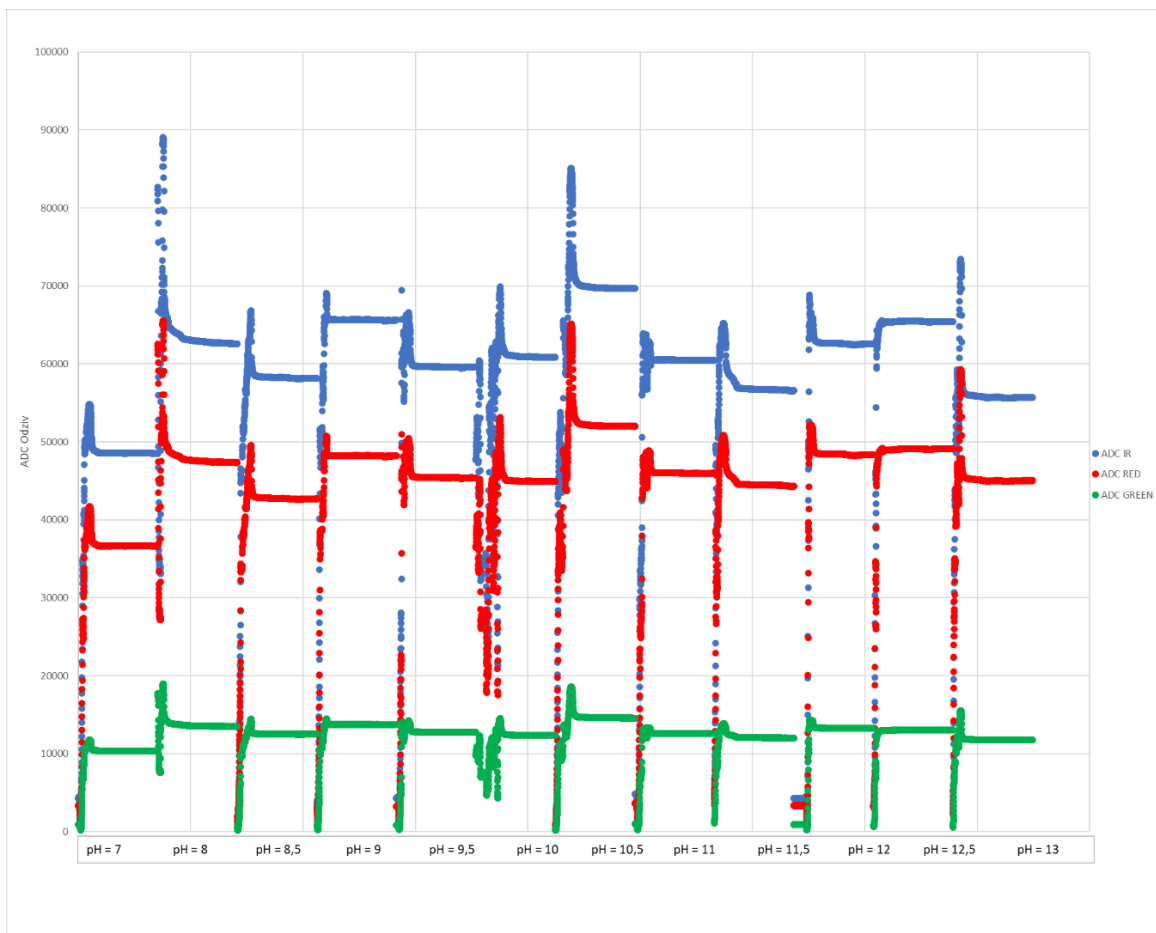
4.3. Papirići s kurkuminom dobiveni isparavanjem otapala

4.3.1. Odziv senzora MAX30101 na promjenu pH

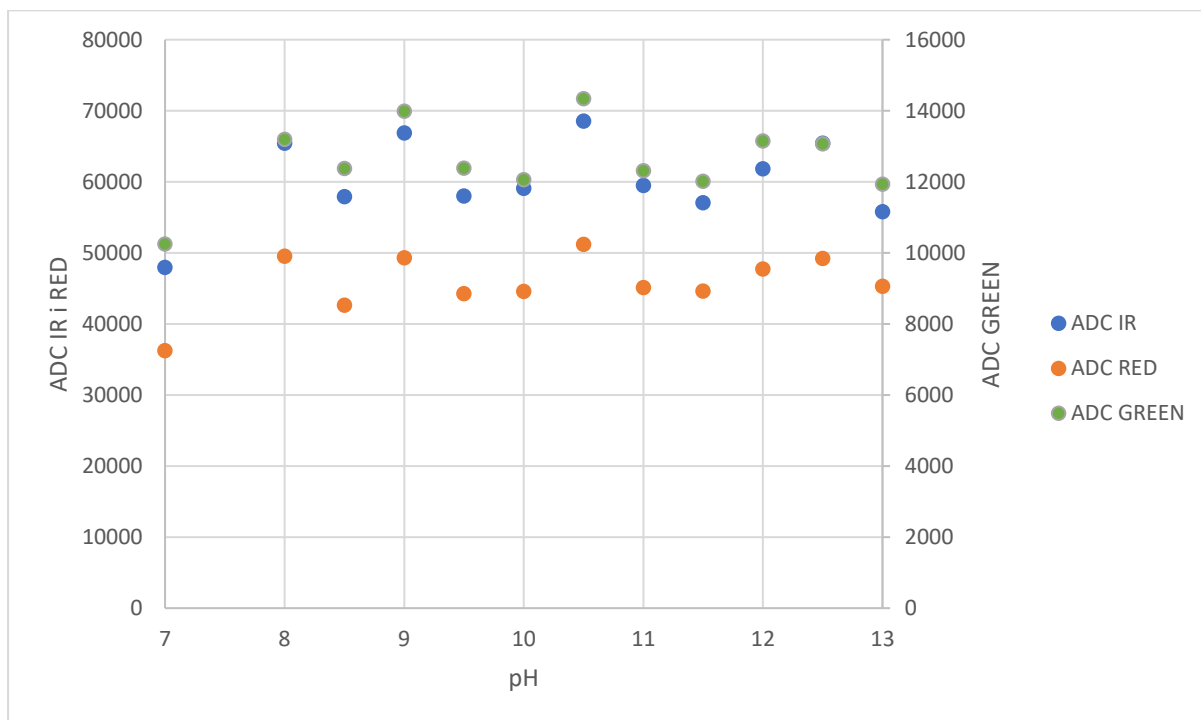
Tablica 6. Srednji ADC odzivi i standardne devijacije za papiriće s najnižom koncentracijom kurkumina, 1×10^{-5} M

c(Kurkumin) = 1×10^{-5} M									
pH = 7	ADC IR	47978,45	±	14,03%	pH = 10,5	ADC IR	68537,28	±	7,73%
	ADC RED	36277,04	±	12,17%		ADC RED	51203,88	±	8,41%
	ADC GREEN	10248,98	±	12,51%		ADC GREEN	14338,85	±	8,62%
pH = 8	ADC IR	65457,59	±	36,75%	pH = 11	ADC IR	59513,09	±	4,60%
	ADC RED	49548,56	±	33,98%		ADC RED	45121,93	±	4,73%
	ADC GREEN	13196,55	±	35,04%		ADC GREEN	12314,05	±	4,79%
pH = 8,5	ADC IR	57922,87	±	8,79%	pH = 11,5	ADC IR	57046,9	±	19,31%
	ADC RED	42635,49	±	8,13%		ADC RED	44629,31	±	17,07%
	ADC GREEN	12379,65	±	8,46%		ADC GREEN	12016,34	±	17,43%
pH = 9	ADC IR	66867,98	±	5,31%	pH = 12	ADC IR	61834,15	±	6,31%
	ADC RED	49326,25	±	5,44%		ADC RED	47755,08	±	6,42%
	ADC GREEN	13994	±	5,00%		ADC GREEN	13153,07	±	5,92%
pH = 9,5	ADC IR	57999,17	±	20,10%	pH = 12,5	ADC IR	65469,87	±	8,01%
	ADC RED	44272,38	±	17,00%		ADC RED	49236,77	±	7,23%
	ADC GREEN	12382,71	±	18,18%		ADC GREEN	13069,32	±	7,29%
pH = 10	ADC IR	59086,23	±	17,20%	pH = 13	ADC IR	55802	±	10,95%
	ADC RED	44593,91	±	15,37%		ADC RED	45326,98	±	8,89%
	ADC GREEN	12061,45	±	15,77%		ADC GREEN	11939,76	±	9,19%

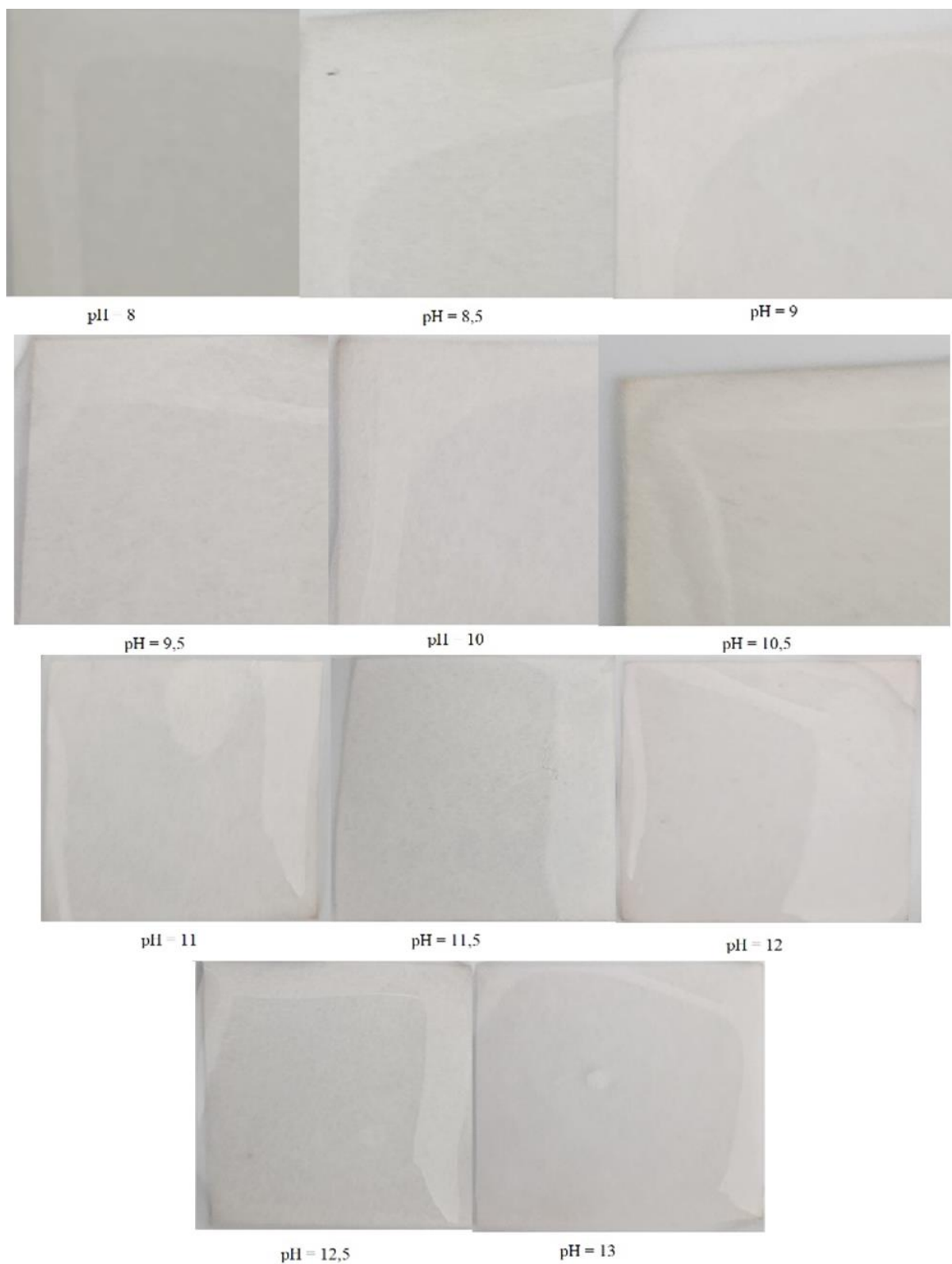
Tablica 6. prikazuje podatke dobivene mjerenjem ADC odziva papirića s kurkuminom, čija slika se nalazi na Slici 29. molarne koncentracije $c = 1 \times 10^{-5}$ M. Sirovi ADC podaci se nalaze na Slici 27. a prikaz srednje vrijednosti svakog mjerenja na Slici 28. Obzirom da senzor može vidjeti nekakvu promjenu u obojenju, koliko god ona suptilna bila, ovdje se ne može vidjeti trend obzirom na pH zbog premale koncentracije kurkumina.



Slika 27. Sirovi ADC podatci u ovisnosti o pH za papirić kurkumina $c = 1 \times 10^{-5}$ M



Slika 28. Grafički prikaz rezultata ADC odziva u ovisnosti o pH iz Tablice 6.

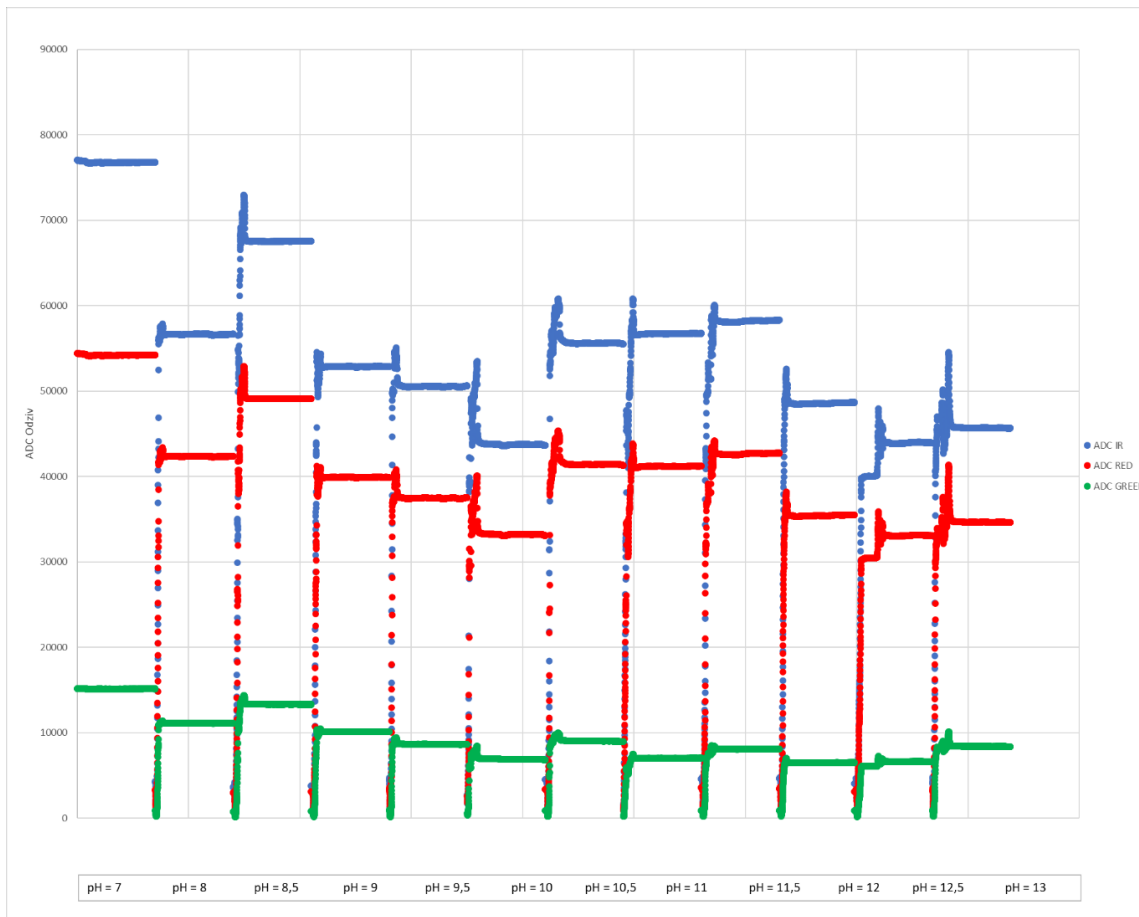


Slika 29. Boja papirića s kurkuminom koncentracije 1×10^{-5} M u ovisnosti o pH

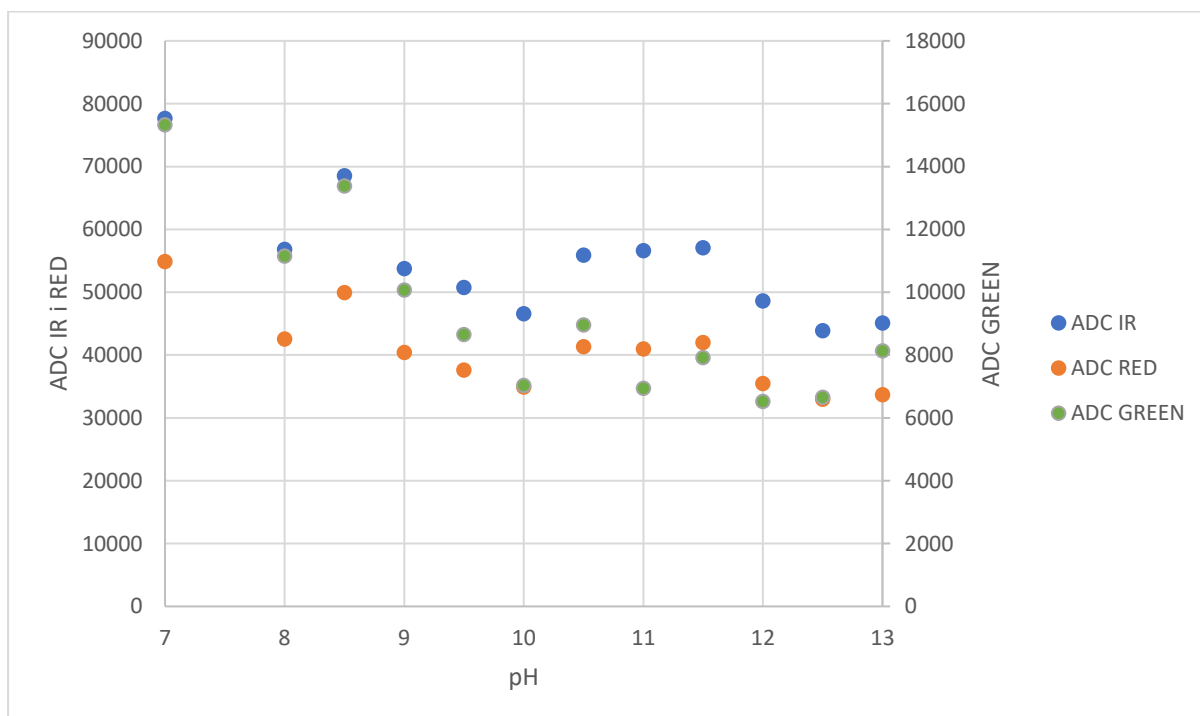
Tablica 7. Srednji ADC odzivi i standardne devijacije za papiriće sa srednjom koncentracijom kurkumina, 1×10^{-4} M

c(Kurkumin) = 1×10^{-4} M									
pH = 7	ADC IR	77669,36	±	7,58%	pH = 10,5	ADC IR	55927,3	±	4,43%
	ADC RED	54888,44	±	8,32%		ADC RED	41358,22	±	3,91%
	ADC GREEN	15329,58	±	8,76%		ADC GREEN	8960,86	±	17,67%
pH = 8	ADC IR	56857,32	±	1,13%	pH = 11	ADC IR	56641,86	±	9,47%
	ADC RED	42580,02	±	1,72%		ADC RED	40985	±	8,11%
	ADC GREEN	11152,89	±	1,18%		ADC GREEN	6940,9	±	9,48%
pH = 8,5	ADC IR	68548,12	±	3,00%	pH = 11,5	ADC IR	57086,9	±	11,57%
	ADC RED	49966	±	2,78%		ADC RED	42027,65	±	10,17%
	ADC GREEN	13382,42	±	4,32%		ADC GREEN	7919,6	±	9,63%
pH = 9	ADC IR	53784,95	±	3,77%	pH = 12	ADC IR	48624,96	±	4,27%
	ADC RED	40414,27	±	3,11%		ADC RED	35467,14	±	4,11%
	ADC GREEN	10068,66	±	6,08%		ADC GREEN	6529,92	±	5,82%
pH = 9,5	ADC IR	50795,59	±	5,33%	pH = 12,5	ADC IR	43869,22	±	7,51%
	ADC RED	37637,25	±	4,74%		ADC RED	32985	±	7,04%
	ADC GREEN	8660,96	±	5,32%		ADC GREEN	6658,3	±	10,04%
pH = 10	ADC IR	46617,73	±	8,64%	pH = 13	ADC IR	45100,59	±	10,57%
	ADC RED	34943,48	±	7,40%		ADC RED	33714,06	±	9,97%
	ADC GREEN	7041,26	±	18,96%		ADC GREEN	8132,78	±	10,40%

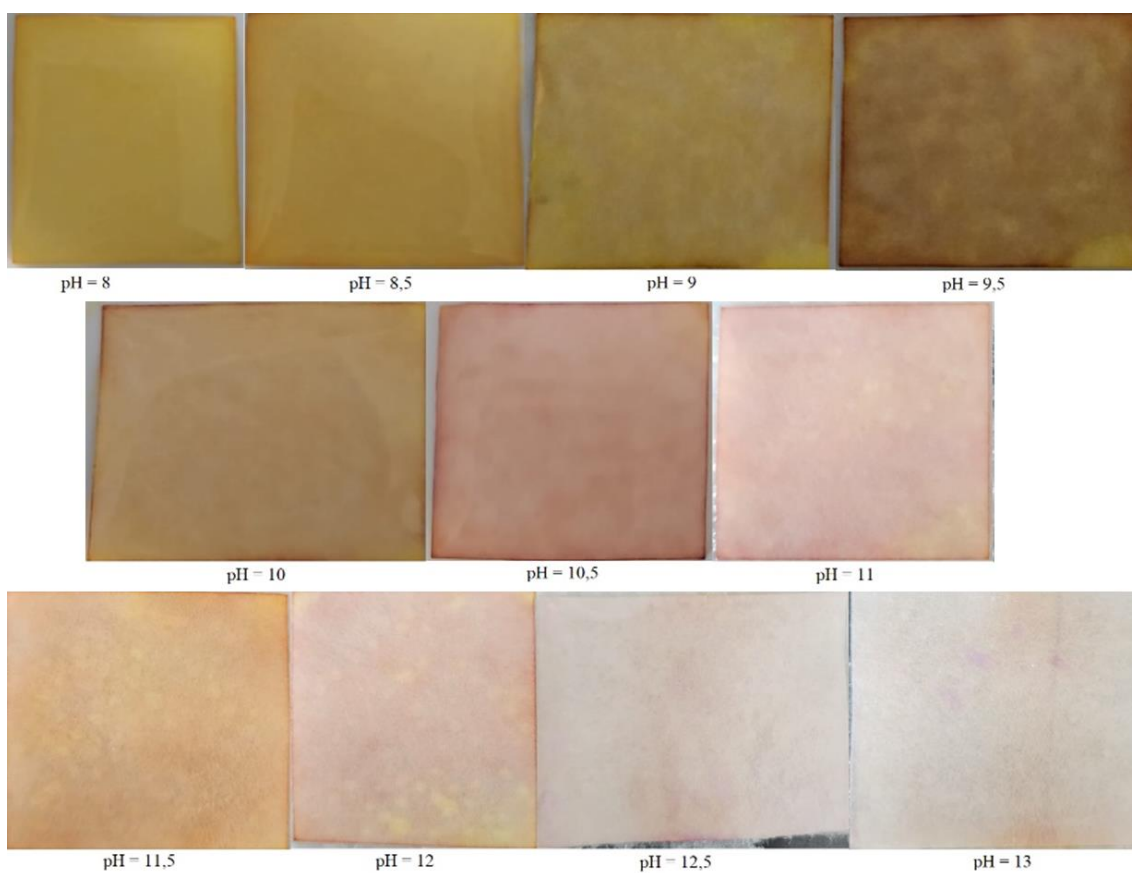
Tablica 7. prikazuje podatke dobivene mjerenjem ADC odziva papirića s kurkuminom, čija slika se nalazi na Slici 32. molarne koncentracije $c = 1 \times 10^{-4}$ M. Sirovi ADC podaci se nalaze na Slici 30. a prikaz srednje vrijednosti svakog mjerenja na Slici 31.



Slika 30. Sirovi ADC podatci u ovisnosti o pH za papirić kurkumina $c = 1 \times 10^{-4}$ M



Slika 31. Grafički prikaz rezultata iz Tablice 7.

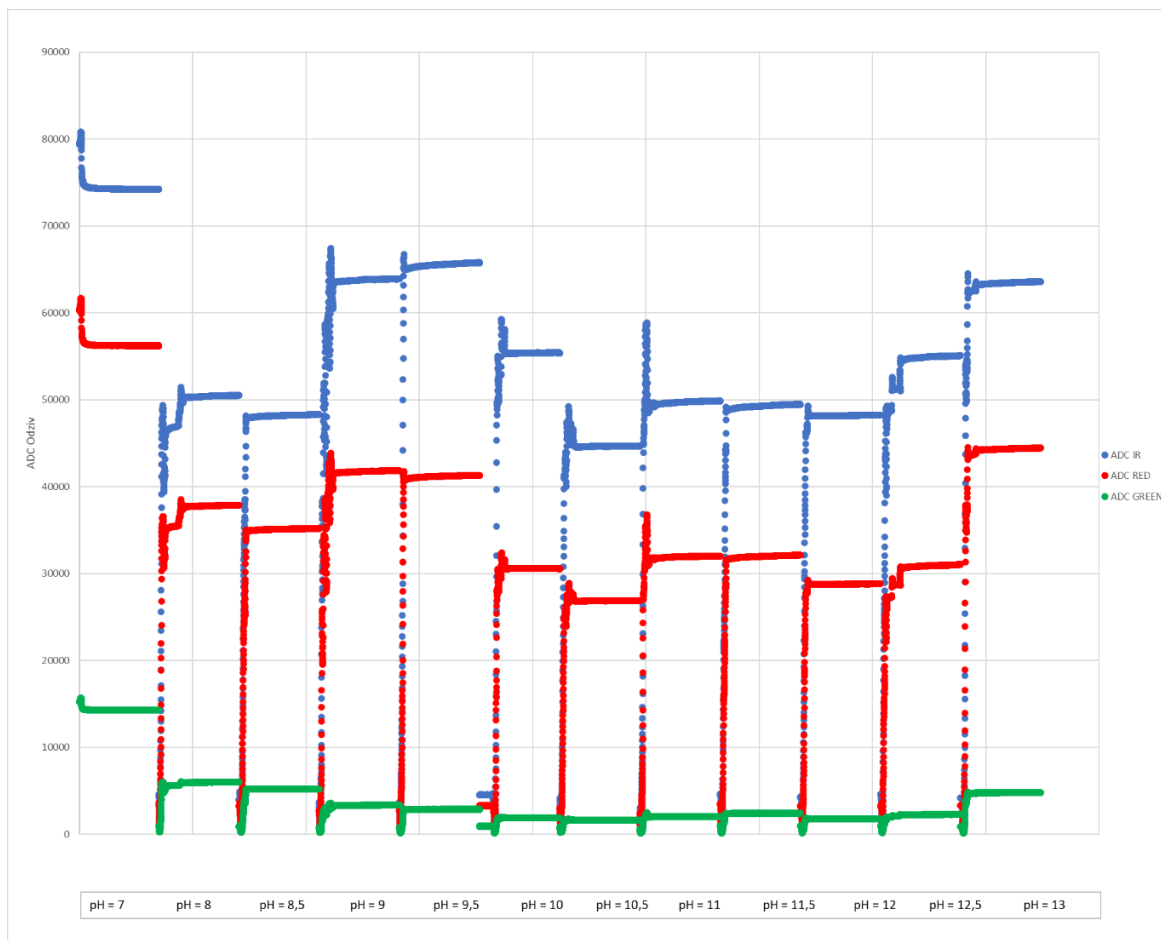


Slika 32. Boja papirića s kurkuminom koncentracije 1×10^{-4} M u ovisnosti o pH

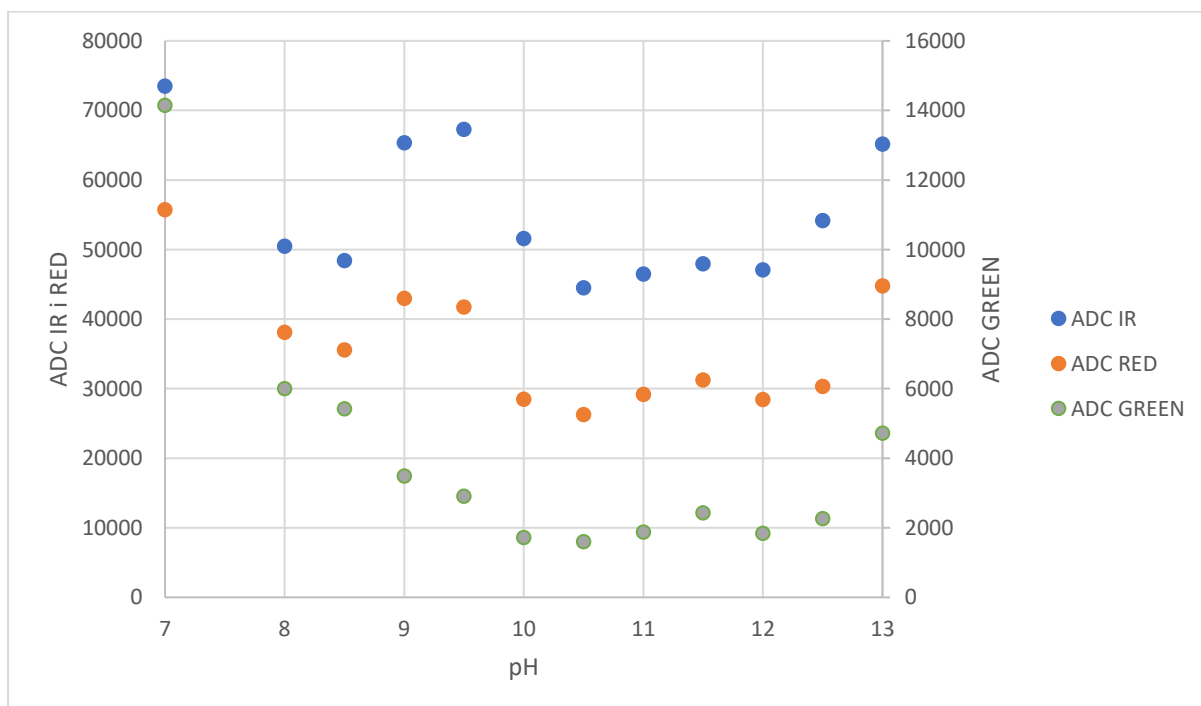
Tablica 8. Srednji ADC odzivi i standardne devijacije za papiriće s najvišom koncentracijom kurkumina, 1×10^{-3} M

c(Kurkumin) = 1×10^{-3} M				
pH = 7	ADC IR	73512,94	±	11,86%
	ADC RED	55734,24	±	13,30%
	ADC GREEN	14146,95	±	12,03%
pH = 8	ADC IR	50480,14	±	2,65%
	ADC RED	38130,72	±	3,68%
	ADC GREEN	6000	±	4,56%
pH = 8,5	ADC IR	48429,71	±	10,77%
	ADC RED	35584,4	±	10,60%
	ADC GREEN	5427,74	±	20,32%
pH = 9	ADC IR	65342,9	±	11,06%
	ADC RED	42979,75	±	10,87%
	ADC GREEN	3490	±	15,09%
pH = 9,5	ADC IR	67313,52	±	7,86%
	ADC RED	41739,85	±	6,76%
	ADC GREEN	2914,78	±	14,26%
pH = 10	ADC IR	51597,38	±	8,26%
	ADC RED	28505,55	±	9,32%
	ADC GREEN	1726,32	±	11,26%
pH = 10,5	ADC IR	44518,9	±	6,11%
	ADC RED	26308,88	±	5,02%
	ADC GREEN	1600	±	6,52%
pH = 11	ADC IR	46505,18	±	18,04%
	ADC RED	29198,2	±	22,82%
	ADC GREEN	1878,7	±	23,13%
pH = 11,5	ADC IR	47973,37	±	12,85%
	ADC RED	31245,9	±	14,13%
	ADC GREEN	2429,72	±	6,00%
pH = 12	ADC IR	47102,78	±	3,03%
	ADC RED	28465,45	±	2,69%
	ADC GREEN	1842,52	±	8,87%
pH = 12,5	ADC IR	54196,66	±	9,97%
	ADC RED	30335,41	±	10,22%
	ADC GREEN	2268,53	±	7,86%
pH = 13	ADC IR	65159,43	±	16,56%
	ADC RED	44807,18	±	14,98%
	ADC GREEN	4723,92	±	17,63%

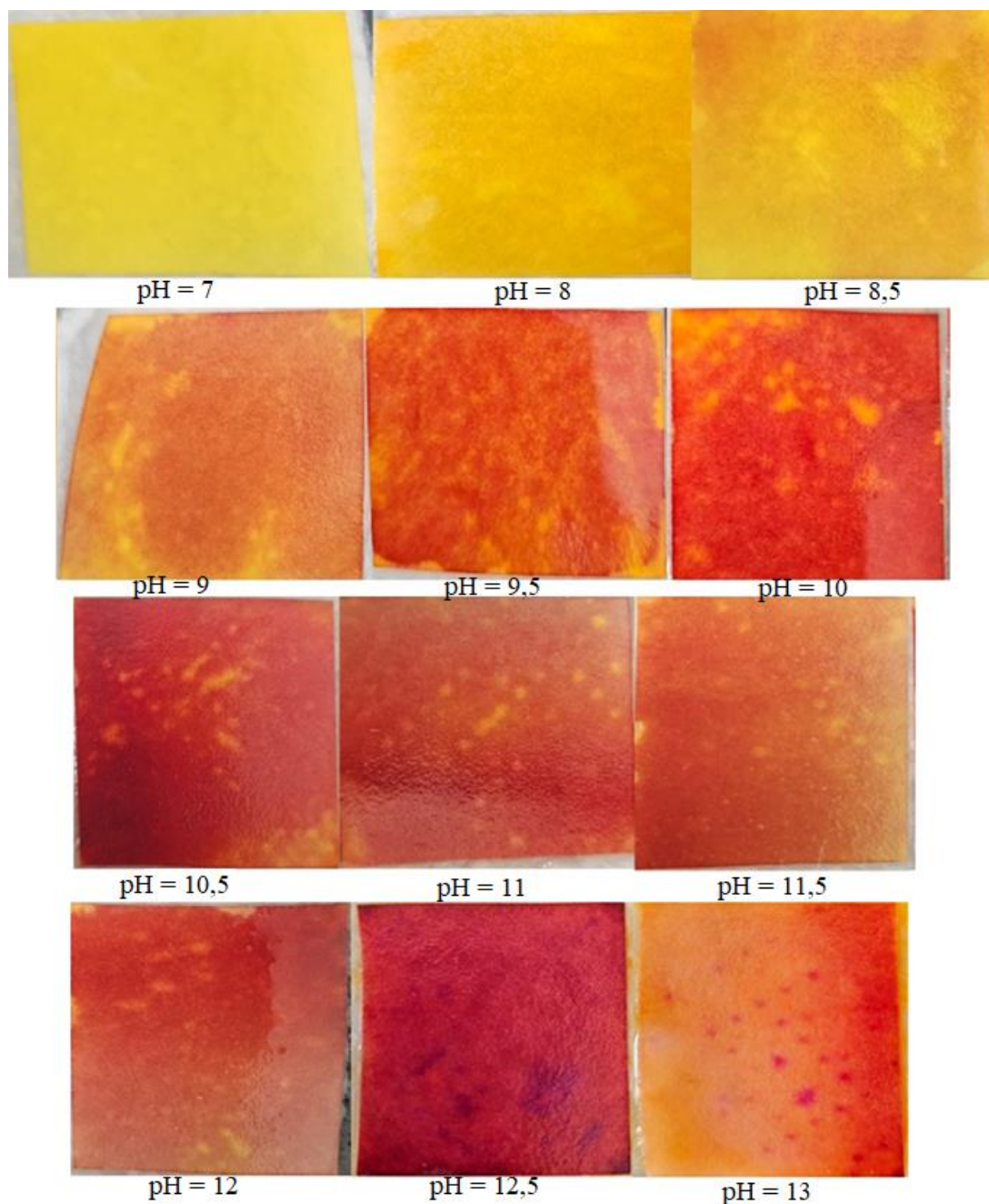
Tablica 8. prikazuje podatke dobivene mjerenjem ADC odziva papirića s kurkuminom, čija slika se nalazi na Slici 35. molarne koncentracije $c = 1 \times 10^{-3}$ M. Sirovi ADC podaci se nalaze na Slici 33., a prikaz srednje vrijednosti svakog mjerenja na Slici 34.



Slika 33. Sirovi ADC podaci u ovisnosti o pH za papirić kurkumina $c = 1 \times 10^{-3}$ M



Slika 34. Grafički prikaz rezultata iz Tablice 9.

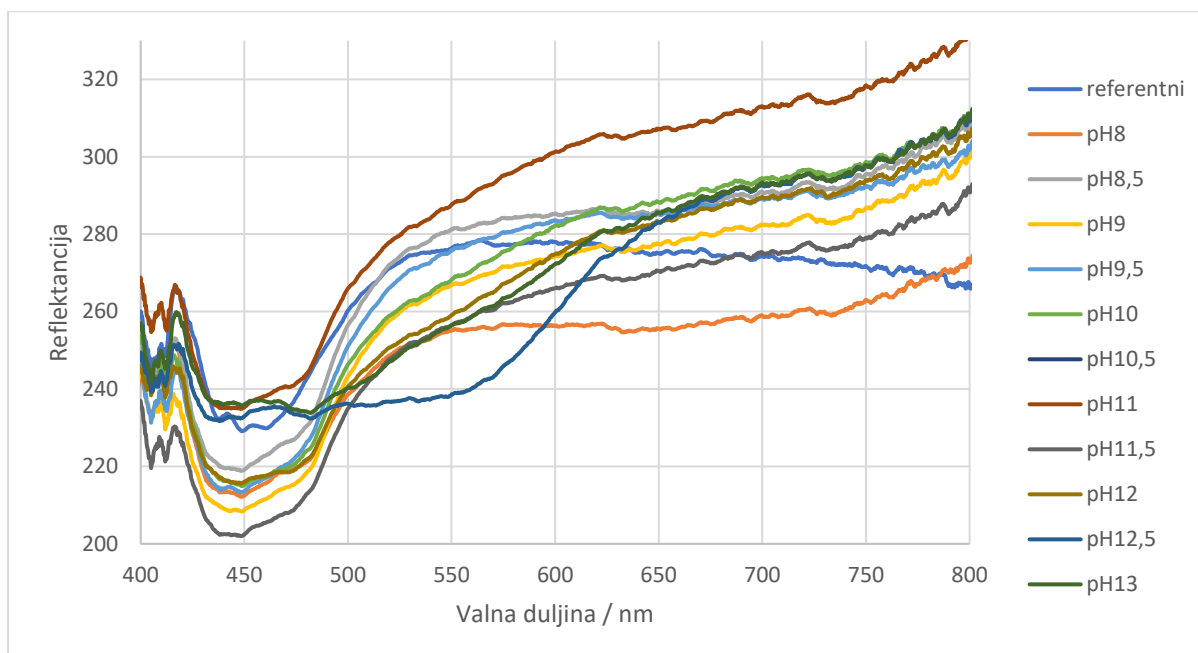


Slika 35. Boja papirića s kurkuminom koncentracije 1×10^{-3} M u ovisnosti o pH

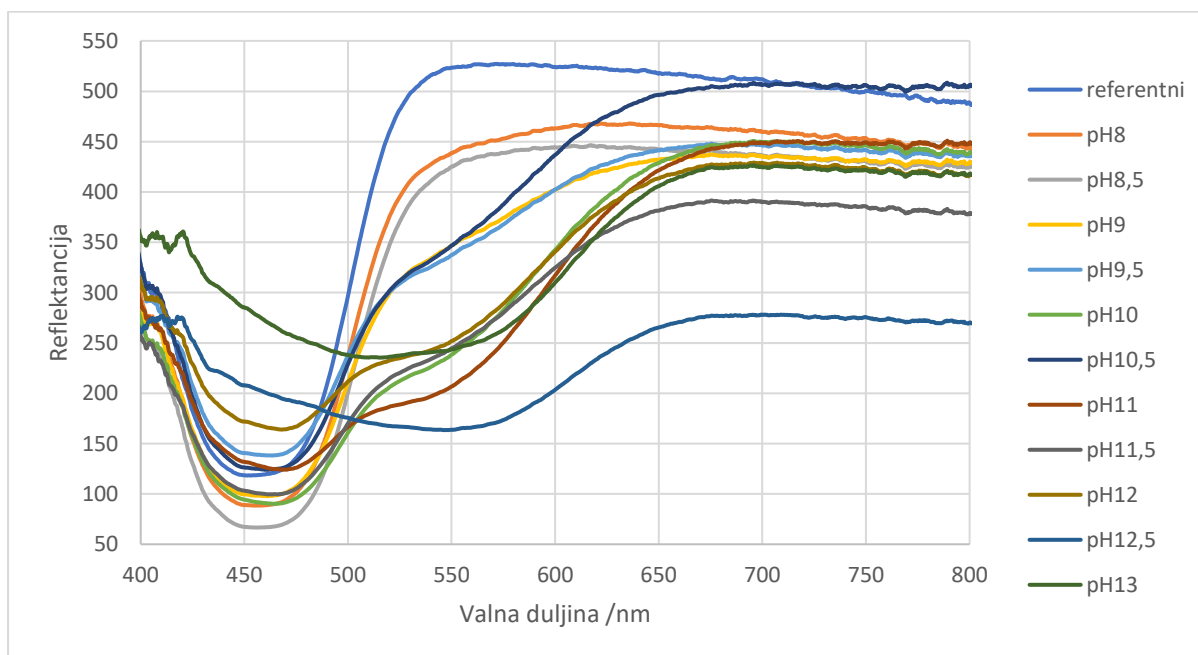
Metodom isparavanja otapala su dobiveni papirići s kurkuminom u kojima je kurkumin imobiliziran unutar vlakana papirića putem adsorpcije [63].

Papirići obojani većom koncentracijom kurkumina pokazuju intenzivnije obojenje u odnosu na one obojane manjom koncentracijom. Stoga se na grafičkom prikazu ovisnosti ADC odziva papirića kurkumina koncentracije $c = 1 \times 10^{-3}$ M o pH može uočiti veći raspon vrijednosti ADC odziva ovisno o pH što ukazuje na veću preciznost zbog većeg nagiba krivulje koja bi nastala povezivanjem dobivenih točaka.

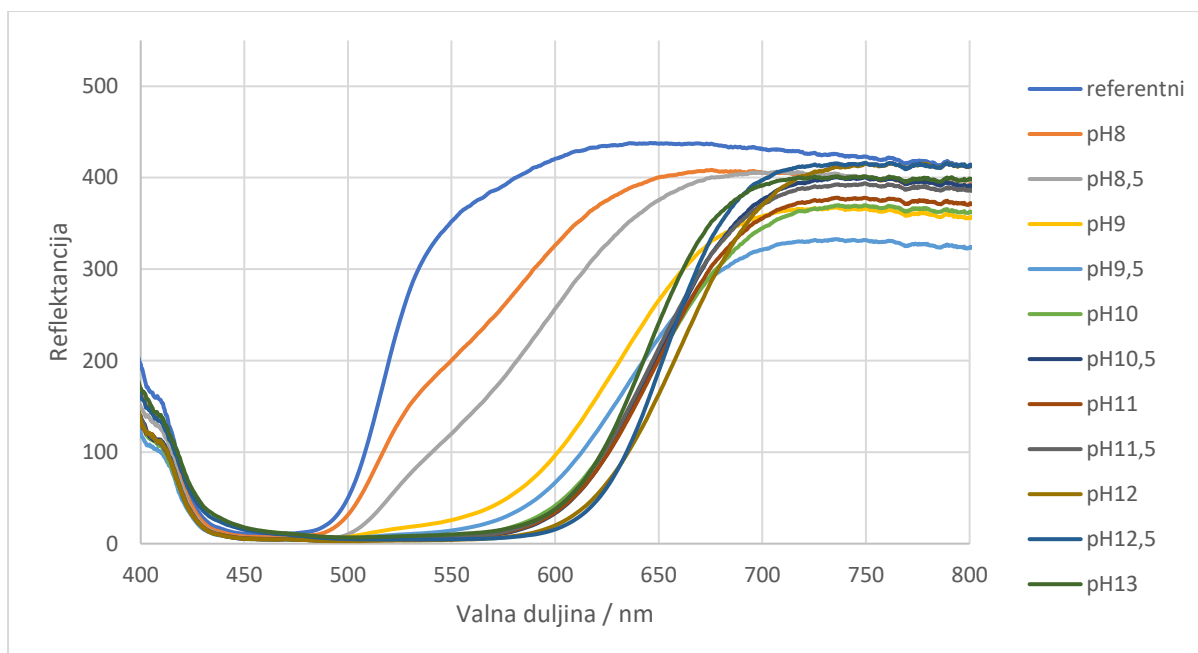
4.3.2. Odziv OceanOptics-a na promjenu pH preko indikatora – kurkumina (UV-Vis Reflektancija)



Slika 36. Reflektancijski spektar papirića s kurkuminom koncentracije $c = 1 \times 10^{-5}$ M



Slika 37. Reflektancijski spektar papirića s kurkuminom koncentracije $c = 1 \times 10^{-4}$ M

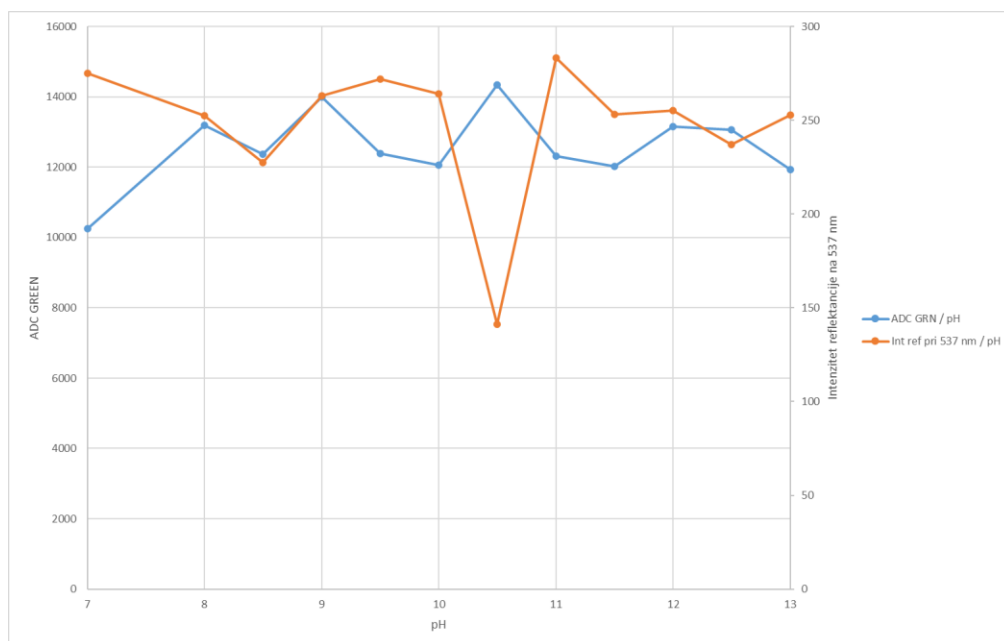


Slika 38. Reflektancijski spektar papirića s kurkuminom koncentracije $c = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$

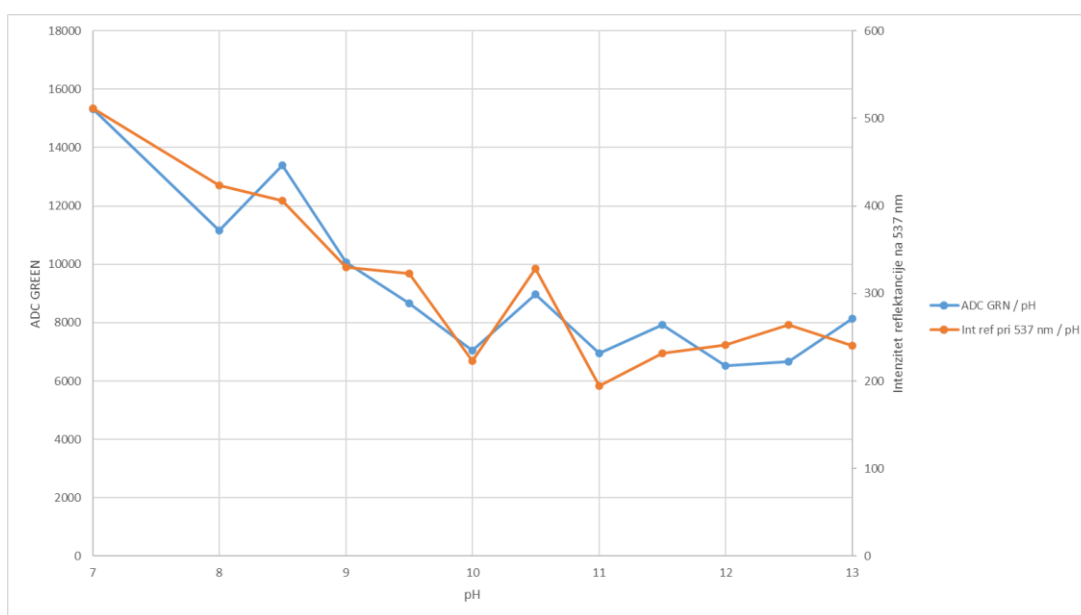
Na sva tri dijagrama prikazana na Slikama 36. – 38. ovisnosti reflektancije o valnoj duljini se s povećanjem pH može uočiti batokromni pomak, odnosno pomak maksimuma reflektancije prema većim valnim duljinama, što se očituje crvenom bojom papirića. Promjena boje dolazi od gubitka protona molekula kurkumina, odnosno od prelaska iz enolnog oblika u keto – oblik. Taj pomak je jasniji i uočljiviji na dijagramu s najvećom koncentracijom kurkumina.

4.3.3. Usporedba odziva senzora MAX30101 i reflektancije *OceanOptics-a*

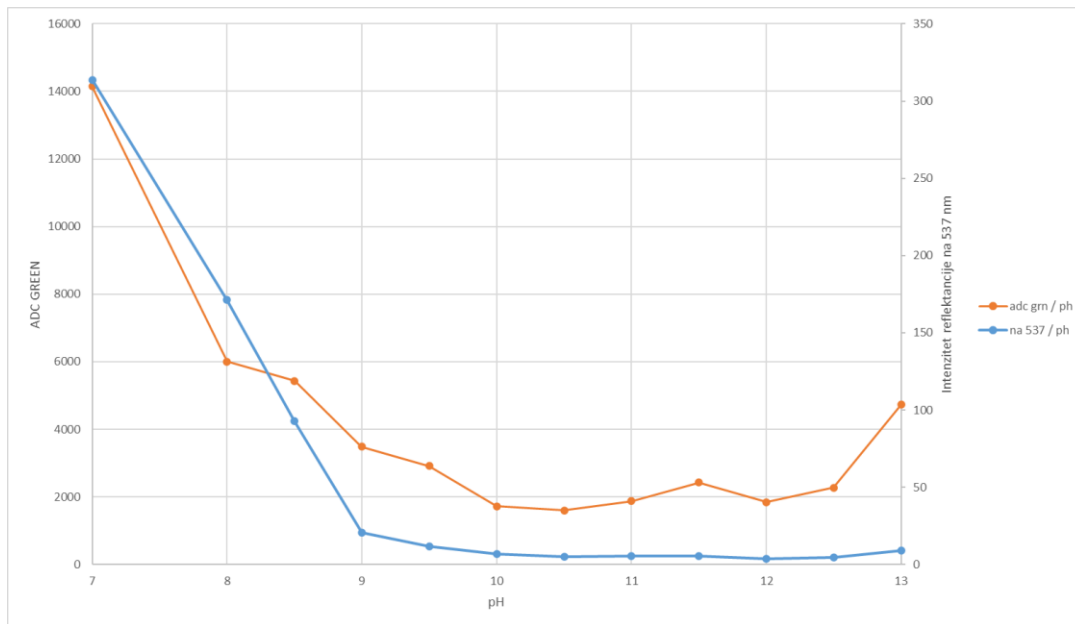
Obzirom da senzor MAX30101 određuje ADC odziv temeljeno na refleksiji crvene, zelene i infracrvene svjetlosti koje LED diode emitiraju, a koje fotodetektor skuplja, odlučeno je o usporedbi ADC odziva i intenziteta reflektancije na određenim valnim duljinama, 537 nm za zelenu LED diodu, 660 nm za crvenu diodu i 870 nm za infracrvenu diodu sukladno rezultatima iz dijela 4.3.2, odnosno pomaku maksimuma reflektancije s oko 570 nm prema 670 nm. Točke koje odgovaraju intenzitetu reflektancije su uzete iz grafičkih prikaza na Slikama 36 – 38, a točke koje odgovaraju ADC odzivima odgovarajućih LED dioda su uzete iz grafičkih prikaza na Slikama 28, 31 i 34.



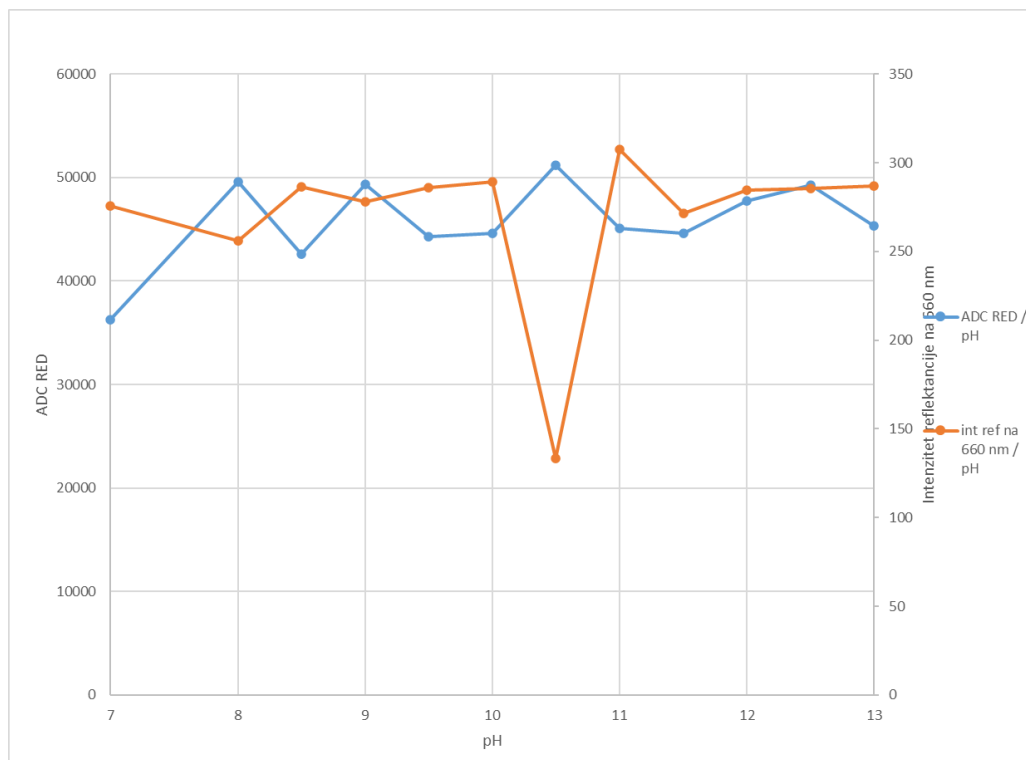
Slika 39. Podudaranje ADC GREEN odziva i intenziteta refleksancije na 537 nm [na λ na kojoj zelena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina $c = 1 \times 10^{-5}$ M



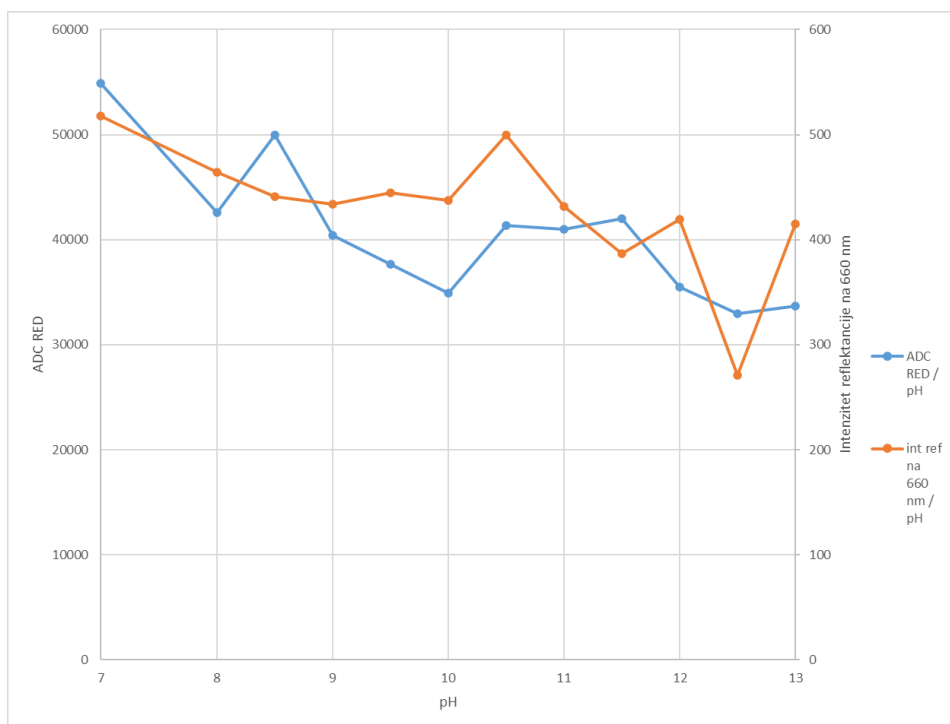
Slika 40. Podudaranje ADC GREEN odziva i intenziteta refleksancije na 537 nm [na λ na kojoj zelena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-4}$ M



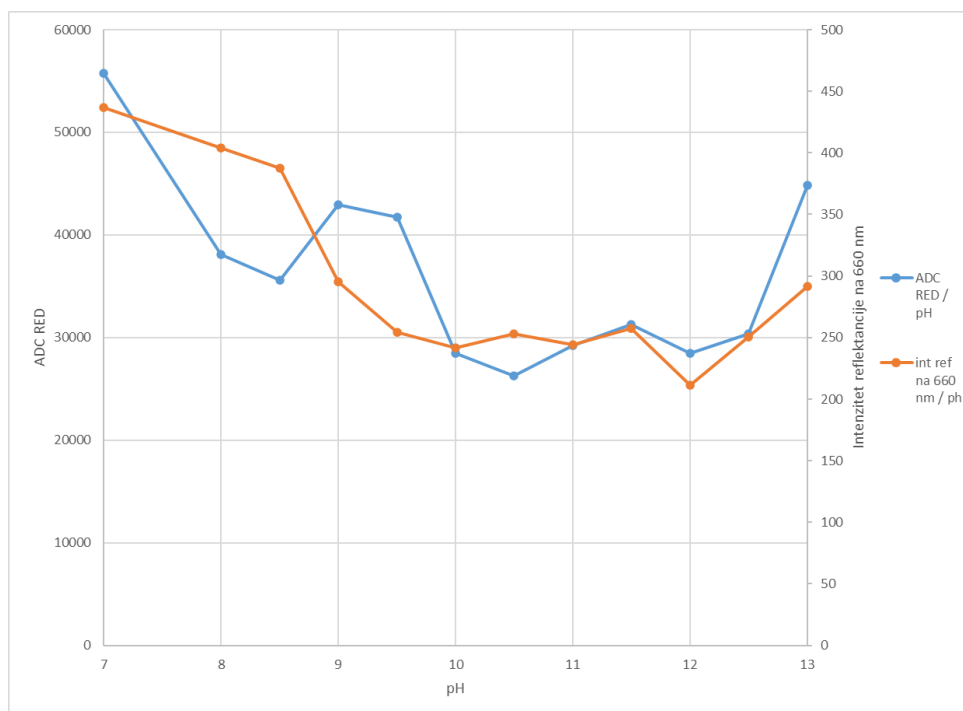
Slika 41. Podudaranje ADC GREEN odziva i intenziteta refleksancije na 537 nm [na λ na kojoj zelena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-3}$ M



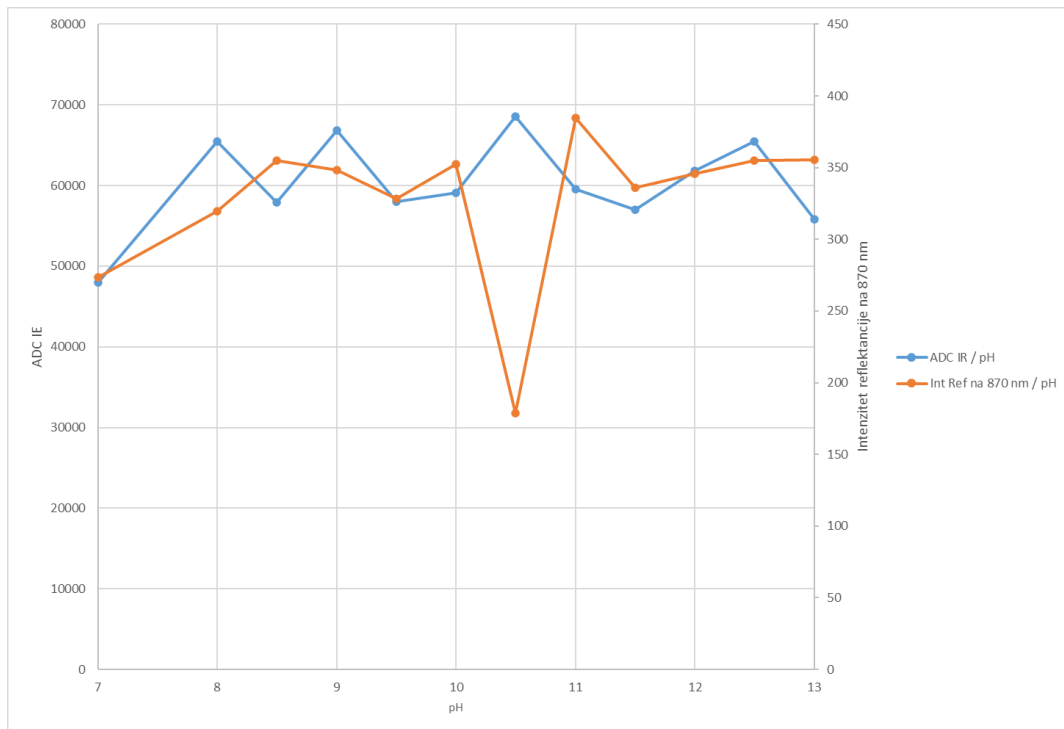
Slika 42. Podudaranje ADC RED odziva i intenziteta refleksancije na 660 nm [na λ na kojoj crvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-5}$ M



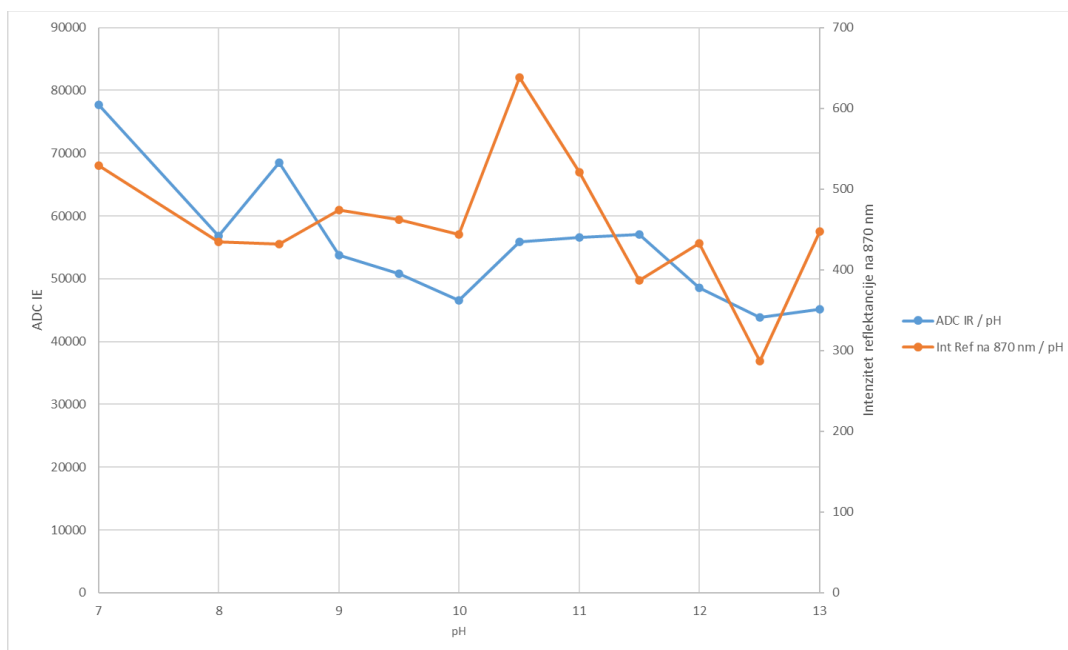
Slika 43. Podudaranje ADC RED odziva i intenziteta refleksancije na 660 nm [na λ na kojoj crvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-4}$ M



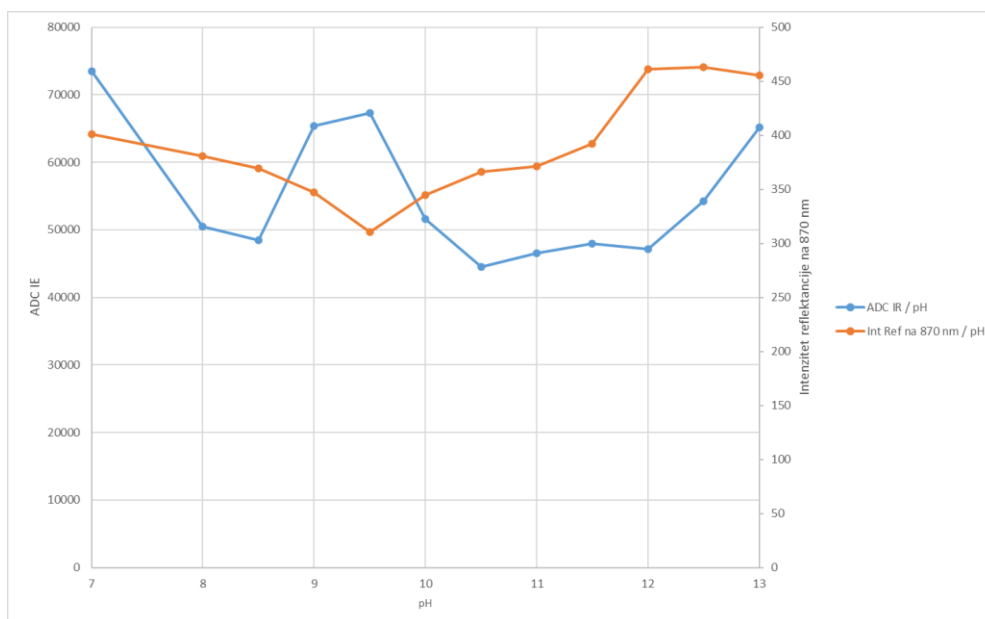
Slika 44. Podudaranje ADC RED odziva i intenziteta refleksancije na 660 nm [na λ na kojoj crvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-3}$ M



Slika 45. Podudaranje ADC IR odziva i intenziteta reflektancije na 870 nm [na λ na kojoj infracrvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-5}$ M

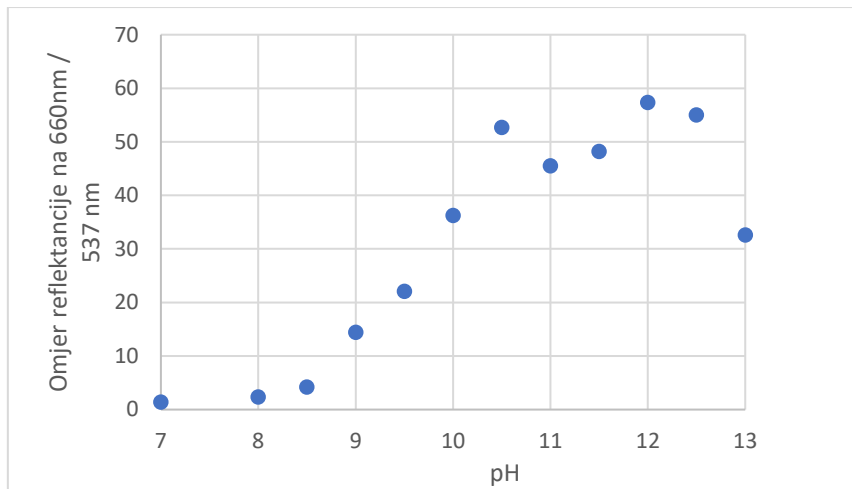


Slika 46. Podudaranje ADC IR odziva i intenziteta reflektancije na 870 nm [na λ na kojoj infracrvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-4}$ M

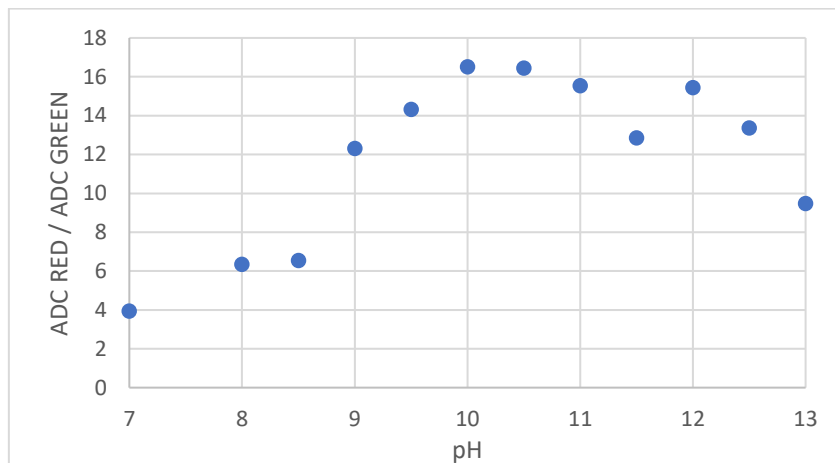


Slika 47. Podudaranje ADC IR odziva i intenziteta reflektancije na 870 nm [na λ na kojoj infracrvena LED dioda radi] pri koncentraciji kurkumina od $c = 1 \times 10^{-3}$ M

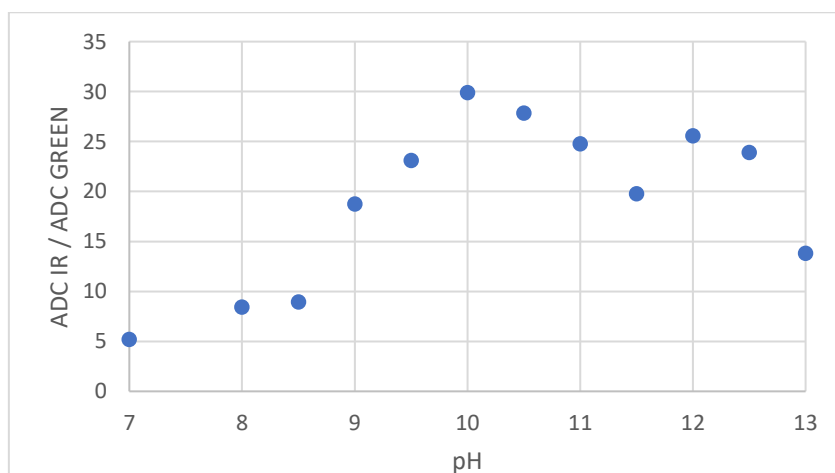
Temeljeno na navedenim podudaranjima ADC odziva zelene LED diode (ADC GREEN), crvene LED diode (ADC RED) i infracrvene LED diode (ADC IR) senzora MAX30101 te intenziteta reflektancije na 537 nm, 660 nm i 870 nm dobivenih spektrometrom, koji se nalaze na Slikama 39 – 47 konstruirana tri baždarna dijagrama za papirić s imobiliziranim kurkuminom molarne koncentracije $c = 1 \times 10^{-3}$ M. Jedni prikazuju ovisnost omjera ADC odziva zelene LED diode i ADC odziva crvene LED diode (ADC RED/ADC GREEN) o pH, drugi ovisnost omjera ADC odziva infracrvene i zelene LED diode (ADC IR/ADC GREEN) o pH, a treći prikazuju ovisnost omjera reflektancije pri 660 nm i reflektancije pri 537 nm o pH.



Slika 48. Ovisnost omjera reflektancije na 660 nm i 537 nm o pH

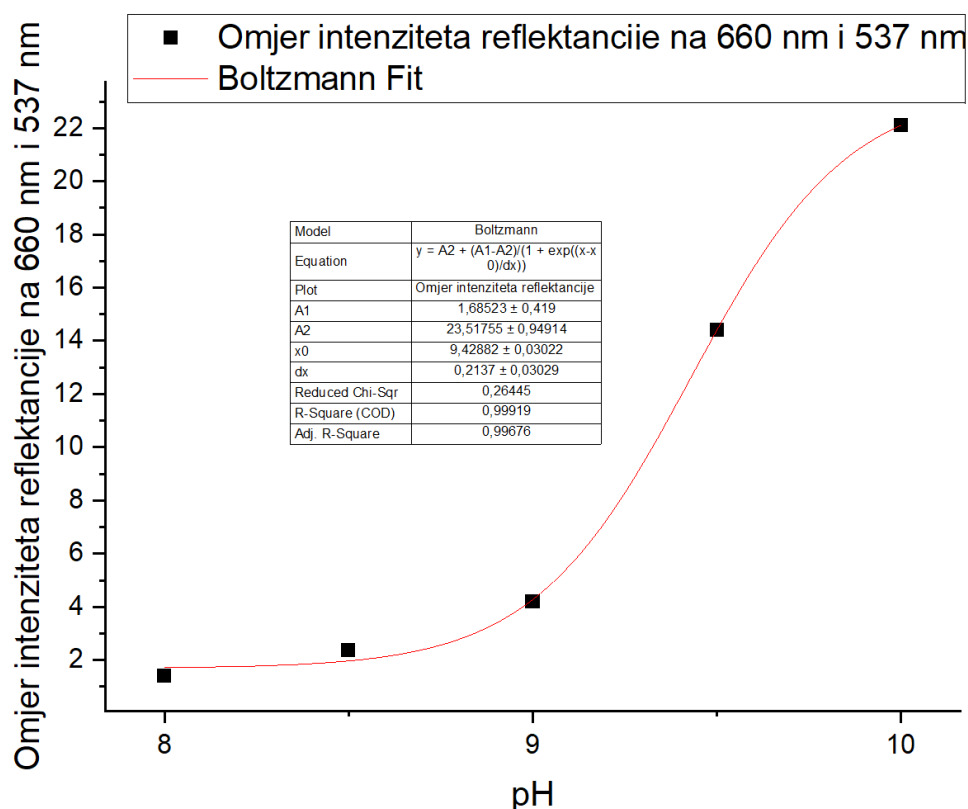


Slika 49. Ovisnost omjera ADC vrijednosti crvene (ADC RED) i zelene (ADC GREEN) LED diode o pH

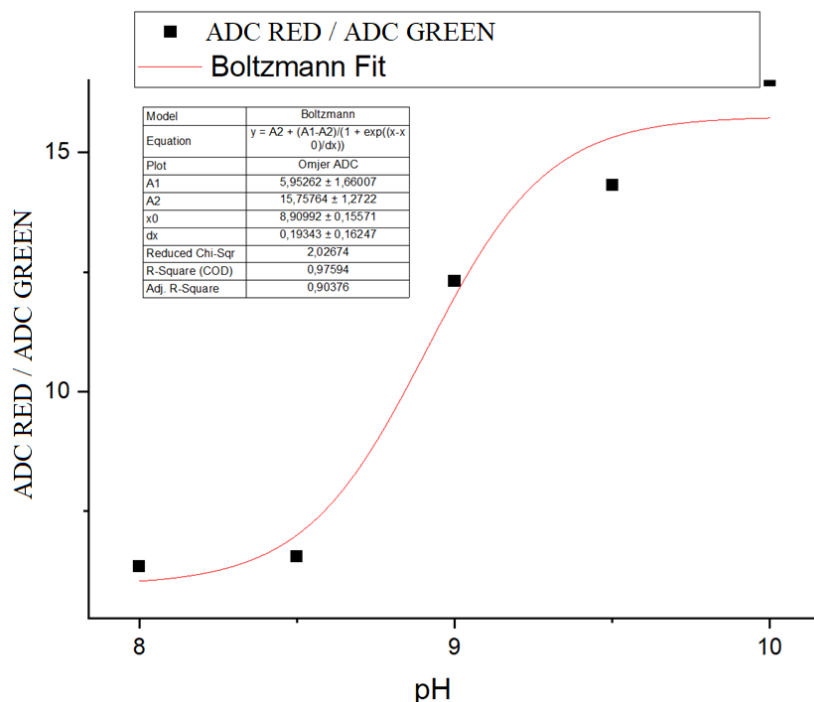


Slika 50. Ovisnost omjera ADC vrijednosti infracrvene (ADC IR) i zelene (ADC GREEN) LED diode o pH

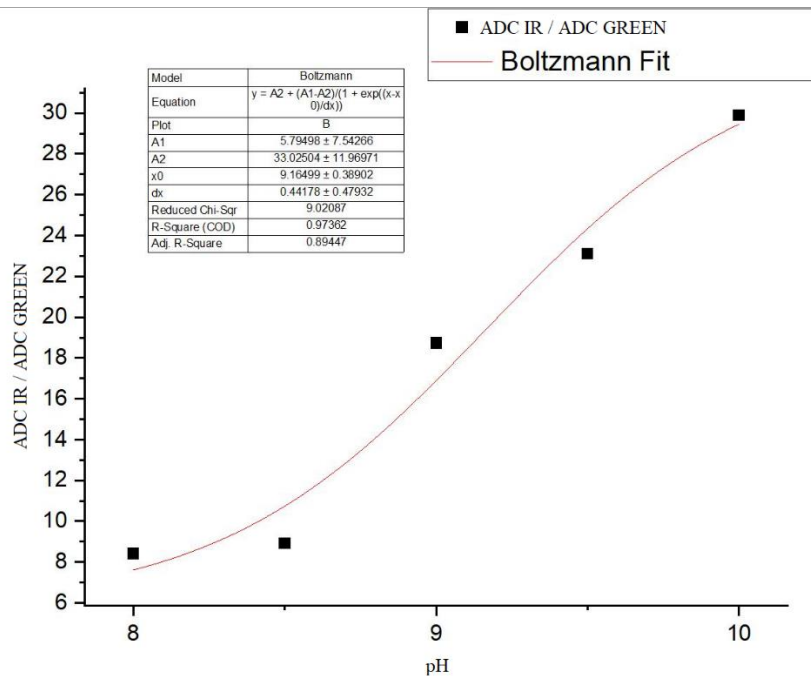
S porastom pH vrijednosti, na Slikama 48-50. može se vidjeti trend porasta omjera reflektancije na 660 nm i 537 nm, odnosno omjera ADC odziva crvene (ADC RED) i zelene (ADC GREEN) LED diode, te omjera ADC odziva infracrvene (ADC IR) i zelene (ADC GREEN) diode, što je u skladu s ranije utvrđenim batokromnim pomakom. Taj batokromni pomak je najbolje uočljiv na papirićima obojenima najvećom koncentracijom kurkumina. Najveći skok vrijednosti na svim grafičkim prikazima se odvija u rasponu pH od 8 do 10 jer u tom dijelu pH leže prve dvije pKa vrijednosti kurkumina, čiji prelazak prema lužnatom dijelu uvjetuje promjenu boje kurkumina. Posljednja točka na oba dijagrama pripada papiriću koji je bio u kontaktu s puferom pH 13, zbog kojega se kurkumin počeo razgrađivati te pokazivati sve slabije obojenje. Kako bi se kvantitativno usporedili rezultati dobiveni senzorom MAX30101 i intenziteti reflektancije dobiveni spektrometrom *OceanOptics*, konstruirane su sigmoidalne krivulje u programskom paketu *Origin Lab*, te su uspoređene pKa vrijednosti dobivene preko točke infleksije na krivulji.



Slika 51. Sigmoidalna pH titracijska krivulja kao ovisnosti omjera intenziteta reflektancije snimljene OceanOptics spektroskopskim instrumentom na 660 nm i 537 nm o pH u rasponu od pH = 8 do pH = 10



Slika 52. Sigmoidalna pH titracijska krivulja kao ovisnost omjera intenziteta ADC odziva PPG sustava - crvene LED diode (660 nm) i zelene LED (537 nm) diode o pH u rasponu od pH = 8 do pH = 10



Slika 53. Sigmoidalna pH titracijska krivulja kao ovisnost omjera intenziteta ADC odziva PPG sustava - infracrvene LED diode (870 nm) i zelene LED (537 nm) diode o pH u rasponu od pH = 8 do pH = 10

Vrijednosti pK_a dobivene iz točki infleksije grafičkih prikaza na Slikama 51-53 iznose 9,42 (za Sliku 51.), 8,91 (za Sliku 52.) te 9,16 (za Sliku 53.). Obzirom da kurkumin posjeduje tri protona koja mogu disociirati, svaki od njih ima pripadajuću pK_a vrijednost a čija se točna vrijednost razlikuje ovisno o literaturi. Sudeći po literaturi [40] iz koje je posuđena Slika 5, pK_{a1} iznosi 8,38 a pK_{a2} iznosi 9,88. Literatura pod brojem [41] iznosi da je pK_{a1} (za enolni OH) u rasponu od 7,7 do 8,5 a pK_{a2} (za fenolni OH) u rasponu od 8,5 do 10,4 te naglašava da je vrlo teško razlikovati ova dva protona temeljeno na pH ovisnim spektralnim promjenama. U našem slučaju radi se o imobiliziranom kurkuminu (heterogeni sustav) i stoga termodinamičke, gore navedene, pK_a vrijednosti za otopine iz literature (koje ionako nisu jednostavne za odrediti zbog vrlo bliskih vrijednosti) ne mogu biti odabrane kao referentne vrijednosti za usporedbu. Na temelju dobivenih rezultata može se samo zaključiti da se vrijednosti prve pK_a vrijednosti kurkumina dobivene PPG senzorom ($pK_a = 8,91$ i $pK_a = 9,16$) ne razlikuju znatno od rezultata dobivenog standardnim instrumentom (*OceanOptics*) ($pK_a = 9,43$).

Za dublji uvid u ponašanje sustava i adekvatnu analizu podataka potrebno je pripremiti statistički relevantan broj istih optičkih senzora s kurkuminom te odrediti i ostale senzorske karakteristike neophodne za buduću primjenu – točnost i ponovljivost određivanja pH, dinamički raspon, itd.

Podaci prikazani ovdje predstavljaju prvi i obećavajući korak prema razvoju nosivog optičkog mjernog sustava sposobnog kontinuirano pratiti biokemijske parametre. Sljedeći korak bi trebao obuhvatiti istovremenu procjenu točnosti određivanja biokemijskih (pH, koncentracija iona ili ostalih biomarkera) i fizičkih parametra (brzina otkucaja srca, zasićenost krvi kisikom, itd.) pomoću PPG senzora.

Za tu svrhu treba pažljivo dizajnirati reverzibilni kemijski senzorski sustav primjenom biokompatibilnih funkcionalnih materijala za kontinuirano praćenje koncentracije odabranih biomarkera s postojećim optoelektroničkim sustavima, poput prikazanog PPG senzora u nosivim uređajima.

5. ZAKLJUČAK

Proizvedeni su jednokratni testni papirići za ispitivanje pH vrijednosti otopine, na kojima se nalazio imobilizirani kurkumin u tri različite koncentracije; 1×10^{-5} M, 1×10^{-4} M i 1×10^{-3} M, sol – gel metodom, i metodom isparavanja otapala u kojemu se kurkumin adsorbira na vlakna celuloze. Obzirom da su sol – gel metodom priređeni papirići s izrazito heterogenim slojem kurkumina, daljnji fokus je bio na papirićima priređenima metodom isparavanja otapala – etanola. Papirići s imobiliziranim kurkuminom su izloženi priređenim otopinama pufera čiji pH je bio u rasponu između 8 i 13 s korakom od 0,5 te je zabilježen ADC odziv fotopletizmografskog senzora MAX30101 te njihova reflektancija uređajem *OceanOptics*. Žuta boja kurkumina u neutralnom i kiselom mediju dolazi od njegovog keto oblika, koji deprotonacijom u lužnatom mediju prelazi u enolni oblik, što se optički očituje batokromnim pomakom, odnosno promjenom boje u narančasto-crveno-smeđu. Ovaj zaključak je potkrijepljen činjenicom da se maksimum reflektancije s povećanjem pH pomiče s oko 570 nm, što odgovara žutoj boji, prema oko 700 nm, što odgovara crvenoj boji. Stabilnost kurkumina uvelike ovisi o pH, jer je u svojem keto obliku on izrazito stabilan te se ponaša kao proton donor i u vodi je netopljiv, ali u enolnom obliku njegova reaktivnost raste, kao i mogućnost vodene topljivosti, te se ponaša kao elektron donor i ubrzo razgrađuje. Stoga je za dizajniranje testnih papirića kurkumina za višekratnu uporabu potrebno osmisliti sustav koji bi onеспособio razgradnju kurkumina te osigurao reverzibilnost njegove strukture u početnu nakon sušenja. Senzor MAX30101 može vidjeti promjene u nijansi određene boje, što je potkrijepljeno povećanjem ADC odziva sa sve svjetlije plavim papirićima s nanočesticama berlinskog modrila. Takav rezultat je smislen obzirom da senzor MAX30101 temelji svoj ADC odziv na reflektiranoj svjetlosti, a svjetliji papirić reflektira više. Također je utvrđeno da su dobivene ADC vrijednosti ponovljive jer su se za isti papirić s nanočesticama berlinskog modrila dobile vrijednosti koje od prosječne vrijednosti puno ne odstupaju. Zaključeno je da su papirići dobiveni iz otopine kurkumina koncentracije 1×10^{-3} M najbolji za uporabu u skladu sa senzorskim sustavom MAX30101 jer prikazuju najveći raspon ADC vrijednosti, te sukladno tome bi dali kalibracijsku krivulju većeg nagiba što ukazuje na najveću preciznost. Usporedba rezultata dobivenih PPG senzorom i standardnim laboratorijskim instrumentom je obavljena usporedbom pK_a vrijednosti dobivene u programu *Origin Lab* prilagođavanjem sigmoidalne Boltzmannove krivulje na podatke ovisnosti omjera ADC odziva crvene i zelene LED diode (ADC RED/ADC GREEN) o pH, ovisnosti omjera infracrvene i zelene LED diode (ADC IR/ADC GREEN) o pH te ovisnosti omjera reflektancije na 660 nm i 537 nm o

pH. Obzirom da se u ovom radu radilo s imobiliziranim kurkuminom, literaturne vrijednosti pK_a ne mogu biti uzete za usporedbu, ali se da zaključiti da se vrijednosti prve pK_a dobivene PPG senzorom MAX30101 ($pK_a = 8,91$ i $pK_a = 9,16$) i standardnim instrumentom *OceanOptics* ($pK_a = 9,43$) znatno ne razlikuju. Daljnji rad s ovim sustavom bi trebao istraživanjem statistički relevantnog broja istih optičkih senzora s kurkuminom odrediti senzorske karakteristike poput točnosti i ponovljivosti određivanja pH te dinamičkog raspona. Podaci prikazani u ovom radu predstavljaju početni korak razvoja nosivog optičkog senzora koji ima mogućnost kontinuiranog praćenja fizičkih i biokemijskih parametara, ali potrebna je daljnja procjena točnosti određivanja tih parametara istovremeno. Za tu svrhu je potreban pažljiv dizajn reverzibilnog kemijskog senzorskog sustava primjenom biokompatibilnih funkcionalnih materijala za kontinuirano praćenje koncentracije odabranih parametara s postojećim optoelektroničkim sustavima, poput prikazanog PPG senzora u nosivim uređajima.

LITERATURA

- [1] C. McDonagh, C.S. Burke, B.D. MacCraith, Optical Chemical Sensors, Chem. Rev. 2008, 108, 400-422
- [2] MacCraith, B. D., McDonagh, C. M., O'Keeffe, G., McEvoy, A. K., Butler, & T., Sheridan, F. R. (1995). Sol-gel coatings for optical chemical sensors and biosensors. Sensors and Actuators B: Chemical, 29(1), 51-57
- [3] Pure & Appl. Chem., Vol. 63, No. 9, pp. 1247-1250, 1991.
- [4] Arafa, A. A., Nada, A. A., Ibrahim, A. Y., Zahran, M. K., & Hakeim, O. A. (2021). Greener therapeutic pH-sensing wound dressing based on Curcuma Longa and cellulose hydrogel. European Polymer Journal, 159, 110744
- [5] Koncki R. Chemical Sensors and Biosensors Based on Prussian Blues, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2002. Vol 32 (1): 79-86
- [6] Bojinov, V., Georgiev N., Molecular sensors and molecular logic gates, J. of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 46 (2011) 3-26
- [7] Steinberg Murković I., Kemijski senzori i biosenzori, nastavni tekst, Zagreb, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
- [8] Cammann, K.; Guibault, E. A.; Hall, H.; Kellner, R.; Wolfbeis, O. S. The Cambridge Definition of Chemical Sensors. In Proceedings of the Cambridge Workshop on Chemical Sensors and Biosensors; Cambridge University Press: New York, 1996.
- [9] Wencel, D., Abel, T., & McDonagh, C. (2014). Optical Chemical pH Sensors. Analytical Chemistry, 86(1), 15-29. doi:10.1021/ac4035168
- [10] Zhang, J., & Zhou, L. (2018). Preparation and Optimization of Optical pH Sensor Based on Sol-Gel. Sensors (Basel, Switzerland), 18(10), 3195. doi:10.3390/s18103195
- [11] Safavi, A., & Bagheri, M. (2003). Novel optical pH sensor for high and low pH values. Sensors and Actuators B: Chemical, 90, 143-150. doi:10.1016/S0925-4005(03)00039-X
- [12] S. Motellier, P. Toulhoat, Modified acid–base behaviour of resinbound pH indicators, Anal. Chim. Acta 271 (1993) 323–329

- [13] Moreno M.C.; Jimenez M.; Conde C.P.; Camara C.; Analytical performance of an optical pH sensor for acid–base titration, *Anal. Chim. Acta* 230 (1990) 35–40.
- [14] Glenn S.J.; Gullum B.M.; Nair R.B.; Nivens D.A.; Murphy C.J.; Angel S.M.; Lifetime-based fiber-optic water sensor using a luminescent complex in a lithium-treated NafionTM membrane, *Anal. Chim. Acta* 448 (2001) 1–8
- [15] Schulman S.G.; Shangxian C.; Fenglian B.; Leiner M.J.P.; Weis L.L.; Wolfbeis O.S.; Dependence of the fluorescence of immobilized 1- hydroxypyrene-3,6,8-trisulfonate on solution pH: extension of the range of applicability of a pH fluorosensor, *Anal. Chim. Acta* 304 (1995) 165–170.
- [16] Jones T.P.; Porter M.D.; pH sensor based on the chemical modification of a porous polymer film, *Anal. Chem.* 60 (1988) 404–406.
- [17] Lam M.H.W.; Lee D.Y.K.; Man K.W.; Lau C.S.W.; A luminescent pH sensor based on a sol–gel film functionalized with a luminescent organometallic complex, *J. Mater. Chem.* 10 (2000) 1825–1828.
- [18] Kosch U.; Klimant I.; Werner T.; Wolfbeis O.S.; Strategies to design pH optodes with luminescence decay times in the microsecond time regime, *Anal. Chem.* 70 (1998) 3892–3897.
- [19] Sotomayor P.T.; Raimundo Jr I.M.; Zarbin A.J.G.; Rohwedder J.J.R.; Alves O.L.; Construction and evaluation of an optical pH sensor based on polyaniline-porous Vycor glass nanocomposite, *Sens. Actuators B* 74 (2001) 157–162.
- [20] Grummt U.W.; Pron A.; Zagorska M; Lefrant S.; Polyaniline based optical pH sensor, *Anal. Chim. Acta* 357 (1997) 253–259
- [21] Mahboubeh, V., Rounaghi, G. H., Es'haghi, Z., & Moradi, Z. (2019). Design and Application of an Optical pH Sensor Based on Thionine Doped Modified Sol–Gel Film. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 93(7), 1389-1393.
doi:10.1134/S0036024419070173
- [22] Chapter 2 History of Chemical Sensing. 5-18.
<https://labs.ece.uw.edu/denise/www/Lab/publications/PhD/chapter2.pdf> (Pristupljeno 10. kol. 2023.)

- [23] <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-wearable-sensors-market> pristupljeno 15.9.2023.
- [24] <https://support.apple.com/guide/watch/track-important-health-information-apple-apdc2bf82d90/watchos#:~:text=While%20you%20sleep%2C%20Apple%20Watch,Watch%20Series%208%2C%20wrist%20temperature>. Pristupljeno 15.9.2023.
- [25] Promphet N.; Ummartyotin S.; Ngeontae W.; Puthongkham P.; Rodthongkum N.; Non-Invasive wearable chemical sensors in real-life applications, *Analytica Chimica Acta*, 1179, 2021.
- [26] Coyle S.; Curto V.F.; Benito-Lopez F.; Florea L.; Diamond D., Chapter 2.1 - Wearable Bio and Chemical Sensors, *Wearable Sensors*, Academic Press, 2014, 65-83
- [27] Kim J.; Sempionatto J.R.; Imani S.; Hartel M.C.; Barfidokht A.; Tang G.; Campbell A.S.; Mercier P.P.; Wang J.; Simultaneous Monitoring of Sweat and Interstitial Fluid Using a Single Wearable Biosensor Platform, *Adv. Sci.* 2018, 5, 1800880
- [28] Kim J.; Kim M.; Lee M.; Kim K.; Ji S.; Kim Y.; Park J.; Na K.; Bae K.; Kim H.; Bien F.; Lee C.; Wearable smart sensor systems integrated on soft contact lenses for wireless ocular diagnostics
- [29] Kim J.; Imani S.; de Araujo W.; Warchall J.; Valdes-Ramirez G.; Paixao T.R.L.C.; Mercier P.P.; Wang J.; Wearable salivary uric acid mouthguard biosensor with integrated wireless electronics, 74, 2015, 1061-1068
- [30] Jia W.; Bandodkar A.J.; Valdes Ramirez G.; Windmiller J.R.; Yang Z.; Ramirez J.; Chan G.; Wang J.; Electrochemical Tattoo Biosensors for Real-Time Noninvasive Lactate Monitoring in Human Perspiration
- [31] Bandodkar A.J., Jeerapan I.; Wang J.; Wearable Chemical Sensors: Present Challenges and Future Prospects, *ACS Sens.* 2016, 1, 5, 464–482
- [32] Shakeri, A., Jarad, A. N., Leung, A., Soleymani, L., & Didar, T. (2019). Biofunctionalization of Glass- and Paper-Based Microfluidic Devices: A Review. *Advanced Materials Interfaces*, 6, doi:10.1002/admi.201900940
- [33] Nery, E.W., Kubota, L.T. Sensing approaches on paper-based devices: a review. *Anal Bioanal Chem* 405, 7573–7595 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6911-4>

- [34] Vicente, Antonio & Araújo, Andreia & Gaspar, Diana & Santos, Lídia & Marques, Ana & Mendes, Manuel & Pereira, Luis & Fortunato, Elvira & Martins, R.. (2017). Optoelectronics and Bio Devices on Paper Powered by Solar Cells. 10.5772/66695.
- [35] Livage J. Sol-gel processes, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, Volume 2, Issue 2, 1997, Pages 132-138,
- [36] Aguilar, G. (2018). Introductory Chapter: A Brief Semblance of the Sol-Gel Method in Research. In. doi:10.5772/intechopen.82487
- [37] Dabić P. Dr.sc.; Predavanje: Sol-gel procesi-novi materijali; Kemijsko-tehnološki fakultet, Split
- [38] Paden R.R.; Phyre J.; Oracion L.; De La Rosa L.B.; Lavapiez M.A.M.; Alguno A.C.; Deocarís C.C.; Capangpangan R.Y.; Design and fabrication of a low-cost curcumin-based paper sensor for rapid “naked-eye” cyanide sensing, *Materials Today: Proceedings*, Volume 46, Part 4, 2021, 1711-1717
- [39] Maria L.A.D. Lestari, Gunawan Indrayanto, Chapter Three - Curcumin, Editor(s): Harry G. Brittain, *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, Academic Press, Volume 39, 2014, 113-204,
- [40] Priyadarsini, K.I. (2014). The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules*, 19, 20091-20112
- [41] Dias, L.D., Blanco, K.C., Mfouo-Tynga, I.S., Inada, N.M., & Bagnato, V.S. (2020). Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 45, 100384.
- [42] Xu, G., Wang, J., Si, G., Wang, M., Xue, X., Wu, B., & Zhou, S. (2016). A novel highly selective chemosensor based on curcumin for detection of Cu²⁺ and its application for bioimaging. *Sensors and Actuators B: Chemical*
- [43] Sharma R.A.; Gescher A.J.; Steward W.P.; Curcumin: The story so far, *European Journal of Cancer*, Volume 41, Issue 13, 2005, 1955-1968,
- [44] Petchana N.; Phoopiam N.; Thiraphattaraphun L.; Natural pH indicator from tapioca starch/curcumin film. *AIP Conference Proceedings* 26 October 2020; 2279 (1): 070002.

- [45] Šiprak, M. (2022) Preparation and Photophysical Characterisation of pH Sensitive Sol-gel Thin Films Doped with Curcumin. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.
- [46] Arkady A. Karyakin. Prussian Blue and Its Analogues: Electrochemistry and Analytical Applications. *Electroanalysis*. 2001. Vol. 13(10):813-819
- [47] Kraft A. On the Discovery and History of Prussian Blue, *Bull. Hist. Chem*, 2008. Vol 33 (2) 61-67
- [48] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Prussian-blue#section=Chemical-Classes> pristupljeno 12.8.2023.
- [49] Kraft, A. (2018). What a chemistry student should know about the history of Prussian blue. *ChemTexts*. 4. 10.1007/s40828-018-0071-2.
- [50] Matos-Peralta Y.; Antuch M. Review-Prussian Blue and Its Analogs as Appealing Materials for Electrochemical Sensing and Biosensing, *Journal of The Electrochemical Society*, 167, 2020.
- [51] Mortimer, R.J.. (2016). *Spectroelectrochemistry, Applications*. 10.1016/B978-0-12-803224-4.00288-0.
- [52] Hegner F.S.; Galan-Mascaros J.R.; Lopez, N. A Database of the Structural and Electronic Properties of Prussian Blue, Prussian White and Berlin Green Compounds through Density Functional Theory, *Inorg. Chem*. 2016. 55, 24, 12851-12862
- [53] Bayzi Isfahani, V.; Arab, A.; Horta Belo, J.; Pedro Araújo, J.; Manuela Silva, M.; Gonçalves Almeida, B. Comparison of Physical/Chemical Properties of Prussian Blue Thin Films Prepared by Different Pulse and DC Electrodeposition Methods. *Materials* 2022, 15, 8857
- [54] Gründler, P. Optical Phenomena and Spectroscopy. Iz knjige: *Chemical Sensors. An Introduction for Scientists and Engineers* 2007. 27-34
- [55] Wyszecki, G.; Stiles W.S. 1982. *Color science: Concepts and methods, quantitative data and formulae*. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
- [56] Torrent, J.; Barrón, V. (2008). Diffuse Reflectance Spectroscopy. In *Methods of Soil Analysis Part 5—Mineralogical Methods* (eds A.L. Ulery and L. Richard Drees)

[57] <https://jascoinc.com/learning-center/theory/spectroscopy/uv-vis-spectroscopy/diffuse-reflectance/> pristupljeno 14.8.2023.

[58] Kyriacou P. A., Allen J, Photoplethysmography: Technology, Signal Analysis and Applications, 2021. 1-43

[59] <https://en.wikipedia.org/wiki/Photoplethysmogram> pristupljeno 17.8.2023.

[60] Přebil, J.; Přebilová, A.; Frollo, I. Comparative Measurement of the PPG Signal on Different Human Body Positions by Sensors Working in Reflection and Transmission Modes. *Eng. Proc.* **2020**, *2*, 69

[61] Maxim Integrated Products, MAX30101 High-Sensitivity Pulse Oximeter and Heart-Rate Sensor for Wearable Health, 19-8453; Rev 3; 6/20, 2020.

[62] Žuvić, I. (2023) Sinteza i Karakterizacija Nanočestica Berlinskog Modrila. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.

[63] Leba, M. A. U., Tukan, M. B., & Komisia, F. (2022). pH Indicator Paper by Immobilizing Turmeric Rhizome Ethanol Extract on Filter Paper. *Jurnal Sains Natural*, *12*(2), 45-53.

ŽIVOTOPIS

Zlatko Luketić, ██████████ Živi u Zagrebu gdje 2017. maturira Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga – smjer Ekološki tehničar i 2017. osvojenim drugim mjestom na Državnom natjecanju ekoloških tehničara ostvaruje izravan upis na Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. U 2021. godini odrađuje stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković te stiče akademski naziv sveučilišnog prvostupnika primijenjene kemije. Diplomski studij nastavlja na istom fakultetu gdje upisuje usmjerenje Specifični materijali i napredne tehnologije na studiju Primijenjene kemije.