

Funkcionalne tetovaže kao nosivi kemijski senzori

Rimaj, Nika

Undergraduate thesis / Završni 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:149:590394>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-01**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nika Rimaj

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nika Rimaj

**FUNKCIONALNE TETOVAŽE KAO
NOSIVI KEMIJSKI SENZORI**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Ivana Steinberg

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Ivana Steinberg

izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor

doc. dr. sc. Matija Cvetnić

Zagreb, rujan 2023.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ivani Steinberg na prihvaćenom mentorstvu, prijedlogu teme, stručnom vodstvu prilikom izrade ovoga rada te znanju prenešenom tijekom studija.

Posebno se zahvaljujem asistentu mag. appl. chem. Jakovu Tenžeri na svim savjetima , pomoći i razumijevanju tijekom pisanja završnog rada.

Hvala mojim roditeljima, obitelji i prijateljima na podršci i motivaciji tijekom studija.

SAŽETAK

Nosivi kemijski senzori integrirani su analitički uređaji kojima je omogućeno kontinuirano i neinvazivno praćenje i analiza biomarkera u tijelu bez klasičnih metoda poput vađenja krvi ili biopsije tkiva. Razvoj i inovativne primjene nosivih kemijskih senzora nadopunit će i unaprijediti različita područja medicine, veterine i sporta, a posebno u dijagnostici, terapiji i kontinuiranom praćenju zdravstvenog stanja. Koža i tjelesne tekućine predstavljaju vrijedan izvor biokemijskih informacija za razvoj nosivih kemijskih senzora koje je stoga potrebno pažljivo dizajnirati kako bi zadovoljili stroge kriterije navedenih primjena. Poseban izazov u tome predstavlja postizanje zadovoljavajućih analitičkih značajki za predviđenu namjenu (točnost, ponovljivost, kontinuirano praćenje, itd.) uključujući istovremeno biokompatibilnost i senzorsku funkcionalnost primijenjenih materijala.

Cilj ovog rada bio je predstaviti pregled postojećih funkcionalnih tetovaža i nosivih kemijskih senzora, posebno njihovu potencijalnu primjenu za analizu znoja i intersticijske tekućine, obuhvaćajući znanstvenu literaturu kao i komercijalno dostupne uređaje.

Ključne riječi:

nosivi senzori, funkcionalne tetovaže, biomarkeri, kontinuirano praćenje

SUMMARY

Wearable chemical sensors are integrated analytical devices that allow continuous and non-invasive monitoring and analysis of biomarkers in the body without classic methods such as blood extraction or tissue biopsy. The development and innovative applications of wearable chemical sensors will contribute to development in the fields of medicine, veterinary medicine and sports, especially in diagnostics, therapy and continuous monitoring of health conditions. Skin and certain body fluids are a promising source of (bio)chemical information for the development of wereable chemical sensors which therefore need to be carefully designed to meet the strict criteria of these applications. A specific challenge in this regard is achieving satisfactory analytical features for the intended purpose (accuracy, repeatability, continuous monitoring, etc.), simultaneously including both the biocompatibility and sensor functionality of the applied materials.

This paper aims to elaborate the overview of the existing functional tattoos and wereable chemical sensors in regards to the ability for the analysis of the sweat or the interstitial fluids including the scientific literature as well as commercially available devices.

Keywords:

wearable sensors, functional tattoos, biomarkers, continuous monitoring

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1 Kemijski senzori.....	2
2.1.1 Definicija	2
2.1.2 Klasifikacija.....	3
2.1.3 Izvedbeni čimbenici.....	4
2.2 Tetovaže	5
2.2.1. Tinta za tetoviranje	5
2.2.2 Koža.....	7
2.3. Nosivi kemijski senzori	10
2.3.1 Podloga	12
2.3.2. Senzorske jedinice	15
2.3.3. Jedinice za donošenje odluka.....	16
2.3.4. Jedinice za napajanje	16
3. PREGLEDNI DIO.....	18
3.1. Funkcionalne tetovaže	18
3.1.1. Terapeutska sposobnost	20
3.1.2. Izrada	22
3.2. Tinte za tetoviranje za optičko biosenziranje u međustaničnoj tekućini	23
3.3. Tetovaža kao potenciometrijski senzor	29
3.3.1. Tetovaža kao pH senzor.....	31
3.3.2. Tetovaža kao senzor za natrijeve ione	32
3.3.3. Tetovaža kao senzor za amonijeve ione.....	33
3.4. Tetovaže kao amperometrijski senzori	35
3.5. Senzor za mjerenje glukoze	37
3.6. Senzor za mjerenje hidratacije kože	40
3.7. Tetovaže kao transdermalni senzor za mjerenje alkohola	42
3.8. Tetovaže s mikroiglicama.....	43
3.8.1. Medicinske tetovaže	45
3.8.2. Dvokomponentni mikroigličasti flasteri za cijepljenje i medicinsko snimanje	47

3.8.3 Responzivne tetovaže iz mikroigličastih flastera osjetljivih na svjetlost i termoosjetljivih mikroigličastih flastera	48
3.8.4 Tetovaže s QR kodom.....	50
4. ZAKLJUČAK	52
5. LITERATURA:.....	53

1. UVOD

Razvojem znanosti, tehnologije i napretkom sveopće populacije povećava se potreba za razvojem senzora kojim možemo kontinuirano i neinvazivno, u stvarnom vremenu, pratiti pojedina zdravstvena stanja. Nosivi kemijski senzori integrirani su analitički uređaji koji se nose na koži ili se ugrađuju ispod kože pružajući mogućnost kontinuirane i neinvazivne analize. Senzori su učinkovit alat za istraživanje novih biomarkera u tjelesnim tekućinama poput znoja, intersticijske tekućine, suza ili sline. Biomarkeri se smatraju ključnim biološkim pokazateljem stanja u medicinskoj dijagnostici i terapiji stoga je vrlo važno njihovo pravovremeno i točno određivanje. Nosivi kemijski senzori pretvaraju koncentracije analita u mjerljive signale, a u usporedbi sa klasičnim laboratorijskim analizama krvi ili biopsijom tkiva ova vrsta senzora puno će pojednostaviti i ubrzati analizu.

Funkcionalne tetovaže nosivi su kemijski senzori koji su svoju primjenu pronašli u mjerenju fizioloških biomarkera poput glukoze, iona u znoju (poput natrijeva i amonijevog iona), laktata i pH vrijednosti, a također se koriste i za dostavu lijekova, praćenje koncentracije alkohola u krvi i hidratacije kože. Funkcionalizacija tinti omogućuje mjerenje biomarkera u intersticijskoj tekućini koji su u korelaciji s koncentracijom biomarkera u krvnoj plazmi. Tetovaže izvedene u obliku flastera s mikroiglicama za jednokratnu upotrebu na brz i bezbolan način također omogućuju praćenje i određivanje biomarkera.

U radu su predstavljene funkcionalne tetovaže, tinte za optičko biosenzoriranje u međustaničnoj tekućini, potenciometrijski nosivi kemijski senzori za mjerenje pH vrijednosti, koncentracije natrijeva ili amonijeva iona u tijelu, amperometrijski senzori kao nosivi kemijski senzori za mjerenje glukoze, hidratacije kože i koncentracije alkohola te tetovaže na bazi mikroiglica.

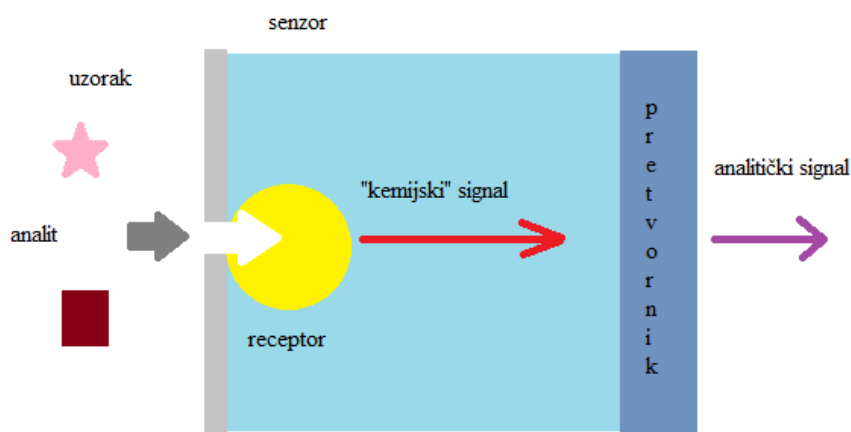
2.OPĆI DIO

2.1 Kemijski senzori

2.1.1 Definicija

Kemijski senzor je uređaj koji pretvara kemijsku informaciju, bilo da je to koncentracija određenog analita u smjesi ili ukupna analiza sastava smjese, u koristan analitički signal. Kemijski senzori selektivno kemijskom reakcijom reagiraju na prisustvo određenog analita te se koriste za kvalitativnu i kvantitativnu kemijsku analizu. ^{[1], [2]}

Kemijski senzor sastoji se od dvije osnovne funkcionalne jedinice: receptorske i pretvorničke jedinice. (Slika 2.1) Receptorski dio pretvara kemijske informacije u oblik energije koji se mjeri pretvornikom. Pretvornik pretvara energiju koja nosi kemijsku informaciju o uzorku u mjerni signal. ^[1]



Slika 2.1 Shematski prikaz kemijskog senzora

Senzore možemo podijeliti na tri tipa:

- fizički senzori - mjere fizičke veličine (udaljenost, promjena mase, temperatura, tlak, apsorbanacija, refrakcijski indeks, vodljivosti) bez kemijske reakcije
- kemijski senzori - senzori kod kojih dolazi do kemijske reakcije sa analitom
- biosenzori - mjerenje kemijske tvari pomoću bioloških senzorskih elemenata^[1]

Senzori rade u uvjetima koji su karakteristični za određene vrste analita u određenim uzorcima. U pažljivo kontroliranim radnim uvjetima signal analita može biti neovisan o ostalim komponentama uzorka čime je omogućeno određivanje analita bez pripreme uzorka.

[1], [2]

2.1.2 Klasifikacija

Kemijski senzori klasificiraju se prema načinu rada pretvornika.

Optički senzori su uređaji koji prate promjene optičkih fenomena kao rezultat međudjelovanja između analita i svjetlosti. Optičke senzore dijelimo prema mjerenim optičkim svojstvima, a to su:

- 1) apsorpcija – mjerenje se provodi u prozirnog mediju, a uzrok je apsorpcija samog analita ili reakcija s kompatibilnim indikatorom
- 2) reflektancija – mjerenje se provodi u netransparentnom mediju upotrebom imobiliziranog indikatora
- 3) luminiscencija – mjerenje se temelji na intenzitetu emitirane svjetlosti izazvane kemijskom reakcijom
- 4) fluorescencija – mjeri se pozitivan emisijski učinak uslijed zračenja ili selektivnog gašenja
- 5) indeks loma – mjeri se rezultat promjene sastava ispitivane otopine
- 6) optotermalni učinak – mjeri se promjena temperature do koje dolazi uslijed apsorpcije svjetlosti
- 7) raspršenje svjetlosti – mjerenje se temelji na efektu uzrokovanom česticama različite veličine prisutne u ispitivanom uzorku^{[1], [2]}

Elektrokemijski senzori mjere elektrokemijske interakcije između analita i elektrode pretvarajući ih u signal. Elektrokemijski efekti rezultat su spontane interakcije, ali mogu biti i električki potaknuti. Elektrokemijski senzori dijele se na:

- 1) Potenciometrijske senzore – mjeri se potencijal indikatorske elektrode u odnosu na referentnu elektrodu
- 2) Voltometrijske senzore, uključujući amperometrijske senzore – mjeri se rastući ili padajući potencijal ovisno o tome da li dolazi do oksidacije ili do redukcije tvari koju analiziramo, pojavljuje se pik na grafu čija je visina proporcionalna koncentraciji elektroaktivne tvari
- 3) CHEMFET (engl. Chemically Sensitized Field Effect Transistor) – efekt interakcije između analita i aktivnog sloja rezultira promjenom struje, interakcije između analita i aktivnog sloja su slične interakcijama u potenciometrijskim ion-selektivnim sensorima
- 4) plinske potenciometrijske senzore sa čvrstim elektrolitom –mjerenje plinske faze prilikom rada na visokim temperaturama u krutim elektrolitima^{[1], [2]}

Električni senzori svoja mjerenja zasnivaju na pojavi signala kao posljedica promjene električnog svojstva uslijed interakcije s analitom, nema elektrokemijskih procesa

- 1) poluvodički senzori od metalnih oksida –detektori plinske faze, temelje se na principu reverzibilnih redoks procesa plinovitih komponenata promatranog analita
- 2) organski poluvodički senzori – temelje se na formiranju kompleksa koji prenose naboj
- 3) konduktometrijski senzori – promjena električne vodljivosti promjenom sastava otopine
- 4) senzori električne permitivnosti^{[1],[2]}

Maseni senzori bilježe promjenu mase uzrokovane akumulacijom analita. Razlikujemo dvije vrste:

- 1) Piezoelektrični senzor – adsorpcija mase analita na oscilator uzrokuje promjenu frekvencije pločice od kvarcnog oscilatora
- 2) Senzori temeljeni na površinskim akustičnim valovima^{[1],[2]}

Magnetski senzori temelje se na promjeni paramagnetskih svojstava analiziranog plina.^[1]

Termometrijski senzori mjere toplinu specifične kemijske reakcije ili adsorpcije uključujući analit, toplina se može mjeriti različitim metodama, npr. termistor.^[1]

Senzori se klasificiraju i prema primjeni. Primjer su senzori za pH, za metalne ione ili za određivanje kisika i ostalih plinova. Osim prema detekciji i određivanju analita senzore možemo klasificirati prema načinu primjene, na primjer senzori namijenjeni za primjenu in vivo, senzori za praćenje procesa, itd.^{[1],[2]}

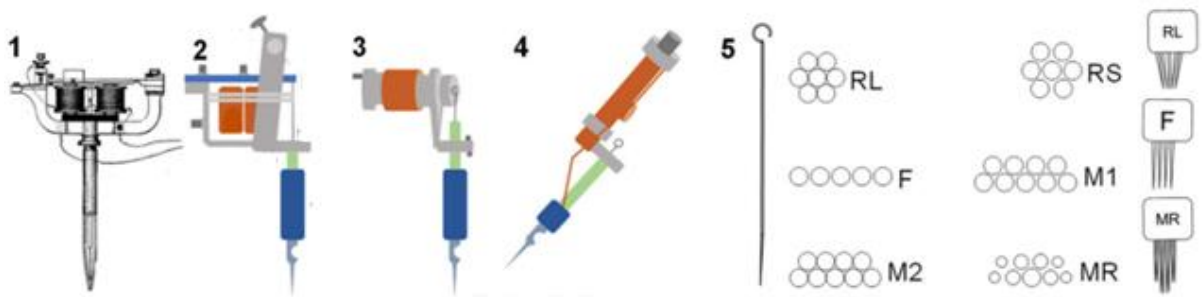
2.1.3. Izvedbeni čimbenici

- 1) selektivnost –sposobnost razlikovanja različitih tvari rezultat je funkcije selektivne komponente,
- 2) osjetljivost – promjena odziva mjernog instrumenta podijeljena s odgovarajućom promjenom podražaja
- 3) točnost – stupanj podudaranja prosjeka mjerenih vrijednosti s pravom ili očekivanom vrijednosti
- 4) priroda otopine – pH vrijednost, temperatura i ionska jakost

- 5) vrijeme odziva – vrijeme potrebno senzoru da otpusti signal, najčešće oko 30 sekundi
- 6) vrijeme oporavka – vrijeme potrebno senzoru da se vrati u prvobitno stanje spremno za analizu novog uzorka, traje nekoliko minuta
- 7) radni vijek – ovisi o stabilnosti selektivnog materijala, za biološke materijale vijek trajanja može biti kraći od nekoliko dana, no najčešće je to nekoliko mjeseci^[2]

2.2 Tetovaže

Tetovaže su trajne oznake na koži napravljene tintom i iglama. Nakon ubrizgavanja tinte u drugi sloj kože novonastala rana prelazi u krastu, koža zacjeljuje te ispod novog sloja kože vidimo tetovažu. Prema istraživanjima čak 30% Amerikanaca ima barem jednu tetovažu, dok 14% odraslih u Europskoj uniji također ima jednu ili više tetovaža. Najstariji dokazi o umjetnosti tetoviranja datiraju iz 5000. godine prije Krista. Prvi električni aparat za tetoviranje dizajnirao je Thomas Edison 1877. dizajnirajući električnu olovku.^[3] Moderni uređaji nisu se puno promijenili u odnosu na prvotni model. Postoje tri vrste aparata za tetoviranje: spiralni, rotacijski i pneumatski.^[4] Iгла za tetoviranje skup je pojedinačnih igala i dijeli se u dvije skupine: linije ili sjene. Igle imaju svoju nomenklaturu prema promjeru, broju grupiranih igala i konfiguraciji. Iгла stvara malene rupice u koži u koje ulazi tinta uslijed stvaranja vakuuma nakon uklanjanja igle. (Slika 2.2)^[3-5]

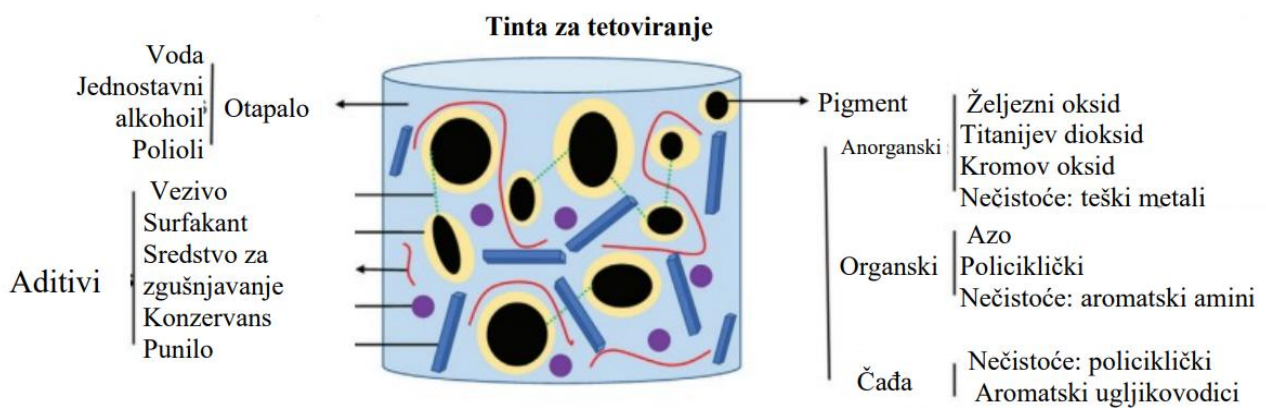


Slika 2.2 Aparat za tetoviranje, igle ^[6]

2.2.1. Tinta za tetoviranje

Tinte za tetoviranje ubrizgavaju se u drugi sloj kože. Dubina penetracije igle trebala bi biti oko 2,0 mm kako bismo izbjegli oštećenje potkožnog tkiva.^[7] Tinta za tetoviranje je disperzija netopivih pigmenata u tekućini, a sastoji se od otapala i aditiva. (Slika 2.3) Pigmenti su netopivi pa su pogodni za upotrebu. Dije se na organske, anorganske pigmente i čađu. Pigmenti su nečisti, a najčešće nečistoće su teški metali, primarni aromatski amini te policiklički aromatski ugljikovodici. Prema definiciji disperzija je termodinamički nestabilan

sustav u kojem dolazi do razdvajanja faza i taloženja čvrste faze. Postojanje disperznog sustava prilikom tetoviranja važno je kako ne bi došlo do prebrzog taloženja ili hlapljenja, a samim time i sušenja. Osim pigmenata u sastavu tinte za tetoviranje nalaze se i otapala i aditivi. Najčešće otapalo je obična voda, ali koriste se i glicerini, propilen glikol te jednostavni i polivalentni alkoholi. Aditivi se dijele na; veziva koja drže čestice pigmenta zajedno nakon sušenja i olakšavaju ubrizgavanje tinte u kožu, surfaktante za smanjenje površinske napetosti između čestica i tekuće faze, aditive za povećanje viskoznosti i tiksotropije, sredstva za zgušnjavanje, punila za poboljšanje volumena i konzervanse za sprječavanje kontaminacije mikroorganizmima.^[8]



Slika 2.3 Sastav tinte za tetoviranje. Adaptirano iz [8]

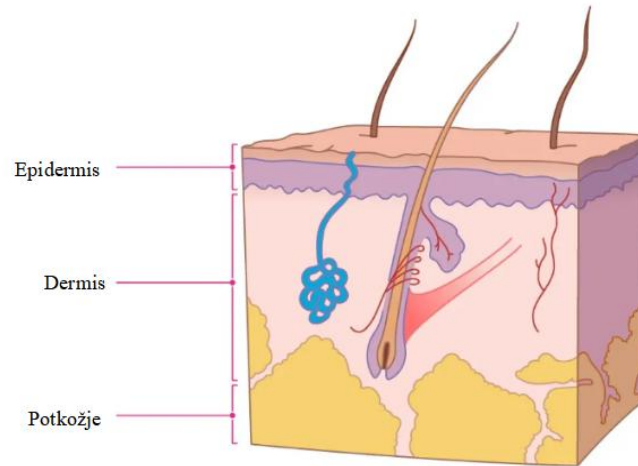
Najčešći elementi u sastavu tinte su kisik, titanij i ugljik. Pigmenti anorganskog titanijevog dioksida, TiO_2 , raspršuju svjetlost zbog visokog indeksa loma pa ih koristimo za posvjetljivanje boja ili kao bijelu tintu. Organski se pigmenti razvrstavaju u dvije skupine:

- 1) Azo spojevi sa skupinom $R-N=N-R'$
- 2) Policiklički spojevi sastavljeni od povezanih aromatskih prstenova koji u strukturi imaju kromofor preko konjugiranih pi-veznih sustava

Pigmenti čađe nastaju djelomičnim izgaranjem teških naftnih spojeva. Anorganski pigmenti često sadrže nečistoće teških metala (Ni, Cr, Cu i Co) iz željeznih oksida, dok organski pigmenti sadrže manje nečistoća kao što su soli žive, soli kadmija, kromov oksid, a kobalt oksidi najčešće su senzibilizirajuće komponente.^[8]

2.2.2 Koža

Koža je najveći organ ljudskog tijela. Najvažnije funkcije kože su zaštita unutarnjih organa, sprječavanje infekcija i isušivanja te zaštita od kemijskih tvari i UV zračenja. Tri glavna sloja kože su: epidermis, dermis i potkožje.^{[9], [10], [11]}

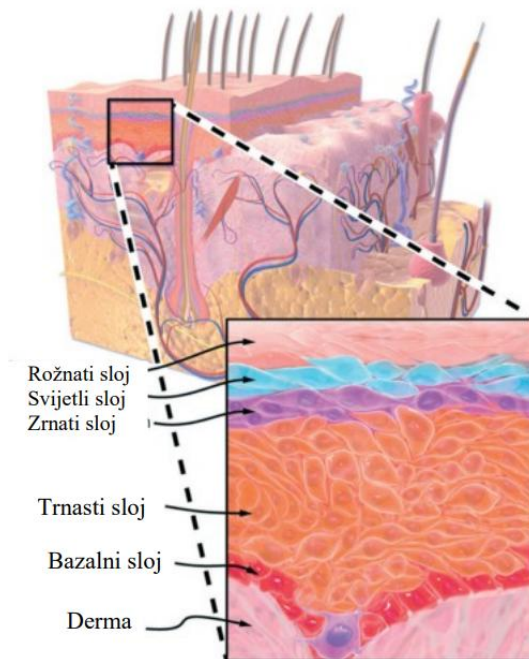


Slika 2.4 Koža^[12]

Epidermis

Epidermis je vanjski slojeviti pločasti sloj kože koji čovjeka štiti od gubitka vode, hranjivih tvari i štetnih vanjskih utjecaja kao što su infekcije ili UV zračenje. 4 glavne stanične komponente su keratinociti, melanociti, Langerhansove i Merkelove stanice. U strukturi epidermisa nalazi se 5 slojeva.(Slika 2.5)

- 1) Bazalni sloj odnosno stratum basale: najdublji sloj, glavna uloga mu je proizvodnja keratinocita koji će dalje formirati trnasti sloj
- 2) Trnasti sloj odnosno stratum spinosum: sloj koji pruža jakost i fleksibilnost, keratinociti sintetiziraju keratin u obliku proteinskih vlakana za formiranje zrnatog sloja
- 3) Zrnati sloj odnosno stratum granulosum: srednji sloj, sloj od spljoštenih stanica koje sudjeluju u orožnjavanju
- 4) Svijetli sloj odnosno stratum lucidum: proziran sloj koji propušta svjetlost
- 5) Rožnati sloj odnosno stratum corneum: gornji sloj u kojemu se nalazi oko 20 podslojeva mrtvih stanica koje se ljušte. U rožnatom sloju nalaze se pore i otvori žlijezda znojnice i lojnih žlijezda^{[9],[11]}

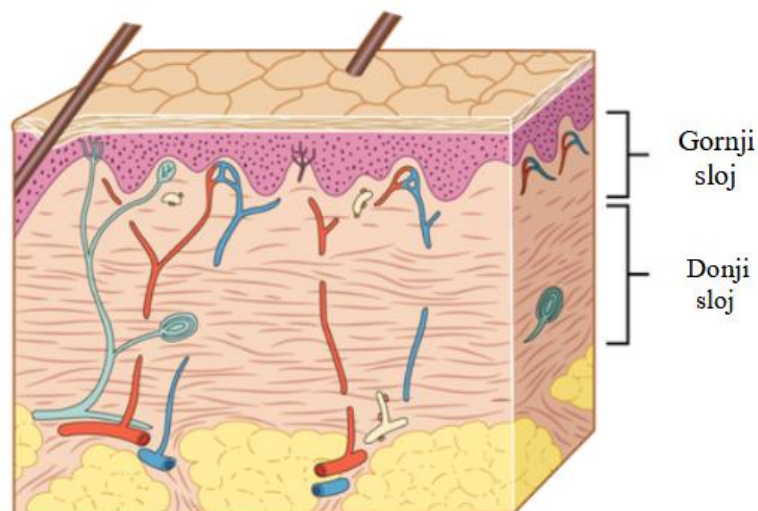


Slika 2.5 Epidermis, adaptirano iz [13]

Dermis

Dermis je sloj vezivnog tkiva koji sadrži kolagen i elastična vlakna. Sadrži žlijezde znojnice, lojne žlijezde i folikule dlake. Ovaj sloj pruža mehaničku, kompaktnu i elastičnu podlogu. Dermis je izgrađen od stanica fibroblasta odgovornih za sintezu matriksa u kojoj se nalazi kolagen i makrofaga za eliminaciju stranih tijela i masnih stanica. U strukturi dermisa razlikujemo 2 sloja:

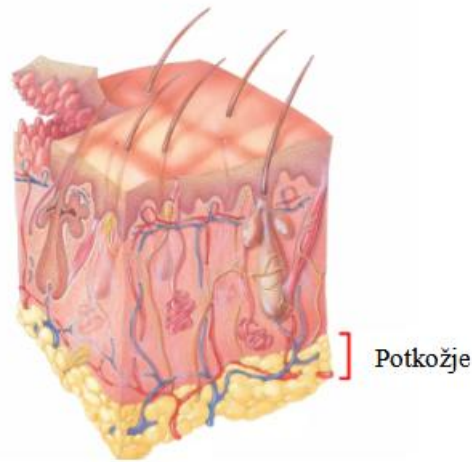
- 1) Donji sloj odnosno stratum reticulare: dublji sloj sastavljen od kolagena i elastičnih vlakana koja koži daju jakost i elastičnost zbog gustog rasporeda vlakana
- 2) Gornji sloj odnosno stratum papillare: sloj u kojemu su fino raspoređena vlakna kolagena^{[13],[14]}



Slika 2.6 Dermis^[15]

Potkožje

Potkožje je sloj koji štiti i izolira tijelo od hladnoće i služi nam kao rezervni izvor energije. Sadrži masne stanice, vlakna kolagena i krvne žile. (Slika 2.7) ^[16]



Slika 2.7 Potkožje^[16]

2.2.3 Štetnost tetovaža

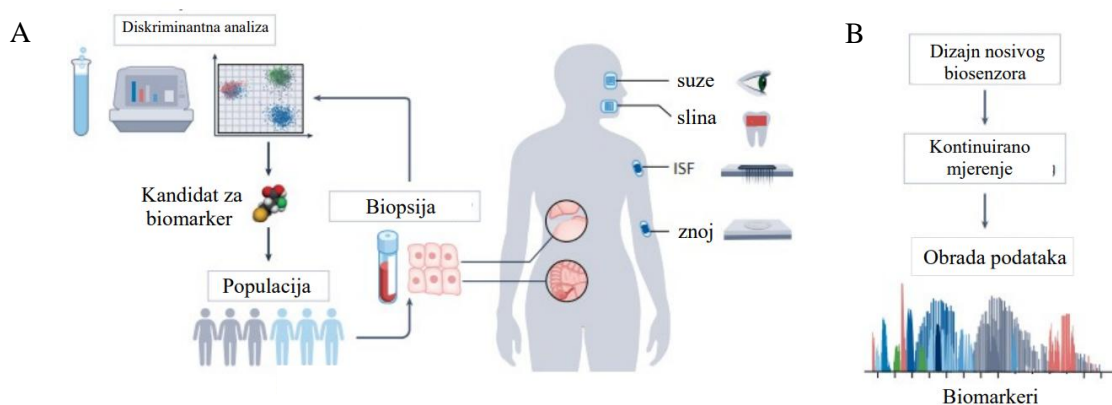
Pojave alergijskih reakcija nakon procesa tetoviranja moguće su zbog nedostatka podataka o sastavu tinte, prepoznaju se po intenzivnom svrabu i oticanju područja tetovaže, kihanju, curenju nosa, iritacije očiju te povećanju infiltracije limfocita T.^[17] Tijekom procesa tetoviranja $\approx 2,5 \text{ mg cm}^{-2}$ pigmenta unosi se u kožu, što može uzrokovati blage simptome poput crvenila ili otoka. Ultraljubičasto zračenje također negativno utječe na novonastalu tetovažu. UV zrake tipa B ne prodiru u epidermis, ali zrake tipa A prodiru i oksidiraju pigmente što dovodi do posvjetljivanja i uklanjanja tetovaže stoga je preporučljivo koristiti kreme za zaštitnim faktorom kako bi se tetovaža očuvala.. Kada se alergijska reakcija manifestira zahvaća i stare tetovaže iste boje na drugom dijelu tijela.(Slika 2.8)^[8]



Slika 2.8 Upale tetovaža^[8]

2.3. Nosivi kemijski senzori

Nosivi kemijski senzori su integrirani analitički uređaji koji se nose ili ugrađuju u tijelo. Kontinuiranim praćenjem biometrije na neinvazivan ili minimalno invazivan način mogu otkriti fiziološke promjene. Nosivi kemijski senzori pružaju neinvazivnu alternativu uobičajenoj laboratorijskoj analizi krvi u stvarnom vremenu te su učinkovit alat za istraživanje novih biomarkera u tjelesnim tekućinama, kao što su znoj, slina, suze i intersticijska tekućina. Pomoću senzora mjerimo vrijednosti biomarkera koje definiramo kao karakteristiku koja se objektivno mjeri i procjenjuje kao pokazatelj normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakoloških odgovora na određenu terapijsku intervenciju. (Slika 2.9)^[18]



Slika 2.9 (A) Otkriće biomarkera u medicini putem klasičnih postupaka analize krvi ili biopsije tkiva i putem novih nosivih kemijskih senzora
(B) tijek rada za otkrivanje biomarkera, adaptirano iz [19]

Već 1960-ih spominje se prvi nosivi senzor, riječ je o Holter monitoru, medicinskom senzoru koji se koristi za mjerenje električne aktivnosti srca.^[18] Finski nacionalni tim za skijaško trčanje od 1980-ih koristi bežični elektrokardiogram monitor otkucaja srca. Popularnost ove vrste senzora raste do uvođenja komercijalnih proizvoda tvrtke Polar Electro u ranim 1980-im. Prekretnicom u razvoju nosivih kemijskih senzora smatra se 1982. godina u kojoj Polar predstavlja Sport Tester PE2000. Nekoliko godina kasnije u SAD-u predstavljen je Biox, prvi pulsni oksimetar. GlucoWatch bio je senzor za neinvazivno biosenziranje glukoze, a koristio je dva gel jastučića na koži koji su kružili s potencijalom i na taj način izdvajali glukozu reverznom iontoforezom.^[13]



Slika 2.10 Polar Sport Tester PE2000^[13]

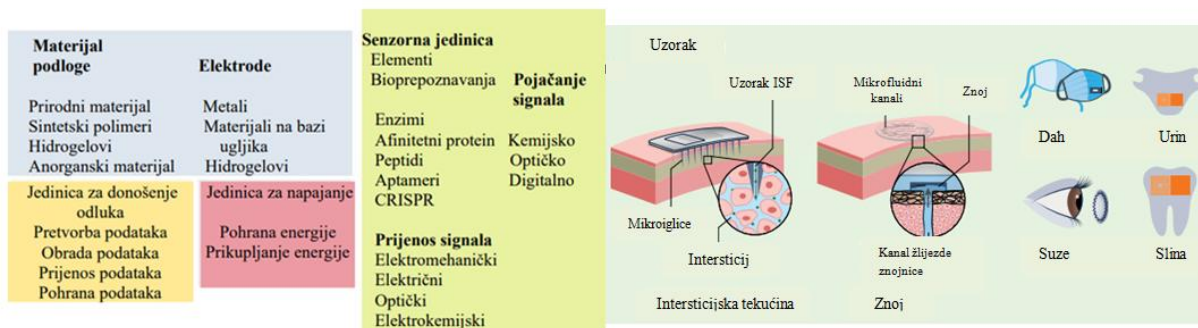


Slika 2.11 Pulsni oksimetar^[13]



Slika 2.12 GlucoWatch^[13]

Nosivi kemijski senzor sastoji se od nekoliko glavnih dijelova, a to su elektrode i podloga, senzorske jedinice u koje ubrajamo elemente za povezivanje i uzorkovanje, bioprepoznavanje, transdukciju signala i pojačanje, jedinice za donošenje odluka, jedinice za prikupljanje podataka, obradu i prijenos te jedinice za napajanje. (Slika 2.13) Ovisno o specifičnim uvjetima primjene moguće je postojanje dodatnih komponenti.^[18]

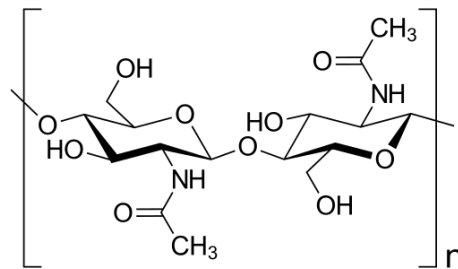


Slika 2.13 Glavni dijelovi nosivog kemijskog senzora, adaptirano iz [18]

2.3.1 Podloga

Materijali za podlogu sadrže ključna svojstva pa je potrebno obratiti posebnu pozornost prilikom njihova odabira. Najčešće korištena vrsta materijala su prirodni materijali, sintetski polimeri, hidrogelovi i anorganski materijali.^[18]

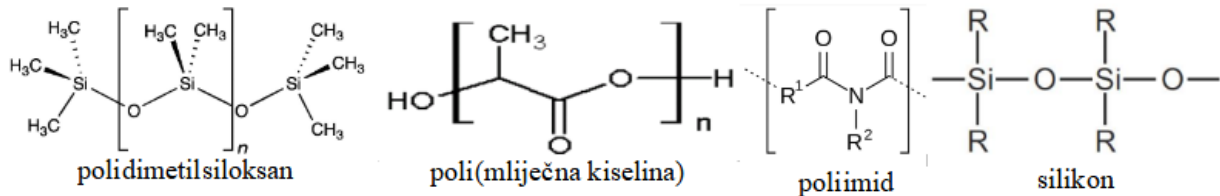
Prirodni materijali poput pamuka, vune, svile, konoplje, lana i hitina su materijali sa kojima se susrećemo gotovo svakodnevno pa su oni i jedan od temeljnih materijala koji se koriste.^[20] Svakodnevna upotreba pridonijela je razumijevanju fizikalnih svojstava prirodnih materijala kao što su fleksibilnost i mehanička otpornost. Poznavajući svojstva možemo shvatiti ponašanje tijekom izrade ili prerade te način na koji možemo poboljšati pojedina svojstva materijala. Tkanjem i pletenjem, kao metodama izrade tekstila, poboljšavamo mehanička svojstva prirodnih materijala. Tijekom procesa prerade možemo ih kombinirati s drugim materijalima i na taj način također poboljšati pojedina svojstva, primjer je ugradnja optičkih vlakana u potku tkanine za ispitivanje reakcija integriranih u materijal ili veliko digitalno pletenje tekstila od više vrsta materijala. Prirodni materijali biokompatibilni su i održivi, ali imaju malu vodljivost i loša optička svojstva.^[18]



Slika 2.14 Kemijska struktura hitina

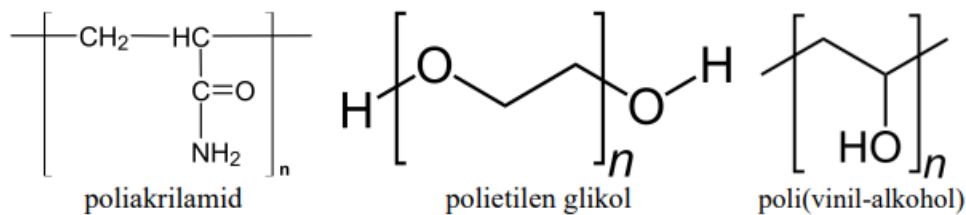
Sintetski polimeri su funkcionalni materijali nastali sintezom iz monomera koji pronalaze sve veću primjenu u izradi nosivih senzora zbog širokog raspona tehnika izrade. Najčešće tehnike izrade kao što su tkanje dobro su poznate obzirom na veliku upotrebu prilikom proizvodnje prirodnih materijala, također razvojem tehnologije razvijaju se i prilagođavaju nove tehnike poput kalupljenja, ekstruzije, laminacije, taloženja, fotolitografije, mljevenja ili novije tehnike kao što je 3D ispis.^[21] Osim pristupačnih metoda izrade sintetski se polimeri mogu modificirati mnoštvom fizikalnih i kemijskih metoda funkcionalizacije. Najčešće se koriste polimer – anorganski kompoziti u kojima se sintetski polimeri koriste kao fleksibilni supstrati. Nosivi senzori mogu se sastojati od više ultratankih slojeva različitih sintetskih polimera i kompozitnih materijala. Polimeri kao što su polidimetilsiloksan, poli(mlječna kiselina), poliviniliden fluorid, politetrafluoroetilen, poliimid i silikon inertni su i biokompatibilni, no

postoje i polimeri koji nisu sigurni za kožu pri dugoročnom izlaganju i zahtijevaju pažljivije određivanje potencijalnih opasnosti. Većina nosivih senzora izrađena na bazi sintetskih polimera dizajnirana je za jednokratnu upotrebu ili upotrebu s ograničenim vijekom trajanja što ih u kombinaciji s poteškoćama u recikliranju čini slabo održivima. Teži se proučavanju i istraživanju kemije zelenih polimera s ciljem stvaranja nove generacije mekih funkcionalnih materijala. [18]



Slika 2.15 Kemijske strukture sintetskih polimera

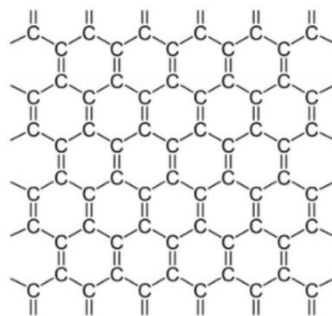
Hidrogel je mekani, deformabilni i prozirni materijali. Svojstva i porozna struktura hidrogela omogućuje mu zadržavanje visokog udjela vode što ga čini biološki prihvatljivim. Polietilen glikol, poliakrilamid, alginat, poli(vinil-alkohol) i želatina neki su od prirodnih i sintetskih polimera koji se koriste prilikom stvaranja hidrogelova. Razvoj hidrogelova veže se uz područje biomedicinskog inženjerstva zahvaljujući visokoj biokompatibilnost što znači da su sigurni i za primjenu na koži, ranama ili u dodiru s ljudskim tijelom. [22] Porozna struktura hidrogelova omogućuje razvoj i stvaranje mekih elektroda, nizova mikroiglica, struktura za skupljanje tjelesnih tekućina ili prozirnih baterija. No, zbog visoke cijene i nedostatka mehaničkih svojstava poput fleksibilnosti i žilavosti ne primjenjuju se tako često.



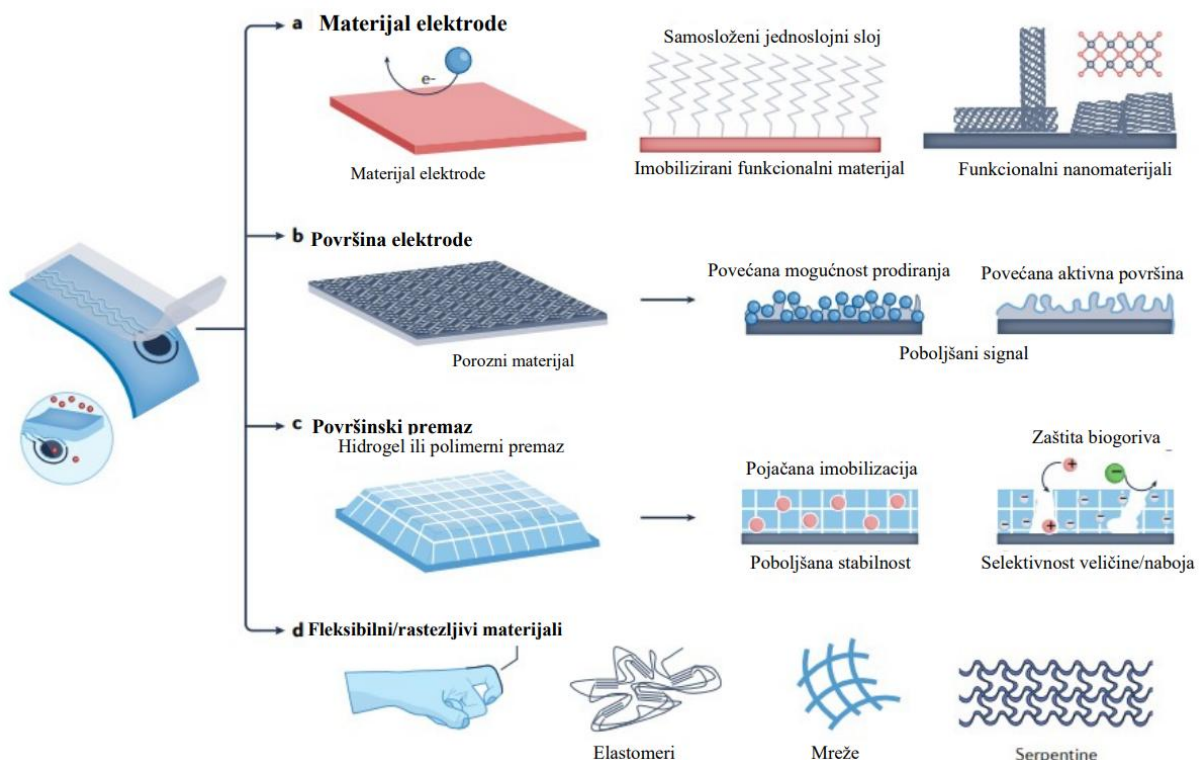
Slika 2.16 Kemijske strukture polimera koji se koriste prilikom stvaranja hidrogelova

Posljednja skupina materijala za podloge su anorganski materijali u koje ubrajamo metale, poluvodiče i nanomaterijale. Anorganski se materijali odlikuju visokom vodljivošću te mehaničkim svojstvima kao što su fleksibilnost i elastičnosti. Razvojem fleksibilne elektronike dolazi do razvoja naprednih tehnika izrade ove vrste materijala, kao što je tiskanje metalnih ili nanomaterijalnih boja u zmijolikim uzorcima ili čak tkanje metalnih niti čime se omogućuje njihova ugradnja u deformabilne nosive podloge. Srebro se sve više koristi u nosivim strujnim krugovima iako su istraženi i drugi vodljivi te poluvodljivi metali, kao što

su bakar, titanijev karbid i razne legure. Za izradu nosivih senzora naprezanja, tranzistora i kondenzatora koristi se grafen zbog svojih izvrsnih vodljivih i mehaničkih svojstava. Tanki filmovi grafena su prozirni i iznimno fleksibilni te omogućuju razvoj laganih i ultratankih nosivih senzora poput elektroničkih tetovaža^[23], a koristi se i za razvoj senzora za mjerenje proteina, metabolita i plinova. Jeftiniji anorganski materijali poput ugljičnih vlakana koriste se za izradu izdržljivih nosivih senzora kretanja. Anorganski materijali nisu biokompatibilni pri čemu nanomaterijali predstavljaju potencijalnu biološku opasnost pa ih ne možemo koristiti u izravnom kontaktu s kožom.^[18]



Slika 2.17 Kemijska struktura grafena

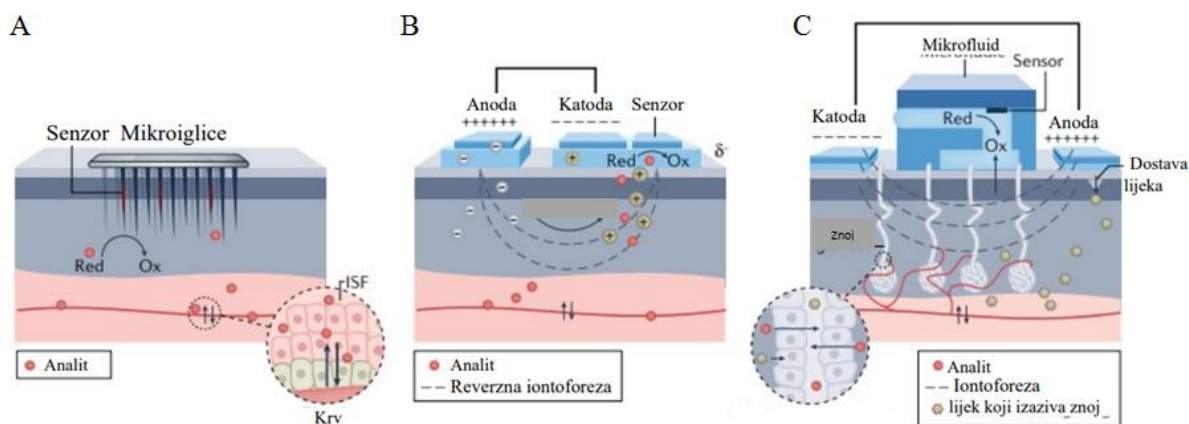


Slika 2.18 Materijali za nosivi kemijski senzor, adaptirano iz [19]

2.3.2 Senzorske jedinice

Unaprjeđenjem i razvojem tehnologije dolazi do razvoja druge generacije nosivih senzora čije je zadaća uzorkovanje biotekućine koja sadrži analit. Molekularna interakcija između analita koji želimo analizirati i elementa za bioprepoznavanje pretvara se u izlazni signal senzora te se pritom pojačava jedinicom za transdukciju i pojačanje signala.

Intersticijska tekućina je tjelesna tekućina koja ispunjava izvanstanični prostor između stanica i tkivnih struktura. Curi iz kapilara u tkiva i zatim otječe kroz limfni sustav natrag u vaskularnu cirkulaciju. Intersticijska tekućina smatra se filtriranom frakcijom krvne plazme bez stanica što znači da sadrži slične proteinske i metaboličke profile kao krv te je stoga bogat izvor biomarkera. Smatra se idealnim tekućim analitom za nosive senzore jer je do nje puno lakše doći nego do krvi.^[24] Dva su glavna pristupa za uzimanje uzoraka intersticijske tekućine: mikroiglice i iontoforetska ekstrakcija. (Slika 2.12) Mikroiglice se sastoje od jednog ili niza mikroskopskih struktura izrađenih od biokompatibilnih sintetskih polimera ili hidrogelova.^[25] Dizajnirane su za probijanje kroz epidermis kako bi olakšale pristup dermisu.^[26] Iontoforeza je korištenje primijenjene električne struje niskog napona na područje kože s ciljem uzrokovanja elektromotornih migracija nabijenih molekula. Raspored elektroda najčešće je prilagođen izdvajanju intersticijske tekućine iz tijela u vanjski sensor metodom reverzne iontoforeze. Reverzna iontoforeza primjenom električnog potencijala pomiče neutralne i pozitivno nabijene tvari u koži prema katodi i negativno nabijene tvari prema anodi. Monitor glukoze kao jedan od prvih komercijalnih nosivih senzora koristio je iontoforezu za izdvajanje intersticijske tekućine za analizu. Elektronička priroda ove metode omogućuje integraciju funkcija senzora i uzorkovanja u isti sustav elektroda.^[18]



Slika 2.19

(A) Minimalno invazivna ekstrakcija intersticijske tekućine mikroiglicama

(B) Ekstrakcija temeljena na neinvazivnoj reverznoj iontoforezi

(C) Ekstrakcija znoja temeljena na neinvazivnoj iontoforezi, mikrofluidno uzorkovanje znoja.

Adaptirano iz [19]

Senzori za analizu znoja najčešće su usredotočeni na otkrivanje metabolita koji se koriste u sportu, a to su elektroliti koji održavaju i reguliraju pH vrijednosti u ljudskom organizmu, održavaju pravilan rad mišića i prenose živčane impulse, hranjive tvari koje nas opskrbljuju energijom, sudjeluju u rastu i razvoju i život bez njih, zapravo, nije moguć i laktate.^[27] Osim osobne kondicije pomoću znoja možemo pratiti razinu glukoze, kortizola i alkohola. Također bi se mogla pratiti patogena stanja kao što su virusne infekcije, cistična fibroza ili kronične upalne bolesti, uključujući giht ili upalnu bolest crijeva. Neuropeptidni biomarkeri u znoju mogu se koristiti kao potencijalni procjenitelji neuroloških poremećaja.

Ključni elementi prilikom razvoja nove generacije nosivih senzora su elementi bioprepoznavanja koji će povezati izlazni signal senzora sa prisutnošću pojedinih biomarkera. Primjeri elemenata prepoznavanja su enzimi koji služe za prepoznavanje metabolita i malih molekula, afinitetni proteini i afinitetni peptidi pomoću kojih možemo prepoznati proteine, peptide, nukleinske kiseline ili lipide.^[18]

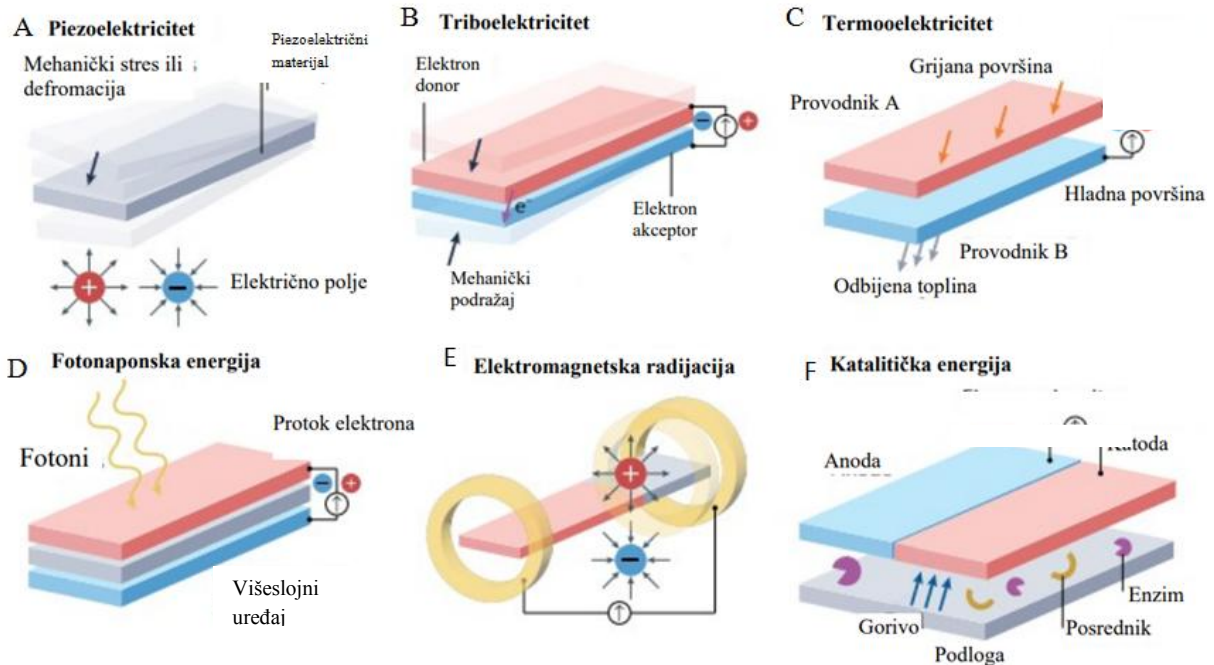
2.3.3 Jedinice za donošenje odluka

Jedinice za donošenje odluka prevode neobrađene podatke u oblike čitljive ljudima. Podaci se razmjenjuju tjelesnom mrežom koja uključuje više povezanih senzorskih jedinica koje se nose na tijelu ili su ugrađene u tijelo. Prikupljeni neobrađeni podaci iz senzora idu u jedinicu za pretvorbu podataka gdje se digitalni signali transformiraju u sekundarne podatke pomoću odgovarajućih algoritama.^[18]

2.3.4 Jedinice za napajanje

Potreba za napajanjem nosivih senzora ovisi o primjeni i upotrijebljenim sastavnim dijelovima.^[28] Nosivi senzori dizajnirani su za praćenje tjelesnih aktivnosti pa se od materijala koji se koriste u njihovim pogonskim jedinicama očekuje biokompatibilnost, male dimenzije, reciklabilnost i da mogu prikupljati energiju. Prikupljanje energije može se postići različitim fenomenima; piezoelektricitetom, triboelektricitetom, termoelektricitetom, optoelektronikom, elektromagnetskim zračenjem katalitičke reakcije ili njihovom kombinacijom. (Slika 2.13) Izvori se mogu koristiti u nosivim uređajima na vlastito napajanje koje pokreću biomehanički

(kretanje ili toplina), elektromagnetski (svjetlost ili radiofrekvencija), biokemijski (metaboliti u tjelesnim tekućinama) ili kombinacija tih procesa.^[18]



Slika 2.20 Metode prikupljanja energije

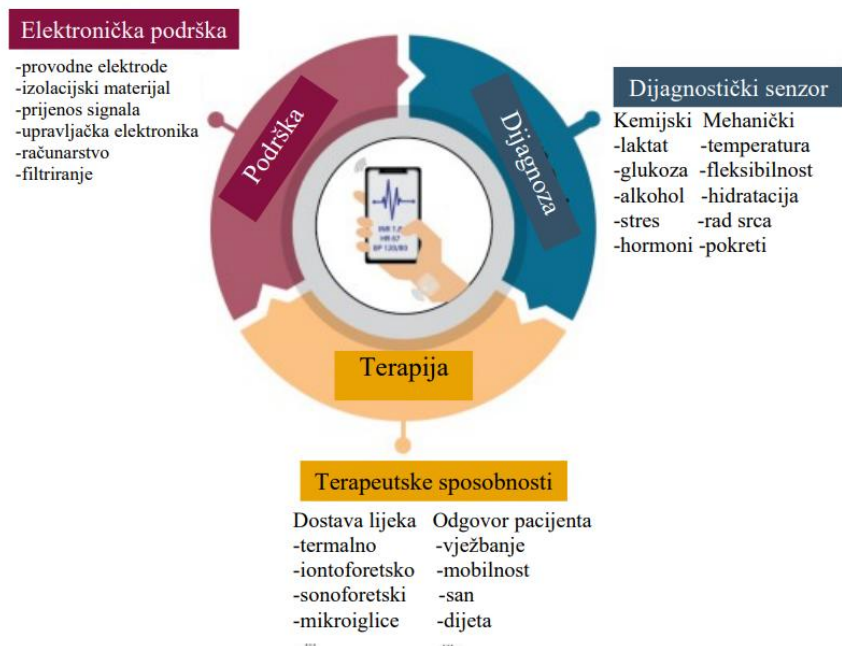
- (A) Piezoelektricitet se stvara mehaničkim kretanjem koje aktivira piezoelektrični materijal
- (B) Triboelektricitet nastaje kretanjem, a rezultat je fizički kontakt i odvajanjem dvaju materijala s različitim vrijednostima elektronegativnosti
- (C) Termoelektricitet nastaje kada se površina vodiča A zagrije, a ta se energija zatim prenosi na vodič B što pokreće gibanje nositelja naboja, elektrone i rupe, stvarajući napon
- (D) Fotonaponska energija nastaje kada se fotonaponski materijal obasjava svjetlošću
- (E) Elektromagnetskim zračenjem upravljaju antene koje pretvaraju elektromagnetske valove u napon ili struju
- (F) Nosive ćelije za biogorivo stvaraju energiju iz katalitičke reakcije koja se događa između goriva koje daje biotekućina (kao što je znoj) i enzima

Adaptirano iz [18]

3. PREGLEDNI DIO

3.1. Funkcionalne tetovaže

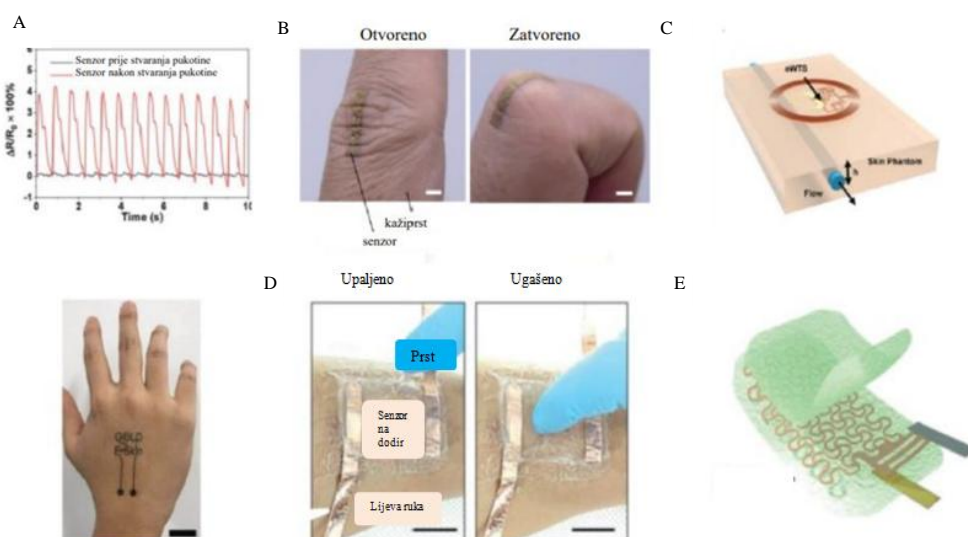
Tetovaže funkcionalizacijom pokazuju potencijal da se u budućnosti koriste kao platforma za praćenje vitalnih znakova, odnosno vrijednosti biomarkera. Funkcionalne tetovaže mekani su nosivi uređaji opremljeni sensorima koji se pričvršćuju na kožu ili stavljaju u kožu, a koriste se za prikupljanje podataka. Izrađene su od vodljivih materijala, poput grafena, ugljika ili vodljivih polimera, koji im omogućuju mjerenje biopotencijala ili električnih signala koji izviru iz tijela, no mogu biti opremljeni i drugim sensorima, uključujući akcelerometre koji prate kretanje, temperaturne senzore ili senzore koji mjere kemijski sastav znoja, intersticijskih tekućina ili sline nositelja. Prilagođavaju se različitim teksturama kože omogućujući tako neinvazivne metode pričvršćivanja. Tekstura ljepljivog sloja tetovaže potpuno je fleksibilna i pomiče se istovremeno sa pokretima kože pružajući tako udobnost za nositelja i precizne podatke za osobu koja će te podatke kasnije analizirati, na primjer liječnika prilikom uporabe u medicinske svrhe. Najvažnija razlika između funkcionalnih tetovaža i tradicionalnih nosivih senzora poput pametnih satova i mjerača otkucaja srca na prsima jest meki i elastični oblik koji im omogućuje pričvršćivanje na dijelove tijela na koje se dosadašnji kruti senzori ne mogu pričvrstiti. Upotrebom fleksibilnih i tankih materijala omogućio bi se puno bliži kontakt s kožom nego što se to može postići krutim sensorom. Lakše se dolazi do podataka do kojih se može doći samo u laboratoriju. Kako bi se olakšao razvoj funkcionalnih tetovaža za kontinuirani nadzor i terapiju, tri odvojene komponente moraju raditi usklađeno jedna s drugom: biološki senzor i dijagnostika; isporuka lijekova i terapija te sustav podrške za olakšavanje funkcioniranja svih komponenti.(Slika 3.1)^[29]



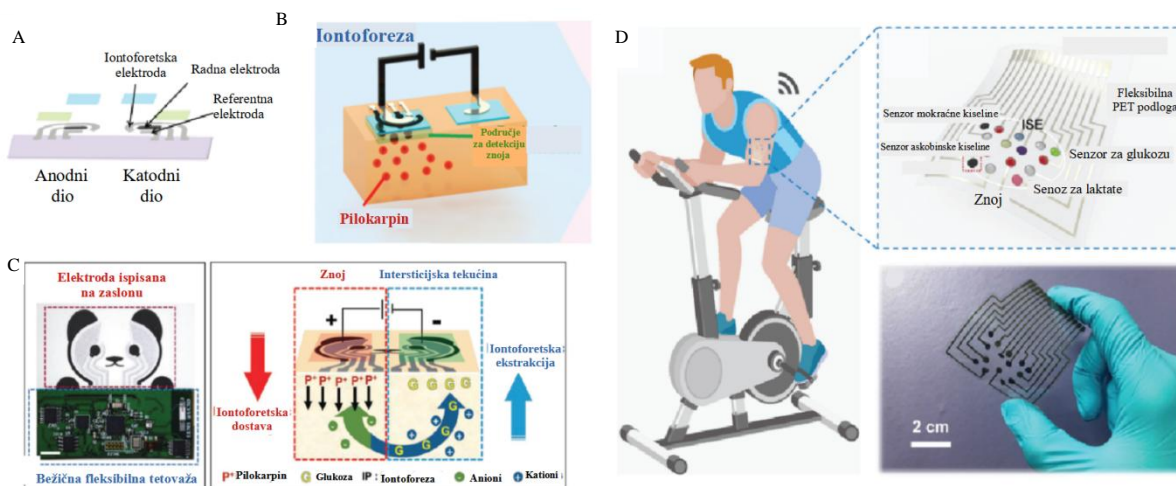
Slika 3.1 Shema modula potrebnih za funkcionalne tetovaže na koži za terapiju.

Popis biomarkera (dijagnostika), pristupa (terapija) ili komponenta (sustav podrške) za svaki modul [29]

Funkcionalne tetovaže kao električni senzori na koži dijele se na: fizičke i kemijske senzori koji se razlikuju prema mehanizmu osjeta. Fizički senzori (Slika 3.2) mjere promjenu bioloških signala kroz promjenu samog senzora, dok kemijski senzori (Slika 3.3) mjere reakciju između željenog analita i senzora. [29]



Slika 3.2 Fizički senzori: fizička promjena u senzoru za mjerenje bioloških signala: (A, B) senzori napreznaja i (C) toplinski senzor, (D) senzor dodira i (E) elektrokardiogram [29]

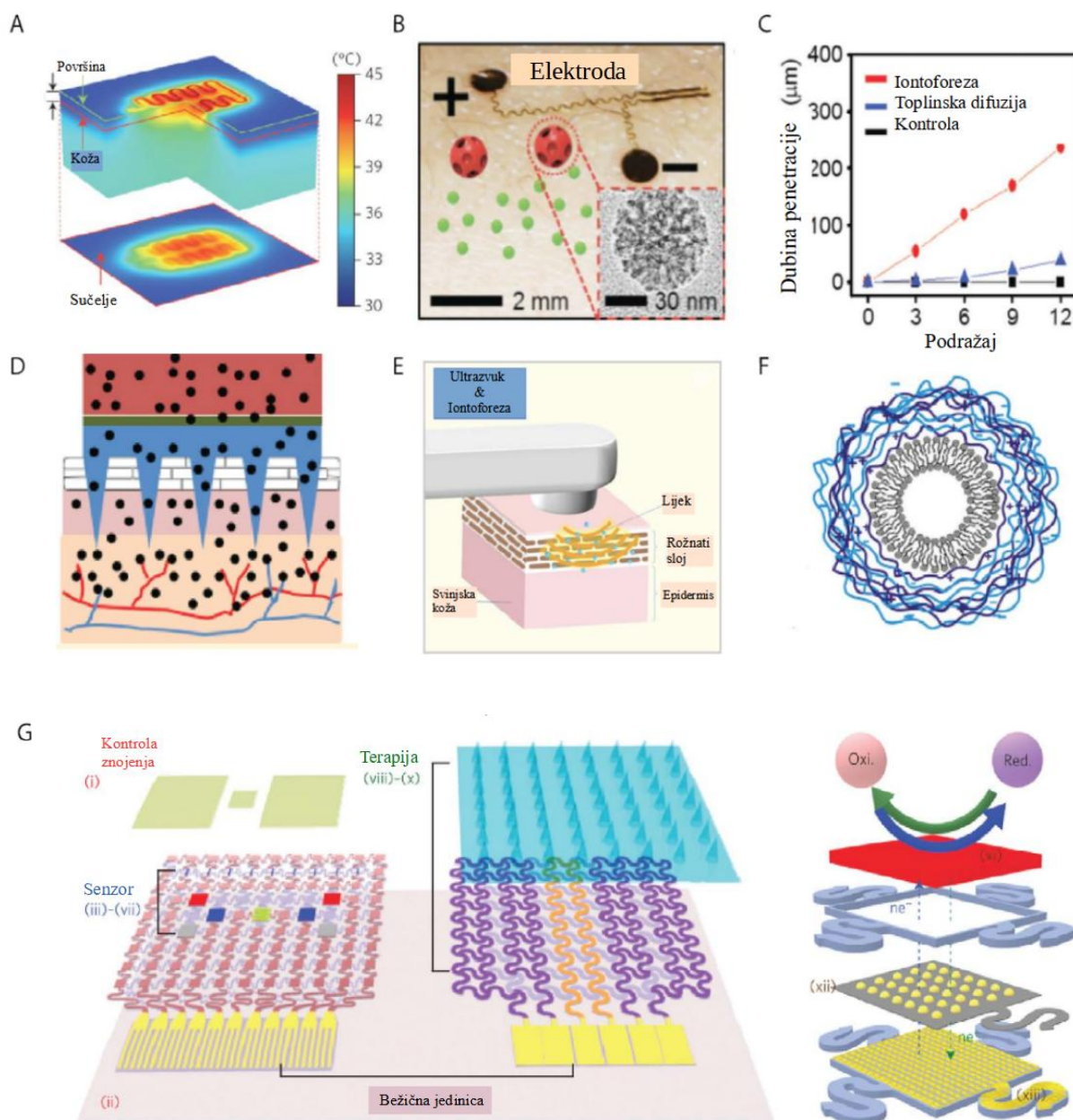


Slika 3.3 Kemijski senzori mjere odgovor kemijskih reakcija:

(A) glukoza u krvi i (B) alkohol, multiplicirani senzori za mjerenje (C) alkohola i glukoze u krvi i (D) analiza znoja, adaptirano iz [29]

3.1.1 Terapeutska sposobnost

Funkcionalne tetovaže u kombinaciji s dijagnostičkim senzorom i sustavom podrške mogu se koristiti za neinvazivnu terapiju i regulaciju isporuke lijekova. Epidermis djeluje kao membrana i na taj način ograničava difuziju velikih molekula u dermis stoga se razvijaju fizičke i kemijske metode pomoću kojih će se povećati difuzija ciljanog lijeka kroz rožnati sloj kože. Jedna od najistaknutijih metoda je toplinsko poboljšanje. (Slika 3.4.A) Nedostatak ove metode jest mogućnost nelagode prilikom nošenja radi povišenja topline, a također je teško predvidjeti količinu isporučenog lijeka što bi kasnije moglo dovesti do isporuke potencijalno smrtonosnih koncentracija. Kontroliranija metoda je iontoforetska isporuka (Slika 3.4.B) koja koristi primijenjeni napon za prijenos lijeka kroz rožnati sloj putem elektroforeze i elektroosmoze, ali ova metoda zahtijeva veliki napon za postizanje željene brzine isporuke. Metoda ubrizgavanja lijeka mikroiglicama (Slika 3.4.D) omogućuje ubrizgavanje lijeka direktno u dermis. Sonoforeza je metoda koja pomoću ultrazvuka i zagrijavanja kože pojačava difuziju i permeabilnost staničnih membrana i na taj način olakšava prodiranje lijeka. (Slika 3.4.E). Zadnja metoda je kemijski pojačana difuzija (Slika 3.4.F) koja povećava permitivnost lijeka kroz inkapsulacije. Bez obzira na mehanizam isporuke, transdermalna isporuka lijeka zahtijeva senzorsku komponentu za uzimanje potrebnih očitavanja (Slika 3.4.G). Od svih navedenih metoda za isporuku lijekova iontoforeza se pokazala najpogodnijom za daljnje istraživanje.^[29]



Slika 3.4 Transdermalna isporuka lijeka temeljena na funkcionalnoj tetovaži

Metode dostave za difuziju lijeka kroz rožnati sloj:

- (A) toplinska - toplina za povećanje difuzije
- (B-C) iontoforeza - elektro-odbojne sile
- (D) mikroiglice - probijanje rožnatog sloja
- (E) sonoforeza - ultrazvučno poboljšanje

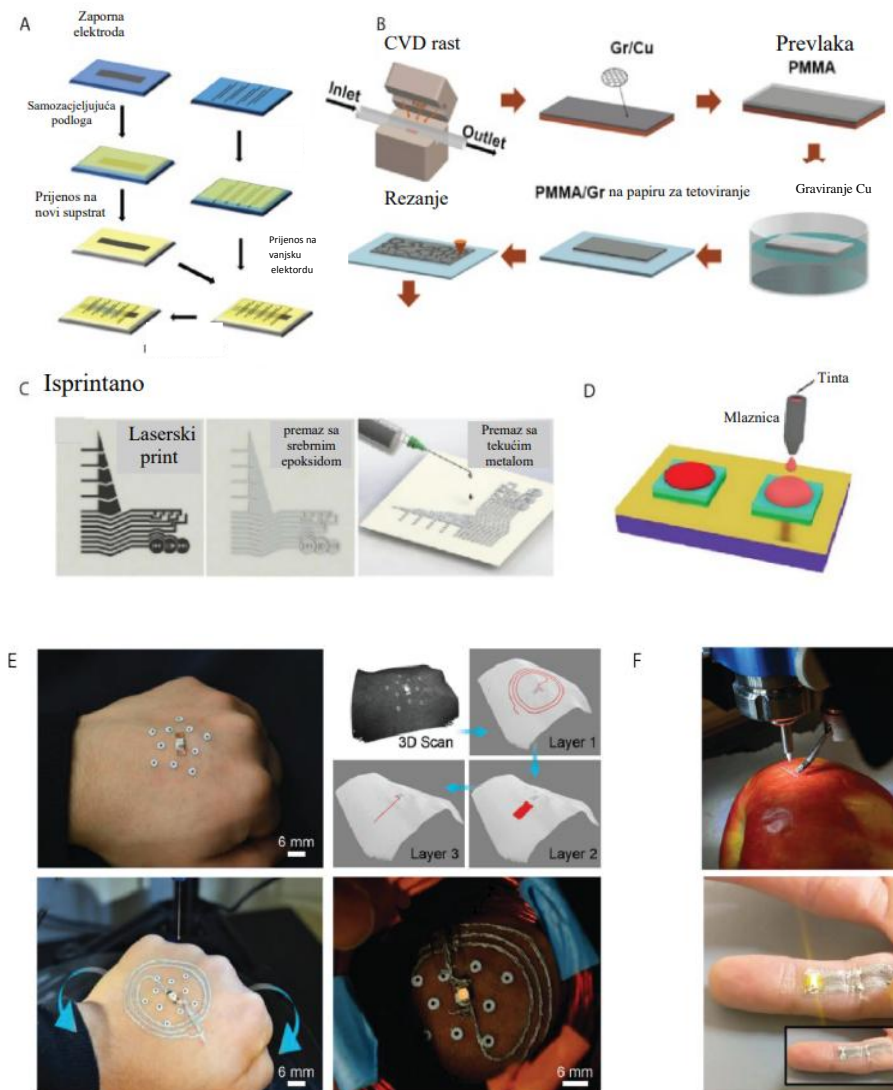
(F) kemijska inkapsulacija - prevlačenje željenog lijeka za povećanje difuzija

(G) Shema kompletnog flastera pokazuje ugradnju dijagnostičke senzorske komponente i terapijske komponente koja sadrži jednu ili više načina za poboljšanje isporuke

Adaptirano iz [29]

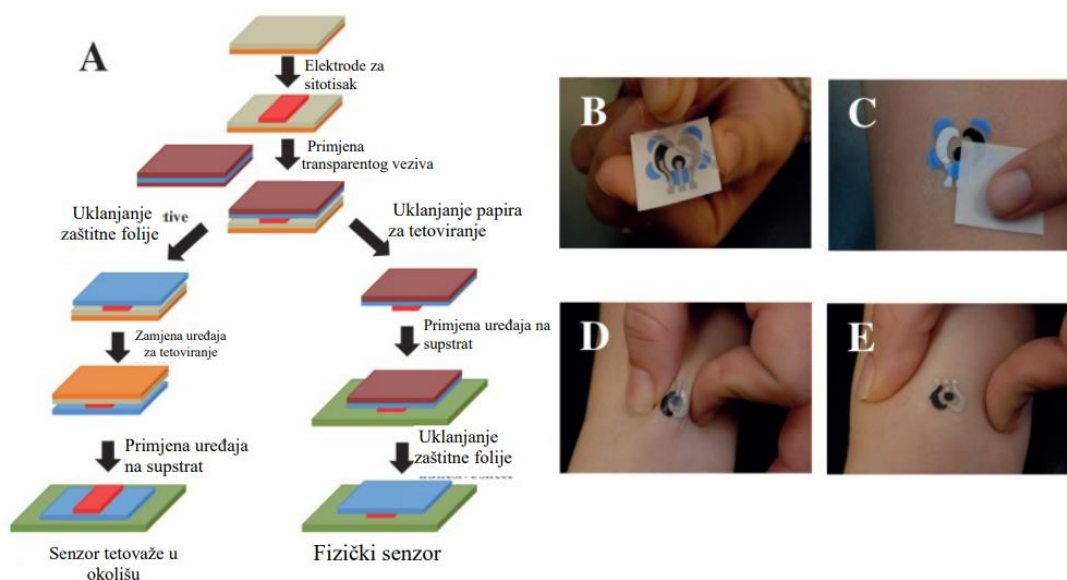
3.1.2 Izrada

Glavna razlika između epidermalne elektronike i konvencionalnih nosivih senzora jest metoda primjene. Nosivi senzori ugrađeni su u krute električne uređaje, kao što je ručni sat, a epidermalna elektronika zahtijeva intiman kontakt s kožom što znači da mora biti fleksibilna i rastezljiva što znači podnositi mehanička naprezanja. Ograničenja se odnose na odabir materijala i dizajna što utječe i na mogućnosti same izrade. Postoje dva načina izrade: metoda prijenosa kod koje se tetovaža izrađuje na jednokratnu podlogu i prenosi na željeno mjesto na koži kao što je i postavljanje tetovaže u stilu naljepnice (Slika 3.5) i izravan ispis kod kojega se senzor ispisa izravno na epidermis. Izravni ispis može se postići tehnikom 3D ispisa ili tradicionalnom tehnikom ispisa pomoću injekcionog ili aerosolnog pisača za ispis privremene tetovaže izravno na kožu.(Slika 3.5)^[29]



Slika 3.5 Tehnike izrade funkcionalnih tetovaža

Metoda prijenosa uključuje izradu na podlozi za jednokratnu upotrebu putem:
 (A-B) tradicionalna tehnika proizvodnje u čistim sobama - shematski tijek procesa
 (C-D) metoda tiskanja u kojoj se materijal odlaže u obliku otopine na supstrat za prijenos
 (E-F) tehnika izravnog ispisa na željeno biološko tkivo^[29]



Slika 3.6 Izrada elektrokemijskih uređaja koji se mogu ispisivati kao tetovaža

(A) Tipični koraci izrade senzorskih uređaja koji se temelje na sitotisku
 Fotografije prikazuju standardne korake od (B) uklanjanja prozirne zaštitne folije do (C) nježnog klizanja temeljnog papira za tetovažu nakon što smo ga potapkali vodom (D) istežanje i (E) uvijanje donje kože prilikom mehaničkog opterećenja^[30]

3.2 Tinte za tetoviranje za optičko biosenziranje u međustaničnoj tekućini

Biosenzor je bioanalitička platforma koja može promijeniti biološke signale u kvantitativno ili kvalitativno interpretativne parametre, a sastoji se od 3 elementa (slika 3.7). Područje biološkog prepoznavanja koje komunicira s molekulama, pretvornik koji pretvara biološki odgovor u mjerljivi signal i na kraju sustav obrade koji interpretira signal^[8]



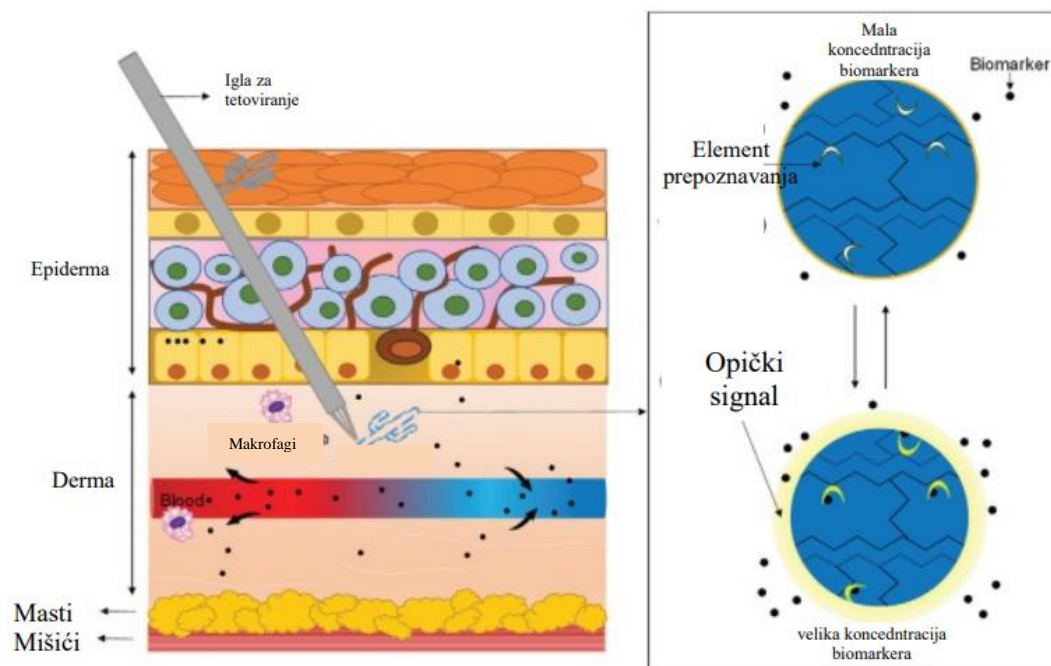
Slika 3.7 Implantabilni optički biosenzori i svjetlosni procesi

(A) Shema optičkog biosenzora sastavljenog od tri elementa: područje biološkog prepoznavanja, pretvarač i sustav obrade

(B) Optički procesi svjetlosti u međudjelovanju s molekulom (1. apsorpcija i emisija topline, 2. transmisija, 3.a. emisija fluorescencije, 3.b. emisija fosforescencije, 4.a. elastično raspršenje, 4.b neelastično raspršenje) ^[8]

Optički biosenzori dobivaju informacije modifikacijom optičkih karakteristika molekule koju prepoznaje senzor tetoviran na dermisu. Fotoni svjetlosti stupaju u interakciju s uzorkom mijenjajući pritom njegova svojstva i modificirajući upadni val svjetlosti. Fotodetektor pretvara promjene svojstava u električni signal proporcionalan izmjerenoj koncentraciji analita. Kada svjetlost prolazi kroz analit na njega utječu apsorpcija, prijenos, emisija, elastično ili neelastično raspršenje. Kod apsorpcije svjetlost se hvata i pretvara u toplinu, dok kod transmisije svjetlost prolazi kroz molekulu mijenjajući svoju amplitudu ili intenzitet. Luminiscentni materijali, poput fluorescentnih i fosforescentnih molekula apsorbiraju elektromagnetsko zračenje i ponovno ga emitiraju u obliku vidljive svjetlosti. U fenomenu raspršenja svjetlost se mijenja kroz molekulu. Elastično raspršenje naziva se Rayleighovo raspršenje ako su čestice manje od 5 nm i Miejevo raspršenje ako su čestice veće od 5 nm. Svjetlost mijenja svoju putanju, ali energija i valna duljina upadne svjetlosti se ne mijenjaju i elektron se, nakon što je pobuđen, vraća u svoje prvobitno stanje. Ako se energija i valna duljina upadne svjetlosti mijenjaju i elektron se nakon pobuđivanja vraća na višu ili nižu energetska razinu riječ je o Ramanovom raspršenju, odnosno neelastičnom raspršenju. Energija oslobođenog fotona razlikuje se od energije upadnog fotona. Energija je veća u Stokesovom Ramanovom raspršenju, a manja u anti-Stokesovom Ramanovom raspršenju. Mjerenja optičkim senzorima mogu se provoditi u otopini gdje su čestice nasumično

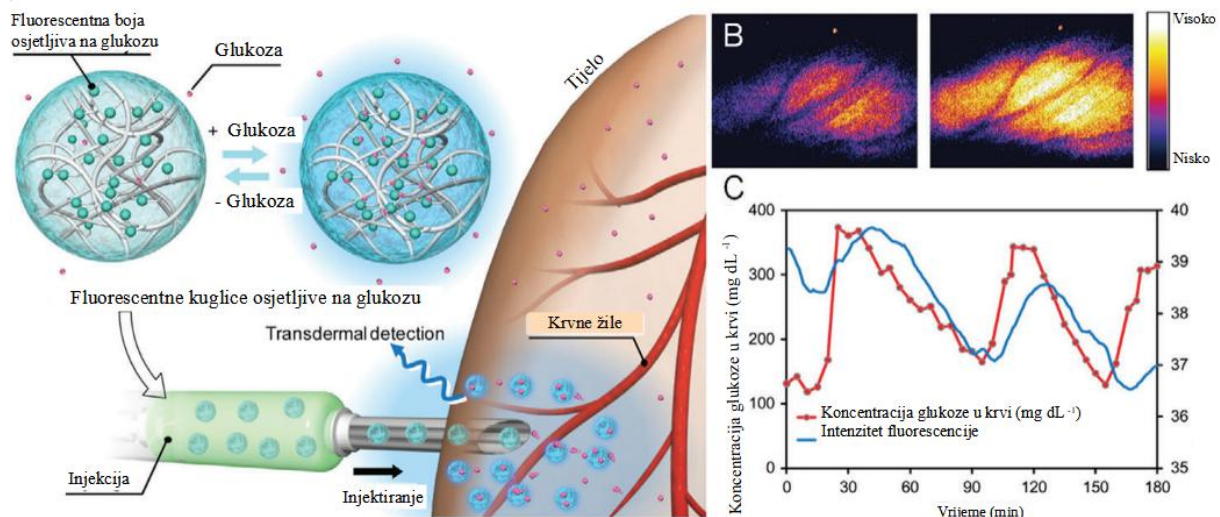
raspoređene ili na ravnoj površini na kojoj su čestice vezane za određena mjesta. Veći omjer površine i volumena jedna je od prednosti senzora u otopini što omogućuje bolje vezanje analita. Istovremeno, nedostaci su smanjena osjetljivost, smanjena stabilnost i smanjena mogućnost ponovne upotrebe senzora. Napredak u području biosenzora usmjerava se na neinvazivne nosive elektroničke senzore stavljajući ih u dodatke koji mogu biti u bliskom kontaktu s tijelom radi praćenja fizioloških parametara. Postavljanje biosenzora u ljudsko tijelo predstavlja snažnu platformu za kontinuirano praćenje biomarkera. Tetoviranje senzora u tijelo trebalo bi biti minimalno invazivno kako bismo na taj način dobili visokokvalitetne dijagnostičke rezultate u stvarnom vremenu. Minijaturizacija senzora provodi se s ciljem izbjegavanja kirurških zahvata i smanjenja oštećenja tkiva ili nelagode pacijenta prilikom ugradnje. Senzor se ubrizgava iglom za tetoviranje u dermis kako bi mogli pristupiti intersticijskoj tekućini. Postavljanjem biosenzora u kožu dolazi do pojave negativne reakcije na strano tijelo što u konačnici dovodi do kvara senzora, loše biokompatibilnosti i ozljede tkiva. Negativni odgovor ovisi o različitim svojstvima biosenzora: obliku, dimenziji, uzorku, hrapavosti, poroznosti, strukturi, sučelju materijal/uređaj, vremenu umetanja, i sl. Biosenzori se prema mehanizmu dijele na katalitičke biosenzore koji biološki element prepoznavanja transformiraju iz analita u metabolit (npr. enzime, stanice, tkiva) i afinitetne biosenzore kod kojih se analit veže na element biološkog prepoznavanja bez da se mijenja. (slika 3.7.A). Biosenziranje na temelju naljepnica oslanja se na izravnu interakciju između analita i obilježene čestice kroz različite fizikalno-kemijske procese za proizvodnju detektabilnog signala. (Slika 3.8) Fluorofori i fosforescentne molekule neke su od najčešće korištenih naljepnica. Fluorescencija nastaje kada elektron apsorbira foton iz izvora energije i migrira u više elektronsko stanje, energija se tada emitira u obliku fotona kada se elektron vrati u početno stanje stvarajući svjetlost koja se može mjeriti izvana. Sustav za obradu tumači signal koji daje kvalitativne i kvantitativne informacije o ciljanoj molekuli. Fosforescentne molekule nastavljaju otpuštati fotone nakon što izvor upadne svjetlosti prestane, dok fluorofori trebaju stalni izvor energije da bi svijetlili. Fluorofori i fosforescentne molekule mogu biti proteini, peptidi, mali ili organski i anorganski spojevi, sintetski oligomeri i polimeri. Fluorescentni proteini, kao što je žuti fluorescentni protein, pokazuju autofluorescenciju i često se koriste u biološkim slikama. Fluorofori i fosforescentne molekule definirani su valnom duljinom maksimalne apsorpcije i emisije. Energije pobude obično su u UV ili vidljivom spektru dok se energije emisije kreću od vidljive svjetlosti do bliske infracrvene.^[8]



Slika 3.8 Primjer funkcionalizacije na temelju naljepnica tinti za tetoviranje

Tinta za tetoviranje funkcionalizirana je mikročesticama koje proizvode fluorescenciju kada se poveća koncentracija biomarkera u međustaničnoj tekućini^[8]

Tetovirani senzori za praćenje biomarkera u intersticijskoj tekućini obećavajući su pristup poboljšanju kvalitete života pacijenata nudeći alternativu uzorkovanju krvi koja omogućuje kontinuirano praćenje i mogućnost kontrole više od jednog biomarkera što može biti važno u metaboličkim bolestima kao što je dijabetes (Slika 3.9), ali i za kontinuirano praćenje ostalih metabolita. (Slika 3.10).^[8]

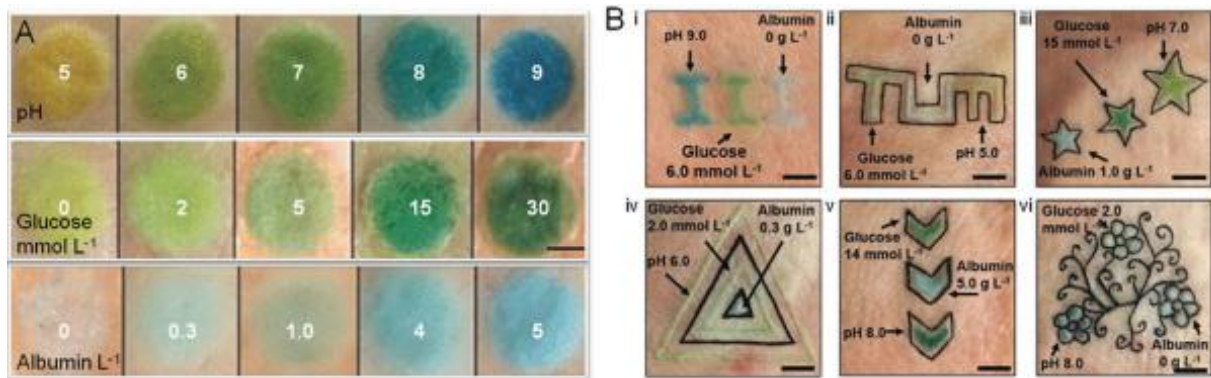


Slika 3.9 Fluorescentne mikrosfere koje se mogu umetnuti za kontinuirani intersticijski nadzor glukoze, adaptirano iz [8]

(A) Shematski dizajn inekcijske mikroznate fluorescentne lampe, intenzitet fluorescencije mikroznata raste proporcionalno sa sadržajem glukoze

(B) Intersticijsko praćenje glukoze u dermi mišjeg uha, razine glukoze unutar normalnog (lijevo) i hiperglikemijski raspon (desno)

(C) Intenzitet fluorescencije prati koncentraciju glukoze u krvi, vremenski odmak uzrokovan je vremenom potrebnim za izjednačenje koncentracija glukoze u intersticijskoj tekućini s koncentracijom glukoze u krvi.

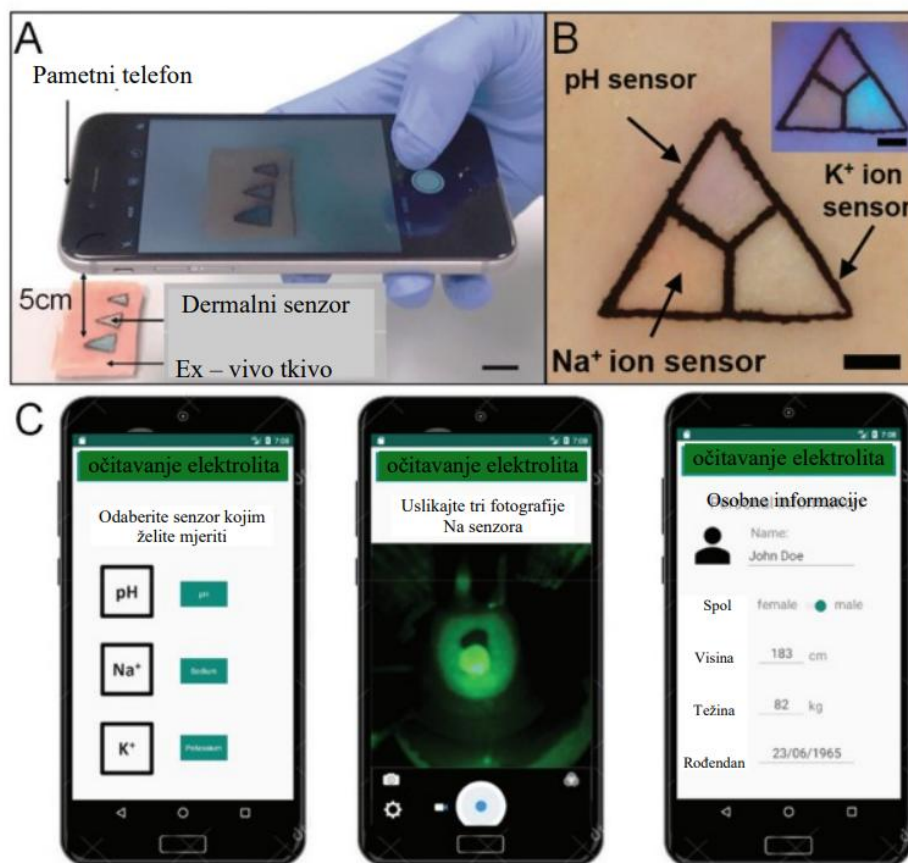


Slika 3.10 Biosenzori za kolorimetrijsku detekciju metabolita

(A) Tetovirani biosenzori za detekciju pH, glukoze i albumina

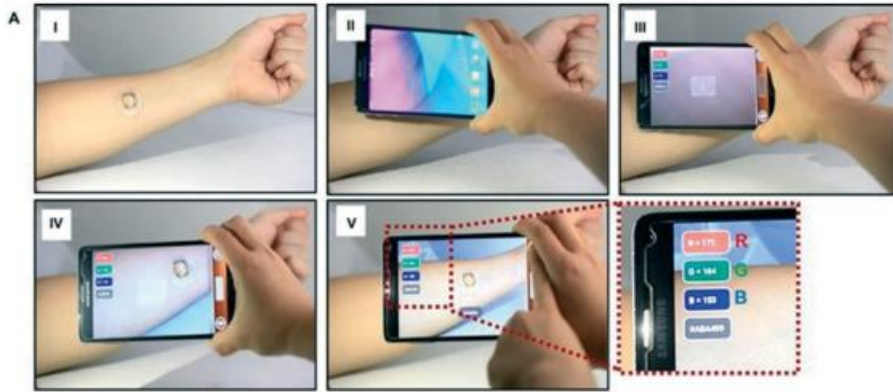
(B) Kolorimetrijska očitavanja u: i) alkaloziji, ii) metaboličkoj acidozi, iii) hiperglikemiji, iv) hipoglikemiji, v) hipoalbuminemiji, i vi) istodobno razvijena hipoglikemija i respiratorna alkalozija na uzorku svinjske kože^[8]

Prednost optičkog biosenziranja jest jednostavnost prikupljanja podataka. Kvantitativne zapise dermalnih senzora odnosno tetovaža na koži možemo prikupiti kamerom pametnog telefona (Slika 3.11.A). U slučaju multipliciranih tetovaža svaki se dio posebno fotografira (Slika 3.11.B). Mobilna aplikacija omogućuje tumačenje i pohranjivanje izmjenjenih podataka i poboljšanje komunikacije između liječnika i pacijenta.(Slika 3.11.C). Nosivi senzori s optičkim mogućnostima mogu se koristiti u kombinaciji s optičkim funkcionaliziranim tetovažama.^[31]



Slika 3.11 Proces očitavanja multipleksiranog tetoviranog optičkog senzora, adaptirano iz [8]

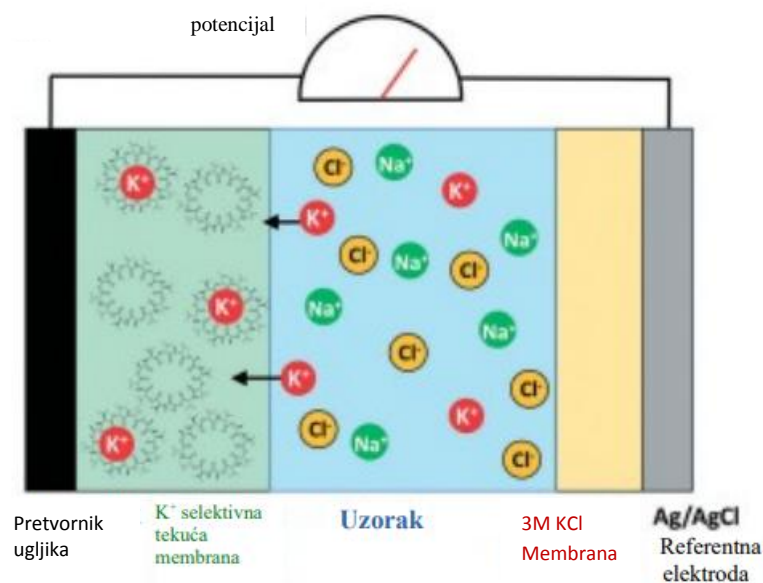
- (A) Kvantitativna očitavanja pomoću kamere pametnog telefona
- (B) Multipleksirana tetovaža sa fluorescentnim sensorima: pH-senzor, natrijev senzor i kalijev senzor, tetovaža pod normalnim i LED svjetlom
- (C) Snimke zaslona aplikacije za pametne telefone koja se koriste za brzo otkrivanje i dijagnozu, prikazuje odabir tipa senzora (lijevo), prikaz ispitnih uzoraka (u sredini) te kvantitativne i dijagnostičke podatke o korisniku (desno)



Slika 3.12 Sučelje za pametni telefon i pristup obradi slike^[18]

3.3 Tetovaža kao potenciometrijski senzor

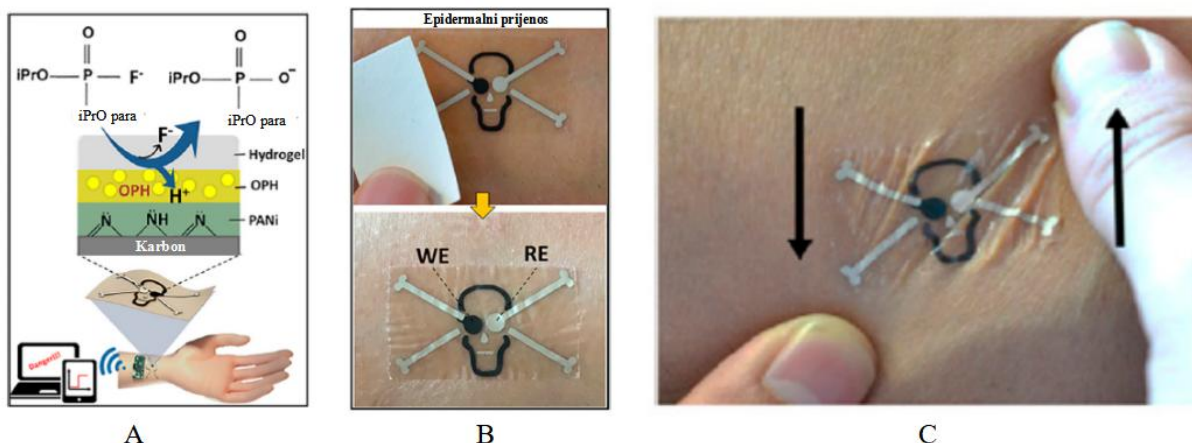
Ljudski znoj sadrži brojne ione čija koncentracija daje vitalne informacije o zdravlju pojedinca kao i njegovoj okolini. Na primjer, praćenje razine natrija u znoju otkriva neuravnoteženost elektrolita i koristi se za otkrivanje cistične fibroze. Koncentracija kalcija u znoju koristi se kao pokazatelj gubitka minerala u kostima kosti kod sportaša tijekom tjelesnih aktivnosti kao i kod pacijenata s osteoporozom. pH ljudskog znoja izvrstan je parametar za praćenje cjelokupnog zdravstvenog stanja kože i dehidracije. Istraživanja su pokazala da se razine amonijeva iona u ljudskom znoju mogu smatrati pokazateljem fizičkog stresa. Znoj je također pogodan za praćenje prisutnosti teških metala u ljudskom tijelu što može pridonijeti bioakumulaciji toksičnih metala u tragovima koji ulaze u tijelo kroz hranidbeni lanac ili dišni put. Do sada razvijeni dijagnostički alati otkrivaju specifične ione optički ili elektrokemijski. Poželjan je razvoj tehnika visoke preciznosti kako bismo dobili točne vrijednosti koncentracije. Elektrokemijska mjerenja oslanjaju se na ion-selektivne potenciometrijske senzore. (Slika 3.13) Klasični potenciometrijski senzori sastoje se od indikatorske i referentne elektrode temeljene na spoju tekućine. Tekućinski spoj je važan za dobivanje stabilnog i ponovljivog potencijala i na referentnoj i na indikatorskoj elektrodi, ali potenciometrijski senzori koji se temelje na spoju tekućine nisu poželjni za nosive senzore jer je curenje otopine štetno za performanse elektrode i uzrokuje smetnje korisniku. Klasični potenciometrijski senzori konstruirani su od krutih materijala (npr. staklo, polimeri, itd.) koji nisu u skladu s elastičnom prirodom ljudske kože što ih čini neugodnima za nošenje.^[31] Signal se mjeri kao razlika potencijala između radne elektrode i referentne elektrode. Najvažnija komponenta potenciometrijskog senzora je elektroda obložena membranom koja selektivno propušta samo jednu ionsku vrstu koja zatim dominira signalom napona.^[8]



Slika 3.13 Potenciometrijski senzor^[13]

Prevlaka PVC membrane koja je ugrađena s natrijevim ionoforom-X selektivno popušta samo Na^+ ione dok membrana ugrađena s valinomicinom selektivno dopušta prolaz K^+ iona. Što je veća koncentracija iona u otopini, to će veći broj iona difundirati u membranu i na elektrodu. Budući da samo kationi prolaze u membranu (Na^+ ili K^+) rezultat je nakupljanje električnog potencijala odnosno napona preko membrane. Napon je teoretski ovisan o logaritmu ionske aktivnosti.^[13]

Razvijen je nosivi potenciometrijski biosenzor za praćenje različitih toksina poput organofosfata. Kao model korišten je diizopropil fluorofosfat. Načelo detekcije oslanjalo se na upotrebu polianilina kao pH-osjetljivog sloja za praćenje enzimatske hidrolize diizopropil fluorofosfata pomoću enzima organofosfat hidrolaze.(Slika 3.14.A) Elektrode su ispisane sitotiskom na papiru za tetoviranje (Slika 3.14.B,C) i zatim spojene na fleksibilno elektroničko sučelje za bežični prijenos podataka.(Slika 3.14).^[32]



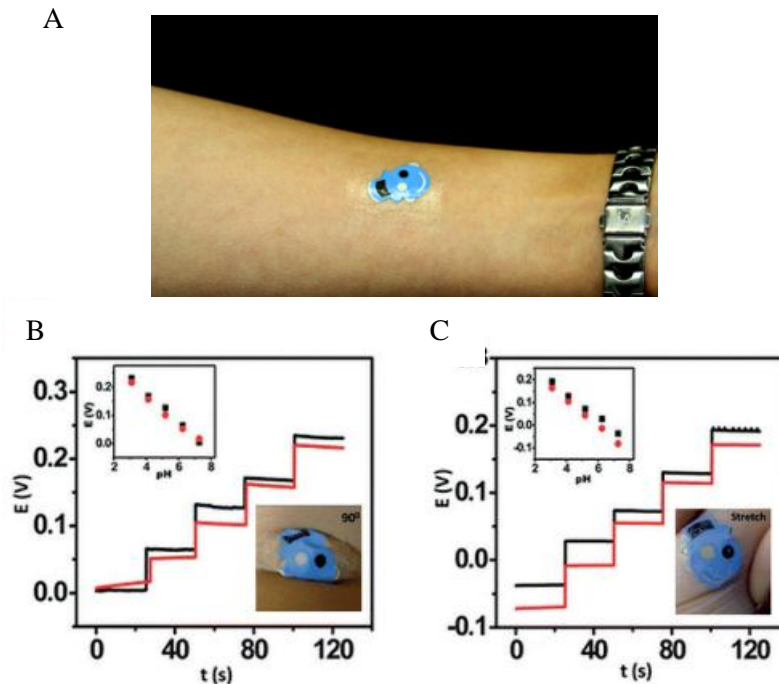
Slika 3.14 ^[32]

- (A) Shema radnog mehanizma potenciometrijskog senzora za tetoviranje pokazuje hidrolizu organofosfata na OPH-modificiranoj elektrodi. Protoni se oslobađaju i protoniraju sloj polianilina, a podaci se prenose bežično. Ag/AgCl referentna elektroda zaštićena je polivinilbenzenskom membranom koja sadrži NaCl
- (B) Prijenos senzora na kožu
- (C) Otpornost tetovaže na mehaničko opterećenje

3.3.1 Tetovaža kao pH senzor

pH senzor za tetoviranje ima estetski dizajn "Smiley Face"-a odnosno „Smajličić“-a i dobiven je metodom sitotiska. (Slika 3.14.A) Dva oka "Smajličića" ispisana su karbonskim i Ag/AgCl tintama i djeluju kao indikatorska i referentna elektroda. Kontaktne pločice za elektroničko očitavanje izvedene su u obliku dva uha. Biokompatibilnost je važan preduvjet koji svaka komponenta nosivog uređaja mora zadovoljiti. Polianilin se široko koristi za inženjerstvo tkiva, a obzirom da je vodljivost polianilina u korelaciji s koncentracijom protona koristi se za izradu pH senzora. Polianilin s kontroliranom debljinom i morfologijom može se lako dobiti na površinama elektroda tehnikom elektrokemijske polimerizacije. Polianilin je stoga odabran kao komponenta koja reagira na pH tijekom izrade pH senzora. Ag/AgCl elektroda stabilizirana je izolatorskim slojem zasićenim sa KCl-om. Visoka koncentracija kloridnog iona unutar izolatorskog sloja osigurava stabilnost referentne elektrode bez obzira na sastav analita. pH vrijednosti ljudskog znoja mijenjaju se s vremenom i ovise o razini hidracije i intenzitetu tjelesne aktivnosti stoga pH tetovaža mora moći mjeriti takve prolazne varijacije. Sposobnost pH senzora ispitana je pomoću studije histereze koja je otkrila da tetovaža gotovo konstantno reagira na promjene. Dokazano je da pH senzor može brzo mjeriti

dinamičke promjene bez efekta pamćenja. Senzor je bio podvrgnut ponovnom savijanju i istezanju, a rezultati su pokazali da je utjecaj mehaničkih deformacija zanemariv. (Slika 3.14.B,C) Odgovor zabilježen pH tetovažom dobro je odgovarao pH vrijednostima koje su zabilježene komercijalnim pH metrom.^[31]



Slika 3.15^[31]

(A) pH senzor dizajniran kao „Smajlic”

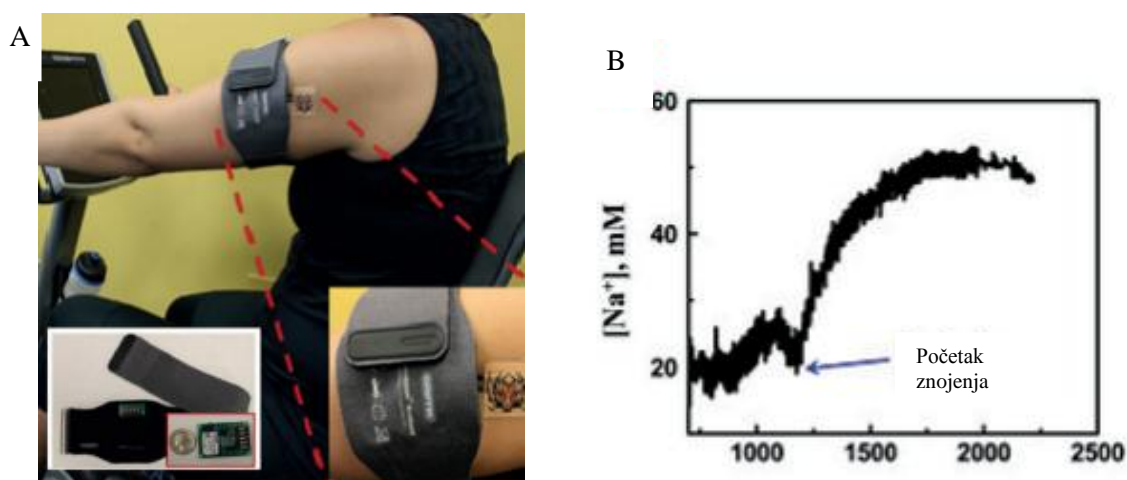
(B) Odziv pH senzora tetovaže na ponovno savijanje, prikazana je savijena tetovaža

(C) Odgovor senzora pH tetovaže na ponovljeno istezanje, prikazana je istegnuta tetovaža^[31]

3.3.2 Tetovaža kao senzor za natrijeve ione

Važnost kontinuiranog praćenja razine natrijevih iona u znoju dovodi do razvoja tetovaže kao senzora koji može obavijestiti korisnika o neravnoteži elektrolita na neinvazivan način. Natrijev senzor proizveden je lijevanjem polivinilkloridne membrane koja sadrži visoko selektivan natrijev ionofor X.^[33] Stabilna referentna elektroda dobivena je tehnikom koja se sastoji od presvlačenja Ag/AgCl elektrode slojem polivinil butiral membrane zasićene NaCl-om. Senzor se sastoji i od nosivog Bluetooth primopredajnika koji prikuplja i bežično prenosi informacije u stvarnom vremenu od senzora do bilo kojeg pametnog telefona ili prijenosnog računala. Podaci su dijeljeni u intervalima od 1 s. Tlačni konektor s oprugom korišten je za povezivanje sa senzorom koje se sastojao od fleksibilnih pravokutnih konektora temeljenih na PET-u koji mogu smanjiti razinu buke i jednostavno se povezati s tlačnim

konektorom primopredajnika za snimanje podataka.(Slika 3.15) Usvojen je standardni protokol izrade koji je kombinirao laser i metodu sitotisaka kako bi se dobili senzori koji mogu imati bilo koji dizajn koji nositelj želi. Kontinuirani protok znoja prema površini senzora ključan je za analizu znoja u stvarnom vremenu, a to je postignuto ugradnjom fluidnog kanala od celuloznog acetata i fluidnih stijenki za usmjereni protok znoja. Ispitani su učinci pamćenja, temperature i starenja. Posebna je pažnja posvećena proučavanju učinka mehaničkog naprezanja na senzore uzastopnim savijanjem i rastezanjem pomoću stroja za ispitivanje vlačne čvrstoće te je dokazano da imaju zanemariv učinak na odziv samog senzora.^[31]



Slika 3.16^[31]

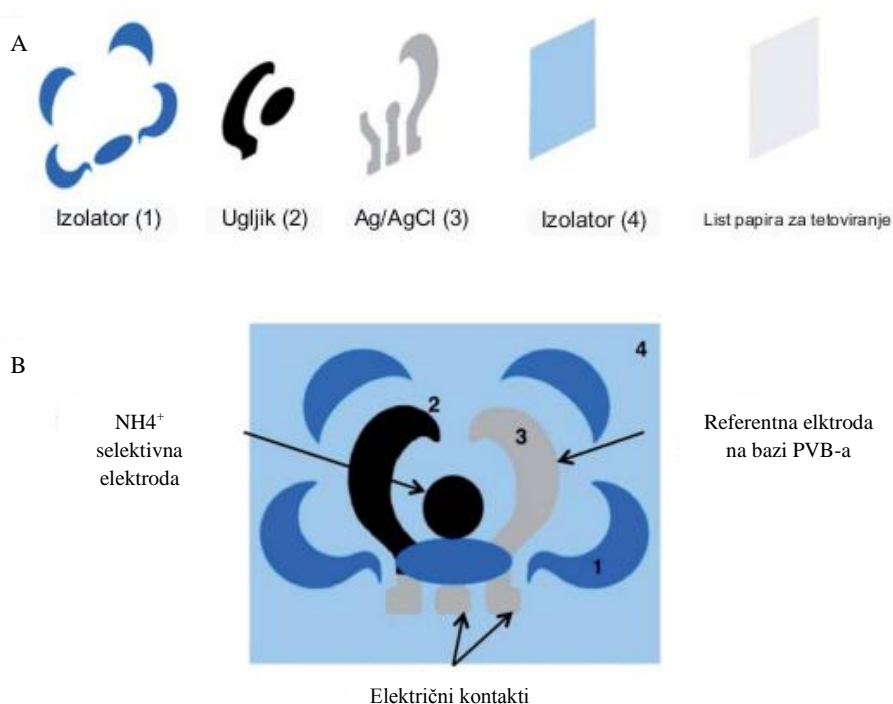
(A) Natrijev senzor (desni donji umetak) zajedno s nosivim bežičnim pretvaračem (lijevi donji umetak)

(B) Profil koncentracije natrija u stvarnom vremenu u znoju praćen natrijevim senzorom

3.3.3 Tetovaža kao senzor za amonijeve ione

Amonij je prisutan u krvi kao rezultat razgradnje proteina što znači da određivanje razine ovog kationa u plazmi pruža informacije povezane s metaboličkim stanjem, prehrambenim navikama ili neispravnostima u jetri. Tijekom vježbanja, na primjer, koncentracija amonija varira tijekom prelaska iz aerobnog u anaerobno stanje.^{[34],[35]} Senzor je otisnut na papiru za tetoviranje u obliku "cvijeta s dvije laticе". Latica Ag/AgCl je referentna elektroda, a ugljični prašnik je indikatorska amonijeva elektroda. Plave čašice na bazi izolatora dodane su dizajnu kako bi se poboljšala estetika senzora. Amonijeva elektroda razvijena je lijevanjem polivinilkloridne membrane na bazi nonaktina na karbonsku elektrodu, dok je referentna elektroda dodatno prevučena slojem polivinil butiral membrane zasićene NaCl-om.. Slično

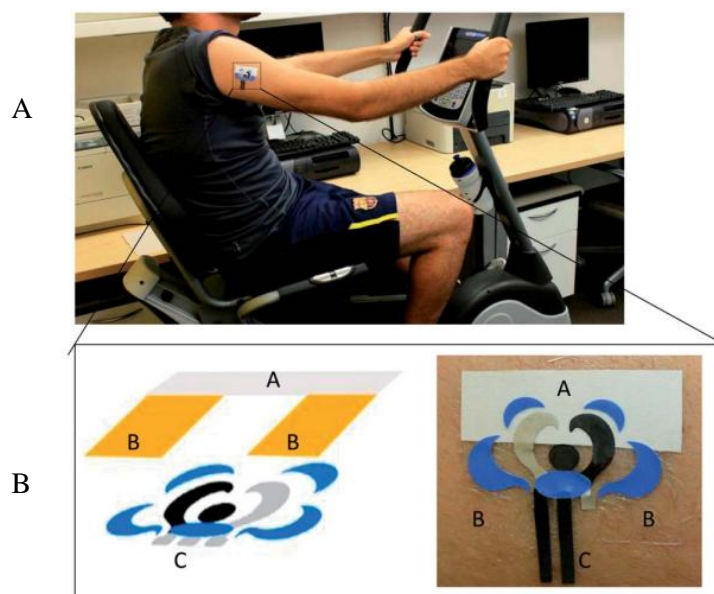
natrijevom senzoru, fluidni kanal ugrađen je u uređaj za usmjereni protok znoja preko površine senzora. (Slika 3.16) Mjeren je odgovor tetovaže za različite razine amonija, a rezultat je minimalna histereza. Ponovljene mehaničke deformacije senzora također su imale zanemariv učinak na odziv.^[31]

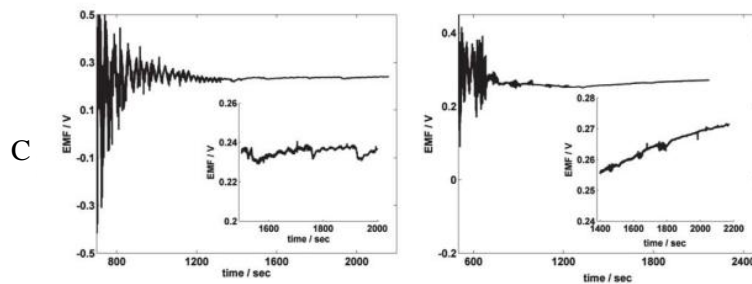


Slika 3.17 Izrada potencimetrijskog senzora sloj po sloj^[36]

(A) Proces počinje dodavanjem sloja za oslobađanje na list papira za tetoviranje, Ag/AgCl, ugljik i izolacijski slojevi ispisani su sitotiskom na sloj za odvajanje kako bi se dobila tetovaža cvijeta

(B) Referentna i ion-selektivna membrana nataložene su na područje elektroda





Slika 3.18 Mjerenja amonija na tijelu ^[36]

(A) Osjetljiva tetovaža postavljena na rame

(B) Konačni dizajn tetovaže kako bi se olakšao put kojim znoj može teći, lijevo: shema izrade: A je filter papir; B je kapton a C veze, desno: pregled tetovaže postavljene na kožu: A

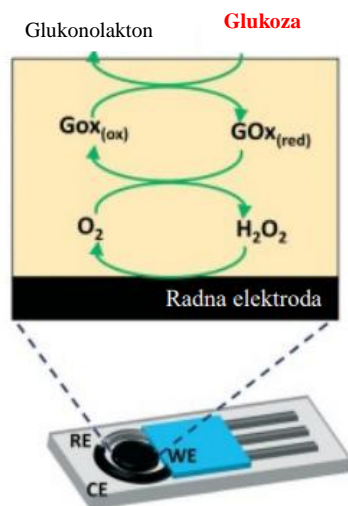
je filter papir, B je kapton (proziran) i C je veza (PET – ugljik)

(C) Podaci u stvarnom vremenu, stabilni odjeljak odgovara početku znojenja volontera

Lijevo: volonter samo povećava opterećenje, desno: volonter trči svakih 5 minuta

3.4 Tetovaže kao amperometrijski senzori

Amperometrijski senzori uključuju procese prijenosa elektrona preko sučelja elektroda/otopina i oslanjaju se na mjerenje strujnog signala kada se narine potencijal između radne i referentne elektrode. Primijenjeni potencijal koristi se za pokretanje reakcije prijenosa elektrona željenog analita dok je rezultirajući strujni signal proporcionalan koncentraciji analita. Amperometrijski senzori sadrže imobilizirane enzime kao elemente biološkog prepoznavanja koji selektivno kataliziraju analite u znoju i proizvode električni signal. Na primjer, s glukoznom elektrodom, glukoza reagira s imobiliziranim enzimom glukoza oksidazom, a struja se kao odgovor povezan s ovom reakcijom (ili produktom reakcije) može mjeriti u obliku električne struje. Ion-selektivne i amperometrijske elektrode ograničene su na milimolarne koncentracije iona i mikro-molarne ili veće raspone metabolita što je daleko manje od spektra analita koji postoje u biotekućinama.^{[13],[31]}

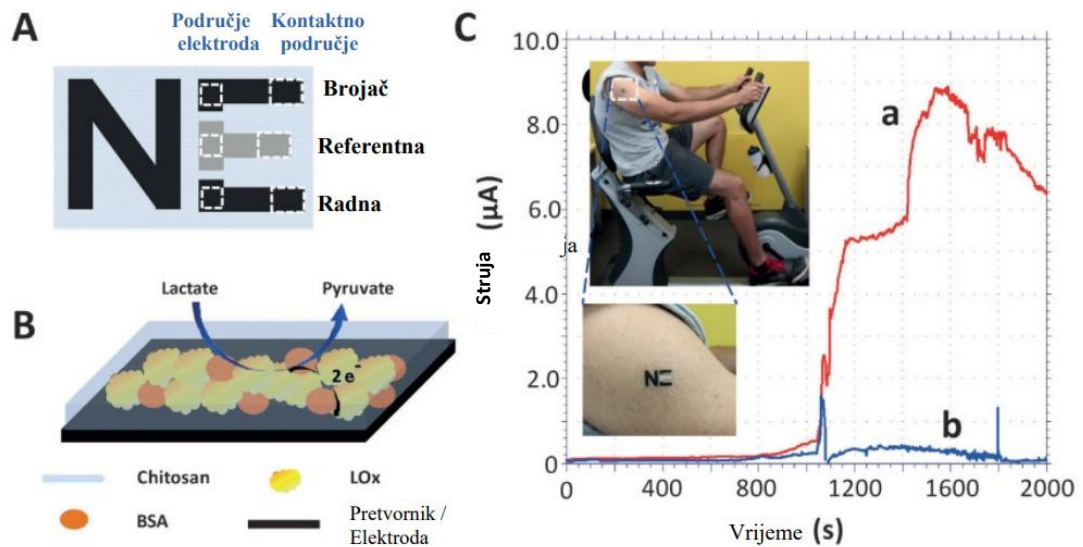


Slika 3.19^[13]

(A) enzimsko – amperometrijsko mjerenje: RE referentna elektroda, CE protuelektroda, a WE radna elektroda

Laktat, biomarker oksigenacije tkiva, mjeri se za praćenje performansi sportaša.^[37] Laktat nastaje prelaskom iz aerobnog u anaerobno stanje prilikom čega dolazi do povećanja njegove razine u krvi.^[38] Klasična metoda određivanja koncentracije laktata u krvi sastoji se od vađenja krvi iz prsta. Znanstvenici su nastojali dizajnirati "NE" biosenzor za mjerenje laktata (Slika 3.19.A) koji će dati uvid u vremensku dinamiku koncentracije laktata u znoju na potpuno neinvazivan način bez ponavljajućeg vađenja krvi. Epidermalni laktatni biosenzor proizveden je laktat oksidazom posredovan ugljičnom tetratiafulvalenom nanocijevi kao slojem za prepoznavanje i prekrivenim biokompatibilnim kitozanskim slojem koji funkcionira kao fizička barijera ograničavajući istjecanje katalitičke okosnice iz tetovaže. Laktatni biosenzor radi na vrlo niskom potencijalu od +0,05 V za kronoamperometrijsko određivanje laktata i ima linearni raspon do 20 mM. Senzor je podvrgnut mehaničkom naprezanju i rezultati su pokazali da senzor vrlo dobro podnosi istezanje i savijanje te su mehaničke deformacije zanemarive. Tijekom određivanja koncentracije laktata u znoju reakcije ostalih analita poput askorbinske kiseline, mokraćne kiseline, glukoze i kreatinina bile su zanemarive u usporedbi s reakcijama laktata. Laktatni biosenzor testiran je na ljudskoj koži i snimljeni su odgovarajući profili laktata. (Slika 3.19.C) Simultana procjena pomoću kontrolnih epidermalnih senzora za tetoviranje bez LOx enzima potvrdila je visoku specifičnost što znači da nova nosiva platforma laktatnog biosenzora vrlo dobro funkcionira u "stvarnosti". Daljnji

razvoj usmjeren je na minijaturizaciju i integraciju elektroničkog sučelja, obradu podataka i bežični prijenos rezultata.^[31]



Slika 3.20^[39]

(A) Shematski prikaz "NE" biosenzora s tri elektrode za elektrokemijsko epidermalno praćenje laktata

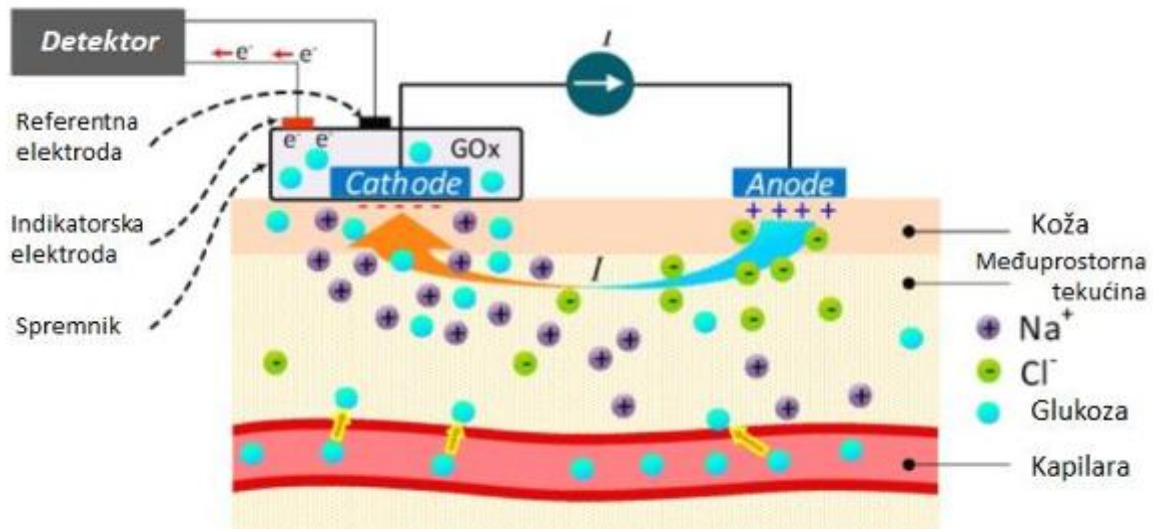
(B) Sastojci sloja reagensa radne elektrode presvučene biokompatibilnim polimerom (kitozonom)

(C) Odgovor od LOx- (a) i biosenzor tetovaže bez enzima (b) tijekom režima vježbanja^[39]

3.5 Senzor za mjerenje glukoze

Šećerna bolest ili dijabetes je kronična bolest u kojoj su razine glukoze (šećera) u krvi povišene. Većina hrane koju jedemo pretvara se u glukozu koju naš organizam koristi za energiju što znači da dijabetičari moraju kontinuirano pratiti razinu glukoze u krvi. Mjerači glukoze u krvi prisutni su na tržištu više od 30 godina, a danas su dostupni i nosivi uređaji za kontinuirano praćenje glukoze (Dexcom G5, Abbott Diabetes Care, Medtronic Enlite). Svi se ovi uređaji oslanjaju na potkožne igle u kontaktu s intersticijskom tekućinom. Ugrađene su na maksimalno 2 tjedna te sadrže amperometrijske enzimске elektrode. Pouzdani su, ali prisutnost igala čini te sustave invazivnima što je glavni razlog razvoja neinvazivnih tehnika za praćenje razine glukoze u znoju. Razina glukoze u intersticijskoj tekućini vrlo je slična razini glukoze u krvi. Za pristup intersticijskoj tekućini kože bez igala ili mikroiglica korištena je reverzna iontoforeza. GlucoWatch koristio je tehniku reverzne iontoforeze.

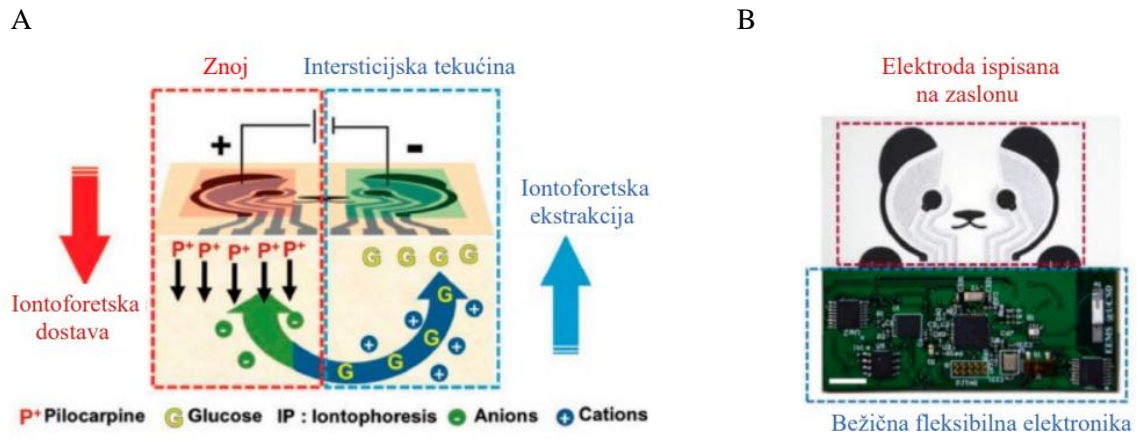
Senzor je bio robustan, sposoban za kontinuirano praćenje i vrlo je dobro radio u stvarnim uvjetima, ali ozljede kože pojavile su se nakon ponovljene uporabe, zbog procesa iontoforeze koji se ponavlja mnogo puta na istom mjestu.^[40]



Slika 3.21 Princip obrnute iontoforeze za mjerenje razine glukoze, adaptirano iz [41]

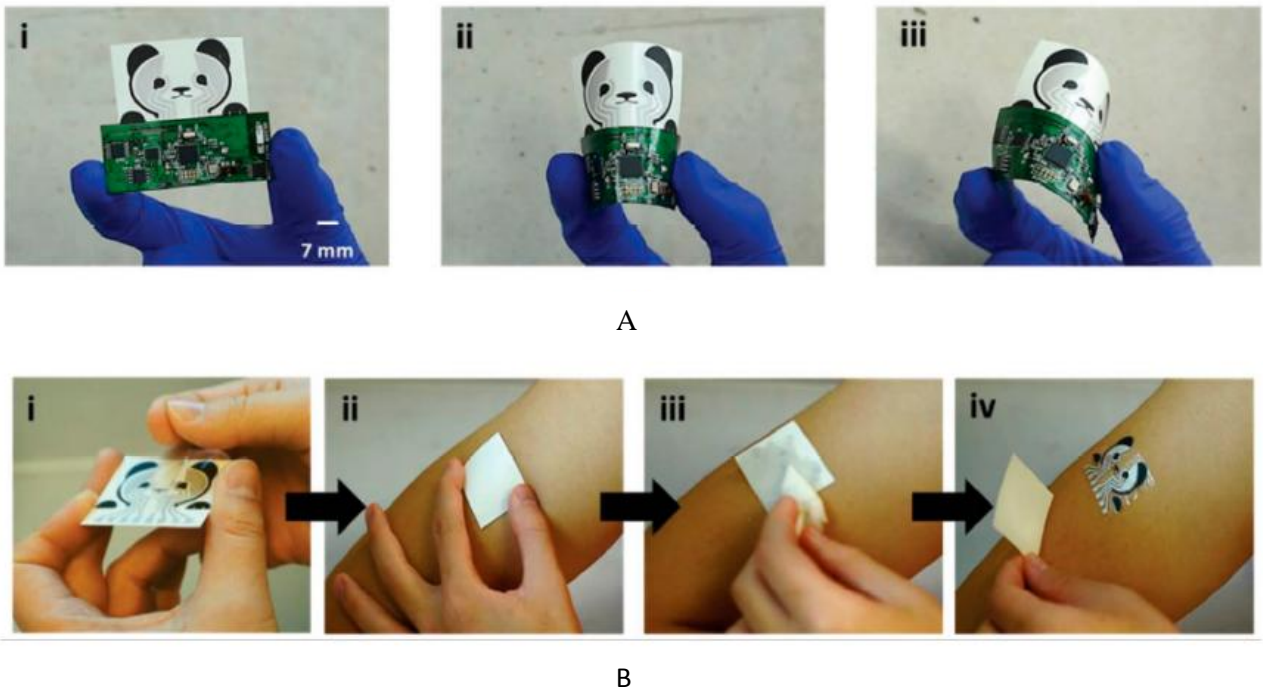
Električni potencijal narinut između elektroda uzrokuje migraciju iona natrija i klora od prostora ispod površine kože prema katodi i anodi. Struju generiraju ioni natrija uzrokujući elektro-osmotski tok unutarstanične tekućine koja sa sobom nosi molekule glukoze prema katodi. Na katodi se nalazi glukozni senzor koji mjeri koncentraciju glukoze direktno enzimatskom metodom, kao što je na primjer oksidacijom s enzimom - glukoza oksidaza (GOx).^[41]

Najuvjerljivije postignuće u području elektrokemijske flasterske i iontoforetske ekstrakcije intersticijske tekućine jest senzor "Panda" koji se temelji na stimulaciji znojenja putem iontoforetske isporuke pilokarpina i iontoforetske ekstrakcije intersticijske tekućine.(Slika 3.22). Performanse su potvrđene u stvarnim uvjetima prikupljanjem svježeg znoja volontera koji su konzumirali hranu i alkoholna pića. Osim glukoze, autori su mjerili i etanol. Elektrode su bile konvencionalne amperometrijske i princip transdukcije bio je sličan za obje.^[40]



Slika 3.22 ^[40]

(A) Shema iontoforetske isporuke pilokarpina i iontoforetske ekstrakcije glukoze
 (B) Biosenzor napravljen metodom sitotiska spojen s bežičnom fleksibilnom tiskanom pločicom, lijeva strana posvećena je detekciji alkohola, desna strana detekciji glukoze

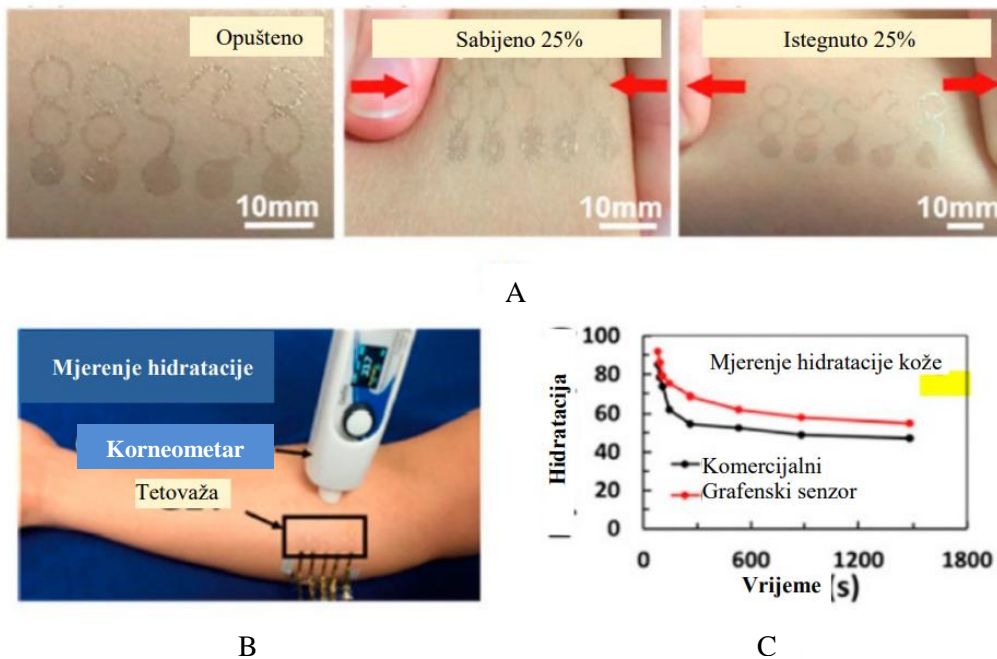


Slika 3.23 ^[40]

(A) Demonstracija fleksibilnosti cjelokupnog senzora (ploča + senzor)
 (B) Tetoviranje senzora

3.6 Senzor za mjerenje hidratacije kože

Mjerenje hidratacije kože vrlo je važno jer hidratacija utječe na funkcije kože kao što su mehanička otpornost i barijere funkcije. Hidratacija kože utječe na isporuku lijeka kroz kožu, a samim time i na učinkovitost kemijskih kožnih senzora. Hidratacija kože procjenjuje se mjerenjem impedancije na temelju kapacitivnosti ili vodljivosti pomoću komercijalnog uređaja za mjerenje hidratacije kože, korneometra, ali može se procijeniti i putem koncentracije elektrolita u znoju što pruža mogućnost razvoja neinvazivnih senzora. Znanstvenici su patentirali kožni senzor nalik tetovaži s grafenskim elektrodama debljine ispod 1 mikrometra u obliku serpentina. (Slika 3.24.A) Elektrode su izravno tetovirane na kožu premazane tekućim premazom ostale funkcionalne nekoliko dana. Vlažnost je mjerena električnom impedancijom između dvije tetovirane elektrode, a vrijednosti su bile u skladu sa medicinskim srebrnim/srebro-kloridnim (Ag/AgCl) gel elektrodama koje su se koristile do sada. ^[40]

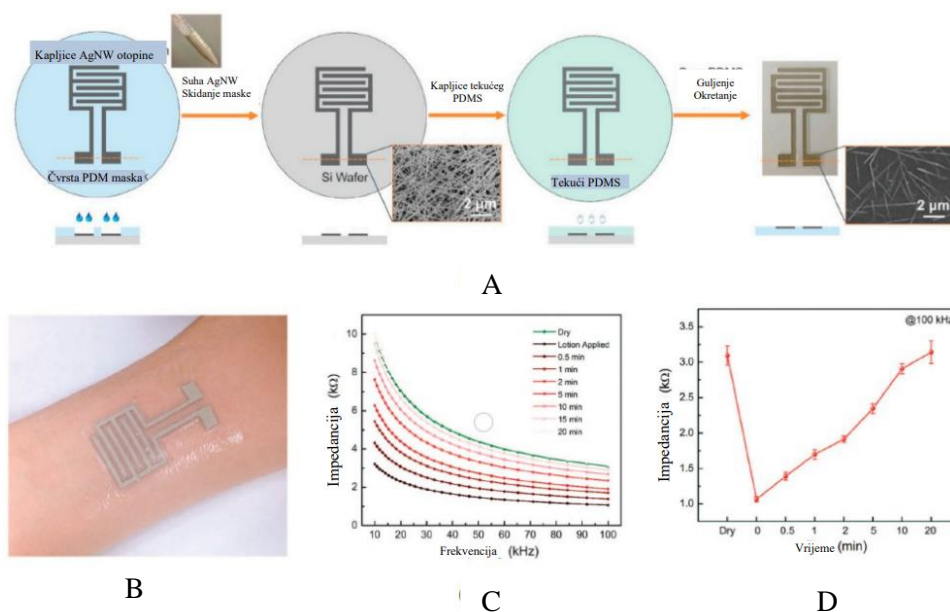


Slika 3.24^[40]

- (A) Elektronička tetovaža na bazi grafena postavljena na kožu
- (B) Demonstracija senzora grafenske elektronske tetovaže kao senzora hidratacije kože u usporedbi s komercijalnim korneometrom

(C) Hidratacija kože nakon nanošenja losiona za tijelo mjereno pomoću senzora vlažnosti na bazi grafena i komercijalnog korneometra

Elektronička tetovaža izravno ispisana tintom od srebrne nanožice potpuno je prilagođeni senzor hidratacije kože koji mjerenje osniva na mjerenju ukupne impedancije. Senzor je izrađen na bazi srebrnih nanožica (AgNW), nanomaterijala koji ima smanjenu citotoksičnost u odnosu na nanočestice srebra istog promjera. Vodljive mreže srebrnih nanožica mogu se stvoriti uz minimalnu naknadnu obradu na relativno niskim temperaturama. Za izradu ovog senzora korištene su dvije interdigitirane srebrne elektrode napravljene od Ag tinte srebrnih nanožica ugrađenih u polidimetilsiloksan matricu. (Slika 3.25.A) Senzor hidratacije kalibriran je prema sustavu hidratacije kože i nalazi se unutar fleksibilne narukvice zajedno s minijaturiziranim čipom za analizu, malom baterijom i Bluetooth čipom za prijenos podataka.^[40]



Slika 3.25^[40]

(A) Izrada senzora na bazi srebrnih nanožica (AgNW), s AgNW mrežom prije ugradnje u polidimetilsiloksan (lijeva SEM slika) i nakon ugradnje (desna SEM slika)

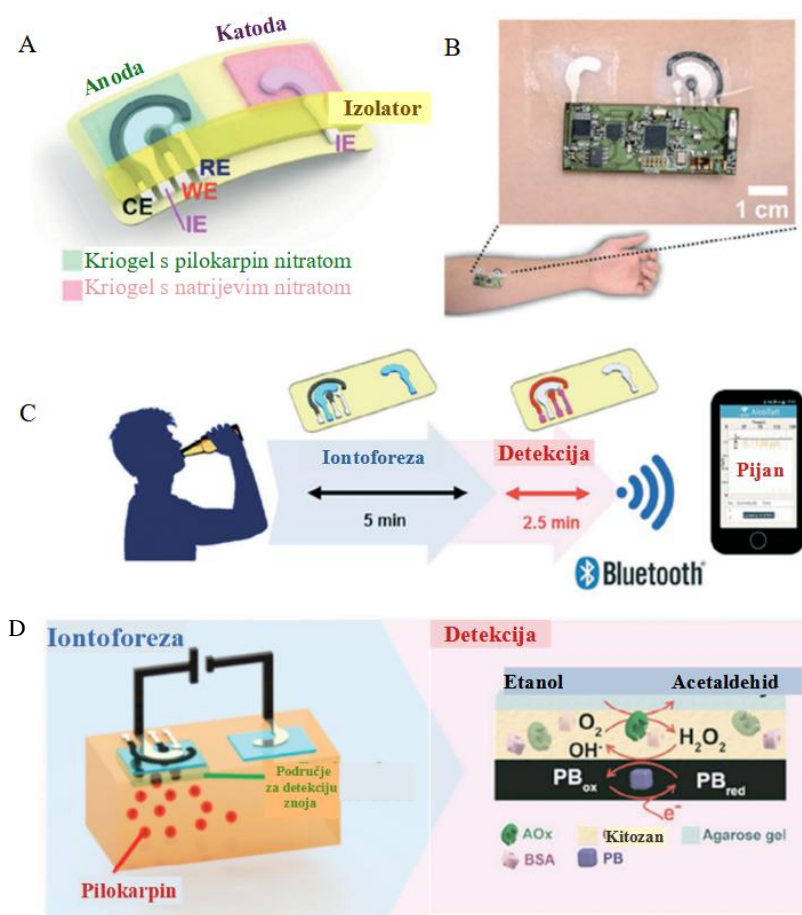
(B) Slika AgNW flastera postavljenog na unutarnju stranu podlaktice

(C) Promjene impedancije u odnosu na stvarnu ljudsku kožu prije i nakon nanošenja hidratantnog losiona

(D) Impedancija kože izdvojena iz (C), na 100 kHz prije i nakon nanošenja

3.7 Tetovaže kao transdermalni senzor za mjerenje alkohola

Tetovaža kao transdermalni senzor za alkohol prati koncentraciju alkohola u znoju i testiran je izravno na koži u stvarnim uvjetima. (Slika 3.25) U senzoru je integriran iontoforetski dio, amperometrijski senzorski dio i fleksibilna bežična elektronika. Iontoforeza se koristi za isporuku pilokarpina koji inducira proizvodnju znoja, etanol je detektiran korištenjem alkohol-oksidadaze prusko plavom elektrodom. Eksperimenti na tijelu pokazali su povećanje razine etanola nakon uzimanja alkohola. Integrirana elektronička ploča kontrolira rad iontoforeze i amperometrije, a podatci se prenose bežično putem Bluetootha. (Slika 3.26)^[13]



Slika 3.26 Tetovaža kao transdermalni senzor za mjerenje alkohola, adaptirano iz [13]

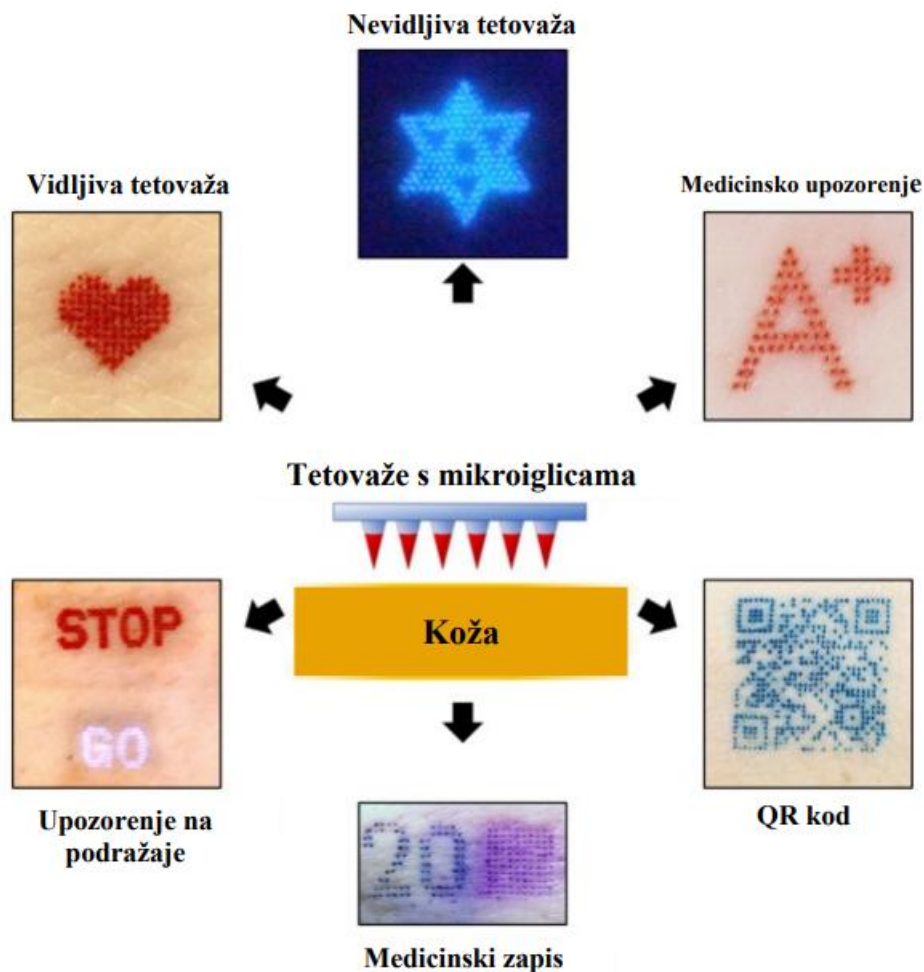
(A) Shematski dijagram uređaja za tetoviranje s iontoforetskim senzorskim dijelom, koji sadrži iontoforetske elektrode (IE; anoda i katoda) i tri senzorske elektrode (radna, referentna i protuelektroda: WE, RE i CE)

(B) Iontoforetskim senzorom alkohola s integriranom fleksibilnom elektronikom

(C) Shematski dijagram bežičnog rada senzora

(D) Shematski dijagram sastojaka iontoforetskog sustava (lijevo) i sloja reagensa te procesa uključenih u amperometrijsko očitavanje etanola na radna elektroda (desno)

3.8 Tetovaže s mikroiglicama

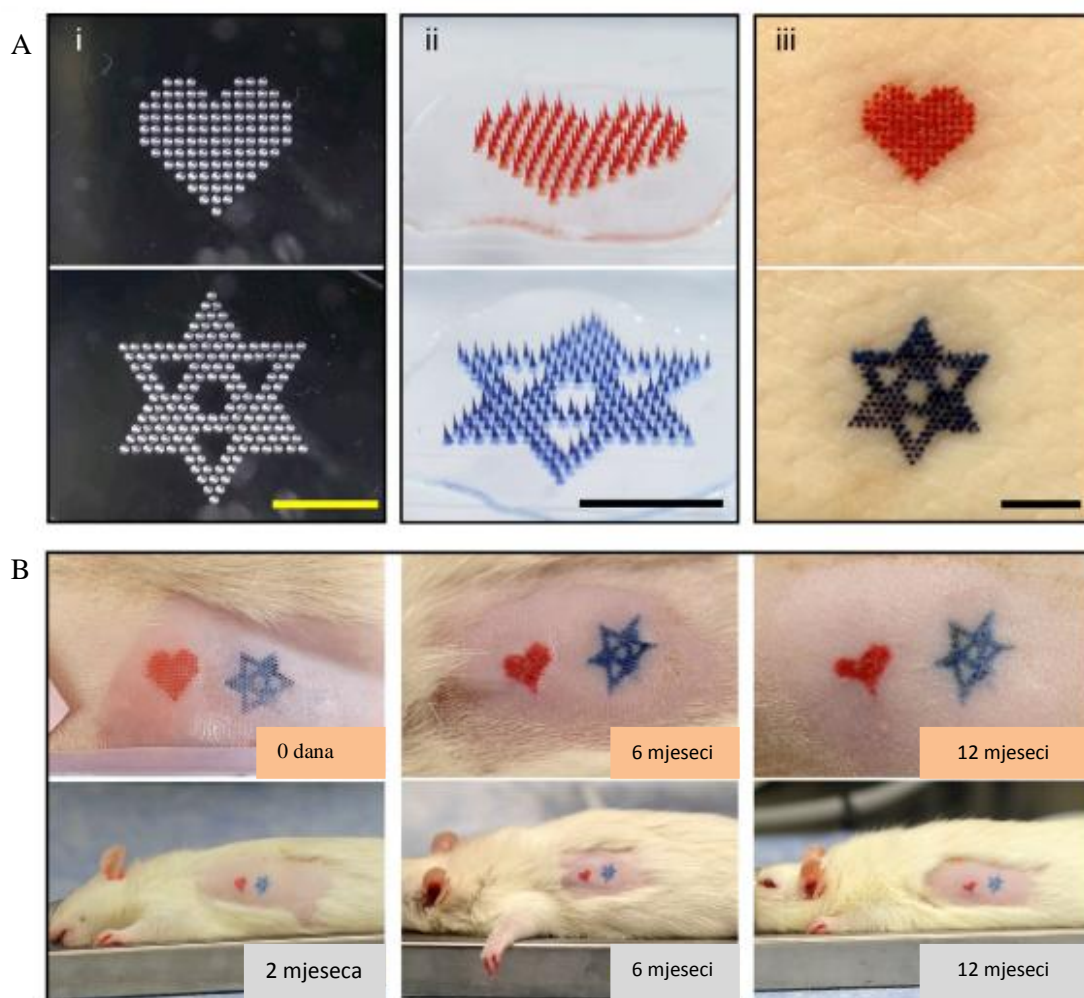


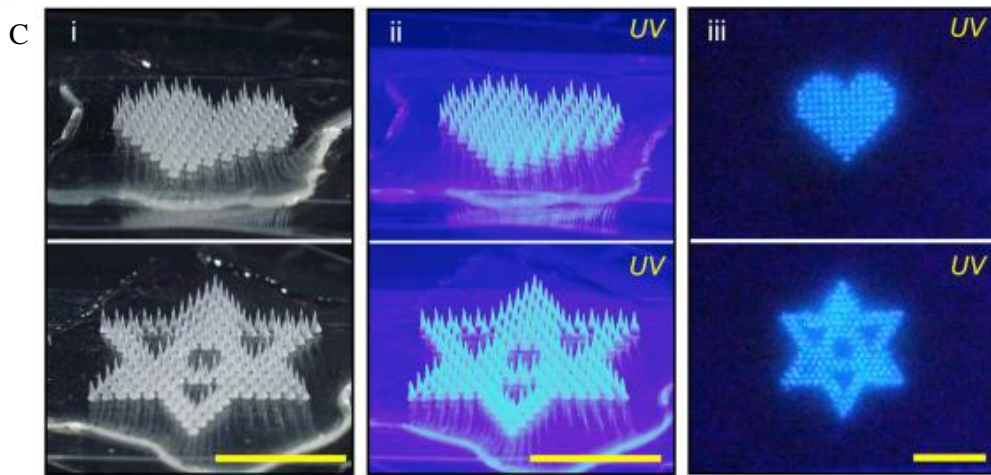
Slika 3.27 Tetovaže s mikroiglicama^[42]

Flasteri s mikroiglicama za jednokratnu upotrebu razvijeni su i koriste se za postavljanje tetovaža na kožu na jednostavan, brz i bezbolan način bez biološki opasnog otpada od oštih predmeta. Tetovaže s mikroiglicama dizajnirane su u obliku brojeva, slova, simbola i QR kodova. Razvijene su tetovaže u boji i tetovaže vidljive samo uz UV osvjetljenje. Tetovaže nastale mikroiglicama mogu bilježiti medicinska stanja kao što su upozorenja za dijabetičare i status cijepljenja, a reagiraju i na biofizičke znakove.

Flasteri sa mikroiglicama za isporuku lijeka nalaze se u obliku kvadratnog ili kružnog niza. Mikroigličasti flasteri napravljeni su pomoću CO₂ laserskog rezača za bušenje stožastih šupljina u pločama od polidimetilsiloksana. Flasteri su dizajnirani na način da se svaka mikroiglica ponaša kao piksel ili točka i zajedno stvaraju oblik odnosno sliku tetovaže. Tetovaža s mikroiglicama napravljena je od mješavine čestica tinte za tetoviranje i

biokompatibilnog polimera topljivog u vodi. Demonstracija su kalupi u obliku srca i simbola šesterokutne zvijezde (Slika 3.28) korišteni za izradu mikroigličastih flastera koji sadrže tintu za tetoviranje u istom uzorku. Pritiskom na kožu mikroiglice talože tintu u kožu i prenose uzorke srca i zvijezda. Taloženje prati otapanje mikroiglica topljivih u vodi. Mikroigličaste tetovaže testirane su na štakorima. (Slika 3.28.B) Tetovaže su ostale vidljive najmanje godinu dana zadržavši svoj oblik i boju. Slika crvenog srca pokazala je određena izobličenja nakon godinu dana što može biti uzrokovano promjenom oblika tijela, starenjem kože ili brzim metabolizmom i rastom štakora. Eksperimenti pokazuju izvedivost tetoviranja mikroigličastim flasterima. Mikroigličasti flasteri za tetovaže u obliku srca i zvijezda napravljeni su umetanjem UV fluorescentne tinte koja se ne vidi pri dnevnom svjetlu (Slika 3.28.C) već je fluorescentno plava kada je osvijetljena UV svjetlom. (Slika 3.28.C).^[42]





Slika 3.28^[42]

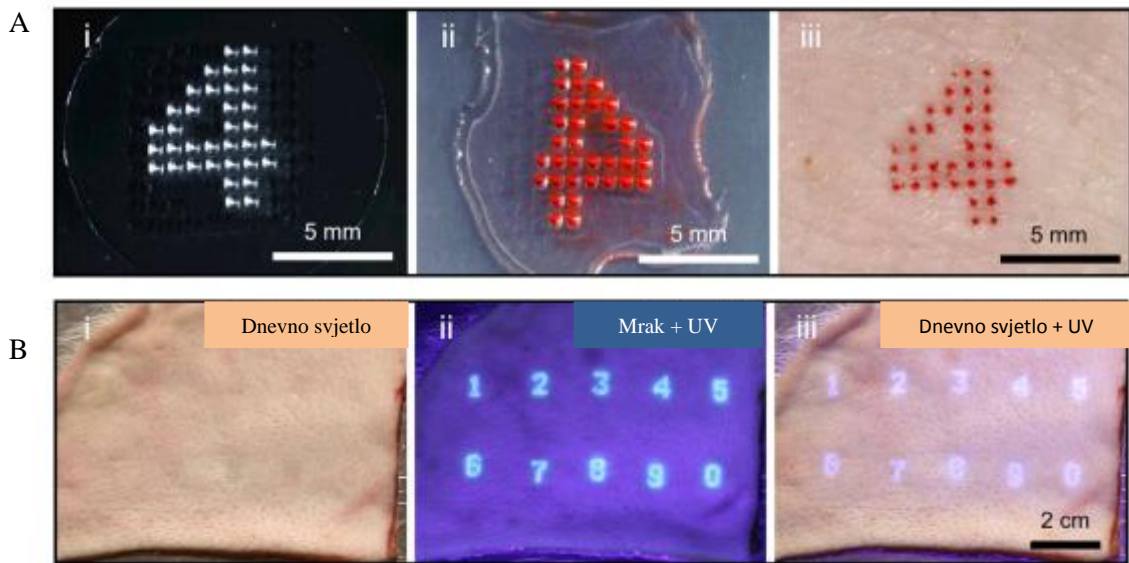
(A) Mikroskopske slike tetovaža s crvenim srcem i plavom zvijezdom: (i) pogled odozgo na polidimetilsiloksan kalupe s uzorcima tetovaža; (ii) kalupi napunjeni crvenom ili plavom tintom za tetoviranje; (iii) tetovirana svinjska koža

(B) Slike tetovaža crvenog srca i plave zvijezde na štakorima snimljene tijekom godinu dana.

(C) Mikroskopske slike UV-vidljivih tetovaža srca i zvijezda: (i) tetovaže napunjene UV-vidljivom tintom, viđene u svijetlom polju; (ii) tetovaže osvijetljene UV svjetlom, pokazujući plavu fluorescenciju UV tinte za tetoviranje; (iii) svinjska koža uz osvjetljenje UV svjetiljkom

3.8.1 Medicinske tetovaže

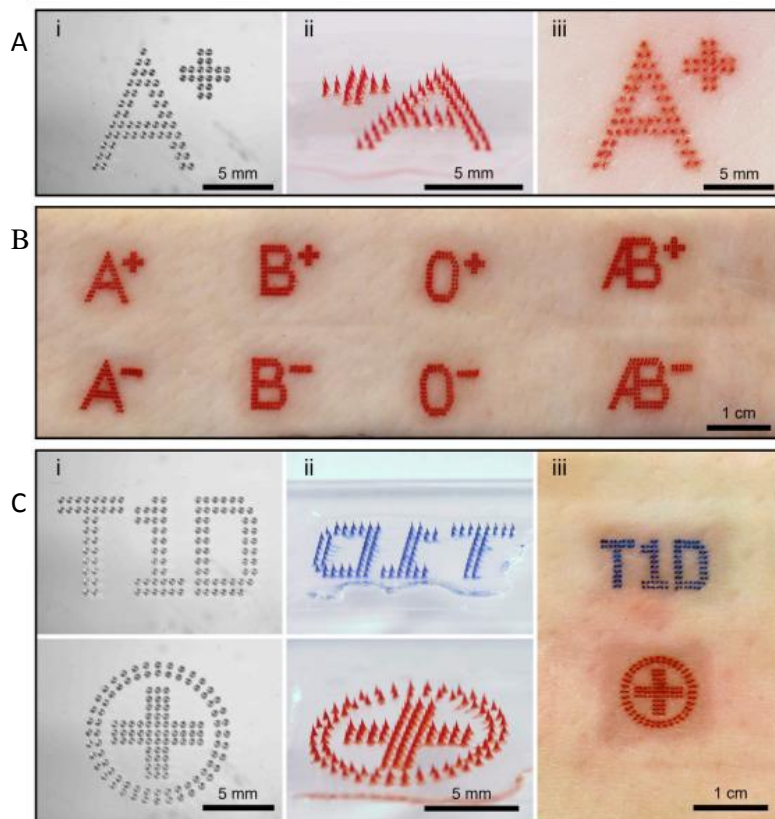
Težnja znanstvenika bila je razviti mikroigličastu tehnologiju za primjenu i u medicini i veterini za informacije koje mogu pomoći u procesu liječenja. Navedeni zahtjevi rezultirali su tetovažama u obliku slova i brojeva za bilježenje medicinskih podataka. Napravljen je mikroigličasti flaster za tetoviranje broja "4".(Slika 3.29.A), zatim i flaster za svih 10 brojeva od 0 do 9 koristeći UV-fluorescentnu tintu.(Slika 3.29.B) Tetovaže bile su nevidljive na dnevnom svjetlu, ali su postale vidljive osvijetljene UV svjetlom Numeričke tetovaže mogle bi se koristiti za bilježenje važnih datuma. Osim brojeva napravljeni su i flasteri s osam različitih kodova krvnih grupa.(Slike 3.30A i 3.30B) i tetovaža s upozorenjem za dijabetičare koja se sastoji od plave oznake "T1D" (tj. dijabetes tipa 1) i simbola crvenog križa. (Slika 3.30C). Medicinske flastere za tetoviranje mogu koristiti i pacijenti, ali i zdravstveno osoblje za medicinske informacije te mogućnost brze reakcije u hitnim slučajevima.^[42]



Slika 3.29^[42]

(A) Mikroskopske slike tetovaže s brojem "4": (i) pogled odozgo na polidimetilsiloksan kalup s uzorkom "4"; (ii) kalup za tetovažu napunjen crvenom tintom za tetoviranje; (iii) tetovirana svinjska koža

(B) Slike svinjske kože tetovirane brojevima od "0" do "9", nevidljive tetovaže na dnevnom svjetlu (i), vidljive tetovaže osvijetljene UV svjetlom u mraku (ii) i na dnevnom svjetlu (iii)



Slika 3.30 Medicinske tetovaže^[42]

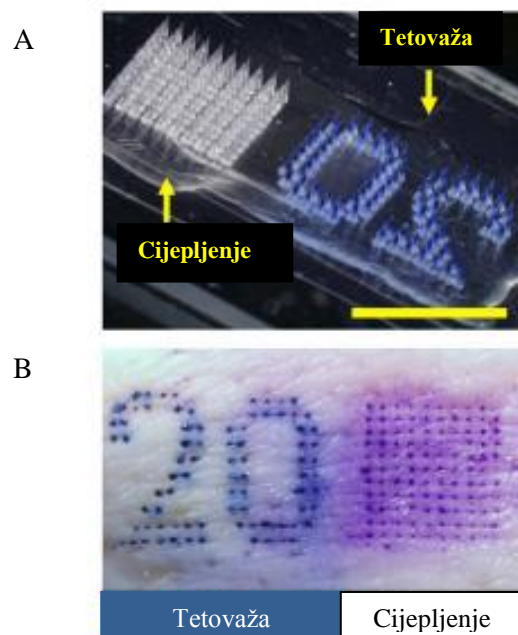
(A) Mikroskopske slike oznake "A+" koja označava krvnu grupu: (i) pogled odozgo na polidimetilsiloksan kalup s uzorkom "A+"; (ii) kalup napunjen crvenom tintom za tetoviranje; (iii) tetovirana svinjska koža

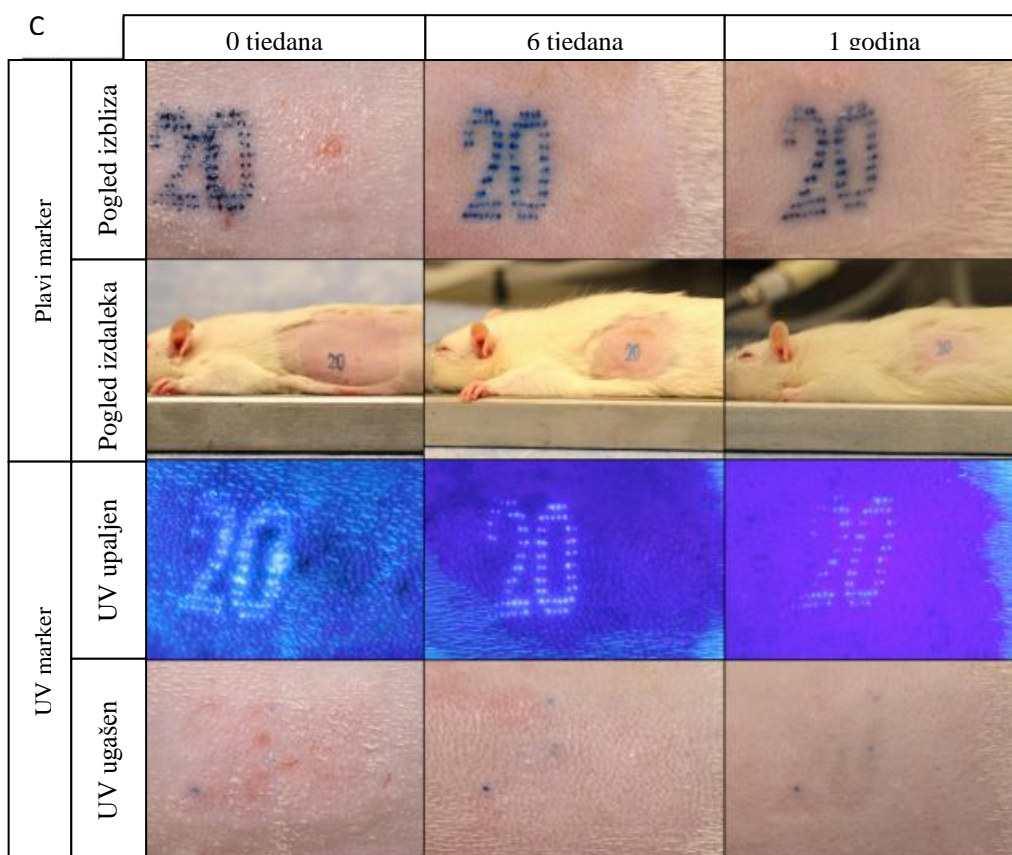
(B) Slike svinjske kože tetovirane s osam različitih oznaka krvne grupe.

(C) Mikroskopske slike tetovaža s "T1D" (dijabetesom tipa 1) i simbolima medicinskog upozorenja crvenog križa: (i) pogled odozgo na polidimetilsiloksan kalupe s uzorcima medicinskog upozorenja; (ii) kalup napunjen plavom ili crvenom tintom za tetoviranje; (iii) svinjska koža tetovirana medicinskim simbolima upozorenja za dijabetes tipa 1

3.8.2. Dvokomponentni mikroigličasti flasteri za cijepljenje i medicinsko snimanje

Flaster za primjenu cjepiva protiv dječje paralize i tinte za tetoviranje u obliku broja "20".(Slika 3.31.A) razvijen je kao koncept primjene flastera dvostruke namjene, za davanje lijekova i cjepiva. Na taj bi se način jedan mikroigličati flaster koristio za cijepljenje, a ujedno ostavljao malu oznaku na koži koja označava godinu cijepljenja. Cjepivo i tinta za tetoviranje stavljeni su u odvojene dijelove flastera čime su izbjegnute moguće negativne interakcije između cjepiva i tinte. Mikroiglice u ovom dvokomponentnom flasteru učinkovito prodiru u kožu što se najbolje vidi kod plave tetovaže u obliku broja "20" kod koje se na jednoj strani kože vidi plava boja, a na drugoj niz ljubičastih točkica.(Slika 3.31.B) Tetovirani broj "20" ostao je vidljiv na koži najmanje godinu dana nakon cijepljenja, tj. tetovaža s plavom tintom uvijek je bila vidljiva, a tetovaža s UV tintom ostala je vidljiva pod UV svjetlom(Slika 3.31.C).^[42]





Slika 3.31 Dvokomponentni kalupi za cijepljenje i medicinsko snimanje^[42]

(A) Slika dvokomponentnog kalupa napunjenog cjepivom (lijevo) i plavom tintom za tetoviranje (desno)

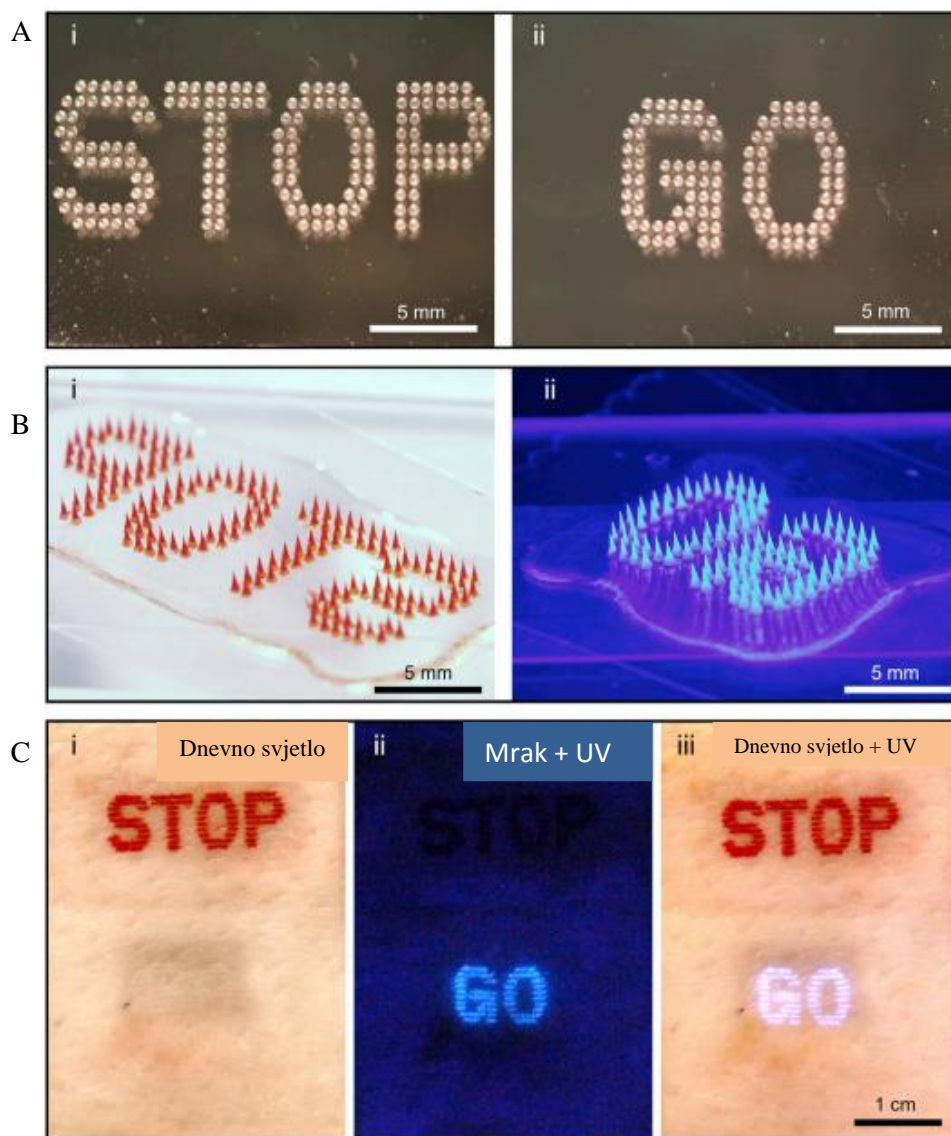
(B) Mikroskopska slika svinjske kože nakon nanošenja dvokomponentne tetovaže prikazuje plavu tetovažu broja "20" i susjedni niz mikropora obojenih gentian violetom

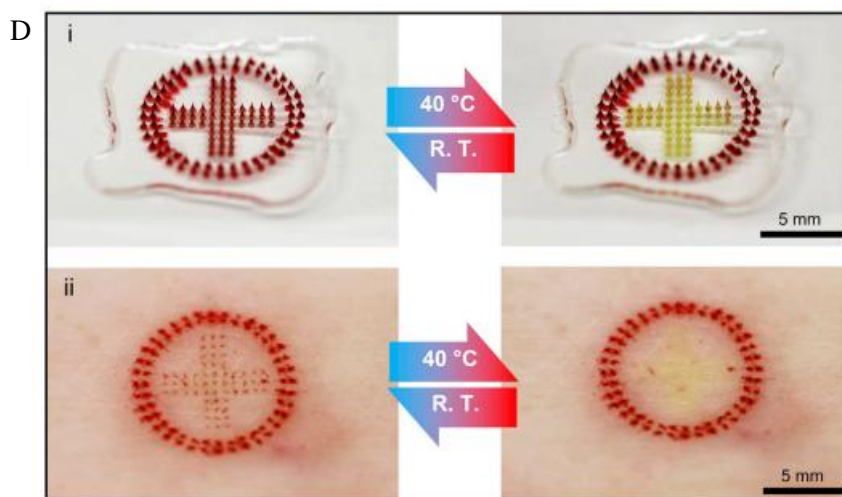
(C) Slike plavih i UV tetovaža broja "20" na štakorima bile su prepoznatljive nakon godinu dana

3.8.3 Responzivne tetovaže iz mikroigličastih flastera osjetljivih na svjetlost i termoosjetljivih mikroigličastih flastera

Razvijeni su mikroigličasti flasteri za tetovaže koje reagiraju na promjene u okolišu i na taj način pružaju različite informacije u različitim okruženjima. Kao i u prethodnim flasterima i tetovažama kombinirane su tinte za tetoviranje vidljive na svjetlu i tinte vidljive UV osvjetljenjem. (Slika 3.32) Crvena oznaka "STOP" bila je vidljiva na dnevnom svjetlu (Slika 3.32.C), a plava oznaka "KRENI" pod UV osvjetljenjem.(Slika 3.32.C) Obje su oznake bile vidljive tijekom UV osvjetljenja na dnevnom svjetlu. (Slika 3.32.C) U drugom primjeru, dvije različite tinte korištene su za oblikovanje uzorka crvenog križa.(Slika 3.32.D) Unutarnji križ napravljen je pomoću termokromatske tinte koja mijenja boju promjenom temperature, a vanjski krug je napravljen običnom crvenom tintom za tetoviranje. Unutarnji križ mijenja

boju između crvene i žute nakon zagrijavanja preko 40°C kako na koži tako i na flasteru prije umetanja u kožu (Slika 3.32.D). Na koži je žuta boja bila nevidljiva zbog tona kože. Ovim tetovažama prati se temperatura temperature što može biti korisno prilikom tretmana koji uključuju izlaganje povišenoj temperaturi.^[42]





Slika 3.32 Responsivne tetovaže na bazi svjetlosno osjetljivih i termoosjetljivih flasterima^[42]

Reprezentativne mikroskopske i fotografske slike koje prikazuju

(A) pogled odozgo na polidimetilsiloksan kalupe s (i) uzorcima „STOP” i (ii) „KRENI”.

(B) kalupi s (i) uzorkom “STOP” napunjenim crvenom tintom za tetoviranje prikazanom u svijetlom polju i (ii) uzorkom “GO” napunjenim UV-vidljivom tintom za tetovažu vidljivom uz UV osvjetljenju

(C) svinjska koža s odgovarajućim tetovažama koje pokazuju (i) crvenu oznaku "STOP" vidljivu pod dnevnim svjetlom, (ii) fluorescentnu oznaku "GO" vidljivu pod UV osvjetljenjem, i (iii) obje

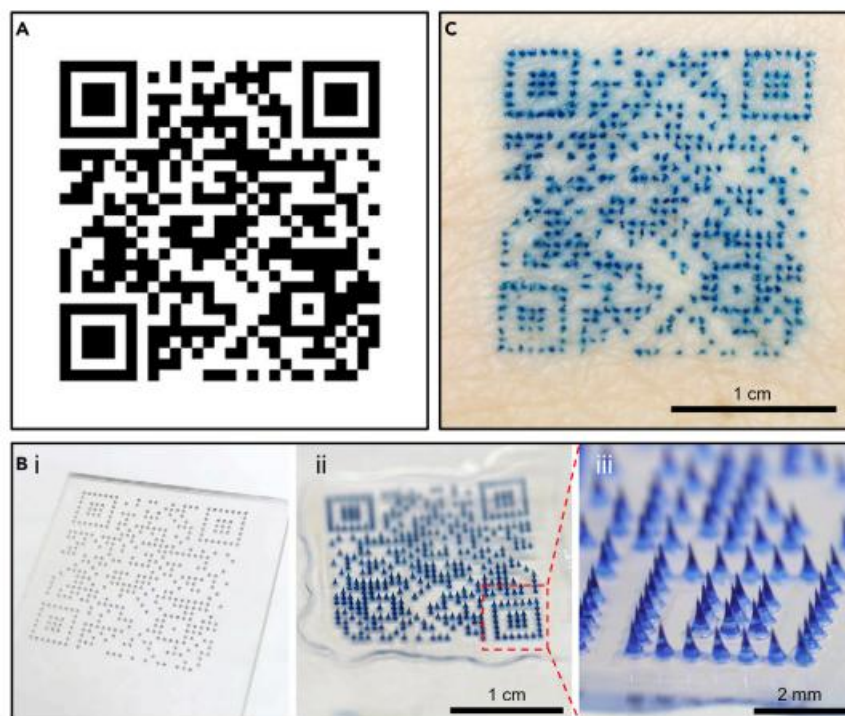
" STOP" i "KRENI" naljepnice vidljive pod dnevnim svjetlom uz UV osvjetljenje

(D) Mikroskopske slike (i) kalupa napunjenog termokromnim pigmentima koji pokazuju crveni križ na sobnoj temperaturi koji je reverzibilno požutio nakon zagrijavanja na 40°C, dok vanjski krug napunjen crvenom tintom koja ne reagira nije promijenio boju i (ii) svinjska koža o na kojoj je oznaka crvenog križa reverzibilno pretvorena iz crvene na sobnoj temperaturi u žutu kada se zagrije na 40°C

3.8.4 Tetovaže s QR kodom

Klasični QR kodovi sastoje se od kvadrata tamne boje, modula, na bijeloj pozadini. Mrežni uzorak pohranjuje digitalizirane podatke koji mogu biti tekst ili internetska veza i čitaju se uređajima za snimanje slika poput kamera pametnih telefona. Plava tinta za tetoviranje lijeva se na polidimetilsiloksan kalup s uzorkom QR koda, kao i u do sada predstavljenim mikroigličastim flasterima, (Slika 3.33.B) koja će nakon nanošenja na kožu prenijeti uzorak odgovarajuć matrici željenog QR koda. (Slika 3.33.C) S obzirom da su

tetovaže tetovirane na koži koja nije pravilna točke isto tako nisu četvrtaste i nisu neposredno jedna uz drugu, kao standardni QR kodni moduli, ali je kod dovoljno tanak da se može uspješno očitati kamerom pametnog telefona. U usporedbi s jednostavnijim uzorcima stvaranje QR koda pomoću mikroigličastog flastera pruža mnogo više informacija. Najveći nedostatak tetovaža s QR kodom jest velika složenost obzirom na unikatnost svakog pojedinog koda, ali QR kodovi imaju ugrađenu redundantnost koja omogućuje ispravno čitanje čak i kada je dio slike koda zatamnjen, izgubljen ili nepravilno istetoviran prilikom prijenosa u kožu. Čitanje tetovaže QR koda s UV osvjetljenjem u mraku proizvodi obrnuti QR kod sa svijetlim modulima na tamnoj pozadini.^[42]



Slika 3.33 Tetovaža QR koda^[42]

- (A) QR kod koji kodira web stranicu <http://drugdelivery.chbe.gatech.edu/index.html>
- (B) Uzorak QR koda je (i) prenesen u polidimetilsiloksan kalup korišten za izradu MN flastera sa zrcalnom slikom QR koda: (ii) puna zakrpa, (iii) uvećani prikaz
- (C) Fotografiska slika svinjske kože s tetovažom QR koda primijenjenom MN flasterom

4. ZAKLJUČAK

Istražen je i predstavljen nedavni napredak na području nosivih kemijskih senzora koji koji su kompatibilni s tijelom, uključujući tinte za tetoviranje za optičko biosenziranje, potenciometrijske i amperometrijske senzore koji se nose na koži te tetovaže s mikroiglicama. Kombinacijom dobro uhodanog sitotiska, napredne funkcionalizacije površine, modernih potenciometrijskih i amperometrijskih metoda demonstrirani su nosivi neinvazivni senzori u obliku tetovaža. Takvi nosivi senzori usklađeni s tijelom kombiniraju atraktivnu izvedbu elektrokemijskih uređaja s povoljnom elastičnošću privremenih tetovaža na koži i njihovom otpornosti na mehanički stres. Nosivi kemijski senzori velik su potencijal za primjenu u stvarnom svijetu. Razvoj metaboličkih i elektrolitičkih senzora koji se nose na koži nadopunjuje dosadašnju upotrebu nosivih senzora prve generacije za praćenje vitalnih znakova iz fizičkih signala. Nosiva tehnologija kemijskih senzora pojavljuje se kao moćan alat za pomoć u procesu otkrivanja biomarkera. Otkrivanje biomarkera može se olakšati korištenjem nosivih multipleksiranih senzorskih sustava koji mogu obavljati kontinuirano praćenje. Podaci prikupljeni ovim nosivim uređajima mogu se povezati s proučavanjem fiziološkim i biološkim uvjetima pomoću odgovarajućih alata za analizu podataka. U usporedbi s tradicionalnim laboratorijskim testovima temeljenim na vađenju krvi i biopsiji tkiva, koji su invazivni, skupi, zahtijevaju fizičke posjete klinikama i daju samo diskretne informacije o analitima, pristup nosivim sensorima značajno bi povećao učinkovitost i smanjio troškove. Nosivi kemijski senzori mogu otvoriti novu eru medicinskih alata nudeći daljinsko, kontinuirano i neinvazivno praćenje u stvarnom vremenu.

5. LITERATURA:

- [1] A. Hulanicki, S. Geab, F. Ingman, Chemical sensors definition and classification, *Pure&App/Chern.*, **63** (1991) 1247-1250
- [2] B. R. Eggins, *Chemical Sensor and Biosensor*, Wiley & Sons, London, (2002).
- [3] K. Sperry, *Am. J. Forensic Med. Pathol.* **12** (1991) 313.
- [4] F. Rosenkilde, *Curr. Probl. Dermatol.* **48** (2015) 21.
- [5] B. M. Shashikumar, in *TATTOO—The Invaluable Compendium for Dermatologists* (Eds: B. M. Shashikumar, A. S. Savitha, R. R. Reddy), Jaypee Brothers Medical Publishers, India (2017) 14–24.
- [6] T. A. Edison, United states patent office, **2** (1877) 747.
- [7] K. Vega, N. Jiang, X. Liu, V. Kan, N. Barry, P. Maes, A. Yetisen, J. Paradiso, *ACM International Symposium on Wearable Computers*, **1** (2017) 138.
- [8] M.D. Pazos, Y. Hu, Y. Elani, K.L. Browning, N. Jiang, A.K. Yetisen *Tattoo Inks for Optical Biosensing in Interstitial Fluid*, *Adv Healthc Mater.* **10** (2021.) 2101238.
- [9] Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021. (pristup 12. 9. 2023.)
- [10] M. Boer, E. Duchnik, R. Maleszka, M. Marchlewicz *Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function*. *Postepy Dermatol Alergol.* **33** (2106) 1-5.
- [11] J. Lipozenčić, *Uloga kože, razvitak kože, pregled građe i funkcija kože*, *Dermatovenerologija, Medicinska naklada*, 3 (2008) 5-9.
- [12] <https://www.healthline.com/health/layers-of-skin> (pristup 11.9.2023.)
- [13] J. Heikenfeld, A. Jajack, J. Rogers, P. Gutruf, L. Tian, T. Pan, et al., *Wearable sensors: modalities, challenges, and prospects*, *Lab on a Chip*, **18** (2018) 217-48.
- [14] <https://en.wikipedia.org/wiki/Dermis> (pristup 12.9.2023.)
- [15] https://theory.labster.com/dermis_layers/ (pristup 12.9.2023.)
- [16] https://en.wikipedia.org/wiki/Subcutaneous_tissue (pristup 12.9.2023.)

- [17] P. Laux, T. Tralau, J. Tentschert, A. Blume, S. A. Dahouk, W. Bäuml, E. Bernstein, B. Bocca, A. Alimonti, H. Colebrook, C. de Cuyper, L. Dähne, U. Hauri, P. C. Howard, P. Janssen, L. Katz, B. Klitzman, N. Kluger, L. Krutak, T. Platzek, V. Scott-Lang, J. Serup, W. Teubner, I. Schreiber, E. Wilkniß, A. Luch, *Lancet* (2016) 387, 395 .
- [18] H.C. Ates, P.Q. Nguyen, L. Gonzalez-Macia, E. Morales-Narváez, F. Güder, J.J. Collins, et al., End-to-end design of wearable sensors, *Nature Reviews Materials*, (2022).
- [19] J.R. Sempionatto, J. A. Lasalde-Ramírez , K.Mahato , J. Wang & W. Gao Wearable chemical sensors for biomarker discovery in the omics era, *Nature Reviews Chemistry*, Volume 6 (2022) 899-915.
- [20] R.M Kozlowski. & M. Muzyczek *Natural Fibers* (Nova Science Publishers, 2017)
- [21] G. Loke, et al. Structured multimaterial filaments for 3D printing of optoelectronics. *Nat. Commun.* **10** (2019) 4010 .
- [22] S. Correa, et al. Translational applications of hydrogels. *Chem. Rev.* **121** (2021) 11385–11457.
- [23] S. Kabiri Ameri, et al. Graphene electronic tattoo sensors. *ACS Nano* **11** (2017) 7634–7641 .
- [24] B.Q. Tran, et al. Proteomic characterization of dermal interstitial fluid extracted using a novel microneedle-assisted technique. *J. Proteome Res.* **17** (2018) 479–485.
- [25] R. He., et al. A hydrogel microneedle patch for point-of-care testing based on skin interstitial fluid. *Adv. Healthc. Mater.* **9** (2020) 1901201.
- [26] P. Makvandi, et al. Engineering microneedle patches for improved penetration: analysis, skin models and factors affecting needle insertion. *Nano Micro Lett.* **13** (2020) 93.
- [27] L.J. Currano et al. Wearable sensor system for detection of lactate in sweat. *Sci. Rep.* **8** (2018).
- [28] H.C. Ates, et al. Integrated devices for non-invasive diagnostics. *Adv. Funct. Mater.* **31**, (2021). 2010388
- [29] N.X. Williams, A.D. Franklin, Electronic Tattoos: A Promising Approach to Real-time Theragnostics. *J Dermatol & Skin Sci.* **2** (C020) 5-16
- [30] J. R. Windmiller, A. J. Bandodkar, G. Valdes-Ramirez, S. Parkhomovsky, A. G. Martinez, J. Wang, *Chem. Commun.* **48** (2012) 6794 – 6796. .

- [31] A. J. Bandodkar, W. Jia, and J. Wang Tattoo-Based Wearable Electrochemical Devices: A Review, *Electroanalysis* **27** (2015) 562 – 572.
- [32] R.K. Mishra, A. Barfidokht, A. Karajic, J.R Sempionatto, J. Wang, J. Wang Wearable potentiometric tattoo biosensor for on-body detection of G-type nerve agents simulants. *Sens. Actuators B Chem.* **273** (2018) 966–972.
- [33] A. J. Bandodkar, D. Molinnus, O. Mirza, T. Guinovart, J. R. Windmiller, G. Valdes-Ramirez, F. J. Andrade, M. J. Schoning, J. Wang, *Biosens. Bioelectron.* **54** (2014) 603 – 609.
- [34] W. N. Fishbein, J. W. Foelimer and J. I. Davis, *Int. J. Sports Med.* **11** (1990) S91–S10.
- [35] G. Ravier, B. Dugué, F. Grappe and J.-D. Rouillon, *Int. J. Sports Med.*, 2005, 26, 1–8.
- [36] T. Guinovart, A. J. Bandodkar, J. R. Windmiller, F. J. Andrade and J. Wang A Potentiometric Tattoo Sensor for Monitoring Ammonium in Sweat *The Analyst*138(22), 2013
- [37] M. J. Buono, N. V. L. Lee, P. W. Miller, *J. Physiol. Sci.*, **60** (2010) 103 – 107.
- [38] R. A. Robergs, F. Ghiasvand, D. Parker, *Am. J. PhysiolReg. I* **287** (2004) R502 –R516.
- [39] W. Jia, A. J. Bandodkar, G. Valdes-Ramirez, J. R. Windmiller, Z. Yang, J. Ramirez, G. Chan, J. Wang, *Anal. Chem.* **85** (2013) 6553 – 6560
- [40] B. Piro , G.Mattana, V. Noël ,Recent Advances in Skin Chemical Sensors *Sensors* **19** (2019) 437
- [41] C.F. So i sur., *Medical Devices* , **5** (2012), 45
- [42] L. Song, K. Youngeun, L. Jeong Woo, M. R. Prausnitz Microneedle patch tattoos *iScience* **25** (2022) 105014.