

Nosivi (bio)kemijski senzori za primjene u fiziologiji sporta

Cicvarić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:435400>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-08**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Cicvarić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Cicvarić

NOSIVI (BIO)KEMIJSKI SENZORI ZA PRIMJENE U FIZIOLOGIJI
SPORTA

DIPLOMSKI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

Doc.dr.sc. Ivana Murković Steinberg

Dr.sc. Petar Kassal

Doc.dr.sc. Šime Ukić

Zagreb, rujan 2016.

SAŽETAK:

Nosivi bežični kemijski senzori omogućavaju neinvazivnu i kontinuiranu analizu uzoraka, što nije moguće postići klasičnim analitičkim metodama i instrumentima. U ovom radu predstavljena su mjerenja provedena kako bi se ustanovio princip djelovanja te mogućnost primjene novog nosivog optičkog senzora u fiziologiji sporta. Kolorimetrijska karakterizacija pH osjetljivog bojila (2-fluoro-4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-6-metoksifenol (GJM-492) imobiliziranog na tekstu od poliestera, provedena je kako bi se odredila njegova primjenjivost za određivanje pH znoja. Senzor je zasnovan na RFID tehnologiji bežične komunikacije, te bi se ovakva vrsta senzora mogla primjenjivati kao nosivi bežični optički pH kemijski senzor u svrhu poboljšanja učinka sportaša.

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

SUMMARY:

Wearable wireless chemical sensors allow non-invasive and continuous analysis of samples, which can otherwise not be achieved by conventional analytical methods and instruments. In this work measurements conducted in order to establish the principle of operation and possibility of application of a novel type of wearable optical chemical sensor in sport physiology are presented. Colourimetric characterisation of pH sensitive dye 2-fluoro-4-[4-(2-hydroxyethanesulfonyl)-phenylazo]-6-methoxyphenol (GJM-492) immobilized on a polyester fabric was conducted in order to determine its applicability for sweat pH monitoring. The wireless sensor is based on RFID technology of wireless communication, and this type of sensor could therefore be used as wearable wireless optical pH sensor in order to improve athletes' performance.

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

Zahvaljujem se svojoj mentorici, doc.dr.sc. Ivani Murković Steinberg na prenesenom znanju tijekom studija, iskazanom povjerenju i spremnosti da mi bude mentorica.

Zahvaljujem se voditelju ovog rada, dr.sc. Petru Kassalu na susretljivosti, strpljivosti i stručnoj pomoći tijekom izrade ovog rada te na prijateljskom odnosu.

Također se zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za opću i anorgansku kemiju na velikodušnoj pomoći i susretljivosti tijekom rada u laboratoriju.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. OPĆI DIO..... | 2 |
| 2.1. Kemijski senzori..... | 2 |
| 2.1.1. Definicija..... | 2 |
| 2.1.2. Klasifikacija | 3 |
| 2.2. Nosivi (bio)kemijski senzori | 5 |
| 2.3. Bežične tehnologije za kemijske senzore | 6 |
| 2.4. Pregled literature..... | 7 |
| 2.4.1. Nosivi elektrokemijski senzori..... | 7 |
| 2.4.2. Nosivi optički senzori | 14 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO..... | 18 |
| 3.1. Materijali i kemikalije | 18 |
| 3.2. Instrumenti..... | 18 |
| 3.3. Tijek rada | 19 |
| 3.3.1. Priprema citratnog pufera..... | 19 |
| 3.3.2. Priprema fosfatnog pufera..... | 20 |
| 3.3.3 Imobilizacija pH osjetljivog bojila na tekstil | 22 |
| 3.3.4 Bežična RFID platforma | 22 |
| 3.3.5. Kolorimetrijska mjerenja | 23 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 24 |
| 5. ZAKLJUČAK | 36 |
| 6. LITERATURA..... | 37 |
| 7. ŽIVOTOPIS | 41 |

1. UVOD

U fiziologiji sporta neinvazivna i kontinuirana analiza iznimno je važna. U ovom slučaju nije moguće primijeniti klasične kemijske senzore već se poseže za alternativnim rješenjima, u obliku nosivih (bio)kemijskih senzora. Ovakva vrsta senzora omogućava jednostavnu analizu bioloških uzoraka kao što su na primjer: znoj, slina ili suze, čiji sastav može reći puno o zdravstvenom stanju pojedinca ^[1].

Kemijski senzor definira se kao uređaj koji pretvara kemijsku informaciju o uzorku, u rasponu od pojedine komponente uzorka sve do ukupnog sastava uzorka, u analitički mjerljiv signal. Kemijska informacija o uzorku potječe od kemijske reakcije ispitivanog analita ili od fizikalnih svojstava ispitivanog sustava. Kemijski senzor sastoji se od dvije osnovne funkcionalne jedinice: receptorskog dijela i pretvornika. Receptorski dio senzora odgovoran je za selektivno prepoznavanje analita, te se u tom dijelu kemijskog senzora kemijska reakcija pretvara u oblik energije koji se dalje može mjeriti pretvornikom. U pretvorničkom dijelu senzora energija oslobođena uslijed interakcije analita i receptora prevodi se u oblik energije pogodan za mjerenje, najčešće električni signal.

Cilj ovog rada bio je dati pregled literature u području nosivih (bio)kemijskih senzora, te ispitati primjenjivost pH osjetljivog bojila (2-fluoro-4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-6-metoksifenol (GJM-492) imobiliziranog na tekstil, kao nosivog optičkog kemijskog senzora za primjenu u fiziologiji sporta. Nadalje, cilj rada je bio i analitička karakterizacija novog bežičnog nosivog kemijskog senzora, dobivenog integracijom pH osjetljivog tekstila s bežičnom platformom temeljenom na radiofrekvencijskoj identifikaciji (RFID).

2. OPĆI DIO

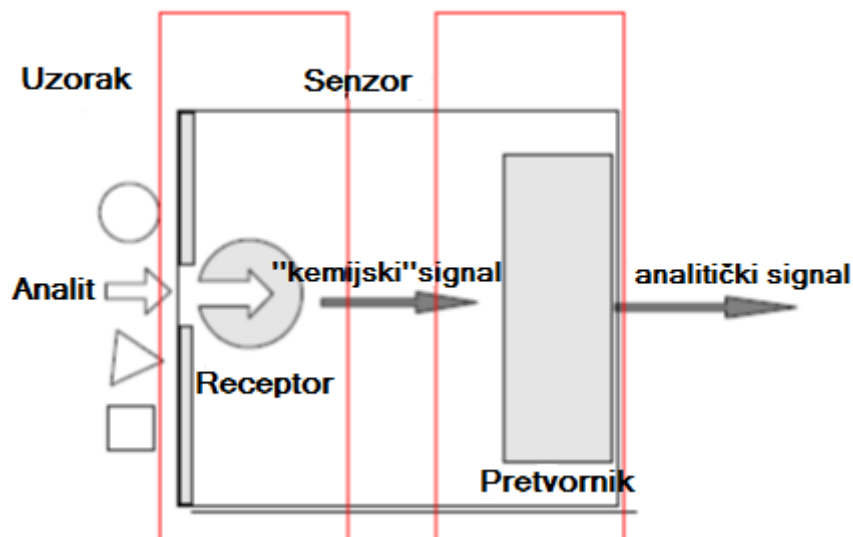
2.1. Kemijski senzori

2.1.1. Definicija

Kemijski senzor je uređaj koji pretvara kemijsku informaciju, u rasponu od koncentracije specifične komponente uzorka do ukupne analize sastava, u korisni analitički signal. Kemijska informacija može nastati iz kemijske reakcije analita ili iz fizičkog svojstva istraživanog sustava.

Kemijski senzor sadrži dvije osnovne funkcionalne jedinice: receptorski i pretvornički dio. U receptorskom dijelu senzora se kemijska informacija pretvara u oblik energije koji se može mjeriti pretvornikom. Pretvornički dio senzora pretvara energiju koja nosi kemijsku informaciju o uzorku u koristan analitički signal. Pretvornik kao takav ne pokazuje selektivnost. Receptorski dio kemijskog senzora se može temeljiti na različitim načelima:

- fizikalnim, gdje se ne odvija kemijska reakcija. Tipični su primjeri senzori temeljeni na mjerenju apsorbancije, refrakcijskog indeksa, vodljivosti, temperature ili promjene mase.
- kemijskim, gdje se odvija kemijska reakcija u kojoj sudjeluje analit što uzrokuje analitički signal.
- biokemijskim, kod kojih je biokemijski proces izvor analitičkog signala. Tipični primjer je imunosenzor. Ovi senzori se mogu smatrati podgrupom kemijskih senzora, takvi senzori se zovu biosenzori.



Slika 2.1. Kemijski senzor

U nekim slučajevima nije moguće nedvosmisleno odlučiti da li senzor radi na kemijskim ili fizikalnim načelima, kao na primjer u slučaju kada signal nastaje uslijed adsorpcijskog procesa [2].

2.1.2. Klasifikacija

Kemijski senzori se mogu klasificirati prema načelima rada pretvornika.

- 1) Optički senzori se temelje na reakciji koja uzrokuje optičku promjenu, koja je rezultat interakcije analita s receptorskim dijelom. Ova se grupa može dalje podijeliti prema tipu optičkih svojstava primijenjenih u kemijskom senzoru:
 - a) apsorpcija, mjeri se u transparentnom mediju, uzrokovana je apsorpcijom samog analita ili reakcijom analita s prikladnim indikatorom.
 - b) reflektancija, mjeri se u netransparentnom mediju, uobičajeno koristeći imobilizirani indikator.
 - c) luminiscencija, temelji se na mjerenju intenziteta svjetla emitiranog kemijskom reakcijom u receptorskom dijelu.
 - d) fluorescencija, mjeri se kao pozitivni emisijski efekt uzrokovan iradijacijom. Također, selektivno gašenje fluorescencije može biti temelj ovakvih uređaja.
 - e) refrakcijski indeks, mjeri se kao rezultat promjene u sastavu otopine.
 - f) optotermalni efekt, temelji se na mjerenju toplinskog efekta uzrokovanog apsorpcijom svjetla.
 - g) raspršenje svjetla, temelji se na efektu uzrokovanom česticama određene veličine prisutne u uzorku.

Primjena mnogih ovih pojava u sensorima je postala moguća zbog upotrebe optičkih vlakana u raznim konfiguracijama. Ovakvi se uređaji također zovu optode.

- 2) Elektrokemijski senzori pretvaraju efekt elektrokemijske interakcije analit-elektroda u koristan signal. Ovakvi efekti mogu biti potaknuti električki ili mogu rezultirati spontanom interakcijom pri uvjetima nulte struje. Ova se grupa dalje može podijeliti:
 - a) voltametrijski senzori, uključujući amperometrijske senzore, kod kojih se mjeri struja u DC ili AC modu. Ova podgrupa može uključiti senzore temeljene na kemijski inertnim elektrodama, kemijski reaktivnim elektrodama i modificiranim elektrodama. U ovu su grupu uključeni senzori sa i bez (galvanski senzori) vanjskog izvora struje.

- b) potenciometrijski senzori, kod kojih se potencijal indikatorske elektrode (ion-selektivna elektroda, redoks elektroda, metal/metalni oksid elektroda) mjeri u odnosu na referentnu elektrodu.
 - c) CHEMFET (eng. *Chemically Sensitized Field Effect Transistor*) kod kojih se efekt interakcije između analita i aktivnog sloja pretvara u promjenu izvor-ponor struje. Interakcija između analita i aktivnog sloja je, s kemijskog stajališta, slična onoj kod potenciometrijskih ion-selektivnih senzora.
 - d) plinski potenciometrijski senzori sa čvrstim elektrolitom, razlikuju se od 2b) jer rade s visokotemperaturnim krutim elektrolitima i obično se koriste za mjerenja plinske faze.
- 3) Električni senzori se temelje na mjerenjima gdje se ne odvijaju elektrokemijski procesi, nego signal proizlazi iz promjene električkog svojstva uzrokovanog interakcijom analita. Ova se grupa dalje može podijeliti:
- a) poluvodički senzori od metalnih oksida, koji se koriste uglavnom kao detektori plinske faze, a temelje se na reverzibilnim redoks procesima plinovitih komponenata analita.
 - b) poluvodički organski senzori, temelje se na formiranju kompleksa koji prenose naboj.
 - c) konduktometrijski senzori.
 - d) senzori dielektrične permitivnosti.
- 4) Maseni senzori pretvaraju promjenu mase na posebno modificiranoj površini u promjenu svojstva nosećeg materijala. Promjena mase uzokovana je akumulacijom analita. Ova se grupa može dalje podijeliti:
- a) piezoelektrični senzori, upotrebljavaju se uglavnom u plinovitoj fazi, također i u otopinama, temelje se na mjerenju promjene frekvencije pločice od kvarcnog oscilatora uzrokovane adsorpcijom mase na oscilator.
 - b) senzori temeljeni na površinskim akustičnim valovima, temelje se na modifikaciji propagacije brzine generiranih akustičkih valova uzrokovanih depozicijom određene mase analita.
- 5) Magnetski senzori temelje se na promjeni paramagnetskih svojstava plina koji se analizira.
- 6) Termometrijski senzori se temelje na mjerenju topline specifične kemijske reakcije ili adsorpcije koja uključuje analit.

7) Ostala fizikalna svojstva, kao na primjer X-, β - ili Γ - zračenje, mogu biti osnova za kemijski senzor u slučaju da se koriste za određivanje kemijskog sastava.

Senzori se također mogu klasificirati prema primjeni za detektiranje određenog analita. Primjeri su senzori za pH, za metalne ione ili za određivanje kisika ili ostalih plinova. Još jedan temelj za klasifikaciju kemijskih senzora je prema načinu primjene, na primjer senzori namijenjeni za primjenu *in vivo*, senzori za praćenje procesa, itd.

Biosenzori nisu predstavljeni kao posebna skupina jer je proces na kojem su temeljeni zajednički kemijskim sensorima. Mogu se razlikovati prema biološkim elementima upotrebljenima u receptorskom dijelu. To mogu biti: organizmi, tkiva, stanice, organele, membrane, enzimi, antitijela, itd ^[2].

2.2. Nosivi (bio)kemijski senzori

Kemijski i biokemijski senzori se koriste kao alternativa skupim sensorima velikih dimenzija, i to uglavnom u medicinske svrhe. Razvijeni su senzori koji koriste optičke, piezoelektrične i elektrokemijske pretvornike. Od navedenih elektrokemijski senzori su najčešće u upotrebi zbog dobre analitičke izvedbe, prenosivosti, jednostavnosti i niske cijene (npr. ACCU-CHECK-prenosivi analizator razine glukoze u krvi^[3], iSTAT-prenosivi analizator krvi^[4], itd.). Međutim, ovakvi su uređaji nepraktični jer zahtijevaju invazivno uzorkovanje (krv, urin, serum, itd.). Kontinuirano i neinvazivno praćenje analita je od iznimne važnosti u različitim područjima, posebno u fiziologiji sporta. Za razliku od nosivih fizikalnih senzora za praćenje vitalnih signala, neinvazivni nosivi kemijski i biokemijski senzori su još uvijek u početnom razvoju. Nosivi kemijski i biokemijski senzori mogu neinvazivno detektirati elektrolite i metabolite, u realnom vremenu, u znoju, slini i suzama. Znoj sadrži mnoštvo informacija o zdravstvenom stanju te je odlična biotekućina za neinvazivnu analizu. Na primjer, povećanje koncentracija natrija i klorida u znoju upućuje na cističnu fibrozu, povećana koncentracija elektrolita na dehidraciju, povećana koncentracija laktata na fizički stres, povećana koncentracija amonija na osteoporozu. Tkanina predstavlja odličan substrat za razvoj nosivih senzora jer je u konstantnom kontaktu s kožom. S kemijskog stajališta, različite vrste tkanina pružaju raznolikost fizikalnih i kemijskih svojstava koji se mogu iskoristiti za inkorporiranje (bio)kemijskih senzora unutar tkanine ^[1].

Većina razvijenih senzora ima prilično kratko vrijeme odziva i visoku pouzdanost, prema tome mogu se koristiti kao alternativa klasičnim analitičkim metodama analize. Unatoč brojnim prednostima, još uvijek postoje ograničenja za primjenu nosivih kemijskih i biokemijskih senzora, kao na primjer dobivanje signala s niskom koncentracijom analita,

elastičnost, dugoročna stabilnost i biokompatibilnost senzora. Konkretni primjeri nosivih kemijskih senzora iz literature detaljnije su opisani u poglavlju 2.4.

2.3. Bežične tehnologije za kemijske senzore

Bežične komunikacijske tehnologije omogućavaju jednostavnije preuzimanje analitičkih podataka u odnosu na senzore povezane žicama, te osiguravaju potpunu mobilnost korisnika nosivog senzora. Zbog tih prednosti i zbog značajnog napretka pojedinih bežičnih standarda, u novije vrijeme dolazi do učestale integracije kemijskih senzora i bežičnih tehnologija.

Od mnogih postojećih standarda, najčešće korišteni za bežični prijenos analitičkog signala su: Bluetooth, ZigBee, radiofrekvencijska identifikacija (RFID) i NFC (*Near field communicaton*)^[5]. Uspoređujući međusobno pojedine standarde najveći domet ima Bluetooth protokol, dok NFC ima najkraći, a što se tiče potrošnje energije Bluetooth troši najviše, dok RFID troši najmanje energije.

Bluetooth je bežični komunikacijski standard kratkog dometa, prvotno dizajniran za mobilne uređaje poput mobilnih telefona, prijenosnih računala i tableta. Radi na frekvenciji od 2,4 GHz te ima veliku brzinu prijenosa podataka na udaljenosti od 10-100 m, ali u odnosu na ostale bežične tehnologije ima veliku potrošnju energije^{[6][7]}.

ZigBee je dizajniran za upotrebu u osobnim bežičnim mrežama. Radi na frekvencijama od 868 MHz, 915 MHz ili 2,4 GHz, te mu je prednost u odnosu na Bluetooth smanjena potrošnja energije uz sličan domet^[8].

RFID tehnologija je prvotno razvijena za idendifikaciju proizvoda na kratkoj udaljenosti (2 mm – 2 m), te je predstavljena kao elektronička alternativa optičkom bar-kodu. Sustav može raditi na različitim frekvencijama: niska frekvencija (128 – 135 kHz), visoka frekvencija (13,56 MHz) i ultravisoka frekvencija (860 – 960 MHz). Sastoji se od platforme i čitača, te je moguć rad u pasivnom, polu pasivnom i aktivnom načinu. Aktivni način je konstantno napajan baterijom i ima aktivni odašiljač koji komunicira s čitačem. U pasivnom načinu, odašiljač komunicira s čitačem refleksijom ili modulacijom elektromagnetskog polja emitiranog od čitača, te prema tome nije potrebno napajanje sustava. Polu pasivni način uključuje bateriju za napajanje sustva, ali je komunikacija između odašiljača i čitača ista kao u pasivnom načinu. Kod pasivnog načina rok trajanja je neograničen, dok aktivni način ima veći domet ali je znatno složeniji i skuplji^{[9][10]}.

NFC je razvijen iz RFID tehnologije. Ima vrlo kratak domet, maksimalno 20 cm (ali je to obično nekoliko centimetara) stoga je koristan za razmjenu povjerljivih podataka. Radi na frekvenciji od 13,56 MHz^[11]. Uređaji s NFC tehnologijom mogu raditi u aktivnom i

pasivnom načinu. U aktivnom načinu, oba uređaja (odašiljač i čitač) generiraju signal tijekom komunikacije, dok pasivni način radi slično kao RFID pasivni standard. NFC se ugrađuje u nove generacije mobilnih telefona, tako da se podaci s platforme mogu prenijeti na mobilne telefone, što je prednost korištenja ove tehnologije u kemijskim sensorima.

2.4. Pregled literature

2.4.1. Nosivi elektrokemijski senzori

Elektrokemijski nosivi senzori znatno su više u uporabi od optičkih. Prednosti elektrokemijskih senzora u odnosu na optičke su to što im ambijentalno svjetlo ne smeta u radu i imaju dobru dugoročnu stabilnost. Osim toga, nosivi elektrokemijski senzori su prikladni za razne primjene zahvaljujući visokoj performansi, minijaturizaciji i niskoj cijeni [1].

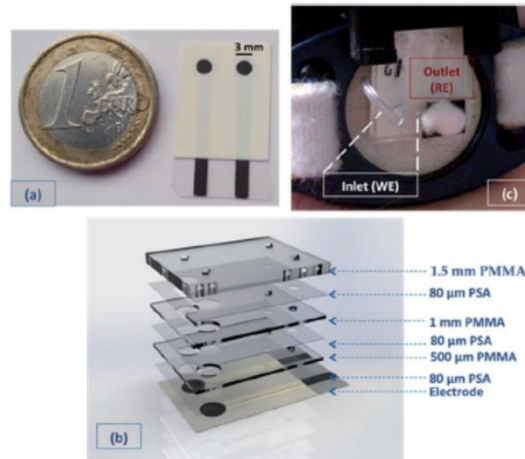
Fraser i suradnici razvili su potenciometrijski senzor za praćenje koncentracije natrija u znoju, u realnom vremenu (slika 2.2.). Senzor se sastoji od ion selektivne elektrode, ugrađene na pojas od tekstila, te se mjeri razlika potencijala u odnosu na referentnu elektrodu. Znoj se kontinuirano absorbira kapilarnim silama u tekstil i odvodi do osjetilnog područja. Elektroda je imobilizirana na tekstil screen-printing metodom, a kao daljnje unaprijeđenje proizvoda autori navode bežičnu komunikaciju [12].



Slika 2.2. Potenciometrijski senzor za natrij, [12]

Matzeu i suradnici razvili su potenciometrijski senzor za natrij, koji ima bežičnu komunikaciju (slika 2.3.). Platforma se sastoji od ion selektivne elektrode s čvrstom membranom (SC-ISE) i referentne elektrode koje su imobilizirane screen-printing metodom, integrirane u mikrofluidički čip koji ima pasivnu pumpu za dostavu uzorka i spojen je na bežičnu platformu. SC-ISE omogućava pouzdano i kontinuirano praćenje, a kao čvrsti kontakt je upotrebljen PEDOT. Mikrofluidički čip je napravljen od 7 slojeva. Na prvom PET sloju su imobilizirane elektrode, na četvrtom sloju su mikrokanali, a na petom sloju je apsorpcijski

materijal (vlakna pamuka) koji djeluje kao pasivna pumpa. Vlakna pamuka su dovedena u kontakt sa elektrodama kako bi se savladao otpor kretanju uzorka zbog površinske napetosti, također su ugrađena od ulaza do rezervoara na izlazu da bi se poboljšao tok fluida [13].

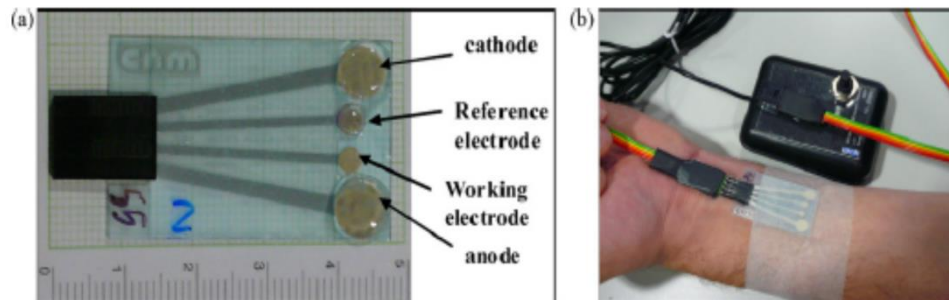


Slika 2.3. Potenciometrijski senzor za natrij s mikrofluidičkom platformom, [13]

Guinovart i suradnici razvili su nosive potenciometrijske senzore ugrađene u vlakna pamuka. Napravljena su vlakna za određivanje pH, kalija i amonija u znoju, koja su u sva tri slučaja priređena na potpuno isti način. Vlakna su jednostavnim procesom bojanja tintom ugljikovih nanocjevčica prevedena u električne vodiče, te su djelomično obložena polimernom membranom kako bi se u njih ugradile ion selektivne elektrode. Ugljikove nanocjevčice stvaraju jake veze sa vlaknima celuloze te je na ovaj način dobiven vrlo stabilan, visoko vodljiv i fleksibilan materijal. Ugljikove nanocjevčice imaju dvostruku ulogu u ovom slučaju. S jedne strane djeluju kao dobri pretvornici ion-elektron potenciometrijskog signala, a s druge strane su dobri elektronski vodiči, dakle prenose signal do instrumenta a originalna svojstva pamuka su očuvana. Otpor vlakana pamuka je u početku ekstremno velik, te već nakon prvog dip-coating ciklusa jako pada. Također, broj ciklusa ne utječe na analitička svojstva senzora, a eksperimentalno je ustanovljeno da su 4 do 5 dip-coating ciklusa potrebna za optimalnu performansu senzora [14].

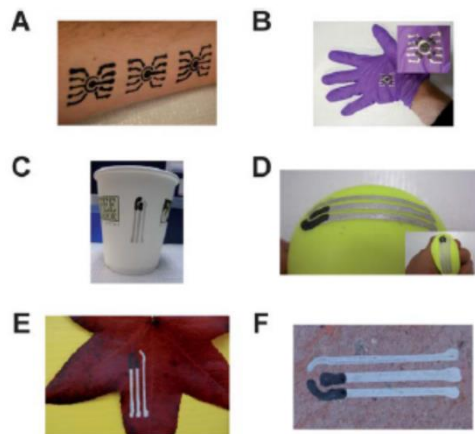
Gonzalo-Ruiz i suradnici razvili su potenciometrijski senzor za određivanje klorida u znoju, za jednokratnu uporabu (slika 2.4.). Kada se stavi na kožu dvije vanjske elektrode (anoda i katoda, obje Ag/AgCl) potiču znojenje. Katoda sadrži zarobljeni pilokarpin u hidrogel matrici, koji se primjenom struje oslobađa i tjera u kožu, te tako potiče znojenje. Unutarnje elektrode (radna i referentna, obje Ag/AgCl) služe za mjerenje klorida potenciometrijski.

Senzor može mjeriti razliku potencijala između radne i referentne elektrode 5 min. Koristi se u medicinske svrhe, za dijagnosticiranje cistične fibroze [15].



Slika 2.4. Potenciometrijski senzor za kloride, [15]

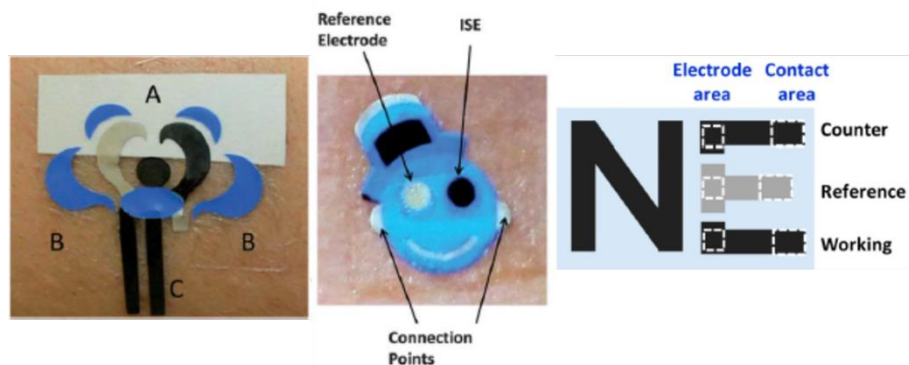
Ray i suradnici razvili su voltametrijski senzora određivanje mokraćne kiseline (slika 2.5.). Autori su predstavili alternativnu metodu (screen-printing metodi) prenošenja elektroda na razne krute i fleksibilne supstrate elastomernim pečatom. Elektrode se mogu nanijeti direktno na kožu, gdje služe za kvantifikaciju mokraćne kiseline u znoju. Prvo se nanosi Ag/AgCl vodljivi sloj, zatim ugljikove elektrode (aktivno područje), i na kraju sloj izolatora. Ag/AgCl elektroda koja služi kao referentna elektroda, ugljikove elektrode koje služe kao radna i protu elektroda [16].



Slika 2.5. Voltametrijski senzor za mokraćnu kiselinu, [16]

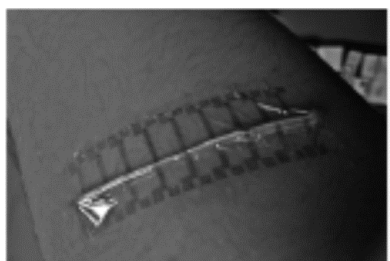
Razvijeni su elektrokemijski senzora naneseni na kožu kao privremene tetovaže za praćenje koncentracije analita u znoju. Senzori naneseni kao tetovaže su napravljeni otpornijima na deformacije inkorporiranjem dispergiranih ugljikovih nanocjevčica. Napravljen je amperometrijski biosenzor s imobiliziranom laktat oksidazom za praćenje razine laktata u znoju [17]. Ugradnjom ion-selektivnih elektroda u tetovaže razvijeni su senzori za praćenje pH [18] i razine amonija [19] u znoju (slika 2.6.). Posljednji rad na ovu temu opisuje izradu

potenciometrijskog senzora spojenog na bežičnu platformu za praćenje koncentracije natrija u znoju ^[20].



Slika 2.6. Potenciometrijski senzor za laktat (lijevo), pH (sredina) i amonij (desno), [17],[18],[19]

Khodagholy i suradnici su razvili amperometrijski biosenzor za određivanje laktata u znoju (slika 2.7.), imobiliziran kao ionogel. Ionogel je kruti ili gel polimerni materijal koji sadrži ionske kapljavine (rastaljene soli postojeane pri niskim temperaturama). Ionska kapljavina na aktivnom području vodljivog polimera služi kao elektrolit i kao spremnik enzima, te predstavlja dobar medij za biokemijske reakcije zbog dobre biokompatibilnosti sa biomolekulama i enzimima, a vodljivi polimeri dopiranjem daju odziv. Ionogelovi omogućavaju razvoj krutog i fleksibilnog senzora. Laktat se oksidira do piruvata, a reducirani oblik laktat oksidaze se vraća u oksidirani preko medijatora ferocena, koji nosi elektrone do izlazne elektrode PEDOT:PSS. Zatim ulaze kationi iz taljevine i dedopiraju polimer, što daje odziv ^[21].

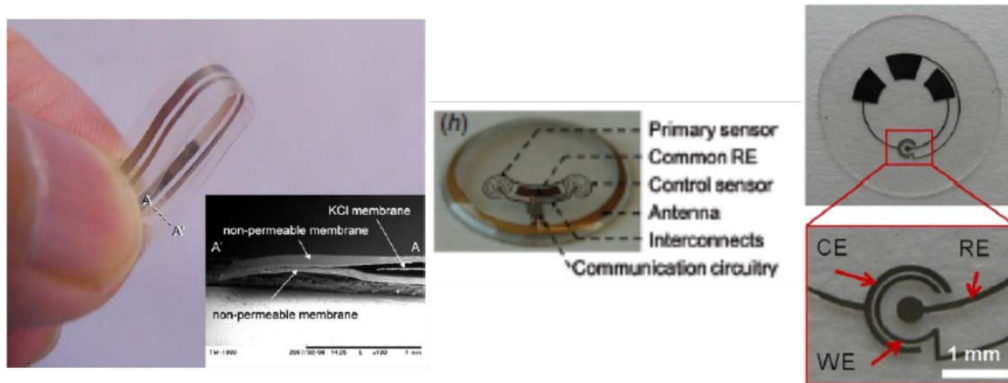


Slika 2.7. Amperometrijski biosenzor za laktat, [21]

Labroo i Cui su razvili potencijalno nosivi amperometrijski biosenzor na grafenu za detekciju laktata, imobiliziran na fleksibilni plastični polietilentereftalat (PET) substrat. Na PET substrat je prvo nanesen grafen, na koji je π - π interakcijama vezana molekula 1-pirenbutanska kiselina sukcinimidil ester s pirenovom skupinom, a drugi kraj molekule je kovalentno vezan za laktat oksidazu. Enzim laktat oksidaza katalizira reakciju laktata i kisika

pri čemu nastaje piruvat i vodikov peroksid. Oksidacijom vodikovog peroksida na grafenu nastaju elektroni, generira se struja kao odgovor a grafen prenosi signal do instrumenta. Zbog ultratankog sloja grafena, senzor je vrlo osjetljiv i može detektirati laktat vrlo brzo, a fleksibilnost substrata omogućava detektiranje laktata pod različitim mehaničkim uvjetima [22].

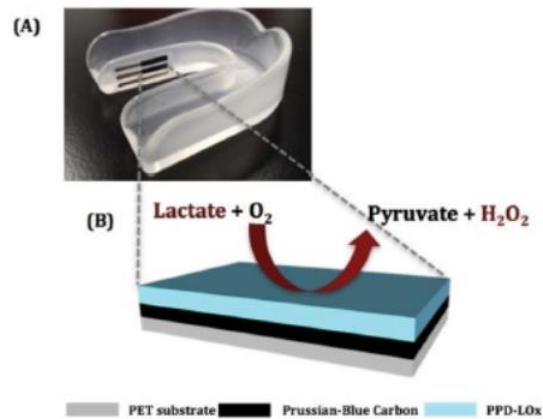
Razvijeni su amperometrijski biosenzori za određivanje koncentracije glukoze i laktata u suzama (slika 2.8.), međutim ovakvi senzori još uvijek nisu u uporabi jer je napajanje sustava problem. Prvi primjer takvog biosenzora razvili su Iguchi i suradnici. PET kontaktna leća je biofunkcionalizirana imobiliziranjem enzima glukoza oksidaze (GOD) na fleksibilnu kisikovu elektrodu (Pt je radna a Ag/AgCl su protu i referentne elektrode) unutar titanove sol-gel matrice. Senzor nema bežičnu platformu [24]. Yao i suradnici razvili su biosenzor određivanje glukoze integriran unutar kontakte leće i spojen na bežičnu platformu. Na ovakav način je prikladno neinvazivno mjeriti glukozu jer postoji korelacija između koncentracije glukoze u krvi i suzama. Kada se koncentracija glukoze u krvi poveća dva puta, u suzama se poveća tri puta ali s odgodom od nekoliko desetaka minuta [25]. Thomas i suradnici razvili su biosenzor za određivanje laktata u suzama, integriran u kontaktnu leću. Kod ovog je senzora na poseban način imobiliziran enzim laktat oksidaza (LOx) kako bi se osigurala biokompatibilnost i stabilnost. LOx je vezan na osjetilno područje unakrsnom kovalentnom vezom sa bovin serum albuminom (BSA) preko glutaraldehida (GTA). Senzor nema bežičnu platformu [26].



Slika 2.8. Amperometrijski biosenzor za glukozu bez bežične platforme (lijevo), sa bežičnom platformom (sredina) i biosenzor za laktat (desno), [24],[25],[26]

Kim i suradnici razvili su amperometrijski biosenzora za određivanje laktata u slini (slika 2.9.). Senzor je napravljen od Prussian blue (PB) pretvornika i poliorfotofenilendiamin(PPD)/laktat oksidaza (LOx) receptorskog sloja. PB služi kao "umjetna peroksidaza" jer omogućuje selektivnu detekciju vodikovog peroksida, koji je produkt u ovoj

biokatalitičkoj reakciji, te se koristi jer je siguran za oralnu primjenu, a PPD se inače koristi za imobilizaciju oksidaza. Tri sloja odvojenih elektroda nanese su screen-printing metodom na fleksibilni polietilentereftalat (PET) sloj. Prvo je isprintan Ag/AgCl sloj koji je spojen žicama na elektrokemijski analizator, zatim sloj PB i na kraju radna elektroda PPD/LOx. LOx je imobiliziran na površinu radne elektrode elektropolimerizacijom. Daljnje unaprijeđenje proizvoda je uvođenje bežične platforme [27].



Slika 2.9. Amperometrijski biosenzor za laktat, [27]

Tablica 2.1. *Elektrokemijski senzori*

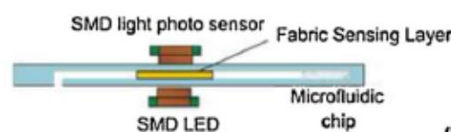
| analit | uzorak | tehnika | platforma | receptor | imobilizacija | bežično | referenca |
|--|---------------|----------------------|-----------------------|------------------|-----------------------------|----------------|------------------|
| Na⁺ | znoj | potenciometrija | tekstil | ionofora | screen-printing | ne | [12] |
| pH, NH₄⁺, K⁺ | znoj | potenciometrija | pamuk s CNT | ionofora | dip coating | ne | [14] |
| Cl⁻ | znoj | potenciometrija | poliester | Ag/AgCl | screen-printing | ne | [15] |
| Na⁺ | znoj | potenciometrija | PET | ionofora | screen-printing | da | [13] |
| mokraćna kiselina | znoj | voltamerija | razni substrati | ugljik | elastomerni pečat | ne | [16] |
| laktat | znoj | amperometrija | tetovaža | laktat oksidaza | screen-printing | ne | [17] |
| pH | znoj | potenciometrija | tetovaža | polianilin | screen-printing | ne | [18] |
| NH₄⁺ | znoj | potenciometrija | tetovaža | ionofora | screen-printing | ne | [19] |
| Na⁺ | znoj | potenciometrija | tetovaža | ionofora | screen-printing | da | [20] |
| laktat | znoj | amperometrija (OECT) | parilen | laktat oksidaza | ionogel | ne | [21] |
| laktat | - | amperometrija | PET | laktat oksidaza | kovalentno | ne | [22] |
| elektroliti | suze | konduktometrija | politetrafluor etilen | zlato | CVD | ne | [23] |
| glukoza | suze | amperometrija | polipropilen | glukoza oksidaza | fotoosjetljiva smola | ne | [24] |
| glukoza | suze | amperometrija | PET kontaktne leće | glukoza oksidaza | sol-gel (TiO ₂) | da | [25] |
| laktat | suze | amperometrija | PET kontaktne leće | laktat oksidaza | kovalentno | ne | [26] |
| laktat | slina | amperometrija | štitnik za zube | laktat oksidaza | elektropolimerizacija PPD | ne | [27] |

2.4.2. Nosivi optički senzori

Optički kemijski senzori sve su više u uporabi zahvaljujući minijaturiziranim izvorima svjetlosti i fotodetektorima dostupnim pri niskim cijenama. Također, dostupnost visoko kvalitetnih vlakana je olakšala razvoj i upotrebu optičkih senzora ugrađenih u vlakna za nove primjene u biomedicini i industriji. Takve primjene zahtijevaju kontinuirano praćenje analiza u realnom vremenu, te su stoga optički kemijski senzori idealno rješenje [28].

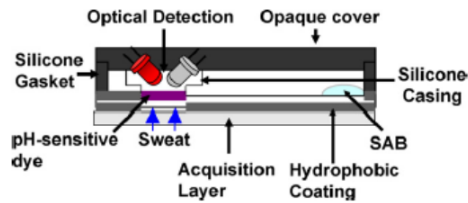
Optički nosivi kemijski senzori uglavnom se koriste za mjerenje pH. pH znoja je lako odrediti, također pronađena je i korelacija između pH i koncentracije natrija u znoju. Veći pH znači i veća koncentracija natrija, tako da se mjerenjem pH može indirektno pratiti natrij. Također je ustanovljeno da promjene pH kože igraju ulogu u patogenezi kožnih bolesti, kao što su dermatitis i akne [29].

Curto i suradnici razvili su optički pH senzor s mikrofluidičkom platformom u koju je ugrađen tekstil (slika 2.10.). Znoj ulazi i teče mikrokanalima kapilarnim silama, te se skuplja u absorpcijskom sloju na kraju kanala. Absorpcijska vlakna, ugrađena na kraju kanala, djeluju kao pasivna pumpa. pH osjetljiva boja bromkrezol (BCP) je nanosena na tekstil, a kolorimetrijska detekcija je izvedena jer osjetilni materijal mijenja boju ovisno o pH znoja. LED diode su izvor zračenja i detektor, pričvršćene na plastični poklopac koji blokira ambijentalno svjetlo. Svjetlo iz izvora prolazi direktno kroz osjetilni materijal, a detektor s druge strane platforme detektira transmitirano zračenje. Mikrofluidička platforma kasnije je poboljšana ugradnjom vlakana pamuka u mikrokanale, jer posjeduju bolja kapilarna svojstva i osiguravaju homogeni protok kroz mikrokanale [29].



Slika 2.10. pH senzor s mikrofluidičkom platformom, [29]

Morris i suradnici razvili su nosivi optički pH senzor koji također ima mikrofluidičku platformu s ugrađenim tekstilom za skupljanje uzorka (slika 2.11.). Znoj se skuplja s površine kože kapilarnim silama kroz kanale u osjetilno područje. Također i ovdje da bi se osigurao kontinuirani tok, apsorpcijski materijal je ugrađen na krajevima mikrokanala. Korištena je pH osjetljiva boja BCP koja mijenja boju ovisno o pH, ali u ovom se slučaju detektira zračenje reflektirano s osjetilnog područja [30].



Slika 2.11. pH senzor s mikrofluidičkom platformom, [30]

Caldara i suradnici razvili su nosivi optički pH senzor na tekstilu (slika 2.12.), kod kojeg je tkanina funkcionalizirana sol-gel procesom. Boja osjetljiva na promjenu pH (lakmus) je kovalentno vezana na mezoporoznu SiO₂ matricu. Cijeli sustav je zatvoren u crnu kutiju, LED je izvor zračenja a RGB fotodioda detektor koji detektira reflektirano zračenje s tkanine [31].



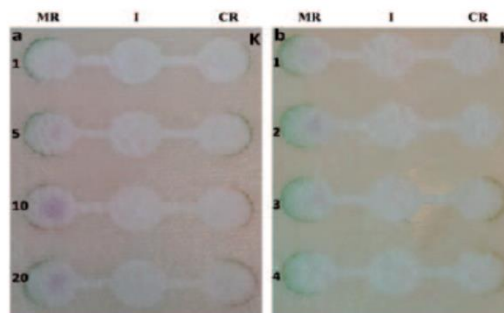
Slika 2.12. pH senzor na tekstilu, [31]

Mohr i Muller razvili su nosivi optički pH senzora napravljen kovalentnim vezanjem pH osjetljivih i inertnih boja (slika 2.13.). Boje su imobilizirane na tekstil vinilsulfonil vezom, koja je vrlo stabilna u kiselom i srednje lužnatom mediju. Inertna boja je upotrijebljena kako bi se postigla promjena boje iz zelene u crvenu, jer te boje obično signaliziraju dobro i loše. Zelena boja signalizira da je pH otopine kompatibilan s kožom a crvena boja se pojavljuje u lužnatom području, pri pH>9, koji može uzrokovati iritacije kod male djece i odraslih s osjetljivom kožom. Pranjem sa detergentima se crvena boja zbog lužnatog medija ne može ukloniti, ali sušenjem na zraku se vrati zelena boja, što je vjerojatno zbog vezanja CO₂ iz zraka. Na isti način, kombiniranjem pH indikatorske i inertne boje, napravljen je senzor za mjerenje pH u ranama. Pri pH>8 rana ne može zacijeliti te se pri tom pH se pojavljuje crvena boja, dok pri pH 6-7 boja ostaje zelena [32].



Slika 2.13. *pH senzor imobiliziran na tekstil, [32]*

Baysal i suradnici razvili su nosivi optički biosenzora za određivanje laktata u znoju (slika 2.14.). Senzor ima mikrofluidičku platformu za dostavu uzorka do osjetilnog područja, te pruža neinvazivnu, brzu i semikvantitativnu analizu laktata. Mikrofluidička platforma napravljena je fotolitografijom a se sastoji od hidrofilnih mikrokanala i rezervoara okruženih hidrofobnim barijerama. Rezervoari su funkcionalizirani ko-imobiliziranjem enzima laktat oksidaze (LOx) i peroksidaze (POx). LOx koristi L-(+)-laktatnu kiselinu kao substrat i proizvodi H_2O_2 koji je substrat POx-u. Zatim POx oksidira H_2O_2 u prisutnosti 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeva sol (ABTS) što rezultira formiranjem boje. Biosenzor imobiliziran na tekstilu daje semi-kvantitativnu vizualnu detekciju između normalne ($<5mM$) i visoke ($>5mM$) razine laktata u znoju. Normalna razina laktata daje svjetlo ljubičastu boju, s time da se u početku zelena boja uočava, a visoka razina daje tamniju ljubičastu boju [33].



Slika 2.14. *Optički biosenzor za laktat, [33]*

Tablica 2.2. Optički senzori


| analit | uzorak | tehnika | platforma | receptor | imobilizacija | izvor | detektor | bežično | referenca |
|---------------|---------------|----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|-----------------|----------------|------------------|
| pH | znoj | apsorbancija | nylon/lycra | BCP | apsorpcija iz otopine | LED | LED | da | [29] |
| pH | znoj | reflektancija | poliester/lycra | BCP | elastomerni pečat | LED | LED | da | [30] |
| pH | znoj | reflektancija | pamuk | litmus | sol-gel | LED | fotodioda | da | [31] |
| pH | otopina | apsorbancija | tekstil | GJM-492 | kovalentno | ambijentalno svjetlo | oko | ne | [32] |
| laktat | znoj | apsorbancija | poliester/poliamid (Evolon) | laktat oksidaza | apsorpcija iz otopine | ambijentalno svjetlo | oko | ne | [33] |

3. EKSPERIMENTALNI DIO

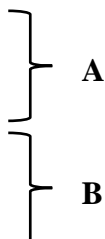
Svrha laboratorijskog ispitivanja je kolorimetrijska karakterizacija GJM-492 pH osjetljivog bojila imobiliziranog na poliestersku tkaninu te određivanje pK_a vrijednosti, i dinamičkog područja djelovanja bojila i izvedbenih značajki: histereze, točnosti i preciznosti.

3.1. Materijali i kemikalije

Kemikalije korištene za pripravu citratnog pufera:

- citratna kiselina (Kemika d.d., Zagreb)
 - fosfatna kiselina (Kemika d.d., Zagreb)
 - deionizirana voda
 - borna kiselina (Sigma Aldrich)
 - natrijev hidroksid (Kemika d.d., Zagreb)
 - klorovodična kiselina ($0,1 \text{ mol/dm}^3$)
- 
- A
- B

Kemikalije korištene za pripravu fosfatnog pufera:

- kalijev dihidrogenfosfat (Kemika d.d. Zagreb)
 - deionizirana voda
 - natrijev hidrogenfosfat (Kemika d.d. Zagreb)
 - deionizirana voda
- 
- A
- B

Materijali za izradu pH osjetljivog sloja:

- koktel (2-fluoro-4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-6-metoksifenol (GJM-492) kovalentno vezana na Sigmacell Cellulose Type 20 čestice (Aldrich, Austrija). Čestice su potom dispergirane u 10% otopini poliuretanskog hidrogela HydroMed D4 (Cardiotech, SAD), u vodenoj otopini (etanol:voda = 9:1))
- poliesterska tkanina

3.2. Instrumenti

- pH metar Iskra MA 5740
- vaga Kern ALJ 120-4
- ultrazvučna kupelj Elma Transsonic T460/H
- bežična RFID platforma, GoSense Wireless Ltd., Cambridge, Ujedinjeno Kraljevstvo

- RFID čitač Proxima RF Inc, SAD

3.3. Tijek rada

3.3.1. Priprema citratnog pufera

Za snimanje kalibracijske krivulje je potrebno pripremiti citratne puferne u rasponu pH vrijednosti 3,0-9,0. Određena vrijednost pH pufera dobije se miješanjem citratnog pufera (**A**) s 0,1 mol/dm³ klorovodičnom kiselinom (**B**) prema izrazu 1:

$$10 \text{ mL } \mathbf{A} + x \text{ mL } \mathbf{B} + (50-10-x) \text{ mL deionizirane vode} \quad (1)$$

Pri čemu volumen 0,1 mol/dm³ klorovodične kiseline ovisi o potrebnoj vrijednosti pH.

- Priprema pufera **A**

Za pripremu pufera **A** potrebno je 100 mL citratne kiseline (0,33 mol/dm³), 100 mL fosfatne kiseline (0,33 mol/dm³), 3,54 g borne kiseline i 343 mL natrijevog hidroksida (1 mol/dm³). Navedeni volumeni i odvage kemikalija dodaju se u odmjernu tikvicu od 1000 mL, koja se nadopuni do oznake deioniziranom vodom.

Korištenjem izraza 1 pripreme se puferi u tikvicama od 50 mL na slijedeći način:

pH=3,0 (10 mL **A** + 28,45 mL **B** + 11,55 mL deionizirane vode)

pH=4,0 (10 mL **A** + 25,35 mL **B** + 14,65 mL deionizirane vode)

pH=4,5 (10 mL **A** + 24,00 mL **B** + 16,00 mL deionizirane vode)

pH=5,0 (10 mL **A** + 22,70 mL **B** + 17,30 mL deionizirane vode)

pH=5,5 (10 mL **A** + 21,30 mL **B** + 18,70 mL deionizirane vode)

pH=6,0 (10 mL **A** + 19,85 mL **B** + 20,15 mL deionizirane vode)

pH=6,5 (10 mL **A** + 18,15 mL **B** + 21,85 mL deionizirane vode)

pH=7,0 (10 mL **A** + 16,45 mL **B** + 23,55 mL deionizirane vode)

pH=7,5 (10 mL **A** + 15,05 mL **B** + 24,95 mL deionizirane vode)

pH=8,0 (10 mL **A** + 14,05 mL **B** + 25,95 mL deionizirane vode)

pH=9,0 (10 mL **A** + 12,00 mL **B** + 28,00 mL deionizirane vode)

Točne vrijednosti pH pufera određene su pH metrom Iskra MA 5740:

pH=2,910

pH=4,005

pH=4,525

pH=5,027

pH=5,420

pH=5,944

pH=6,406

pH=7,055

pH=7,553

pH=8,053

pH=8,900

3.3.2. Priprema fosfatnog pufera

Za određivanje točnosti i preciznosti u dinamičkom području pripremljeni su fosfatni puferi u rasponu pH vrijednosti 5,0-7,0. Određena vrijednost pH pufera dobivena je miješanjem kalijevog dihidrogenfosfata (**A**) s natrijevim hidrogenfosfatom (**B**) u različitim omjerima.

- Priprema otopine **A**

Za pripremu otopine **A** potrebno je 9,077 g kalijevog dihidrogenfosfata (KH_2PO_4) otopiti u 1 L deionizirane vode ($1/15 \text{ mol/dm}^3$).

- Priprema otopine **B**

Za pripremu otopine **B** potrebno je 23,888 g natrijevog hidrogenfosfata ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$) otopiti u 1 L deionizirane vode ($1/15 \text{ mol/dm}^3$).

Miješanjem otopina **A** i **B** pripreme se puferi određene pH vrijednosti u tikvicama od 50 mL na slijedeći način:

pH=5,0 (49,6 mL **A** + 0,4 mL **B**)

pH=5,2 (49,2 mL **A** + 0,8 mL **B**)

pH=5,4 (48,7 mL **A** + 1,3 mL **B**)

pH=5,6 (47,6 mL **A** + 2,5 mL **B**)

pH=5,8 (46,4 mL **A** + 3,6 mL **B**)

pH=6,0 (44,0 mL **A** + 6,0 mL **B**)

pH=6,2 (41,5 mL **A** + 8,5 mL **B**)

pH=6,4 (37,0 mL **A** + 13,0 mL **B**)

pH=6,6 (32,7 mL **A** + 17,3 mL **B**)

pH=6,8 (26,7 mL **A** + 23,3 mL **B**)

pH=7,0 (20,7 mL **A** + 29,3 mL **B**)

Točne vrijednosti pH pufera određene su pH metrom Iskra MA 5740:

pH=5,036

pH=5,259

pH=5,425

pH=5,631

pH=5,792

pH=6,056

pH=6,201

pH=6,454

pH=6,602

pH=6,866

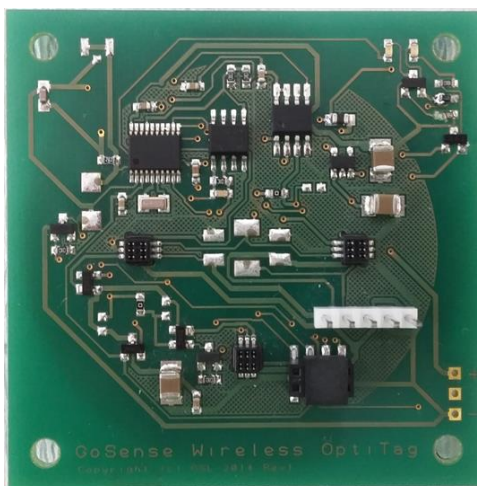
pH=7,042

3.3.3 Imobilizacija pH osjetljivog bojila na tekstil

U plastičnu foliju ureže se kvadrat dimenzija 2 cm x 2 cm. Preko folije se na poliestersku tkaninu ručno nanese 200 μ L koktel otopine (GJM-492, etanola i hidrogel), koja je prethodno homogenizirana 10 min u ultrazvučnoj kupelji. Tkanina s ručno nanesenim bojilom stavi se u Petrijevu zdjelicu te se ostavi sušiti 24 sata.

3.3.4 Bežična RFID platforma

Bežična platforma korištena u ovom radu razvijena je ciljano za integraciju s kemijskim sensorima. Platforma je mala, lagana, nosiva i može bežično komunicirati s RFID čitačem spojenim na računalo. Ukupne dimenzije platforme su 60 mm x 60 mm x 10 mm što omogućava njenu primjenu u nosivim kemijskim sensorima. Platforma je autonomna, te se početnim programiranjem može postaviti brzina i ukupni broj mjerenja koji se po izvršenju spremaju u unutarnju memoriju. Za napajanje se koristi standardna baterija CR 2032.



Slika 3.1. Bežična RFID platforma

Bežična platforma spojena je s optoelektroničkim sučeljem, koje se sastoji od dvije svjetleće diode (LED), koje služe kao izvor zračenja, i detektora fotodiode. Bežična platforma automatski regulira paljenje i gašenje LED dioda, te spremanje izmjernog signala fotodiode u memoriju. Optoelektroničko sučelje je pričvršćeno na plastični poklopac koji blokira ambijentalno svjetlo.

3.3.5. Kolorimetrijska mjerenja

Cilj mjerenja bio je snimiti odziv reflektiranog zračenja sa protoniranog i deprotoniranog oblika pH osjetljivog bojila GJM-492 imobiliziranog na poliestersku tkaninu.

Kalibracijske krivulje snimljene su u 11 prethodno priređenih pufera (pH= 2,910; 4,005; 4,525; 5,027; 5,420; 5,944; 6,406; 7,055; 7,553; 8,053; 8,900).

Analitička karakterizacija s „nepoznatim“ uzorcima izvršena je pomoću 8 prethodno priređenih pufera (pH= 5,259; 5,452; 5,631; 5,792; 6,201; 6,454; 6,602; 6,866). Kalibracijski pravac za linearno područje snimljen je u 3 prethodno priređena pufera (pH= 5,036; 6,056; 7,042)

Postupak:

Na tkaninu na kojoj je imobiliziran pH osjetljivi sloj bojila, nanese se 1 mL prethodno priređenog pufera, te se ostavi sušiti na filter papiru 2 min. Zatim se poklopac s izvorom zračenja i detektorom stavi na tkaninu s imobiliziranim slojem te se snimaju odzivi 1 min (snimi se 30 mjernih točaka, po jedna svake 2 s). Nakon mjerenja tkanina se ispere deioniziranom vodom, postupak se redom ponovi za ostale puferne. Snimljeni podaci se nakon mjerenja prenose sa bežične platforme na RFID čitač spojen na stolno računalo, gdje se vrši obrada podataka.

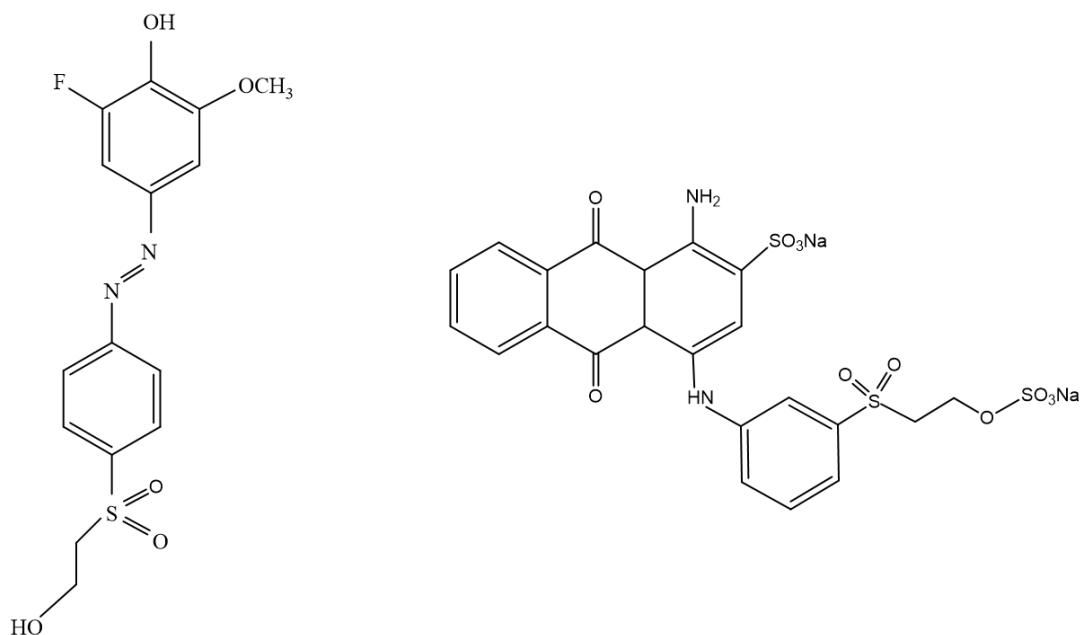


Slika 3.2. *Integrirani sustav za mjerenje*

4. REZULTATI I RASPRAVA

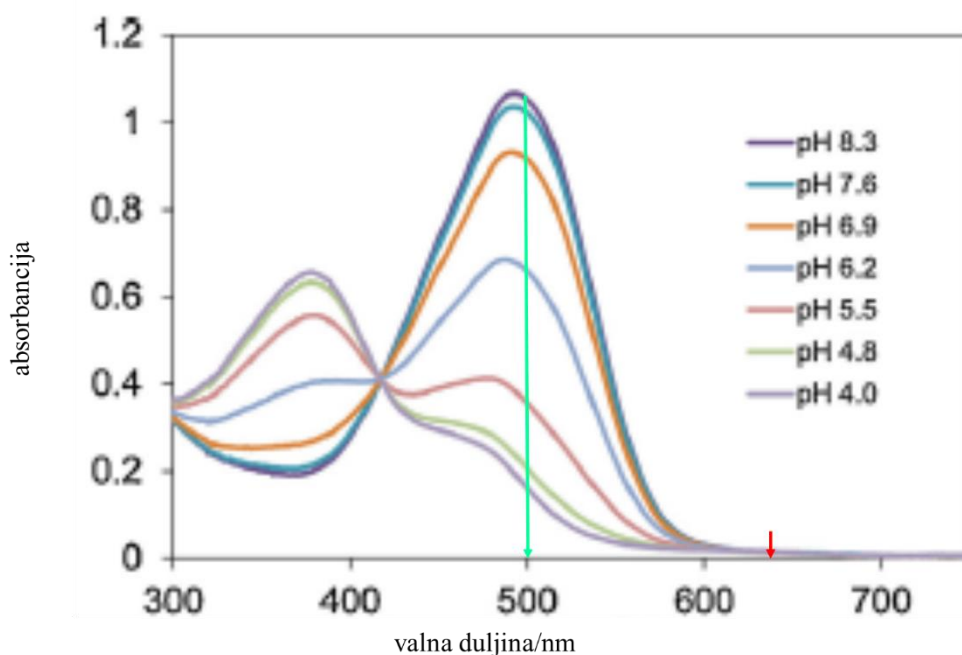
U eksperimentu je korištena bežična RFID platforma s optoelektroničkim sučeljem, sastavljenim od dvije LED diode i fotodiode raspoređene planarno, te ugrađene u kućište napravljeno tako da blokira ambijentalno svjetlo. Jedna LED dioda emitira zračenje karakteristično za uzorak, zračenje se reflektira s površine osjetilnog područja te obasja fotodiodu koja služi kao detektor, na čijem se kraju javlja elektromotorna sila (napon) proporcionalna intenzitetu reflektirane zrake. Druga LED dioda emitira zračenje koje daje konstantan odziv. Sustav je integriran s pH osjetljivim bojilom GJM-492 imobiliziranim na tekstil od poliestera. Na ovakav način moguće je odrediti pH vrijednost znoja jer boja ovisi o pH.

pH osjetljivo bojilo 2-fluoro-4-[4-(2-hidroksietansulfonil)-fenilazo]-6-metoksifenol (GJM-492) imobilizirano na tekstilu prema literaturnim podacima ima pK_a vrijednost 6,1 [32]. Kako bi se postigla promjena boje iz zelene u crvenu, i time omogućilo jednostavnije vizualno uočavanje promjene boje, pH osjetljivo bojilo GJM-492 kombinirano je sa pH inertnim bojilom 1-amino-9,10-diokso-4-[3-(2-sulfonatoooksietilsulfonil)anilino]antracen-2-sulfonat (RBBR), koje je obojano plavo. Već mala količina pH inertnog bojila doprinosi zelenoj, dok na crvenu boju nema utjecaj.

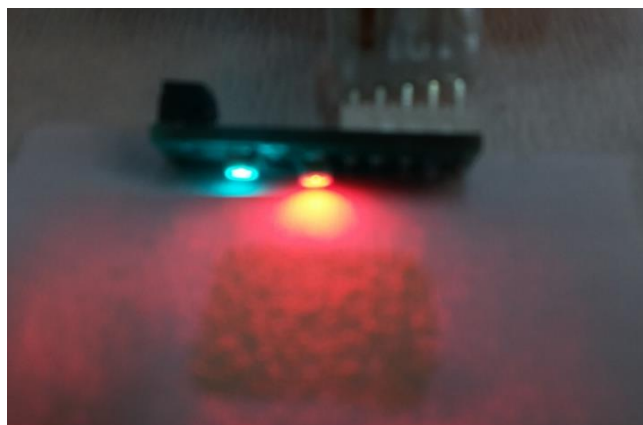


Slika 4.1. *Struktura pH osjetljivog bojila GJM-492 (lijevo) i pH inertnog bojila RBBR (desno)*

Literaturni podaci navode da je apsorpcijski maksimum protoniranog oblika molekule pri valnoj duljini 375 nm, dok je apsorpcijski maksimum deprotoniranog oblika molekule pri valnoj duljini od 492 nm (slika 4.2.) [32]. U eksperimentu korištena LED dioda emitira zračenje koje ima maksimum pri 502 nm. Dakle, valnu duljinu zračenja LED diode deprotonirani oblik molekule absorbira. Stoga je intenzitet reflektirane svjetlosti koji izmjeri fotodioda obrnuto proporcionalan stupnju deprotonacije pH osjetljivog bojila, odnosno pH uzorka. Radi poboljšanja rada senzora, u kućište je ugrađena još jedna LED dioda, koja emitira zračenje pri valnoj duljini od 634 nm te daje jednak odziv neovisno o pH vrijednosti pufera. Na taj način se sprječava opasnost od netočnog mjerenja koju može izazvati ispiranje bojila ili promjena položaja optoelektroničkog sučelja u odnosu na pH osjetljivi film. Bežična platforma također snima signal fotodiode bez prisutnog zračenja LED dioda, odnosno mjeri pozadinsko svjetlo. Ovaj signal se može oduzeti od glavnog signala ako je došlo do smetnji uzrokovanih izloženosti fotodiode ambijentalnom svjetlu tijekom mjerenja, čime se također može poboljšati rad senzora.

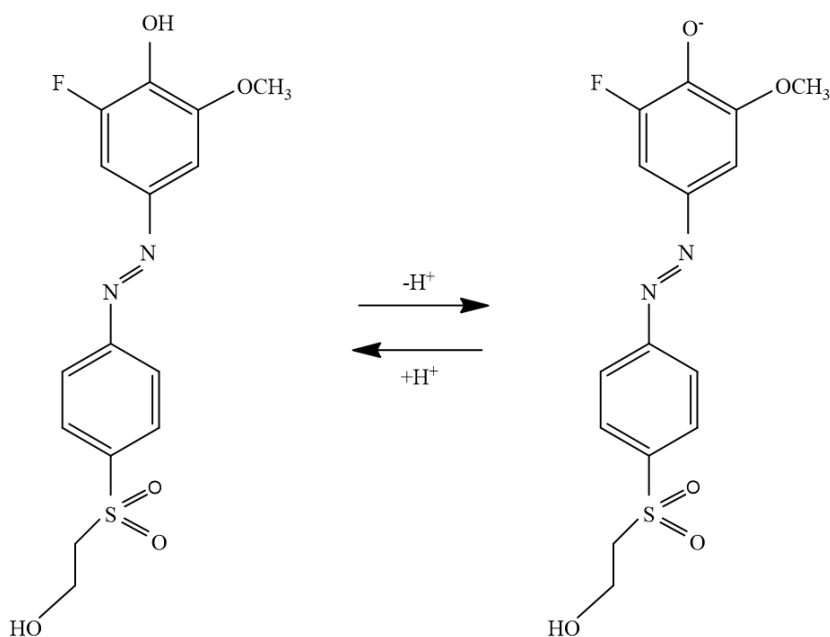


Slika 4.2. Absorpcijski spektar GJM-492 imobiliziranog na tekstil pri različitim pH vrijednostima. Spektri su preuzeti iz literature [32]; zelena linija označava emisijski maksimum LED diode čiji se odziv mijenja ovisno o stupnju protonacije a crvena linija emisijski maksimum LED diode čiji je odziv jednak neovisno o stupnju protonacije



Slika 4.3 LED diode korištene u eksperimentu koje emitiraju zračenje od 502 nm (zelena) i 634 nm (crvena)

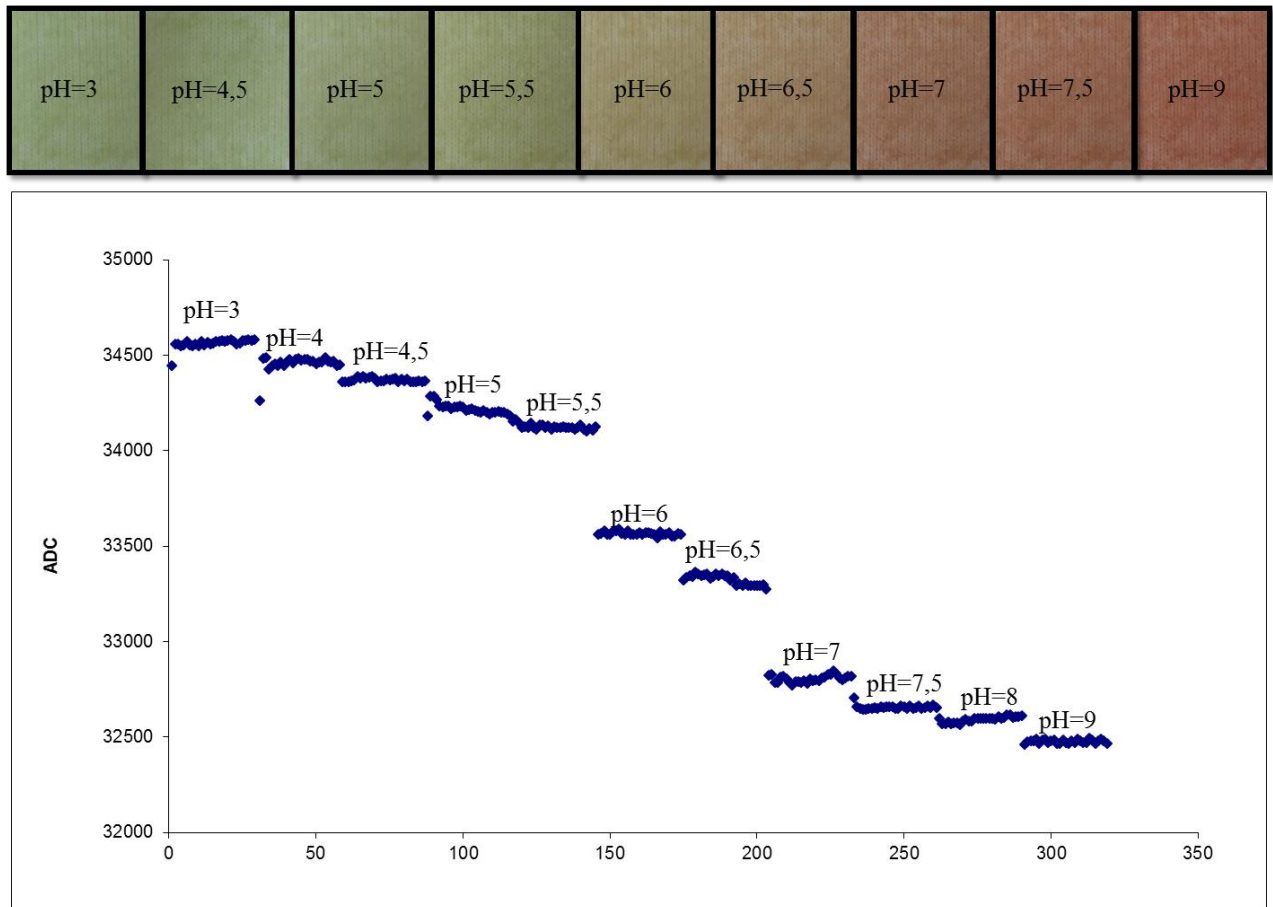
Kiselinsko-bazna ravnoteža pH osjetljivog bojila GJM-492 prikazana je na slici 4.4.



Slika 4.4. Prikaz protoniranog i deprotoniranog oblika pH osjetljivog bojila GJM-492

Postupan prijelaz iz zelene u crvenu boju, u puferima pH vrijednosti 3-9, prikazan je na slici 4.5. Na grafu su prikazana kolorimetrijska mjerenja provedena mjerenjem reflektiranog zračenja LED diode u puferima različitih pH vrijednosti. Snimljeno je 30 uzastopnih mjerenja bez micanja kućišta s tkanine s imobiliziranim bojilom. Na grafu je vidljivo da se odziv s fotodiode (ADC) postupno smanjuje od kiselog prema lužnatome pH zbog smanjenja udjela

protoniranog oblika pH osjetljivog bojila. Naime, protonirani oblik GJM-492 (pri pH=3) manje apsorbira emitirano zračenje LED diode (502 nm) te daje najveći odziv, dok ga deprotonirani GJM-492 (pri pH=9) apsorbira te daje najmanji odziv. Između te dvije krajnje vrijednosti je dinamičko područje, u kojem se odziv mijenja s promjenom pH.



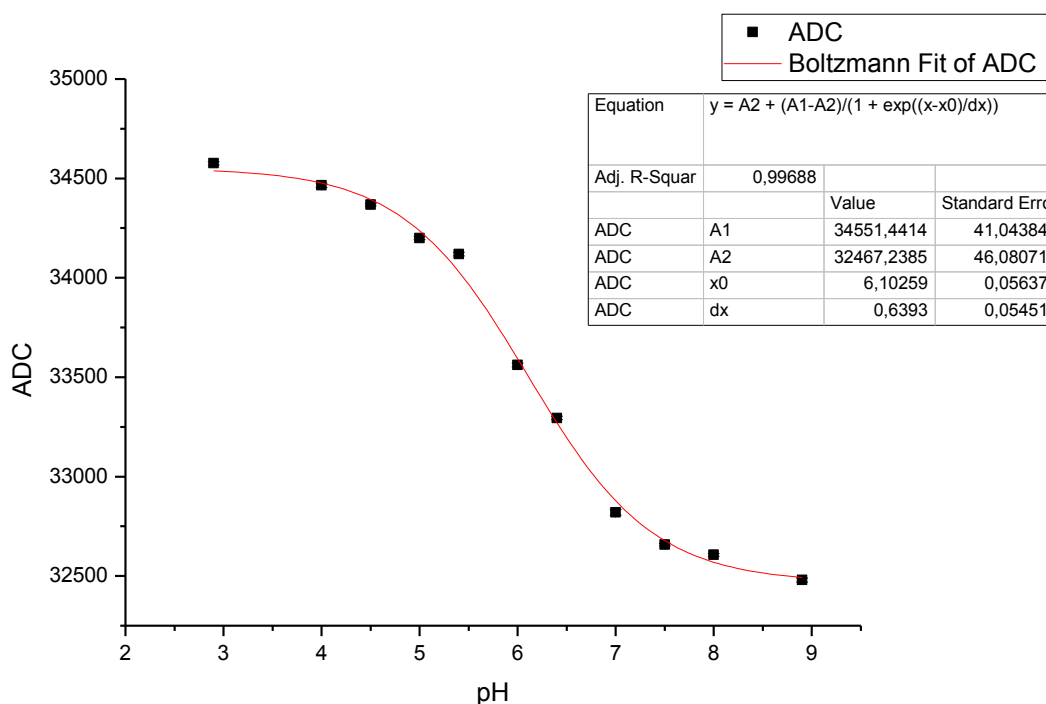
Slika 4.5. Prikaz optičke promjene bojila i vremenske ovisnosti odziva u puferima različitih pH vrijednosti. Os ordinata predstavlja digitalni oblik signala fotodiode, dobiven pomoću analogno-digitalnog pretvornika (ADC).

Grafičkim prikazom odziva fotodiode (ADC) u ovisnosti o pH vrijednosti dobiva se karakteristična "S" krivulja koja može poslužiti kao kalibracijska krivulja (slika 4.6.). Od 30 uzastopnih mjerenja snimljenih bez micanja kućišta za svaki pojedini pufer, zadnjih 10 je uzeto u obzir za daljnju statističku obradu. Svaka točka na slici 4.6. predstavlja srednju vrijednost zadnjih 10 mjerenja, dok je standardna devijacija prikazana kao stupac pogreške (eng. *error bar*). Na grafičkom prikazu se jasno vidi smanjenje odziva s fotodiode zbog

smanjenja udjela protoniranog oblika GJM-492 povećanjem pH vrijednosti. Na grafu se također uočava linearno dinamičko područje, u kojem se odziv mijenja linearno s promjenom pH, a to je između pH 5 i 7. Eksperimentalno dobivena pK_a vrijednost iznosi 6,10259, što se podudara s pK_a vrijednosti danoj u literaturi [32].

Aproksimacijska funkcija koja opisuje eksperimentalno dobivene rezultate ovisnosti $A=f(pH)$ glasi:

$$A(502 \text{ nm}) = 32467,2385 + \frac{67018,6799}{1 + e^{\left(\frac{pH-6,10299}{0,6393}\right)}}$$



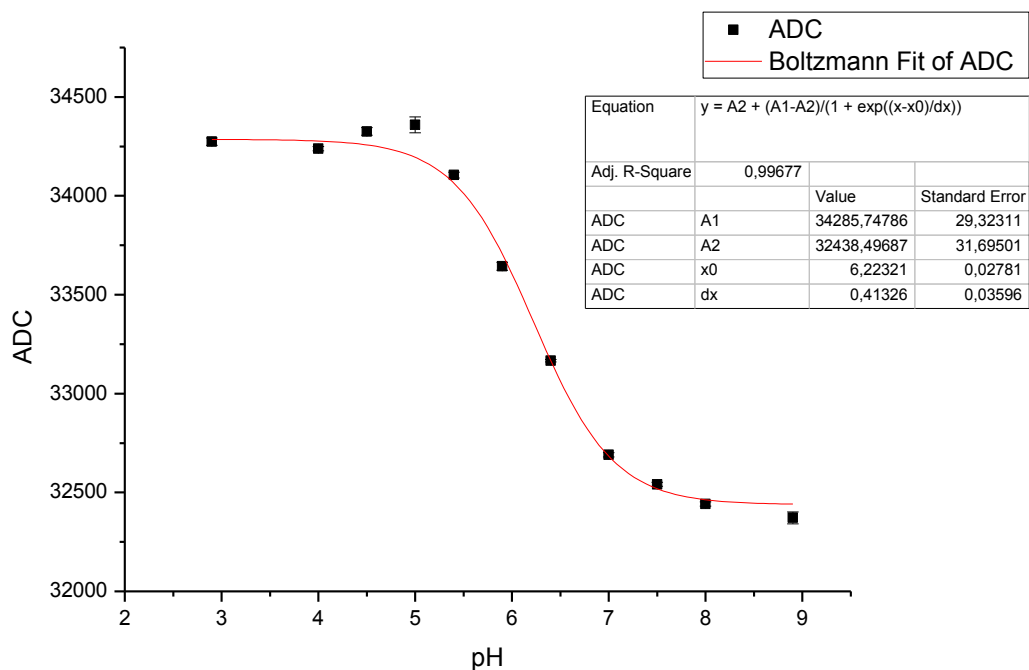
Slika 4.6. Grafički prikaz ovisnosti reflektiranog zračenja o pH dobiven uzastopnim mjerenjem bez micanja kućišta

Statističkom obradom podataka (tablica 4.1.), pri čemu je u obzir uzeto zadnjih 10 točaka, dobivena standardna devijacija je vrlo mala što znači da je preciznost mjerenja dobra.

Tablica 4.1. *Ekperimentalne vrijednosti ADC dobivene bez micanja kućišta, izračunata standardna devijacija i relativna standardna devijacija*

| pH | ADC (srednja vrijednost) | standardna devijacija | relativna standardna devijacija/% |
|------------|---------------------------------|------------------------------|--|
| 2,9 | 34576 | 8 | 0,02 |
| 4 | 34465 | 11 | 0,03 |
| 4,5 | 34368 | 6 | 0,02 |
| 5 | 34200 | 8 | 0,02 |
| 5,4 | 34119 | 9 | 0,03 |
| 6 | 33562 | 10 | 0,03 |
| 6,4 | 33295 | 8 | 0,02 |
| 7 | 32820 | 14 | 0,04 |
| 7,5 | 32658 | 6 | 0,02 |
| 8 | 32606 | 7 | 0,02 |
| 8,9 | 32480 | 10 | 0,03 |

Na slici 4.7. prikazana je kalibracijska krivulja snimljena tako da je između svakog mjerenja kućište dignuto i vraćeno ponovo na isto mjesto, kako bi se simulirala realna primjena, odnosno mogućnost pomicanja optoelektroničkog sučelja u odnosu na pH osjetljivi film tijekom nošenja. Snimljeno je 30 mjerenja, od kojih je zadnjih 10 uzeto u obzir za daljnu statističku obradu podataka. U ovom je slučaju dobivena standardna devijacija veća u odnosu na mjerenja provedena bez micanja kućišta, što znači da je preciznost lošija (tablica 4.2.). Također je uočljivo veće odstupanje eksperimentalnih podataka od teoretske krivulje. Dobivena pK_a vrijednost je nešto veća od vrijednosti dane u literaturi, te iznosi 6,22321.

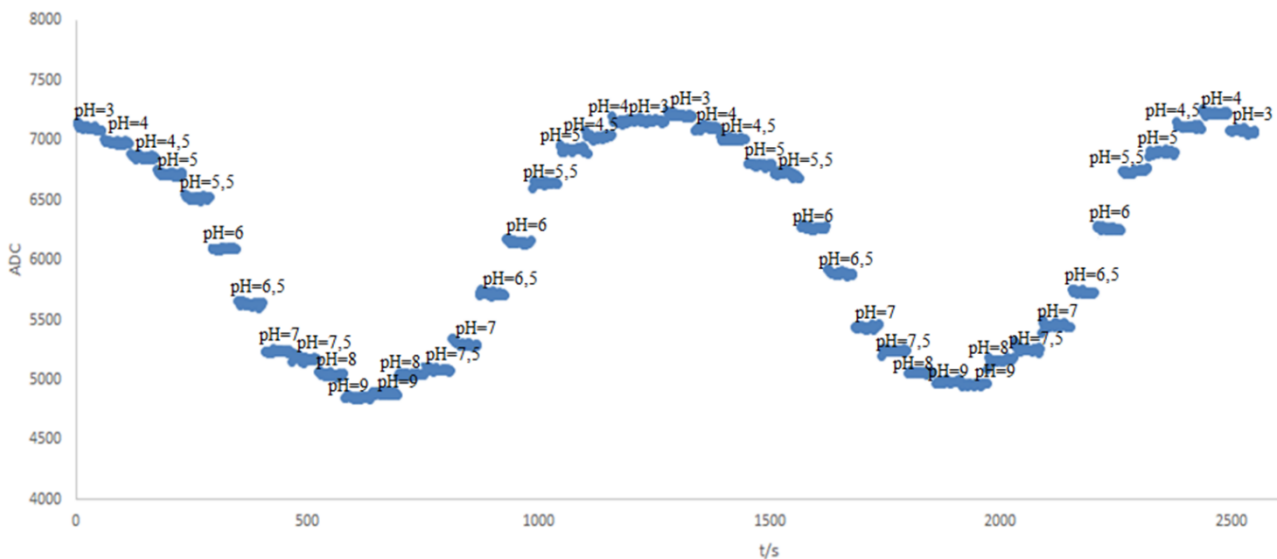


Slika 4.7. Grafički prikaz ovisnosti reflektiranog zračenja o pH dobiven uzastopnim mjerenjem micanjem kućišta

Tablica 4.2. Eksperimentalne vrijednosti ADC dobivene micanjem kućišta, izračunata standardna devijacija i relativna standardna devijacija

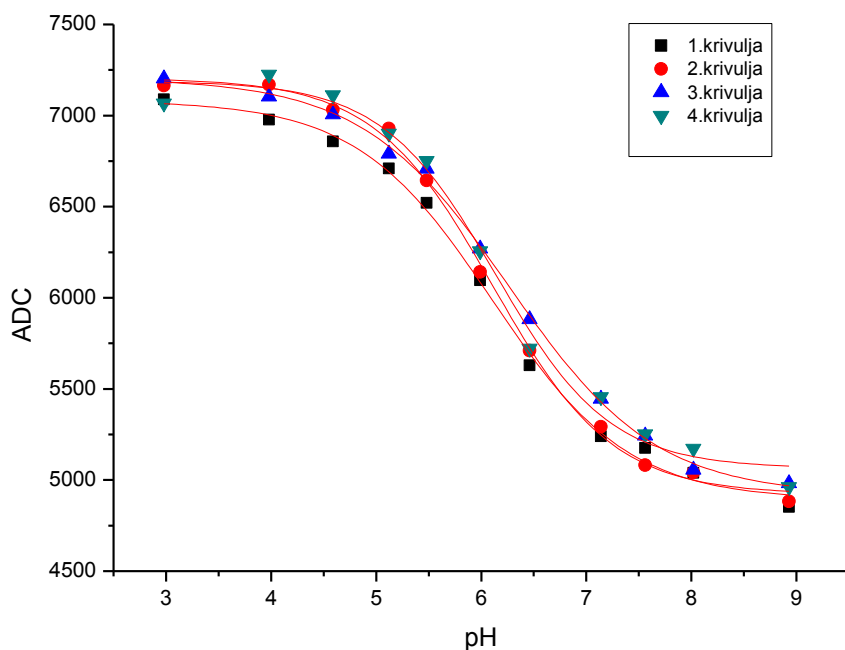
| pH | ADC (srednja vrijednost) | standardna devijacija | relativna standardna devijacija/% |
|-----|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| 2,9 | 34274 | 18 | 0,05 |
| 4 | 34239 | 11 | 0,03 |
| 4,5 | 34326 | 19 | 0,06 |
| 5 | 34359 | 40 | 0,12 |
| 5,4 | 34105 | 15 | 0,04 |
| 5,9 | 33644 | 20 | 0,06 |
| 6,4 | 33166 | 6 | 0,02 |
| 7 | 32691 | 11 | 0,03 |
| 7,5 | 32541 | 10 | 0,03 |
| 8 | 32441 | 11 | 0,03 |
| 8,9 | 32372 | 30 | 0,09 |

Zatim je provjerena ponovljivost mjerenja tako da su snimljene 4 uzastopne kalibracijske krivulje (slika 4.8.).



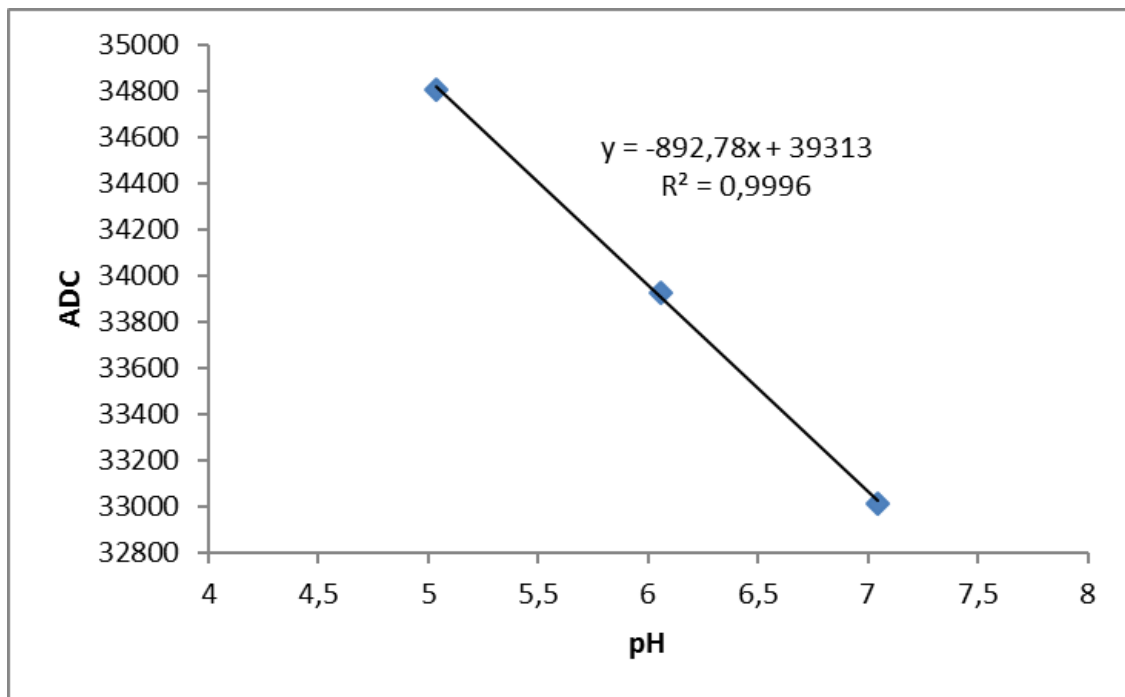
Slika 4.8. Prikaz vremenske ovisnosti odziva u puferima različitih pH vrijednosti

U svakom puferu je snimljeno 30 uzastopnih mjerenja bez micanja kućišta, od čega je zadnjih 10 uzeto u obzir za daljnju statističku obradu podataka i izradu kalibracijskih krivulja. Redoslijed snimanja krivulja u vremenu: prva krivulja snimljena je od pH=3 do pH=9, druga krivulja snimljena je od pH=9 do pH=3, treća krivulja snimljena je od pH=3 do pH=9, četvrta krivulja snimljena je od pH=9 do pH=3. Na slici 4.9 prikazane su četiri kalibracijske krivulje, konstruirane iz podataka prikazanih na slici 4.8. Točke na slici 4.9 predstavljaju srednju vrijednost zadnjih 10 mjerenja. Iz dobivenih krivulja je vidljivo da pK_a vrijednost treće kalibracijske krivulje (6,26558) odstupa u odnosu na ostale, kojima je pK_a vrijednost približno 6,1. Međutim, odstupanje nije veliko što ukazuje da je ponovljivost mjerenja dobra. Histereza, izražena kao maksimalno odstupanje izračunate pH vrijednosti za dva ista očitavanja ADC vrijednosti, iznosi 0,3496 pH jedinica. U ovom je slučaju pozadinsko svjetlo smetalo pri mjerenju tako da su rezultati poboljšani oduzimanjem pozadinskog svjetla.



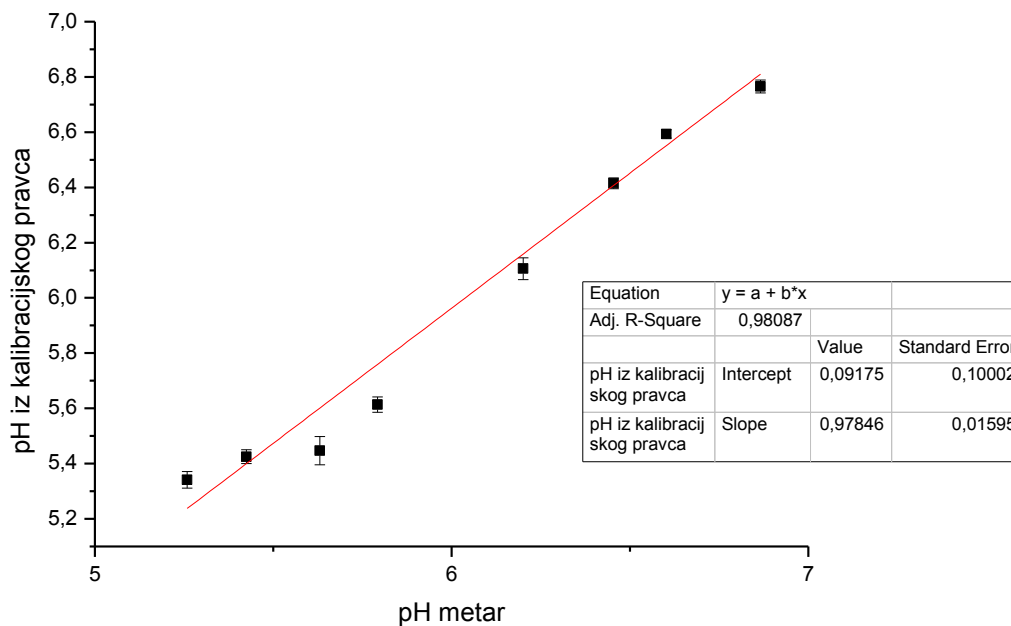
Slika 4.9. Histereza

Izvedbene značajke (točnost i preciznost) u linearnom području određene su mjerenjem odziva nepoznatih uzoraka nosivim bežičnim kemijskim senzorom i referentnim laboratorijskim pH metrom. Kao nepoznati uzroci korišteni su fosfatni puferi. U svakom puferu snimljeno je 30 uzastopnih mjerenja bez micanja kućišta. Kako bi se provjerila mogućnost jednostavnije kalibracije nosivog senzora, snimljen je kalibracijski pravac kroz tri točke (slika 4.10.). Točke na pravcu predstavljaju srednju vrijednost zadnjih 10 mjerenja.



Slika 4.10. Kalibracijski pravac

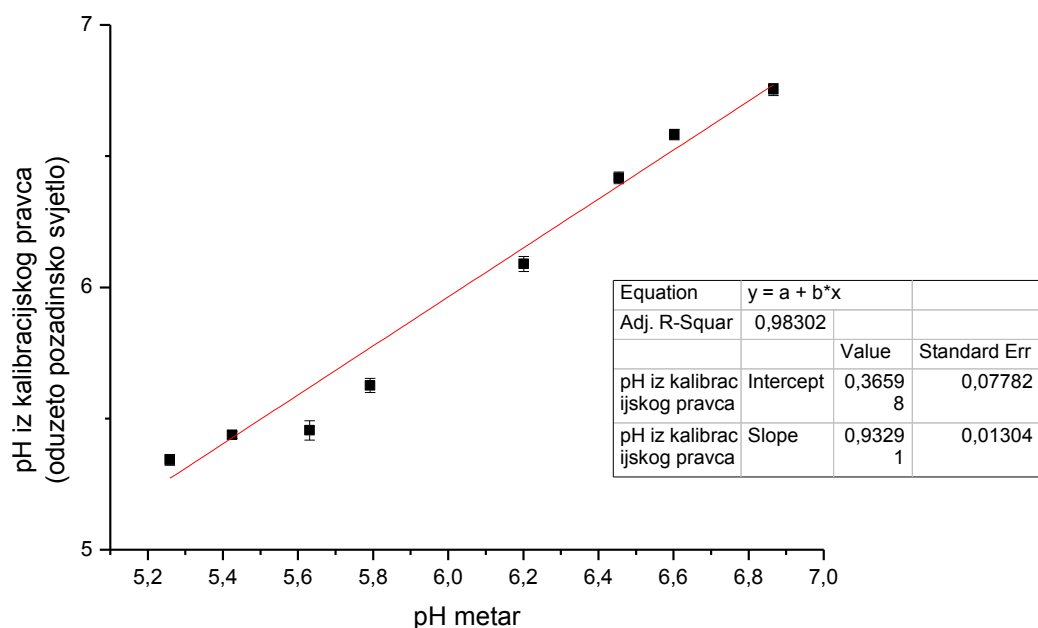
Na slici 4.11. prikazan je korelacijski pravac između pH vrijednosti pufera očitanih s pH metra, i pH vrijednosti izračunatih iz kalibracijskog pravca. Preciznost izražena u obliku standardne devijacije uzastopnim mjerenjem bez micanja kućišta, bolja je od 0,051, dok je točnost mjerenja, izražena kao razlika pH vrijednosti dobivene nosivim senzorom i pH vrijednosti dobivene pH metrom, bolja od 0,184 (tablica 4.3). Oduzimanjem pozadinskog zračenja dobiveni su nešto bolji rezultati, preciznost je bolja od 0,037 a točnost mjerenja je bolja od 0,176 (tablica 4.4).



Slika 4.11. Korelacijski pravac između pH vrijednosti očitanih s pH metra i pH vrijednosti izračunatih iz kalibracijskog pravca

Tablica 4.3. Preciznost i točnost mjerenja s nosivim bežičnim pH senzorom, bez oduzimanja pozadinskog svjetla

| pH metar | pH izračunat iz kalibracijskog pravca | preciznost | točnost |
|----------|---------------------------------------|------------|---------|
| 5,259 | 5,341 | 0,030 | 0,082 |
| 5,425 | 5,425 | 0,025 | 0,000 |
| 5,631 | 5,447 | 0,051 | -0,184 |
| 5,792 | 5,614 | 0,028 | -0,178 |
| 6,201 | 6,106 | 0,039 | -0,095 |
| 6,454 | 6,415 | 0,019 | -0,039 |
| 6,602 | 6,593 | 0,015 | -0,009 |
| 6,866 | 6,765 | 0,024 | -0,101 |



Slika 4.12. *Korelacijski pravac između pH vrijednosti očitanih s pH metra i pH vrijednosti izračunatih iz kalibracijskog pravca (oduzimanjem pozadinskog zračenja)*

Tablica 4.4. *Preciznost i točnost mjerenja s nosivim bežičnim pH senzorom, s oduzimanjem pozadinskog svjetla*

| pH metar | pH izračunat iz kalibracijskog pravca (oduzeto pozadinsko zračenje) | preciznost | točnost |
|----------|---|------------|---------|
| 5,259 | 5,343 | 0,021 | 0,084 |
| 5,425 | 5,438 | 0,014 | 0,013 |
| 5,631 | 5,455 | 0,037 | -0,176 |
| 5,792 | 5,626 | 0,027 | -0,166 |
| 6,201 | 6,089 | 0,029 | -0,112 |
| 6,454 | 6,417 | 0,022 | -0,037 |
| 6,602 | 6,582 | 0,020 | -0,020 |
| 6,866 | 6,754 | 0,023 | -0,112 |

5. ZAKLJUČAK

Kolorimetrijskom karakterizacijom pH osjetljivog bojila GJM-492 imobiliziranog na tekstil od poliestera određeno je dinamičko i linearno područje djelovanja bojila, točnost, preciznost te ponovljivost mjerenja. Karakterizacija pH osjetljivog bojila imobiliziranog na tekstil provedena je mjerenjem refleksije zračenja s površine osjetilnog područja. Dobiveni rezultati mjerenja izvedeni bez micanja optoelektroničkog sučelja u odnosu na pH osjetljivi film ukazuju da su izvedbene značajke točnost, preciznost i ponovljivost bolje u odnosu na bežične nosive optičke pH senzore iz literature [29] i [31]. Micanjem optoelektroničkog sučelja dobiveni rezultati pokazuju nešto lošiju točnost i preciznost ali i dalje bolju od sustava opisanih u literaturi. Također, micanjem optoelektroničkog sučelja u odnosu na pH osjetljivi film pozadinsko svjetlo smeta radu senzora tako da su bolji rezultati dobiveni oduzimanjem pozadinskog svjetla. Eksperimentalno određeno dinamičko linearno područje pH osjetljivog bojila GJM-492 je između $\text{pH}=5$ i $\text{pH}=7$, što odgovara primjeni određivanja pH znoja, čija je vrijednost između 5,4 i 6,5.

Razvijeni senzor pogodan je za primjenu u fiziologiji sporta zbog neinvazivne i kontinuirane analize, što nije moguće postići klasičnim analitičkim instrumentima. Prednosti optičkih nosivih kemijskih senzora su brojne: ne zahtijevaju referentni signal, jednostavno ih je minijaturizirati, omogućuju daljinska određivanja, mjerenje se može obaviti u kratkom roku, omogućena je višestruka analiza s jednim kontrolnim uređajem, jednostavna integracija s tekstilom te optički signal ne podliježe električnim smetnjama. Ovakvi minijaturizirani nosivi (bio)kemijski senzori uvelike pojednostavljuju analizu te mogu služiti za poboljšanje učinka sportaša.

6. LITERATURA

- [1] A.J.Bandodkar, J.Wang, Non-invasive electrochemical sensors: a review, *Trends Biotechnol.*, **32**, (2014) 363-371.
- [2] A.Hulanicki, S.Glab, F.Ingman, Chemical sensors definitions and classification, *IUPAC*
- [3] www.accu-chekinsulinpumps.com/ipus/products/meters/index.html
- [4] www.axonlab.com/CH_ita/Hospital-priv.-laboratories/Human-medicine/Point-of-Care/iSTAT#product
- [5] I.M. Steinberg, M.D. Steinberg, Radio-frequency tag with optoelectronic interface for distributed wireless chemical and biological sensor applications, *Sensors and Actuators B-Chemical*, **138** (2009) 120-125.
- [6] S. Movassaghi, M. Abolhasan, J. Lipman, D. Smith, A. Jamalipour, *Wireless Body Area Networks: A Survey*, *Ieee Communications Surveys and Tutorials*, **16** (2014) 1658-1686.
- [7] A. Pantelopoulos, N.G. Bourbakis, *A Survey on Wearable Sensor-Based Systems for Health Monitoring and Prognosis*, *Ieee Transactions on Systems Man and Cybernetics Part C-Applications and Reviews*, **40** (2010) 1-12.
- [8] M. Chen, S. Gonzalez, A. Vasilakos, H. Cao, V.C.M. Leung, *Body Area Networks: A Survey*, *Mobile Networks & Applications*, **16** (2011) 171-193.
- [9] L. Ruiz-Garcia, L. Lunadei, P. Barreiro, J. Ignacio Robla, *A Review of Wireless Sensor Technologies and Applications in Agriculture and Food Industry: State of the Art and Current Trends*, *Sensors*, **9** (2009) 4728-4750.
- [10] N. Pesonen, K. Jaakkola, J. Lamy, K. Nummila, J. Marjonen, *Smart RFID Tags*, in: C. Turcu (Ed.) *Development and Implementation of RFID Technology*, InTech, 2009, pp. 159-178.
- [11] J. Jose Echevarria, J. Ruiz-de-Garibay, J. Legarda, M. Alvarez, A. Ayerbe, J. Ignacio Vazquez, *WebTag: Web Browsing into Sensor Tags over NFC*, *Sensors*, **12** (2012) 8675-8690.
- [12] K.J.Fraser, V.F.Curto, S.Coyle, B.Schazman, R.Byrne, F.Benito-Lopez, R.M.Owens, G.G.Malliaras, D.Diamond, *Wearable electrochemical sensors for monitoring performance athletes*, *Conference on Organic Semiconductors in Sensors and Bioelectronics IV*, San Diego, USA, 2011.

- [13] G.Matzeu, C.O'Quigley, E.McNamara, C.Zuliani, C.Fay, T.Glennon, D.Diamond, An integrated sensing and wireless communication for sensing sodium in sweat, *Anal. Methods*, **8** (2016) 64-71.
- [14] T.Guinovart, M.Parrilla, G.A.Crespo, F.X.Rius, F.J.Andrade, Potentiometric sensors using cotton yarns, carbon nanotubes and polymeric membranes, *Analyst*, **138** (2013) 5159-5504.
- [15] J.Gonzalo-Ruiz, R.Mas, C.de Haro, E.Cabruja, R.Camero, M.A.Alonso-Lomillo, F.Javier Munoz, Early determination of cystic fibrosis by electrochemical chloride quantification in sweat, *Biosensors and bioelectronics*, **24** (2009) 1788-1791.
- [16] J.Ray Windmiller, A.J.Bandodkar, S.Parkhomovsky, J.Wang, Stamp transfer electrodes for electrochemical sensing on non-planar and oversized surfaces, *Analyst*, **137** (2012) 1570-1575.
- [17] W.Jia, A.J.Bandodkar, G.Valdez-Ramirez, J.R.Windmiller, Z.Yang, J.Ramirez, G.Chan, J.Wang, Electrochemical tattoo biosensors for real-time noninvasive lactate monitoring in human perspiration, *Anal. Chem.*, **85** (2013) 6553–6560.
- [18] A.J.Bandodkar, V.W.S.Hung, W.Jia, G.Valdez-Ramirez, J.R.Windmiller, A.G.Martinez, J.Ramirez, G.Chan, K.Kerman, J.Wang, Tattoo based potentiometric ion-selective sensors for epidermal pH monitoring, *Analyst*, **138** (2013) 123-128.
- [19] T.Guinovart, A.J.Bandodkar, J.R.Windmiller, F.J.Andrade, J.Wang, A potentiometric tattoo sensor for monitoring ammonium in sweat, *Analyst*, **138** (2013) 7031-7038.
- [20] A.J.Bandodkar, D.Molinnus, O.Mirza, T.Guinovart, J.R.Windmiller, G.Valdez-Ramirez, F.J.Andrade, M.J.Schoning, J.Wang, Epidermal tattoo potentiometric sodium sensors with wireless signal transduction for continuous noninvasive sweat monitoring (2013)
- [21] D.Khodagholy, V.F.Curto, K.J.Fraser, M.Gurfinkel, R.Byrne, D.Diamond, G.G.Malliaras, F.Benito-Lopez, R.M.Owens, Organic electrochemical transistor incorporating an ionogel as a solid state electrolyte for lactate sensing, *J. Mater. Chem.*, **22** (2012) 4440-4443.
- [22] P.Labroo, Y.Cui, Flexible graphene bio-nanosensor for lactate, *Biosensors and Bioelectronics*, **41** (2013) 852-856.

- [23] K.Ogasawara, K.Mitsubayashi, T.Tsuru, I.Karube, Electrical conductivity of tear fluid in healthy pearson and keratokonjunctivitis sicca patients measured by flexible conductometric sensor, *Clinical investigation*, **234** (1996) 542-546.
- [24] S.Iguchi, H.Kudo, T.Saito, M.Ogava, H.Saito, K.Otsuka, A.Funakubo, K.Mitshubajashi, A flexible and wearable biosensor for tear glucose measurement, *Biomed. Microdevices*, **9** (2007) 603-609.
- [25] H.Yao, Y.Liao, A.R.Lingley, A.Afanasiev, I.Lahdesmaki, B.P.Otis, B.A.Parviz, A contact lens with integrated telecommunication circuit and sensors for wireless and continuous tear glucose monitoring, *J. Micromech. Microeng.*, **22** (2012) 075007.
- [26] N.Thomas, I.Lahdesmaki, B.A.Parviz, A contact lense with an integrated lactate sensor, *Sensors and Actuators B*, **162** (2012) 128–134.
- [27] J.Kim, G.Valdez-Ramirez, A.J.Bandodkar, W.Jia,A.G.Martinez, J.Ramirez, P.Merzier, J.Wang, Non-invasive mouthguard for continuous salivary monitoring of metabolites, *Analyst*, **139** (2014) 1632-1636.
- [28] D.Wencel, T.Abel, C.McDonagh, Optical Chemical pH Sensors, *Anal. Chem.*, **86** (2014) 15-29.
- [29] V.F.Curto, S.Coyle, R.Byrne, N.Angelov, D.Diamond, F.Benito-Lopez, Concept and development of an autonomous wearable micro-fluidic platform for real time pH sweat analysis, *Sensors and Actuators B*, **175** (2012) 263–270.
- [30] D.Morris, S.Coyle, Y.Wu, K.Tong Lau, G.Wallace, D.Diamond, Bio-sensing textile based patch with integrated optical detection system for sweat monitoring, *Sensors and Actuators B*, **139** (2009) 231–236.
- [31] M.Caldara, C.Colleoni, E.Guido, V.Re, G.Rosace, Optical monitoring of sweat pH by textile fabric wearable sensor based on covalently bonded litmus-3-glycidoxypropyltrimethoxysilane coating, *Sensors and Actuators B*, **222** (2016) 213–220.
- [32] G.J.Mohr, H.Muller, Tailoring colour changes of optical sensor materials by combinig indicator and inert dyes and their use in sensor layers textiles and non-wovens, *Sensors and Actuators B*, **206** (2015) 788-793.

[33] G.Baysal, S.Onder, I.Gocek, L.Trabzon, H.Kizil, F.Nese Kok, B.Karaguzel Kayaoglu, Microfluidic device on a nonwoven fabric:a potential biosensor for lactate detection, Textile Research Journal, **84** (2014) 1729-1741.

7. ŽIVOTOPIS

Katarina Cicvarić rođena je 20. siječnja 1992. godine u Zagrebu. Maturirala je 2010. godine u XII. općoj gimnaziji u Zagrebu, te je iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, studij Primijenjena kemija. Tijekom studiranja na preddiplomskom studiju odradila je stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković (zavod za Fizikalno-organsku kemiju), gdje je radila mehanokemijsku organsku sintezu bigvanida. 2014. godine obranila je završni rad na temu "Fotokatalitička oksigenacija benzobiciklo[3.2.1.]oktadiena upotrebom manganova(III)profirina" i time stekla akademski naziv sveučilišna prvostupnica primijenjene kemije (univ. bacc. appl. chem.). Prvu godinu diplomskog studija upisala je 2014. godine na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Primijenjena kemija, modul Specifični materijali i napredne tehnologije.