

# Sinteza i karakterizacija nanočestica berlinskog modrila

---

Žuvić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:536101>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-04**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Iva Žuvić

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA  
NANOČESTICA BERLINSKOG MODRILA**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Iva Žuvić

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA  
NANOČESTICA BERLINSKOG MODRILA**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Ivana Steinberg

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Ivana Steinberg

izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor

prof. dr. sc. Zoran Mandić

Zagreb, rujan 2023.

## SAŽETAK

Analitički uređaji koji imaju sposobnost pretvorbe kemijske informacije u koristan i mjerljiv signal nazivaju se kemijski senzori. Kada takav uređaj uslijed interakcije s analitom bilježi promjenu određenih optičkih svojstava, tada se on klasificira kao optički kemijski senzor. U novije doba sve se više teži implementaciji bioloških i ekološki prihvatljivih materijala u svim životnim sferama, pa tako i u senzorskoj tehnologiji. Trenutno su na tržištu posebno zanimljivi materijali kao što su papir i tekstil.

Osim prirodnih materijala, u sferi interesa pri razvoju novih tehnologija pojavila se i nanotehnologija. Naime, nanoobjekti kao što su nanožice, nanocjevčice i nanočestice otvaraju brojne nove mogućnosti svojim specifičnim svojstvima koja se razlikuju od onih na makro razini. Često prisutna mana prilikom primjene nanočestica jest njihova toksičnost i bioakumulacija. Jedna od posebnosti nanočestica berlinskog modrila jest njihova netoksičnost što značajno proširuje spektar njihove primjene.

U ovom radu cilj je bio objediniti materijal biološkog porijekla (papir) sa nanotehnologijom (nanočestice berlinskog modrila) te ispitati njihov potencijal za razvoj optičkih kemijskih senzora. Nanočestice berlinskog modrila uspješno su sintetizirane metodom fotoredukcije *in-situ*, odnosno uranjanjem papirnih traka u sinteznu otopinu i izlaganjem UV zračenju. Ispitan je utjecaj različitih parametara na sintezu berlinskog modrila: vrijeme izlaganja UV zračenju, ispiranje različitim reagensima, koncentracija sintezne otopine, omjer reaktanata te utjecaj pH u svrhu istraživanja mogućnosti primjene berlinskog modrila kao optičkog senzora. Također je dodatno ispitana reverzibilnost i stabilnost papirnih traka pri različitim pH vrijednostima. Optička karakterizacija otopina i papirnih traka provedena je metodama apsorpcijske i reflektancijske spektroskopije u UV–Vis–NIR području.

Zaključeno je kako nanočestice berlinskog modrila mijenjaju boju prilikom kontakta s puferskim otopinama različitog pH te da je područje ponovljivosti rezultata tj. raspon djelovanja takvog senzora od pH = 5 do pH = 8.

**KLJUČNE RIJEČI:** *berlinsko modrilo, nanočestice, papir, optički pH senzor, UV sinteza*

## SUMMARY

Analytical devices that have the ability to convert chemical information into a valuable and measurable signal are called chemical sensors. When such a device records a change in specific optical properties as a result of interaction with the analyte, then it is classified as an optical chemical sensor. In recent times, there has been an increasing effort to implement biological and ecologically acceptable materials in all spheres of life, including sensor technology. Currently, particularly interesting materials on the market are paper and textiles.

In addition to natural materials, nanotechnology is in the sphere of interest in the development of new technologies. Nano-objects such as nanowires, nanotubes and nanoparticles unlock numerous new possibilities with their specific properties that differ from those at the macro level. A frequently present drawback when using nanoparticles is their toxicity and bioaccumulation. One of the unique features of Prussian blue nanoparticles is their non-toxicity, which significantly expands the spectrum of their application.

In this work, the goal was to combine a material of biological origin (paper) with nanotechnology (Prussian blue nanoparticles) to create an optical pH sensor. Nanoparticles of Prussian blue were successfully synthesized by photoreduction *in situ* by immersing paper strips in the synthesis solution and exposing them to UV radiation. The influence of various parameters on the synthesis of Prussian blue was tested: exposure time to UV radiation, washing with different reagents, concentration of the synthesis solution, ratio of reactants and the influence of pH to investigate the possibility of using Prussian blue as an optical sensor. The reversibility and stability of the paper strips at different pH values were also additionally tested. The optical characterization of the paper strips was carried out by measuring the reflectance.

It was concluded that Prussian blue nanoparticles change colour when in contact with buffer solutions of different pH and that the pH working range is between 5 and 8.

**KEYWORDS:** *Prussian blue, nanoparticles, paper, optical pH sensor, UV synthesis*

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	4
2.1. Optički senzori .....	5
2.1.1. Opis optičkih senzora.....	5
2.1.2. Dizajn optičkih senzora.....	6
2.1.3. Vrste optičkih senzora.....	8
2.1.4. Svojstva optičkih senzora .....	9
2.2. Podloge za senzore .....	11
2.2.1. Papir kao podloga .....	11
2.2.2. Tekstil kao podloga .....	12
2.3. <i>Dip coating</i> metoda kao način imobilizacije.....	14
2.4. Optička karakterizacija analita .....	16
2.4.1. Apsorbancija .....	16
2.4.2. Reflektancija .....	17
2.5. Berlinsko modriilo.....	18
2.5.1. Fizikalna i kemijska svojstva berlinskog modrila.....	18
2.5.2. Primjena i upotreba berlinskog modrila.....	20
2.5.3. Optička i spektroskopska svojstva berlinskog modrila.....	21
2.5.4. Cijanotipija.....	24
2.5.5. Nanočestice berlinskog modrila.....	25
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	38
3.1. Materijali i kemikalije .....	39
3.2. Instrumenti .....	40
3.3. Priprema reagensa .....	41
3.3.1. Priprema sintezne otopine.....	41
3.3.2. Priprema puferskih otopina.....	41
3.4. Sinteza berlinskog modrila.....	42
3.4.1. Berlinsko modriilo na papirnim trakama .....	42
3.4.2. Berlinsko modriilo u otopini .....	42
3.5. Optička karakterizacija.....	43

3.5.1.	Mjerenje apsorbancijskih spektara.....	43
3.5.2.	Mjerenje reflektancijskih spektara.....	43
3.6.	Utjecaj različitih parametara na sintezu berlinskog modrila.....	45
3.6.1.	Utjecaj ispiranja.....	45
3.6.2.	Ponovljivost.....	45
3.6.3.	Utjecaj vremena izlaganja UV svjetlosti.....	45
3.6.4.	Utjecaj povećanja koncentracije sintezne otopine.....	46
3.6.5.	Utjecaj omjera koncentracija reaktanata.....	46
3.6.6.	Utjecaj pH.....	46
3.7.	Test stabilnosti.....	47
3.8.	Test reverzibilnosti.....	48
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	49
4.1.	Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju.....	50
4.2.	Utjecaj ispiranja papirnih traka različitim reagensima.....	52
4.3.	Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju uz naknadno ispiranje.....	54
4.4.	Utjecaj povećanja koncentracije uz različito vrijeme izlaganja UV zračenju.....	56
4.5.	Ponovljivost pripreve materijala.....	59
4.6.	Utjecaj promjene koncentracije citrata.....	60
4.7.	Utjecaj promjene pH.....	62
4.7.1.	Ispitivanje utjecaja pH u rasponu pH 5 - 8.....	62
4.7.2.	Ispitivanje ponovljivosti rezultata u rasponu pH vrijednosti 5 - 8.....	63
4.7.3.	Ispitivanje ponovljivosti rezultata u rasponu pH 9 - 11.....	66
4.8.	Test reverzibilnosti.....	69
4.9.	Test stabilnosti.....	73
4.10.	Apsorpcijski spektri nanočestica u otopini.....	77
5.	ZAKLJUČAK.....	80
6.	LITERATURA.....	82

# **1. UVOD**



Djelovanje optičkih senzora temelji se na interakciji svjetla i tvari. Optički senzori djeluju u području ultraljubičastog i vidljivoga dijela spektra, a to se djelovanje odnosi na elektronske pobude molekula u kojima je apsorbirana energija od 40 do 400 kJ mol<sup>-1</sup>. Prati se apsorpcija, luminiscencija ili raspršenje svjetla<sup>1</sup> čime se omogućava mjerenje ne samo intenziteta svjetlosti, već i drugih srodnih svojstava kao što su vijek trajanja, indeks loma, raspršenje, difrakcija i polarizacija<sup>2</sup>. Razvoj optičkih kemijskih senzora u današnja doba privlači veliki interes jer spaja tehnologiju koja kombinira prednosti optičkih senzorskih vlakana sa selektivnošću i specifičnošću kemijskih pretvorničkih sustava<sup>3</sup>. Receptor identificira određeni parametar i daje optički signal proporcionalan veličini tog parametra. Tanki sloj receptora ispunjava funkciju međudjelovanja s molekulama analita, selektivno katalizira reakciju ili sudjeluje u kemijskoj ravnoteži zajedno s analitom. Pretvornik pretvara optički signal koji proizvodi receptor u analitički mjerljivi signal koji je pogodan za obradu<sup>4</sup>.

pH je ključni parametar u širokom rasponu primjena od ekoloških preko industrijskih do biomedicinskih. Ima važnu ulogu u ispitivanju tla, industriji hrane i pića te farmaceutskim istraživanjima. Ključne specifikacije koje je potrebno razmotriti prije faze razvoja optičkog pH senzora su osjetljivost senzora, stabilnost, vrijeme odziva, točnost, preciznost, radna temperatura, rezolucija senzora, potreba za sterilizacijom, biokompatibilnost, toksičnost korištenih materijala i interferenti. Osnovne karakteristike optičkog pH senzora trebale bi uključivati odziv u stvarnom vremenu, reverzibilnost, ponovljivost, dugotrajno skladištenje (rok trajanja), radnu stabilnost, vrijeme odziva ( $t_{90}$ , vrijeme potrebno da signal postigne 90 % konačne vrijednosti), rezoluciju senzora (najmanja promjena pH koju senzor može detektirati) u potrebnom pH rasponu te fotostabilnost<sup>5</sup>.

U polju elektroanalitičke kemije, nanočestice berlinskog modrila sve se više ističu kao biosenzori<sup>6</sup>. Ovaj anorganski materijal privukao je velik interes znanstvenika zadnjih godina. Nanočestice berlinskog modrila primjenjuju se u elektrokromnim uređajima i punjivim baterijama i biosenzorima radi zanimljivih elektrokemijskih, fotofizikalnih i magnetskih svojstava<sup>7,8,9</sup>. Berlinsko modrilo je produkt reakcije između željezove(III) soli i ferocijanidnih(II) iona ili željezove(II) soli i ferocijanidnih(III) iona. Jedna od metoda sinteze inspirirana je cijanotipijom, fotografskim postupkom poznatim od sredine 19. stoljeća. U procesu cijanotipije tijekom izloženosti ultraljubičastom (UV) zračenju, događa se fotoaktivacija: ioni željeza(II) nastaju fotokemijskom redoks reakcijom kompleksiranog željeza(III) s oksalatnim ili citratnim

ligandima. Nastali ioni željeza(II) tada mogu slobodno reagirati s fericijanidnim ionima čime nastaje berlinsko modrilo<sup>10</sup>. Cilj rada bio je optimizirati sintezu nanočestica berlinskog modrila *in situ* na papirnatom supstratu metodom fotokemijske redukcije tj. modificirane cijanotipije. Osim toga u sferi interesa nalazi se ispitivanje potencijala tako dobivenog biokompatibilnog materijala u primjeni prilikom razvoja kemijskih optičkih senzora.

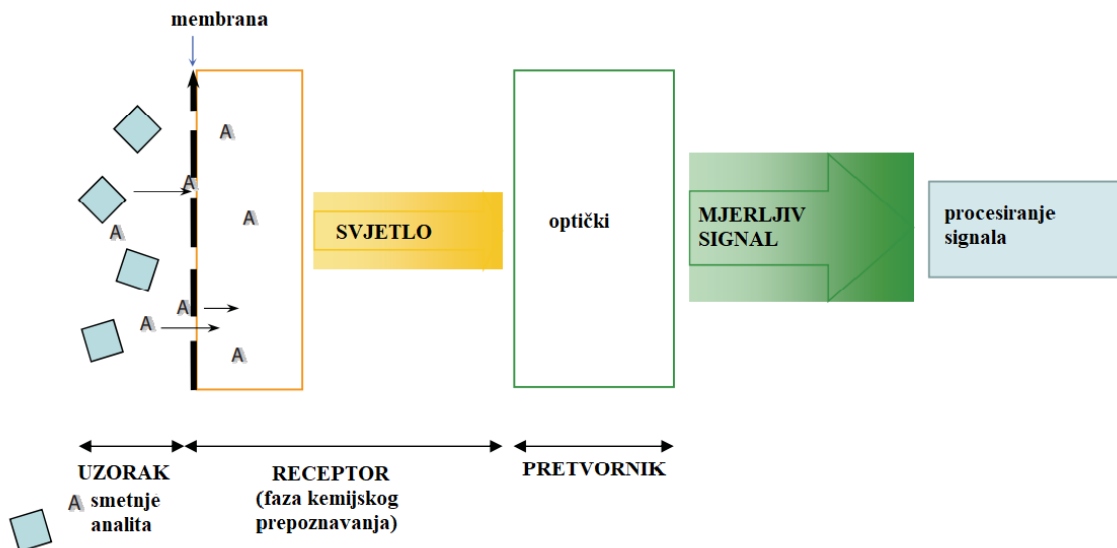
## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Optički senzori

### 2.1.1. Opis optičkih senzora

Optički senzori se zasnivaju na optičkoj detekciji kemijske vrste. Imaju usporedivu osjetljivost s elektrokemijskim sensorima i uz njih su najčešće korištena vrsta senzora.

Optički senzori koriste tehnike optičke pretvorbe i temelje se na reagensima koji mijenjaju njihova optička svojstva prilikom interakcije s analitom od interesa<sup>11</sup>. Najčešće mjerena optička svojstva su apsorpcija, intenzitet fluorescencije, refleksija, indeks loma, raspršenje svjetlosti i polarizacija svjetlosti<sup>12</sup>.



Slika 1. Shematski prikaz načina rada optičkog kemijskog senzora<sup>2</sup>.

Poznata su dva glavna načina optičkog djelovanja osjetilne kemijske vrste. U prvom se intrinzično optičko svojstvo analita koristi za njegovu detekciju. Primjer toga je određivanje zasićenosti krvi kisikom mjerenjem intrinzične boje krvi. Drugi primjer je otkrivanje plina metana u eksplozivnim područjima mjerenjem apsorpcije u bliskom infracrvenom području.

U drugom načinu se indikator ili optički aktivna molekula koristi kao posrednik za pretvorbu koncentracije analita u optički signal. Ovaj pristup bira se kada analit nema nikakvo korisno intrinzično optičko svojstvo. Primjer takvog određivanja je mjerenje pH pri čemu se prati promjena u apsorpciji ili fluorescenciji imobiliziranog pH indikatora. Optički signal se pojačava i

pretvara u množinsku koncentraciju utvrđenim postupcima kao što su Henderson-Hasselbalchova jednadžba u slučaju mjerenja pH<sup>13</sup>.

### **2.1.2. Dizajn optičkih senzora**

Kvaliteta senzora ovisi o komponentama čitavog senzorskog sustava koje su definirane preko pretvornika, receptorskog dijela, izvora svjetlosti, elektronskog sustava za prikupljanje informacija te softvera za procjenu.

Optički detekcijski sustav može se temeljiti na a) izravnom senzoru ili b) senzoru s indikatorom. U izravnom optičkom senzoru, analit se detektira izravno preko intrinzičnih optičkih svojstava kao što su apsorpcija ili luminiscencija. U sustavu s indikatorom, promjena u optičkom odgovoru odvija se preko posrednog agensa te se za praćenje koncentracije analita koristi molekula bojila osjetljiva na analit (indikator)<sup>14</sup>. Princip imobiliziranih indikatora se u velikoj mjeri koristi u optičkim kemijskim sensorima. Razlog tomu je izostanak intrinzičnih optičkih svojstva u velikom broju analita ili nemogućnost njihove primjene za detekciju analita<sup>2</sup>.

Materijali s imobiliziranim reagensima (osjetljivi slojevi) mogu se izraditi u nekoliko različitih tipova, a najčešće su to tanki filmovi i gelovi, odnosno tanki polimerni filmovi ili membrane. Takav materijal reagira na analit mijenjajući svoja optička svojstva<sup>15</sup>. Na primjer, pH se optički mjeri imobilizacijom pH indikatora na čvrstu podlogu te se mjeri promjena u apsorpciji ili fluorescenciji indikatora ovisno o pH analiziranog uzorka<sup>16</sup>.

#### **2.1.2.1. Indikatori**

Osnovno načelo indikatora (imobiliziranog u ili na polimernoj matrici) u optičkom kemijskom senzoru je pretvaranje koncentracije analita u analitički mjerljivi signal. Koncentracija analita se mjeri neizravno putem promjena optičkih svojstava indikatora. U optičkom kemijskom očitavanju koriste se različite vrste indikatora kao što su kolorimetrijski koji se temelje na apsorpciji svjetlosti, te luminiscencijski koji se temelje na emisiji svjetlosti<sup>17,18</sup>.

Međutim, potonji su od primarne važnosti zbog svoje velike osjetljivosti i interdisciplinarnosti, tj. širokog raspona detekcije. Velik broj fluorescentnih sintetskih organskih

molekula trenutno je dostupan na tržištu te se s lakoćom može izabrati odgovarajući indikator za primjenu senzora zbog spektroskopskih svojstava i kemijske reaktivnosti.

#### **2.1.2.1.1. Kolorimetrijski indikatori**

Kolorimetrijsko očitavanje postiže se pomoću indikatora koji mijenjaju svoju boju nakon vezanja analita. Ta se promjena utvrđuje najčešće spektroskopskim i fotometrijskim metodama, ali za određene primjene promjena boje se može detektirati i vizualno, koristeći oko kao pretvornik. Postoji velika raznolikost organskih kromofora kao što su azo boje, nitrofenoli, ftaleini, sulfoftaleini, anilin-sulfoftaleini i trifenilmetanske boje. Najčešća primjena ovih materijala je mjerenje pH.

$pK_a$  ovih indikatora označava središte mjerljivog pH raspona. Indikatori kao što su krezol crveno, bromofenol plavo i bromokrezol ljubičasto mijenjaju boje u kiselom pH ( $pH < 7$ ), dok timol plavo, naftolbenzen i fenolftalein mijenjaju boju u bazičnom pH ( $pH > 7$ ). Redoks indikatori su sljedeći primjer kolorimetrijskih reagenasa. U njih se ubrajaju organska bojila koja sudjeluju u reverzibilnim redoks reakcijama. Primjeri takvih bojila su anilinska kiselina, difenilamin, *m*-krezol-indofenol, metilensko plavo i nilsko plavo. Senzor za ione (ionofor) sadrži metalne indikatore koji tvore obojene komplekse s metalnim ionima<sup>19</sup>. Ionofori su zapravo ligandi koji selektivno vežu ione. Kromogeni ionofori dovode do specifične promjene boje u interakciji s metalnim kationima<sup>20</sup>. Najčešće se koriste makrocikličke molekule i krunske eterske boje koje posjeduju šupljine za vezanje iona. Od novijih nanomaterijala, najčešće se koriste kolorimetrijske i luminiscentne nanočestice kao što su nanočestice zlata za detekciju  $Cd^{2+}$ <sup>21</sup>,  $Fe^{3+}$ <sup>22</sup>,  $Pb^{2+}$ ,  $NO_2^-$  i  $NO_3^-$  iona<sup>23</sup>.

#### **2.1.2.1.2. Luminiscentni indikatori**

Kod luminiscentnih indikatora, koncentracija analita određena je promjenom svojstava emisije luminofora. Luminiscencija je osjetljivija od apsorpcije zbog čega se često koriste luminiscentne probe i senzori. Različite fluorescentne i luminiscentne materijale u obliku molekula, kompleksa i nanočestica moguće je koristiti kao receptorske jedinice u senzorskim tehnologijama, no najčešće su u primjeni organske fluorescentne boje. Međutim, postoji sve veća

primjena drugih materijala kao što su luminiscentni metal-ionski kelatni kompleksi, fluorescentne polimerne molekule te različite vrste nanočestica<sup>24,25</sup>.

Luminiscentni metalni kompleksi, od kojih se najčešće koriste europijevi(III) i terbijevi(III) ioni, imaju brojne prednosti kao što su dulji životni vijek, veliki Stokesovi pomaci te uklanjanje raspršenja svjetlosti i kratkotrajne pozadinske luminiscencije<sup>18</sup>. Zanimljive alternative fluorescentnim indikatorima predstavljaju nanočestice od organskih polimera dopirane bojom, nanočestice na bazi silicija, dendrimeri, kvantne točke i nanočestice plemenitih metala<sup>26</sup>.

### 2.1.3. Vrste optičkih senzora

Poznato je da se kemijski senzori klasificiraju prema principu rada pretvornika. Optički uređaji pretvaraju promjene u optičkim fenomenima koje su rezultat interakcije analita s receptorskim dijelom. Ova skupina se može dodatno podijeliti prema vrsti optičkih svojstava koja se primjenjuju u kemijskom senzoru<sup>27</sup>:

**a) apsorbancija**, mjerena u transparentnom mediju, uzrokovana apsorptivnošću samog analita ili reakcije s nekim prikladnim indikatorom.

**b) reflektancija**, mjerena u netransparentnom mediju koristeći imobilizirani indikator.

**c) kemiluminiscencija**, temeljena na mjerenju intenziteta svjetlosti emitirane kemijskom reakcijom u receptorskom sustavu.

**d) fluorescencija**, mjerena kao pozitivna emisija uzrokovana iradijacijom pri čemu je selektivno gašenje fluorescencije često osnova takvih uređaja.

**e) indeks loma**, mjeran kao rezultat promjene u sastavu otopine, također može uključivati i efekt rezonancije površinskih plazmona.

**f) optotermalni efekt**, baziran na mjerenju termalnog efekta uzrokovanog apsorpcijom svjetla.

**g) raspršenje svjetlosti**, uzrokovano česticama određene veličine prisutnima u uzorku.

#### 2.1.4. Svojstva optičkih senzora

Optički senzori nazvani su optrode ili optode, naziv koji ukazuje na porijeklo signala. Imaju sljedeće prednosti u odnosu na druge vrste senzora<sup>14</sup>:

1. Optode ne zahtijevaju referentnu ćeliju, tj. referentnu elektrodu.
2. Jednostavnost minijaturizacije omogućava razvoj vrlo malih, laganih i fleksibilnih senzorskih sustava.
3. Budući da je primarni signal optički, električne smetnje uzrokovane statičkim elektricitetom tijela, jakim magnetskim poljem ili površinskim potencijalom senzorskih sučelja negativno ne utječu na optički signal.
4. Budući da nekoliko optičkih senzora postavljenih na različitim mjestima može biti spojeno na jedan fotometar preko prekidača, metoda omogućuje provedbu višestrukih analiza s jednim kontrolnim instrumentom.
5. Spajanje više senzora za različite analite u svrhu stvaranja snopa manjih senzora omogućuje simultano praćenje različitih vrsta analita hibridnim sensorima bez interferencija.
6. Jednostavnog su dizajna i jeftiniji od drugih vrsta senzora.

Bez obzira na niz prednosti u odnosu na druge vrste senzora, optički senzori imaju i brojne nedostatke<sup>14</sup>:

1. Ambijentalno svjetlo može interferirati pa se senzori moraju koristiti u slabom ili mračnom okruženju ili optički signal mora biti kodiran ili prekriven optički nepropusnim slojem tako da se iz njega može razlučiti pozadinsko svjetlo.
2. Senzori s indikatorskim fazama često su ograničenog vijeka trajanja radi fotoizbjeljivanja ili ispiranja.
3. Budući da su u indikatorskoj fazi senzor analita i indikator u različitim fazama, potreban je prijenos mase prije ravnoteže u stabilnom stanju.
4. Senzori s imobiliziranim pH indikatorima i kelatnim reagensima imaju ograničene dinamičke raspone u usporedbi s elektrokemijskim sensorima.



5. Potrebna je optimizacija komercijalnih dodataka kao što su stabilniji i dugotrajniji izvori svjetlosti, bolji konektori, završeci i optička vlakna te jeftiniji laseri i plave LED diode.
6. Moraju se pronaći selektivniji pokazatelji za važne analite i kemija imobilizacije mora biti poboljšana.
7. U sensorima s indikatorskom fazom analit može biti određen iz koncentracije indikatora jer je definirana relacija s koncentracijom analita. Ovaj odnos može varirati ovisno o ionskoj snazi, te sastavu otapala i matrice.

## 2.2. Podloge za senzore

### 2.2.1. Papir kao podloga

Papir je svestran, fleksibilan, porozan i ekološki prihvatljiv supstrat koji se koristi u proizvodnji jeftinih uređaja i biosenzora za brzu detekciju analita. Papirnati senzori se ponašaju kao pristupačne platforme za jednostavno, točno i brzo otkrivanje bolesti, za praćenje kvalitete hrane i promjena u okolišu te za otkrivanje patogena. Papirnati senzorski uređaji predstavljaju jeftinu tehnologiju za izradu jednostavnih i prijenosnih dijagnostičkih sustava koji mogu biti iznimno korisni u okolišu s ograničenim resursima kao što su slabo razvijene zemlje u kojima je prisutan manjak adekvatno opremljenih objekata i visoko obučenog medicinskog osoblja<sup>28</sup>.

Neke od nebrojenih prednosti ovog jednostavnog celuloznog supstrata su mehanička svojstva, trodimenzionalna vlaknasta struktura, biokompatibilnost, biorazgradivost, jednostavnost proizvodnje i modifikacije, razumna cijena i dostupnost u cijelom svijetu<sup>29</sup>. Štoviše, celulozna vlakna mogu se funkcionalizirati i pritom utjecati na promjenu njihove hidrofилности i reaktivnosti<sup>30</sup>.

S druge strane, postoje i određeni nedostaci u korištenju senzora na bazi papira. Trenutno su najveći izazovi ograničen vijek trajanja uslijed degradacije papira i reagensa tijekom vremena, postizanje visoke kvantitativne točnosti zbog varijacija u svojstvima papira, brzini protoka i metodama očitavanja signala, te ograničena osjetljivost kod niskih koncentracija analita<sup>31</sup>.

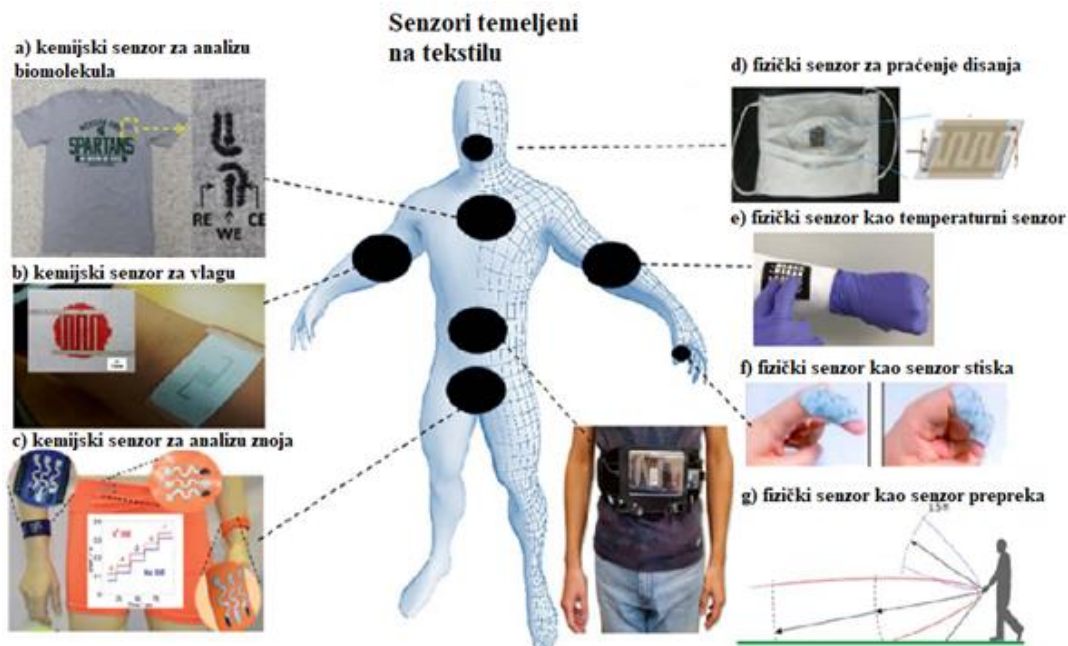
Postoje različite vrste papira koje se koriste u sensorima na bazi papira, ovisno o metodi izrade i primjeni senzora. Materijal koji se najviše koristi je kromatografski papir marke Whatman (Maidstone, Velika Britanija) zbog njegove superiorne sposobnosti upijanja<sup>32,33</sup>. Ova posebna vrsta papira ima srednje zadržavanje i protok zahvaljujući svojoj debljini (180  $\mu\text{m}$ ) i veličini pora (11  $\mu\text{m}$ ). Druge vrste papira kao što je Whatman filter četvrtog stupnja, korišten je zbog veće veličine pora od 20 do 25  $\mu\text{m}$  i veće stope zadržavanja<sup>34</sup>. U novije vrijeme, ovaj filter papir se koristi u papirnatim sensorima. Ova vrsta papira se koristi zbog svoje ujednačene debljine i dobrog upijanja, kao i superiornije adsorpcije i zadržavanja reagensa u usporedbi sa sličnim vrstama papira<sup>35</sup>.

Budući da svaki biosenzor ima specifične fizikalne i/ili kemijske karakteristike, istražene su i druge vrste papira ovisno o ciljanoj primjeni. Nitrocelulozne membrane se koriste zbog svojih kemijskih funkcionalnih skupina koje omogućuju kovalentnu imobilizaciju biomolekula. Nitroceluloza omogućuje elektrostatske interakcije, vodikove veze i van der Waalsove interakcije s proteinskim supstratima<sup>36,37</sup>. Pogodne su i jer onemogućuju difuziju i ispiranje uzoraka kroz membranu čime se dobiva veći stupanj zadržavanja i duže vrijeme reakcije unutar senzora<sup>38</sup>. Nitrocelulozne membrane su glatke i imaju ujednačenu veličinu pora od 0,45 μm. Sjajni papir je također proučavan kao održiva opcija za senzore čija je baza papir. Sjajni papir se sastoji se od celuloznih vlakana i anorganskih punila koja su umiješana u matricu papira.

U proizvodnji se uspješno koriste i različite vrste uobičajenog papira za senzore temeljene na papiru. Konvencionalni papir, zbog svoje sklopivosti i fleksibilnosti, našao je primjenu u nosivom uređaju<sup>39</sup>. Papir je podvrgnut voštanom tisku, a zatim je čađa stavljena po površini papira. Papirnati ručnik je korišten kao površina za tiskanje elektroda modificiranih čađom<sup>40</sup>. Papirnati ručnik također se koristio kao sloj za upijanje vlage u biosenzoru napravljenom od filter papira<sup>41</sup>. Papirnati ručnik je jeftiniji od filter papira i posjeduje veliku poroznost što ga čini održivim materijalom za analizu širokog spektra analita.

### **2.2.2. Tekstil kao podloga**

Tekstil predstavlja atraktivnu vrstu supstrata za razvoj novih nosivih pametnih senzora<sup>42</sup>. Dizajn i razvoj takvog fleksibilnog i nosivog senzora baziranog na tekstilnoj podlozi koristi se za mjerenje i kvantificiranje fizičkih i kemijskih signala koje generira ljudsko tijelo. Pruža se prilika za redovito i nesmetano praćenje dijagnoze bolesti, terapije, sigurnosti i općeg zdravlja<sup>43,44</sup>. Za mogućnost razvoja takvih sustava zaslužan je trenutačni napredak u tekstilnoj industriji, razvoju novih materijala, nanotehnologiji i minijaturiziranoj elektronici<sup>45,46</sup>. Slika 2. prikazuje različite primjere nosivih senzora na tekstilnoj podlozi koji su privukli značajan komercijalni interes. Komercijalni razvoj takvih senzora omogućio bi značajno poboljšanje kvalitete života uz smanjenje medicinskih troškova. Također, zanimljiva je mogućnost daljinske kontrole osobnog zdravstvenog i fizičkog stanja osoba koje su podvrgnute velikim fizičkim naporima, a čija je dobra fizička sprema nužna za obavljanje njihove funkcije<sup>47</sup>.



Slika 2. Dvije glavne primjene senzora temeljenih na tekstilu: kemijski senzori (a - c)<sup>48,49,50</sup> i fizički senzori (d - g)<sup>51,52,53,54</sup>.

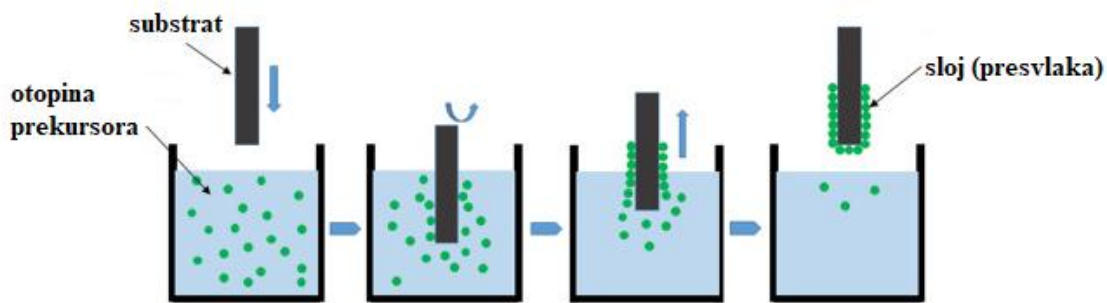
Važno razmatranje vezano uz nosivu elektroniku tekstilnih senzorskih sustava je izbor materijala korištenih u izradi i ostvarenje dobrih električnih performansi u svrhu dobivanja poželjnih mehaničkih svojstava te stabilnosti i fleksibilnosti u takvim sustavima. Vodljivi i poluvodljivi pametni materijali ugrađeni su u strukturu tekstila različitim tehnologijama kao što su tkanje, vezenje, pletenje, tiskanje, kemijsko tretiranje<sup>55</sup> i premazivanje (premazivanje vlakana metalima, galvanskim tvarima ili metalnim solima i s vodljivim polimerima)<sup>56</sup>. Različiti materijali poput vodljivih polimera (polipirol i polianilin)<sup>57</sup>, metala i metalnih oksida, nanočestica/nanožica (srebrov i cinkov oksid)<sup>58</sup> i nanomaterijala na bazi ugljika (grafen, ugljikove čestice i ugljikove nanocijevi) korišteni su i istraženi kao tekstilni modifikatori.

Neke od prednosti korištenja tekstila kao podloge za senzore su udobnost prilikom nošenja, izdržljivost i otpornost na redovite postupke održavanja, mogućnost ugradnje u svakodnevnu odjeću, fleksibilnost, vizualna privlačnost, otpornost na toplinu te relativno ekonomična proizvodnja. Ograničenja i nedostaci u slučaju primjene tekstilne podloge su da postojeća tehnologija nije potpuno vodootporna te postoje ograničenja prilikom nošenja u vlažnim uvjetima, ograničena mogućnost obrade i pohrane te manja fleksibilnost prilikom nošenja nego kod klasične tekstilne odjeće.

### 2.3. *Dip coating* metoda kao način imobilizacije

Tehnika uranjanja (engl. *dip coating*) jednostavna je i ekonomična tehnika koja se koristi u mnogim granama industrije za taloženje na razne podloge (supstrate), uključujući metalne, keramičke, polimerne i vlaknaste filmove. Proces se može definirati kao taloženje molekula iz otopine za premazivanje na površinu bilo kojeg supstrata. Općenito, željeni materijali otapaju se u otopini koja izravno oblaže površinu podloge pri čemu sedimentna mokra prevlaka dalje isparava dok se ne dobije suhi film<sup>59,60,61</sup>. Metoda uključuje uranjanje supstrata u otopinu materijala za premazivanje te je nužno osigurati da je supstrat u potpunosti infiltriran u otopini, a zatim izvučen iz nje. Treba napomenuti da ovaj naizgled jednostavan proces formiranja filma ovom tehnikom uključuje složene kemijske i fizikalne multivarijabilne parametre. Tijekom uranjanja i premazivanja, debljina i morfologija istaloženih tankih filmova određena je brojnim parametrima kao što su vrijeme uranjanja, brzina izvlačenja, ciklusi premazivanja umakanjem, gustoća i viskoznost otopine, površinska napetost, površina supstrata i uvjeti isparavanja otopine za premazivanje<sup>62</sup>.

*Dip coating* se prakticira kao kontinuirani, ali i šaržni proces kod kojeg se premazivanje potapanjem može podijeliti u nekoliko faza: uranjanje, pokretanje, taloženje, vađenje (isušivanje) i isparavanje (slika 3.).



Slika 3. Izvođenje *dip coating* metode<sup>63</sup>.

Neke od značajnijih prednosti ove tehnike u odnosu na razne druge dostupne metode tekuće depozicije su jednostavnost i izvrsna kontrola nad konačnom debljinom deponiranog sloja<sup>64,65</sup> što omogućava izradu homogenih premaza<sup>66</sup>. Procesni uvjeti također se mogu

prilagoditi za depoziciju svih vrsta materijala uključujući polimere<sup>67</sup>, keramiku<sup>68</sup>, hibridne materijale<sup>69</sup>, nanokompozite<sup>70</sup>, biomolekule<sup>71</sup> i sve vrste nanočestica<sup>72</sup> iz različitih otopina (čak i onih koje sadrže slabo hlapljiva otapala). Mogućnost podešavanja uvjeta isparavanja sloja deponirane tekućine tijekom *dip coatinga* pokazao se nužnim za kontrolu nanostrukture u metodi samosastavljanja (engl. *self-assembly*)<sup>73</sup>. Što se tiče oblika podloge, ne mogu svi oblici biti premazani, ali *dip coating* može biti rješenje za ravne i zakrivljene površine supstrata bez otpadne otopine<sup>74</sup>.

Međutim, ova tehnika ima i neke nedostatke koji ograničavaju raspon uporabe i otežavaju njegovu primjenu u većim količinama. Prvo, nije prikladna za nanošenje jednostranog premaza budući da je površina supstrata potpuno navlažena u otopinu. Drugo, potreban je velik volumen otopine prekursora za punjenje posudice. Ovaj aspekt postaje problem u mnogim praktičnim slučajevima kao što su: (i) kada ta prekursorska otopina nije stabilna u vremenu kao u slučaju brze kondenzacije; (ii) kada je otopina štetna i ne može se njome rukovati u velikim količinama (otrovna, zapaljiva ili eksplozivna); i konačno (iii) kada je jedna od komponenti otopine vrlo skupa ili može biti kupljena ili sintetizirana u malim količinama<sup>64</sup>.

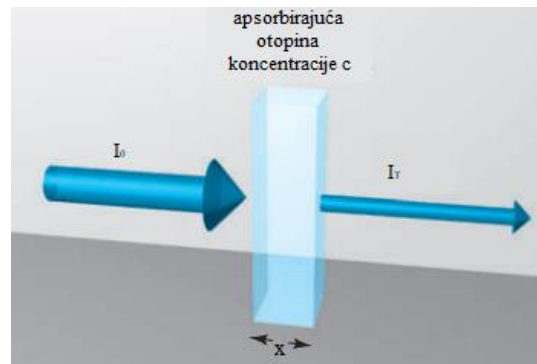
## 2.4. Optička karakterizacija analita

### 2.4.1. Apsorbancija

Apsorbancija je dekadski logaritam omjera intenziteta upadnog ( $I_0$ ) i prolaznog (transmitiranog) zračenja ( $I$ ) definirana jednadžbom (1):

$$A = \log \left( \frac{I_0}{I} \right) \quad (1)$$

Slika 4. prikazuje snop paralelnog zračenja prije i poslije prolaska kroz medij debljine  $x$  koncentracije apsorbirajuće vrste  $c$ . Kao posljedica interakcija između fotona i apsorbirajućih atoma ili molekula, snaga snopa se smanjuje (slabi) od  $I_0$  do  $I_T$ .



Slika 4. Slabljenje snopa zračenja apsorpcijom otopine<sup>75</sup>.

Apsorbancija se matematički opisuje Lambert-Beerovim zakonom koji se najčešće navodi u obliku prikladnom za apsorpciju u otopinama, a dana je jednadžbom (2):

$$A = \epsilon c x \quad (2)$$

Pri čemu je  $A$  apsorbancija na određenoj valnoj duljini,  $\epsilon$  je molarni ekstinkcijski koeficijent ( $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) koji je ovisan o valnoj duljini svjetlosti te je specifičan ovisno o otopljenoj tvari u analiziranoj otopini,  $c$  je koncentracija otopljene tvari ( $\text{mol L}^{-1}$ ), a  $x$  (cm) duljina puta svjetlosti kroz uzorak. Ekstinkcijski koeficijent definira se kao mjera prigušenja intenziteta zračenja uslijed raspršenja i apsorpcije, a ukoliko se raspršenje zanemari i u obzir uzme činjenica da je apsorbancija svojstvo materijala može izraziti jednadžbom (3):

$$A = \alpha x \quad (3)$$

Pri čemu  $A$  ponovo označava apsorbanciju,  $\alpha$  je apsorpcijski koeficijent ovisan o materijalu i valnoj duljini svjetlosti, a  $x$  je duljina puta koji svjetlost prođe kroz materijal.

U konačnici slijedi da nakon prolaska kroz materijal intenzitet svjetlosti se izražava jednadžbom (4) :

$$I = I_0 \exp(-\alpha x) \quad (4)$$

#### 2.4.2. Reflektancija

Reflektancija se definira kao omjer intenziteta reflektiranog zračenja te intenziteta upadnog zračenja, a izražava se jednadžbom (5):

$$\text{Reflektancija (\%)} = \frac{\text{Intenzitet reflektiranog svjetla}}{\text{Intenzitet upadnog svjetla}} \times 100 \% \quad (5)$$

Često se koristi kada je potrebna optička karakterizacija tvari koje ne propuštaju svjetlost, a primjer takvih materijala su papir, tkanina (tekstil) te uređeni slojevi praškastih tvari. Reflektancija ima vrijednost u intervalu od 0 do 1 ili ako je izražena u postocima 0 – 100 %. Upadno zračenje može biti iz jednog smjera, niza smjerova ili iz cijele hemisfere. Nadalje, ako upadno zračenje dolazi iz više različitih smjerova tada ono može, ali i ne mora biti, ravnomjerno usmjereno. Slično, sakupljena svjetlost može biti ograničena na uzak ili širok raspon smjerova te na punu hemisferu. Upravo zbog višestrukih mogućnosti upadnog smjera zračenja te smjera sakupljenog (reflektiranog) zračenja, geometrija jednog mjerenja reflektancije može biti značajno različita od geometrije nekog drugog reflektancijskog mjerenja. Sukladno tome valja napomenuti kako je usporedivost mjerenja reflektancije moguća jedino ako su ona provedena pri identičnim uvjetima<sup>3,76</sup>.

Papir, praškaste tvari i tkanine posjeduju određeni stupanj nehomogenosti glede strukture te se svjetlost kroz takav materijal ne širi jednako kao što je slučaj kod homogenih tvari. Zbog toga je osmišljen model koji opisuje širenje svjetlosti kroz nehomogeni materijal. Najrašireniji model vezan uz difuznu reflektanciju je prikazan jednadžbom (6) pri čemu je smjer reflektiranog zračenja različit od upadnog, a izveli su ga znanstvenici Kubelka i Munk<sup>77</sup>:

$$\frac{k}{s} = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} \quad (6)$$

gdje je  $k$  apsorpcijski koeficijent,  $s$  koeficijent raspršenja, a  $R_\infty$  difuzna reflektancija.



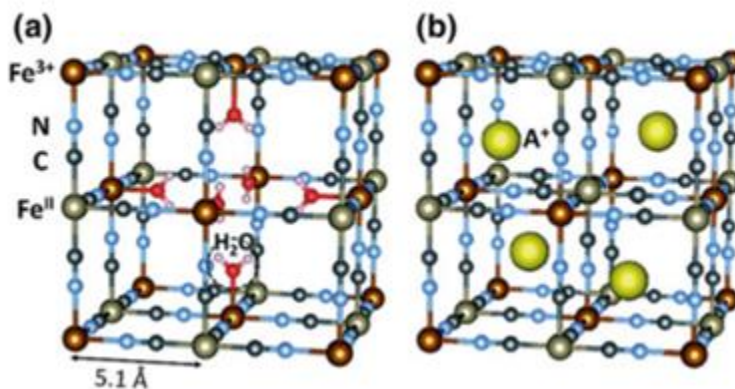
## 2.5. Berlinsko modrilo

### 2.5.1. Fizikalna i kemijska svojstva berlinskog modrila

Berlinsko modrilo, odnosno prusko plavo („*Prussian blue*“, PB), prva je ikad izumljena sintetička boja. Pripremljena je miješanjem određene količine košenila (vrste insekta štitastih uši iz podreda *Sternorrhyncha* prirodno crvene boje) sa željezovim(II) sulfatom i mješavinom cijanida 1704. godine<sup>78</sup>. U drugoj polovici 18. stoljeća njemački mineralog Abraham Werner osmislio je standardiziranu shemu za klasifikaciju boja. Nju je tijekom 19. stoljeća prilagodio i revidirao škotski slikar Patrick Syme. Broju 25 te klasifikacije pripada plava boja poznata kao prusko plava (PB) koja ima velik udio baršunastocrne boje i mali udio indigo plave<sup>79</sup>. Kemijski, PB je  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ , a IUPAC naziv je željezo(II, III) heksacijanoferat(II, III).

Prusko plavo može se kemijski sintetizirati miješanjem željezovih iona i heksacijanoferatnih iona s različitim oksidacijskim stanjima atoma željeza:  $\text{Fe}^{3+}$  i  $[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]^{4-}$  ili  $\text{Fe}^{2+}$  i  $[\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6]^{3-}$ <sup>80</sup>.

Strukturno definiranje kompleksa postignuto je tek 1936. godine<sup>81</sup>. Prema analizi rendgenskih zraka, Keggin i Miles su na zadovoljavajući način opisali strukturu PB kao 3D kubičnu mrežu sastavljenu od atoma željeza koji su smješteni na uglovima male kocke s rubom od 5,1 Å te povezani s bidentatnim  $-\text{C}\equiv\text{N}-$  ligandima kao što ilustriraju slike 5.a i 5.b<sup>82</sup>.



Slika 5. Strukturni oblici PB: a) netopiva pruska plava,  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ,  
b) topiva pruska plava,  $\text{AFe}^{3+}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ <sup>83</sup>.

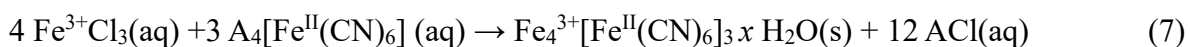
Metaloorganska okosnica je izgrađena od  $\text{Fe}^{\text{II}}-\text{C}\equiv\text{N}-\text{Fe}^{3+}$  jedinice duž sva tri prostorna smjera, uključujući i zeolitska mjesta koja su sposobna ugraditi druge ionske vrste s radijusom

od 1,6 Å<sup>84</sup>. Svaka kristalografska jedinična ćelija sastoji se od osam kockica i ima parametar duljine rešetke od oko 10,2 Å. Zanimljivo je da je karakteristična intenzivna prusko plava boja posljedica mješovite valencije spoja koji sadrži Fe(II) i Fe<sup>3+</sup> i potječe od elektronskog prijelaza s iona Fe<sup>II</sup> na Fe<sup>3+</sup> uzrokovanog apsorpcijom narančasto-crvenog svjetla vidljivog spektra (680 - 730 nm)<sup>85</sup>.

Ovisno o metodologiji sinteze i korištenim reaktantima, ioni alkalijskih metala i molekule vode mogu zauzeti zeolitska mjesta dajući pritom različite spojeve koji uključuju netopivu i topivu prusku plavu pri čemu se netopivi oblik PB odnosi na Fe<sup>III</sup><sub>4</sub>[-Fe<sup>II</sup>(CN)<sub>6</sub>]<sub>3</sub>·xH<sub>2</sub>O, gdje je x = 14 – 16, a topivi PB na AFe<sup>III</sup> [Fe<sup>II</sup>(CN)<sub>6</sub>]·xH<sub>2</sub>O, gdje je x = 1 – 5, a A jednovalentni kation kao što je K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> ili NH<sub>4</sub><sup>+</sup><sup>86</sup>.

Klasični način sinteze PB jest procesom kotaloženja koji se odvija u jednom koraku. Vodena otopina soli heksacijanoferrata(II), A<sub>4</sub>[Fe<sup>II</sup>(CN)<sub>6</sub>], (gdje je A alkalijski metal, obično K) se pomiješa s vodenom otopinom koja sadrži sol željeza u +3 oksidacijskom stanju. Pri tome dolazi do stvaranja tamnoplavog taloga<sup>87</sup>. Bez obzira na jednostavnost sinteze, dobiva se iznimno mala veličina čestica što posebno otežava izolaciju produkta od nečistoća i adsorbirane vode.

Netopiv oblik PB formira se kada je u reakcijskom mediju prisutan višak soli željeza u +3 oksidacijskom stanju. Karakterizira ga vrlo mala količina alkalijskih metala u zeolitskim mjestima, no prihvaća relativno velike količine vode<sup>88</sup>. Njegova se priprema može sažeti prema jednadžbi (7):



Na temelju podataka izdvojenih iz Mössbauerovih eksperimenata<sup>89</sup> i difrakcijskih tehnika<sup>90</sup>, utvrđeno je da su atomi Fe<sup>II</sup> u kubičnoj rešetki netopivog oblika PB u elektronskoj konfiguraciji s niskim spinom (LS) *d*<sup>6</sup> te kovalentno koordinirani sa šest atoma ugljika preko –CN liganada. S druge strane, Fe<sup>3+</sup> centri visokog spina (HS) *d*<sup>5</sup> ionski su vezani za atome dušika. Jaka kovalentna veza između Fe<sup>II</sup> i šest cijanidnih liganada odražava se u činjenici da [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> jedinice ostaju stabilne u vodenoj otopini vrlo kiselog pH, kao i zbog [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> slobodnih mjesta u krutini. U netopivom obliku pruskog plavog, četvrtina [Fe<sup>II</sup>(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> mjesta su prazna. Kao rezultat toga, Fe<sup>3+</sup> kationi su također koordinirani s molekulama vode preko

sskisika, zauzimajući ova N-prazna mjesta. Stoga je  $\text{Fe}^{3+}$  u prosjeku koordiniran s 4,5 atoma dušika i 1,5 atoma kisika<sup>91</sup> (slika 5.a).

Nasuprot tome, ako se reagensi pomiješaju stehiometrijski ili sa suviškom heksacijanoferata(II), dobiva se topiv oblik PB. Za razliku od netopivih vrsta, ovaj spoj u svojoj strukturi sadrži ione alkalijskih metala, a njegova reakcija sinteze može se opisati jednadžbom (8):



Unatoč nazivu topivo PB, ono zapravo nije topivo. Naziv dolazi od činjenice da u vodenim otopinama,  $\text{AFe}^{3+}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6] \cdot x\text{H}_2\text{O}$  lako dispergira zbog koloidne prirode čestica<sup>92</sup>, stvarajući plavu suspenziju koja nalikuje otopini. Iako je kristalna rešetka topivog PB vrlo slična rešetki netopivog oblika PB ( $\text{LS Fe}^{\text{II}}\text{-C-N-HS Fe}^{3+}$ ), postoje male varijacije između njih. Opće je prihvaćeno da ne postoje  $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$  slobodna mjesta u strukturi topivog oblika PB (slika 5.b) stoga samo nekoordinirana voda može biti prisutna u njima i zauzimati približno polovicu mjesta zeolitskog tipa. Preostala zeolitska mjesta, idealno druga polovica, pripadaju alkalijskim ionima  $\text{A}^+$  (najčešće  $\text{K}^+$ ) koji djeluju kao protuanioni za kompenzaciju negativnog naboja  $\{\text{Fe}^{3+}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]\}^-$  i tako održavaju električnu neutralnost<sup>93</sup>.

### 2.5.2. Primjena i upotreba berlinskog modrila

Berlinsko modriilo (PB) koristi se u industrijskoj proizvodnji premaza, lakova za postizanje čvrstoće drvenih parketa, bojila za tinte te aditiva za deterdžente. Također se naširoko koristi u kemijskoj industriji kao katalizator u kemijskim reakcijama, u industriji proizvodnje i skladištenja vodika, u kemijskim sensorima, biosenzorskoj kontroli i kliničkoj medicini. Dobro je poznato zbog svojih elektrokromnih, elektrokemijskih te magnetskih svojstava.

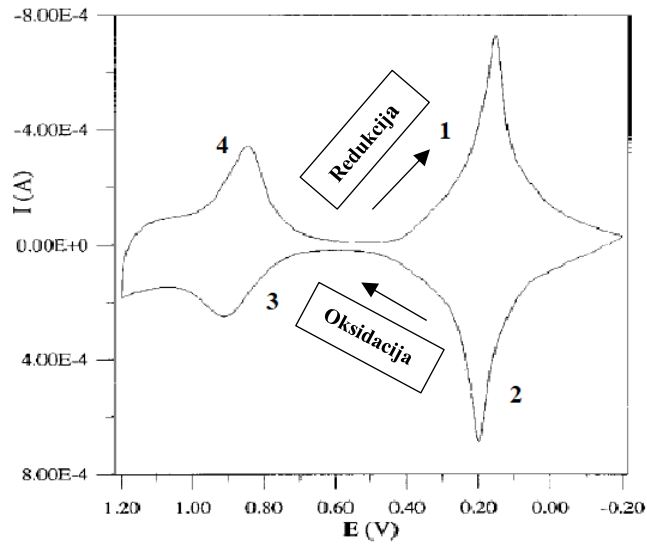
Upravo zbog navedenih svojstava, posljednjih godina postoji veliki interes za PB, ali i napredak u njegovoj primjeni u različitim granama. Primjerice, 2014. godine proizvedeni su heksacijanoferatni prijelazni metali za elektrokatalizu redukcije  $\text{H}_2\text{O}_2$ <sup>94</sup>. Daljnji rezultati istraživanja u 2020. godini o strukturi poroznih bakrenih analoga PB pokazali su svojstva visokog kapaciteta za skladištenje vodika<sup>95</sup>. U području ionskih baterija, sintetiziran je visoko kristalni analog PB kao katodni materijal natrijevih ionskih baterija. U polju fotokemije, istražen

je oblik fotoinduciranog magnetizma na heterostrukturama analoga PB koji je postigao izvanredan napredak<sup>96</sup>. PB ima dugu povijest u području bioloških istraživanja. Istraživači su već 1995. razvili prvu generaciju biosenzora na bazi PB. Radilo se o amperometrijskim elektrodama za glukozu koje su se u narednom vremenu kontinuirano razvijale<sup>97</sup>. U kliničkoj medicini, PB se može koristiti kao rutinska boja za određivanje količine hemosiderina koji služi za otkrivanje bolesti bubrega<sup>98</sup>. Posljednjih godina, zbog svojih jedinstvenih fizičkih i kemijskih svojstava, PB je predmet sve više istraživanja raka. PB je odobreno od strane američke uprave za hranu i lijekove (FDA, engl. *Food and Drug Administration*) kao materijal siguran za ljudsku upotrebu. Štoviše, uvršteno je na popis esencijalnih lijekova Svjetske zdravstvene organizacije<sup>99</sup>.

### 2.5.3. Optička i spektroskopska svojstva berlinskog modrila

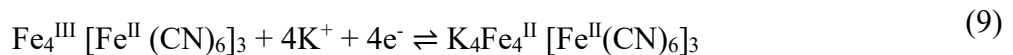
Spektroskopskim istraživanjima određena je struktura PB. Struktura se sastoji od dva atom željeza ( $\text{Fe}_4^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ ) u kojem je atom željeza(III) koordiniran dušikom, a atom željeza(II) koordiniran ugljikom<sup>100</sup>. Poznato je da se PB može kemijski sintetizirati miješanjem feri (fero) soli željeza i heksacijanoferatnih iona s različitim oksidacijskim stanjem željeza: ili  $\text{Fe}^{3+} + [\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]^{4-}$  ili  $\text{Fe}^{2+} + [\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}$ . PB pokazuje svojstvo elektrokromizma, što znači da je promjena njegove boje rezultat redoks reakcije. Interkonverzija elektrona između feri i fero stanja ključna je za ovo elektrokromatsko ponašanje i pridonosi promjenama u optičkim svojstvima PB. Zbog toga je prvotno potrebno provesti depoziciju PB na raznim vodljivim površinama<sup>101</sup> iz vodenih otopina koje sadrže mješavinu željezovih(III) iona ( $\text{Fe}^{3+}$ ) i heksacijanoferatnih(III) ( $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6]^{3-}$ ) iona primjenom elektrokemijske pokretačke sile.

Stvoreni film PB se može okarakterizirati pomoću cikličke voltametrije koja primjenjuje cikličku promjenu potencijala uzrokujući pritom reverzibilne redoks reakcije između feri i fero stanja. Ciklički voltamogram, koji je dijagram struje u odnosu na napon, pokazuje strujne pikove oksidacije i redukcije koji odgovaraju tim redoks procesima. On daje informacije o redoks potencijalima i kinetici reakcija prijenosa elektrona uključenih u pretvorbu. Primjer je depozicija PB na ITO elektrodi. Za provedbu eksperimenta se koristi potenciostat i elektrokemijski reaktor. Otopina kalijevog klorida ( $c = 1 \text{ mol/L}$ ) služi kao elektrolit, dok troelektrodni sustav čine ITO (indijev kositrov oksid) radna elektroda, Ag/AgCl referentna elektroda i platinska poluelektroda.

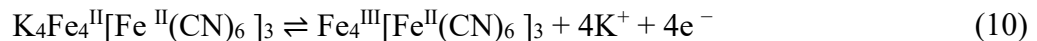


Slika 6. Ciklički voltamogram PB na ITO elektrodi<sup>103</sup>.

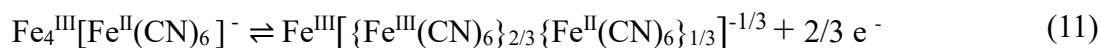
Na slici 6. prikazan je ciklički voltamogram filma PB na ITO elektrodi. Na početnom potencijalu od 0,6 V, PB je plave boje te u strukturi posjeduje željezo u +3 i +2 oksidacijskim stanjima ( $\text{Fe}_4^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]_3$ ). Nadalje, djelovanjem negativnog napona, odnosno snižavanjem elektrodnog potencijala do -0,2 V, dolazi do redukcije željeza iz +3 u +2 oksidacijsko stanje. Time u prisustvu kalijevih iona nastaje topljivi oblik PB. Riječ je o redukciji (jednadžba 9) koja je popraćena gubitkom boje. Ovakav oblik polikristala se naziva berlinsko bijelo (PW, engl. *Prussian white*).



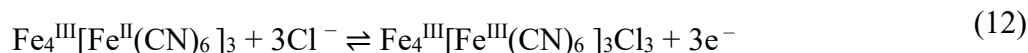
Pri postizanju minimalnog potencijala od -0,2 V dolazi do cikličke promjene u pozitivnom smjeru +1,2 V pri čemu prvo dolazi do procesa oksidacije PW u PB prema prikazanoj jednadžbi (10):



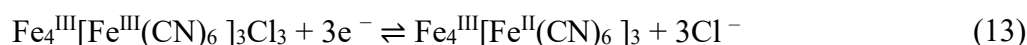
Djelomičnom oksidacijom PB dobiva se berlinsko zelenilo (PG, engl. *Prussian green*) u kojemu je prisutno  $\text{Fe}^{\text{III}}$  kao i u PB, ali se osim njega nalazi  $2/3 \text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6$  te  $1/3 \text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6$  što daje parcijalni anionski naboj -1/3. Reakcija dobivanja PG je prikazana u jednadžbi (11):



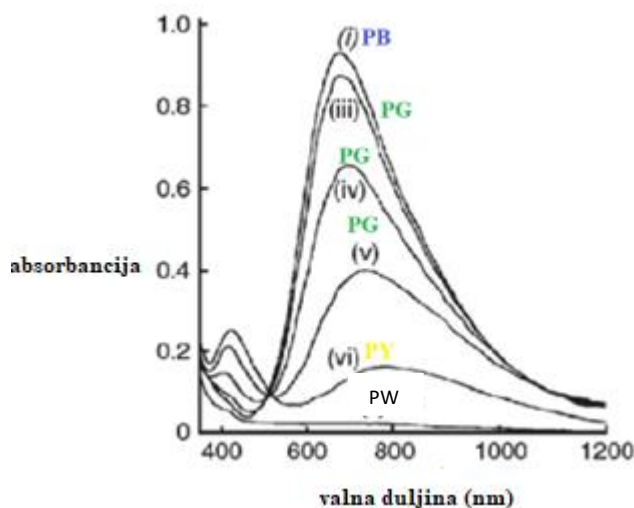
Pri visokim anodnim potencijalima (+1,2 V), PB se potpuno pretvara u svoj potpuno oksidirani oblik i označava se kao berlinsko žutilo (PY, engl. *Prussian yellow*) što je prikazano u jednadžbi (12):



Naposljetku, potencijal se vraća na početni pri čemu se PY ponovno reducira u PB<sup>107</sup> (jednadžba 13):



Apsorpcijski spektri svih oblika PB prikazani su na slici 7. Na valnoj duljini od 700 nm (i) događa se apsorpcija u narančastom području spektra, a njena je komplementarna boja plava, odnosno boja **PB** koja egzistira na potencijalu od +0,6 V. Iz apsorpcijske linije (ii) može se vidjeti da ne dolazi do apsorpcije u vidljivom dijelu spektra što i odgovara bezbojnom obliku **PW** pri potencijalu od -0,2 V. Pri 425 nm i potencijalu od +1,2 V, apsorpcija se događa u ljubičastom dijelu spektra što je vidljivo po komplementarnoj žutoj boji (**PY**)<sup>102</sup>.

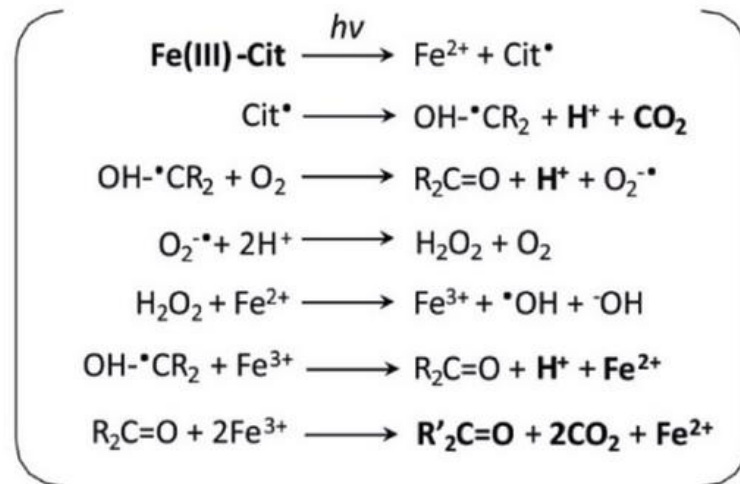
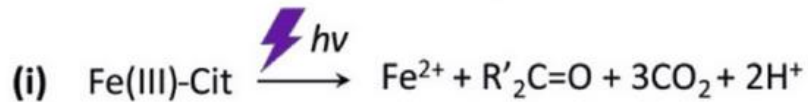


Slika 7. Spektri filmova željezovog heksacijanoferata na ITO na različitim potencijalima [(i) + 0,50 (PB, plavo), (ii) -0,20 (PW, prozirno), (iii) + 0,80 (PG, zelena), (iv) + 0,85 (PG, zelena), (v) + 0,90 (PG, zelena) i (vi) + 1,20 V (PY, žuto) (potencijali u odnosu na SCE)] s KCl 0,2 mol dm<sup>-3</sup> + HCl 0,01 mol dm<sup>-3</sup> kao pomoćni elektrolit<sup>108</sup>.

#### 2.5.4. Cijanotipija

Cijanotipija je sporo reagirajuća i ekonomična metoda za razvoj fotografija. Osjetljiva je na ograničeni spektar ultraljubičastog i plavog svjetla u rasponu valnih duljina od 300 nm do 400 nm<sup>103</sup>. Razvio ju je John Herschel 1842. godine prilikom pokušaja pronalaska prikladne metode razvijanja fotografija u boji. Proučavajući gubitak boje biljnih ekstrakata uslijed izlaganja Sunčevom zračenju u svrhu pronalaska dobre baze za razvoj pozitiva, zaključio je kako je vrijeme izlaganja zračenju za dobivanje zadovoljavajućih rezultata predugo da bi postupak bio primjenjiv u praksi. Zamjenu za obojane biljne ekstrakte potražio je u intenzivno obojanim anorganskim spojevima koji su ujedno osjetljivi na Sunčevo zračenje. Nakon brojnih neuspjelih pokušaja Herschel je miješanjem amonijevog željezovog(III) citrata i kalijevog heksacijanoferata(III) dobio spoj kojim je razvio metodu cijanotipije koja je danas još uvijek u upotrebi<sup>104</sup>.

Valja napomenuti kompleksnost same fotokemijske reakcije koja se odvija u sustavu. Naime, u cijanotipiji se pomoću UV zračenja fotoaktivira amonijev željezov(III) citrat koji reagira s heksacijanoferatom(III) u svrhu nastanka PB. Sam mehanizam reakcije je prilično složen te u prvome koraku (i) dolazi do disocijacije amonijevog željezovog(III) citrata pri čemu se željezo reducira u  $Fe^{2+}$ , a citrat se oksidira (Slika 8.). Drugi korak (ii) uključuje reakciju  $Fe^{2+}$  i heksacijanoferata(III) pri čemu nastaje PB. To nisu jedine reakcije u sustavu te su na slici 8. prikazane moguće sporedne reakcije. Oksidacijom citrata u prvom koraku (i) nastaje nestabilan radikalski intermedijer  $Cit^{\bullet}$  koji zatim disocira na druge radikalske vrste i aktivne kisikove spojeve kao što su  $CO_2$ ,  $H_2O_2$  te  $O_2^{\bullet}$ . One mogu reagirati s drugim molekulama citrata i pritom pospješiti i ubrzati reakciju sinteze PB. Može se zaključiti kako je u sustavu prisutan fotokatalitički radikalski mehanizam<sup>105</sup>.



Slika 8. Prikaz mehanizma cijanotipije<sup>106</sup>.

### 2.5.5. Nanočestice berlinskog modrila

Nanočestice berlinskog modrila (PBNP, engl. *Prussian blue nanoparticles*) imaju sposobnost katalitičke aktivnosti odnosno „oponašanja“ različitih enzima kao što su peroksidaze, katalaze i superoksid-dismutaze. Primjenjive su u medicini prvenstveno zbog malih dimenzija i netoksičnosti, a mogu se koristiti i kao kontrasti u MRI. Na sama svojstva nanočestica značajno utječe njihova veličina, stoga se kontrolom veličine čestica mogu podešavati određena svojstva ovisno o njihovoj namjeni. U proteklim godinama istražene su brojne strategije smanjenja veličine čestica poput prilagodbe omjera prekursora, pH otopine i vremena reakcije. Većina postojećih nanočestica PB ima promjer veći od 10 nm. Ultramale nanočestice PB (engl. *ultra small Prussian blue nanoparticles*) s veličinama manjim od 5 nm teško se sintetiziraju zbog njihove aglomeracije u početnoj fazi<sup>106</sup>. Međutim, znanstvenik Shou uspio je sintetizirati nanočestice prosječne veličine od  $3,8 \pm 0,9$  nm pomoću dopiranja  $\text{Zn}^{2+}$  ionima<sup>107</sup>. No, još je uvijek prisutan veliki izazov vezan uz sintezu fazno čistih i monodisperznih ultra malih nanočestica PB<sup>108</sup>.



### 2.5.5.1. Sinteza nanočestica berlinskog modrila

Najjednostavnija metoda sinteze PBNP je metoda koprecipitacije. To je proces koji se odvija u jednom koraku i podrazumijeva miješanje soli željeza ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ) s alkalnim heksacijanoferatom ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ). Kada se takva reakcija odvija pri visokom tlaku i temperaturi, ta se metoda naziva hidrotermalna metoda. Treća metoda temelji se na korištenju  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  ili  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  iona kao pojedinačnih prekursora koji polako otpuštaju ione fero ili feri željeza koji su reducirani ili oksidirani u kiselim uvjetima. Oni potom reagiraju s neizreagiranim ionima. Sinteza također može uključivati i korištenje polimera, kiselina ili alifatskih amina u ulozi zaštitnih agenasa koji nanočestice PB čine topivima u vodi ili organskom mediju. Ovisno o strategiji pripreme, morfologija nanočestica može varirati iako je oblik koji postižu uvijek kubični ili sferoidni.

#### *Metoda taloženja*

Metoda taloženja uključuje reakciju između otopina soli željeza(III) (tj.  $\text{FeCl}_3$ ) i otopine soli heksacijanoferata(II) ( $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) što dovodi do stvaranja voluminoznog plavog taloga ili koloidne suspenzije PB, ovisno o tome je li sol željeza u suvišku ili je molarni omjer soli koje se miješaju 1:1<sup>109</sup>. PBNP se također mogu sintetizirati indirektnom metodom koja uključuje reakciju između soli željeza(II) i soli heksacijanoferata(II). Reakcijom se dobiva talog berlinskog bijelog kemijske formule željezov(II) heksacijanoferat(II),  $\text{Fe}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{110}$ , koji se može oksidirati vodikovim peroksidom kako bi se dobile PBNP. U ovoj metodi, potrebne su temperature između 25 i 60 °C.

Često je cilj sinteze priprema modificiranih nanočestica magnetita koji tvore strukturu jezgra-ljuska. Izvođenje sinteze podrazumijeva suspendiranje nanočestica magnetita u otopini  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  i dodavanje otopina željeza<sup>111</sup>. Dakle, nanosustav se sastoji od magnetitske jezgre presvučene slojem PBNP. Magnetit zadržava svoja magnetska svojstva, iako površinska modifikacija uvijek podrazumijeva smanjenje magnetizacije magnetita. Glavni problem vezan uz nanočestice PB jest njihova sklonost agregaciji i nestabilnost. Osim toga, u slučaju korištenja u živim organizmima, makrofagno-fagocitni sustav ih teži eliminirati. Rješenje za to jest funkcionalizacija površine nanočestica. Funkcionalizacija omogućuje disperznost u vodenom ili organskom mediju. Tvari koje se koriste za funkcionalizaciju su polimeri, biomolekule i

organske kiseline. Polimeri se miješaju *in situ* s otopinom željeza te nakon što su oboje komponente dispergirane, dodaje se heksacijanoferat. U tu svrhu koriste se polivinil pirolidon (PVP)<sup>112</sup>, polietilenimin (PEI)<sup>113</sup>, polivinil alkohol (PVA)<sup>114</sup>, polialilamin (PAH)<sup>116</sup>, poli(dialildimetilamonij) (PDDA)<sup>115</sup>, polistiren sulfonat (RSS)<sup>116</sup>, polianilin (PANI) i polietilen glikol (PEG)<sup>116</sup>. Ovisno o omjeru iona željeza i polimera te temperaturi procesa, veličina i morfologija funkcionaliziranih PBNP može se korigirati. Osim navedenih polimera, niz biomolekula, kao što su crvena krvna zrnca<sup>117</sup>, albumin<sup>118</sup>, avidin<sup>119</sup>, kitozan<sup>120</sup>, poli(L-lizin) (PLL)<sup>121</sup> i želatina<sup>122</sup>, mogu biti funkcionalizirani na površini nanočestica PB. Jedan od najjednostavnijih načina za stabilizaciju je oblaganje nanočestica limunskom kiselinom. Ona je jedan od najčešće korištenih anionskih stabilizatora za nanočestice raznih plemenitih i prijelaznih metala te njihovih spojeva te djeluje kao redukcijsko sredstvo metalnih iona. Za stabilizaciju PBNP, limunska kiselina se miješa s vodenom otopinom Fe<sup>3+</sup> i nakon miješanja dodaje se otopini heksacijanoferata(II). U ovom pristupu, oblik PBNP je kubičan. Njihova veličina je 13 nm kada se mjeri transmisijskim elektronskim mikroskopom (TEM), odnosno 25 nm kada je određivanje izvršeno dinamičkim raspršenjem svjetlosti (DLS). PBNP stabilizirane limunskom kiselinom imaju visoko negativan  $\zeta$ -potencijal (30 mV) koji omogućuje njihovu laku disperziju u vodi. Međutim, negativni površinski naboj predstavlja ograničenje pri unosu u organizam radi odbijanja čestica uzrokovanog negativnim nabojem stanične membrane<sup>123</sup>. Kako bi se to izbjeglo, karboksilna skupina limunske kiseline može se derivatizirati s drugim spojevima kroz reakciju kopuliranja s 1-etil-3-(3-dimetilamono propil) karbodiimidom (EDC).

Kada se PBNP moraju dispergirati u organskim otapalima, njihova površina se može modificirati alifatskim aminima. Ova je modifikacija moguća jer 3D mreža s cijano-premoštenim  $d-\pi$  orbitalama je diskontinuirana i nanokocka PB nosi 15% aktivnih površinskih reakcijskih mjesta, Fe(III) - OH<sub>2</sub><sup>124</sup>. Oleilamin, dugolančani alkilamin, stupa u interakciju s PBNP i daje hidrofobne nanočestice. Ovaj pristup je korišten za ugradnju PBNP u lipidne strukture od disteroilfosfatidiletanolamin-polietilen glikola (DSPE-PEG 2000)<sup>125</sup> ili fosfatidilkolina soje, stvarajući hidrofilne komplekse.

### *Hidrotermalna metoda*

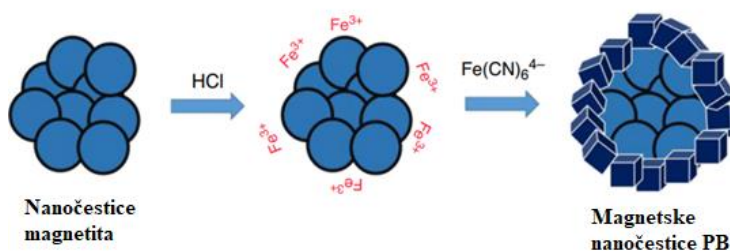
PBNP također se mogu sintetizirati hidrotermalnim metodama. U ovoj metodi komponente se otope ili dispergiraju u vodi nakon čega se uvode u autoklavni reaktor gdje podliježu visokim temperaturama (obično  $> 100^{\circ}\text{C}$ ) i tlakovima. Koristeći ovaj pristup, znanstveni tim Wu i sur. pripremili su mezokristale PB miješanjem kalijevog heksacijanoferata(III) i polietilen glikola (PEG) 4000 u kiselim uvjetima na temperaturi od  $120^{\circ}\text{C}$ , 20 h. Proizvod je bio pseudo-krnja kocka veličine 5 - 6 mm. Kada je PEG 4000 zamijenjen s PEG 2000, mezokristali su izgledali kao skraćena kocka, koja je sadržavala i glatke i zakrivljene površine<sup>126</sup>.

Materijal nano dimenzija sintetizirali su Qian i sur. pomoću smjese iona željeza i heksacijanoferata(III), etilen glikola, natrijevog acetata, natrijevog dodecil sulfonata (SDS), PEG 2000, i klorovodične kiseline (HCl). Autoklav je zabrtvljen teflonom, zagrijan na  $180^{\circ}\text{C}$  u vremenu od 6 h<sup>127</sup>. Hu i suradnici sintetizirali su PBNP sa šupljom unutrašnjosti kontroliranim kemijskim jetkanjem u prisutnosti PVP-a<sup>128</sup>. Kao početni reaktant korištene su nanočestice veličine 110 ili 190 nm. Za stvaranje unutarnje šupljine, nanočestice su tretirane HCl-om pri  $140^{\circ}\text{C}$  u vremenskom periodu od 4 h u prisustvu PVP-a. Žarenjem takvih nanočestica u autoklavu, pripremljene su šuplje  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  čestice<sup>129</sup>. S druge strane, Wang i sur. pripremili su PBNP različite morfologije korištenjem kloroplatinske kiseline u reakcijskom sustavu i PVP-a kao sredstva za zatvaranje. Ove nanočestice korištene su kao foto-Fentonovi reagensi za razgradnju organskih zagađivača.

### *Metoda jednog prekursora*

U ovoj metodi koriste se  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  ili  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  ioni kao prekursori. Takvi ioni polagano otpuštaju ione feri ili fero željeza koji su reducirani ili oksidirani u kiselom pH. Nastali ioni željeza mogu reagirati s nerazgrađenim ionima i pritom formirati PBNP. Ova se strategija smatra najboljom metodom za sintezu PBNP jer su dobivene nanočestice visoke monodisperznosti kao rezultat sporih reakcijskih procesa<sup>130</sup>. U proces može sudjelovati i polimer te pritom doprinijeti disperzibilnosti nanočestica. Kao u metodi koprecipitacije, PVP je jedan od najkorištenijih polimera za ovu svrhu.

Vafakhah i sur. sintetizirali su PBNP ugrađene u grafen oksidni aerogel za uklanjanje natrijevog klorida iz slane vode<sup>131</sup>. Štoviše, ova metoda je također korisna za dobivanje magnetskih PBNP postupkom stvaranja ljuske. Nanočestice željezovog oksida, prethodno dobivene hidrotermalnom sintezom, dispergirane su u vodenoj otopini pH 2 i brzo pomiješane s otopinom kalijevog heksacijanoferata(II). Nakon 1 h formirani su magnetske PBNP (slika 9.)<sup>132</sup>.



Slika 9. Shematski prikaz postupka korištenog za izradu magnetskih nanoklastera funkcionaliziranih pomoću PB<sup>130</sup>.

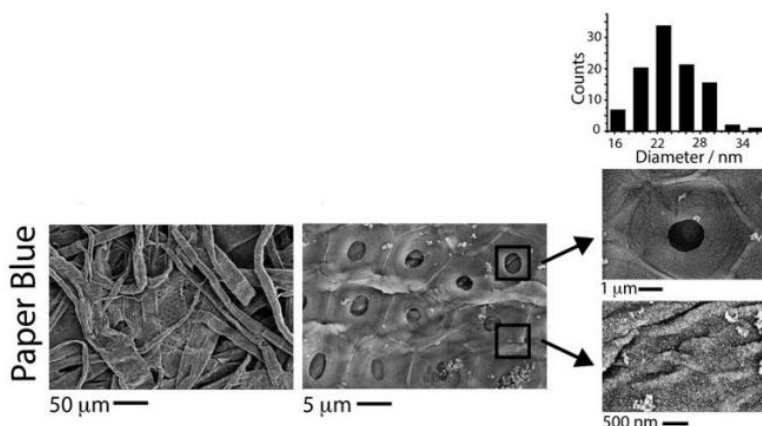
#### 2.5.5.2. Sinteza nanočestica Berlinskog modrila na papiru

Skupina talijanskih znanstvenika predvođena S. Cintijem 2018. godine sintetizirala je PBNP na filter papiru korištenjem nekoliko  $\mu\text{L}$  prekursora bez utjecaja pH, napona, redukcijskih sredstava i bez stvaranja otpada<sup>133</sup>. Dodijeljen mu je naziv *Paper Blue* te se primjenjuje u području senzora. Iskorištava se mogućnost redukcije vodikovog peroksida pri niskom primijenjenom potencijalu. Ekološki dizajnirani *Paper Blue* kombiniran je s voskom i sitotiskom za proizvodnju elektrokemijskog uređaja za praćenje dijabetesa, koji koristi glukoza-oksidadu kao element biološkog prepoznavanja. Glukoza u krvi bila je linearno detektirana za široki raspon koncentracija do 25 mM (450 mg/dL).

Filter papir je korišten kao reaktor za sintezu PBNP. PB je materijal koji katalizira reakciju redukcije vodikovog peroksida te se često koristi u razvoju biosenzora. Razlog tomu je njegova sposobnost detekcije vodikovog peroksida pri niskom primijenjenom potencijalu s visokom osjetljivošću i selektivnošću. Naime, vodikov peroksid nastaje kao nusprodukt oksidacije glukoze. Općenito, da bi se formiralo PB, soli heksacijanoferata(II)/Fe(II) ili soli heksacijanoferata(III)/Fe(III) trebaju reagirati. Filter papir omogućuje ovim prekursorima da dođu u kontakt u povoljnom mikrokruženju. Zbog celuloznih vlakana i njihove nepropusnosti,

filter papir nudi više mogućih mjesta za stvaranje nanočestica. Ovaj mehanizam je autonoman i isključivo se može pripisati strukturi papira. *Paper blue*, u kombinaciji s voskom i sitotiskom, poslužio je kao podloga za razvoj uređaja za samokontrolu dijabetesa bez elektrokemijskih reagensa.

Za sintezu PBNP, filter papir je impregniran sa samo 10  $\mu\text{L}$  smjese prekursora (0,05 M kalijev heksacijanoferrat(III)/željezov klorid) pripremljenih u vodi. PB nastaje kada se reakcija odvija unutar strukture filter papira, bez primjene redukcijskog potencijala ili miješanja atoma željeza različitih valentnih stanja. Na SEM mikrografiji (slika 10.) vidljivo je kako se filter papir sastoji od zaobljenih šupljina koje su okružene brojnim nanočesticama te kako je maksimum Gaussove krivulje centriran na 25 nm sa standardnom devijacijom od 4 nm. Promatrajući ove mikrografije prikazane na slici 10., također je vidljiva prisutnost većih agregata. Ističući ulogu filter papira kao održivog reaktora za sintezu nanočestica, njegova homogena funkcionalizacija vodi do nekoliko primjena.



Slika 10. SEM mikrografija PBNP na filter papiru<sup>131</sup>.

Korisnost ovog komercijalnog papira može se vidjeti u polju dijagnostike zbog svoje visoke selektivnosti prema vodikovom peroksidu pri niskom prenaponu (blizu 0 V). PB se često koristi u kombinaciji s glukoza-oksidadom jer taj enzim katalizira oksidaciju glukoze pri čemu nastaju glukonolakton i vodikov peroksid kao nusprodukt.

*Paper Blue* služi kao supstrat za razvoj održivih glukoznih traka, kombinirajući tehnologiju tiska: voštani i sitotisak. Tinte na bazi voska služe kao zelena alternativa za izolaciju hidrofilnog područja gdje se nanočestice autonomno sintetiziraju. Da bi se mogao primijeniti za

praćenje dijabetesa, *Paper Blue* mora dokazati svoju osjetljivost na vodikov peroksid jer njegovo određivanje neizravno kvantificira razinu glukoze. Konkretno, oksidirani i reducirani oblik PB sposobni su elektrokatalitički oksidirati i reducirati vodikov peroksid, a par PB-PW je prema cikličkom voltamogramu odabran za otkrivanje vodikovog peroksida. *Paper blue* senzor daje linearni odziv do 5 mM, s osjetljivošću od 1,70  $\mu\text{A}/\text{mM}$  i izračunatom granicom detekcije od 0,17 mM.

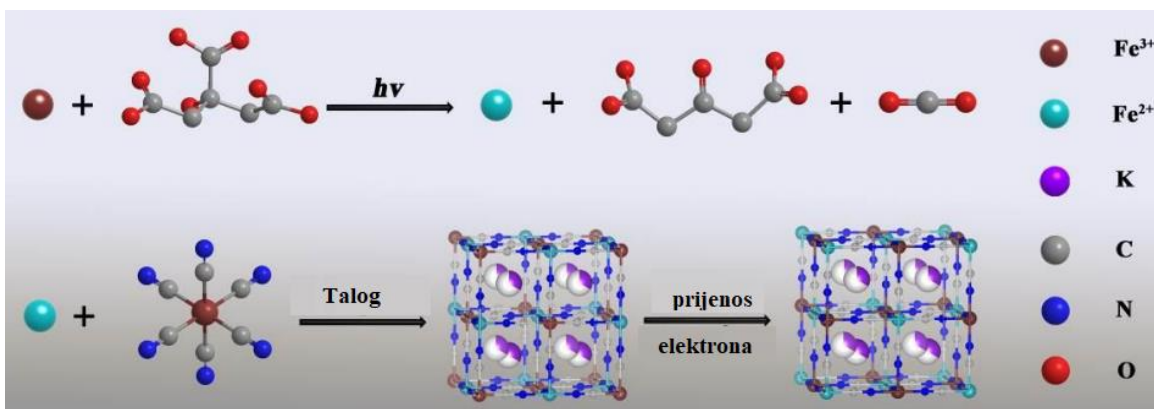
*Paper blue* senzor na bazi papira unaprijed je napunjen otopinom glukoza-oksidadze pripremljenom u puferiranoj otopini, tj. 5  $\mu\text{L}$  od 0,1 mg/mL. To znači da krajnji korisnik ne treba dodavati nikakve kemikalije za izvođenje testa jer su svi reagensi već prisutni unutar filter papira. Nakon što se senzor osuši, dodaje se 10  $\mu\text{L}$  uzorka i analizira. Povećanje koncentracije glukoze dovodi do povećanja katodne struje (zbog elektrokatalitičke redukcije enzimiški proizvedenog vodikovog peroksida). Ovaj senzor je sposoban detektirati glukozu linearno do 25 mM (450 mg/dL) te nudi vrijednu platformu za praćenje normalnih i patoloških stanja povezanih s razinom glukoze u krvi.

Uzimajući u obzir sve značajke koje karakteriziraju ovaj pristup sintezi, platforma razvijena u ovom radu istovremeno okuplja tri glavna aspekta: primjenu jeftinog filter papira za sintetiziranje nanočestica bez skupih i/ili dugotrajnih postupaka, realizaciju potpuno integriranog uređaja bez potrebe naknadne modifikacije elektroda, te primjenu prema složenoj biološkoj matrici kao što je krv. Mjerenjem kapljica krvi dobrovoljnih darivatelja (dijabetičara i nedijabetičara), izvedba senzora bila je zadovoljavajuća u usporedbi s komercijalno dostupnim trakicama za glukozu (*Bayer Contour*<sup>®</sup>), dobivši zadovoljavajući koeficijent korelacije od 0,987.

Fleksibilna elektronika nedavno je dobila sve veću pozornost zahvaljujući svojim jedinstvenim svojstvima i širokoj primjeni u raznim područjima. U svrhu kreiranja fleksibilne elektronike visokih performansi i niske cijene, pojavili su se brojni uređaji za pohranu energije, uključujući fleksibilne litij-ionske baterije, natrij-ionske baterije, litij-O<sub>2</sub> baterije te se očekuje da će nove kalij-ionske baterije (KIB) doprinijeti fleksibilnoj elektronici zbog niske cijene i izvora kalija te njegovog niskog redoks potencijala (-2,92 V). Prije ovog rada nije razmatran razvoj fleksibilnih KIB-ova, a pogotovo ne onih komercijalno dostupnih i s visokom gustoćom energije. To je ujedno bila i motivacija znanstvenog tima Zhu i sur. 2018. godine<sup>134</sup>, razviti kristalnu strukturu stabilnih katodnih materijala i proizvesti mehanički robusne, lagane i samostojeće

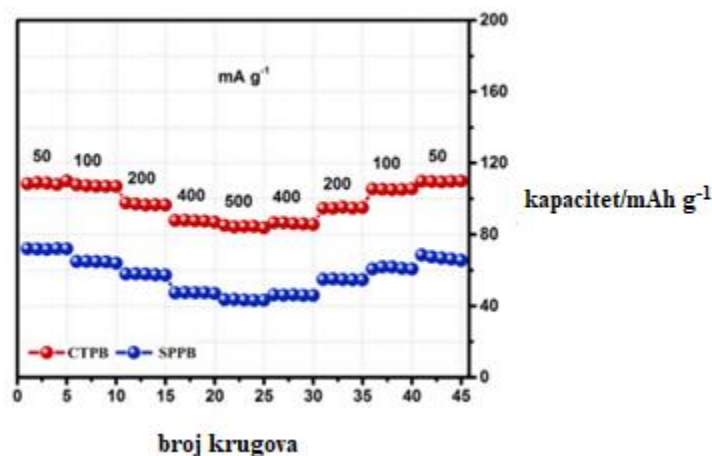
fleksibilne elektrode KIB-a. Za tu svrhu, PB i njegovi analozi su potencijalni katodni materijali. PB se sintetizira metodom koprecipitacije uz pomoć citrata ili hidrotermalnom metodom. Osim toga, fleksibilne elektrode male mase i mehaničke robusnosti ključne su komponente u postizanju fleksibilnosti visoke gustoće energije KIB.

Kako je poznato da je cijanotipija jeftin, jednostavan i kontroliran proces taloženja, prednosti ove metode su iskorištene za izradu jeftinih, laganih i fleksibilnih elektroda fotoinduciranim načinom sinteze visoko kristalnih nanokocki PB na Xuan papiru. Slika 11. prikazuje mehanizam reakcije i proces sinteze cijanotipa. Prvo se otopina kalijevog heksacijanoferata(III) pomiješa s otopinom amonijevog željezovog(III) citrata kako bi nastala bistra smeđa otopina fotosenzibilizatora. Djelovanje bliskog UV i plavog svjetla uzrokuje fotokemijsku redoks reakciju u amonijevom željezovom(III) citratu, pri čemu se Fe(III) reducira u Fe(II), a citrat se prvo oksidira u aceton dikarboksilnu kiselinu. Fe(II) se zatim spaja s heksacijanoferatom(III) kako bi se istaložilo PB u gustoći proporcionalnoj količini apsorbiranih fotona. Treba napomenuti da je heksacijanoferat(III) vrlo nestabilan što dovodi do tog prijenosa elektrona s Fe(II)N<sub>6</sub> na Fe(III)C<sub>6</sub> dajući heksacijanoferat(II).



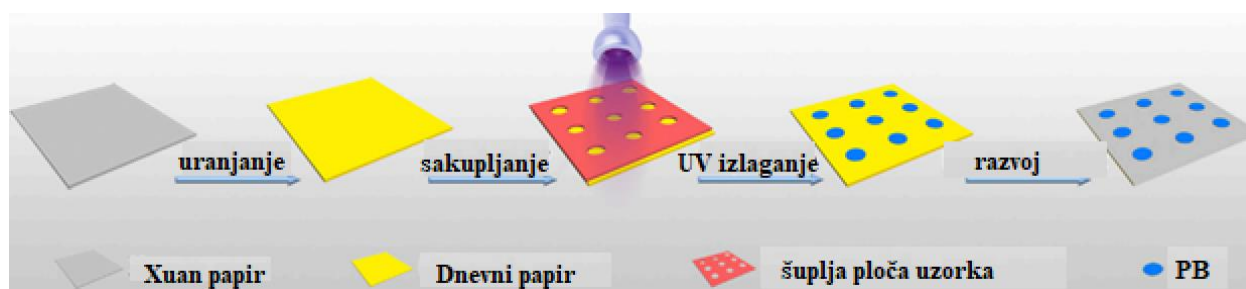
Slika 11. Shematski prikaz mehanizma reakcije cijanotipije<sup>132</sup>.

Sa slike 12. je vidljivo kako gustoće struje rastu od 50 do 100, 200, 400 i 500 mA g<sup>-1</sup>, a elektroda pruža dobro zadržavanje kapaciteta. Kada se gustoća struje vrati na 50 mA g<sup>-1</sup> nakon 15 ciklusa, a reverzibilni kapacitet na 109 mA hr g<sup>-1</sup>, to odgovara 100% vrijednosti njegovog početnog reverzibilnog kapaciteta.



Slika 12. Promjena kapaciteta elektrode načinjene od visoko kristalnih kocki berlinskog modrila pri različitim gustoćama struje od 50 do 500 mA g<sup>-1</sup> <sup>132</sup>.

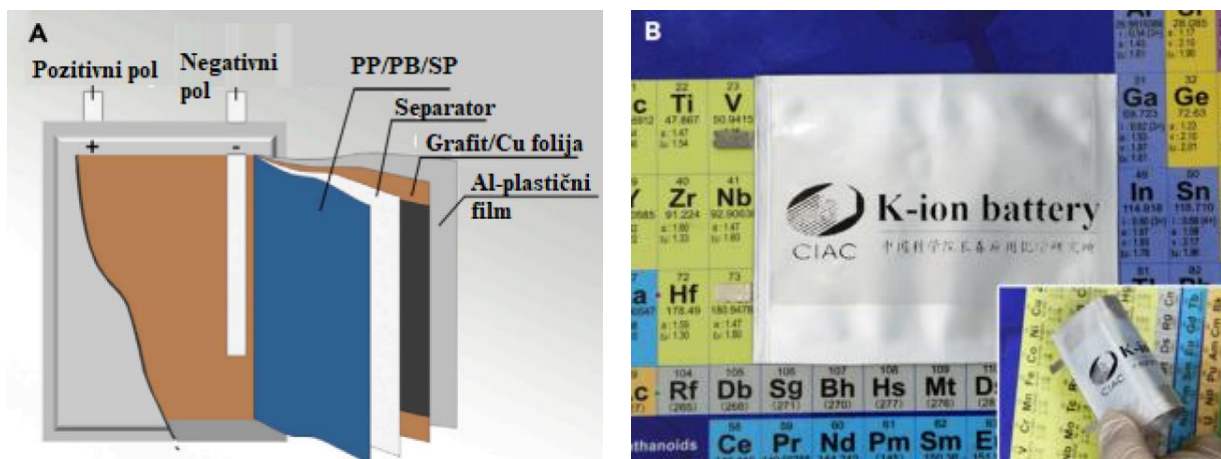
Testirana je učinkovitost procesa cijanotipije za izradu fleksibilne elektrode za fotografski ispis. Slika 13. ilustrira shemu formiranja elektrode za tiskanje fotografije. Prvo se komad Xuan papira uroni u otopinu fotosenzibilizatora za oblikovanje „dnevnog papira“ koji se potom spaja s izdubljenim pločama s uzorkom i obasjava UV svjetlom. Nakon razvijanja UV-tretiranog dnevnog papira u destiliranoj vodi i slabo kiselj otopini, može se dobiti elektroda načinjena od berlinskog modrila za fotografski ispis.



Slika 13. Shema formiranja PP/PB<sup>132</sup>.

Takve elektrode imaju potencijalnu primjenu u fleksibilnoj elektronici te su stoga proizvedeni fleksibilni KIB-ovi. Struktura fleksibilnih baterija prikazana je na slici 14.a. Baterija se sastoji od PP/PB/SP katode, fleksibilnog separatora, anode od grafitne/Cu folije i Al-plastičnog filma. Slika 14.b prikazuje fotografiju upakiranih fleksibilnih KIB-ova, koja je u skladu sa shemom na slici 14.a.





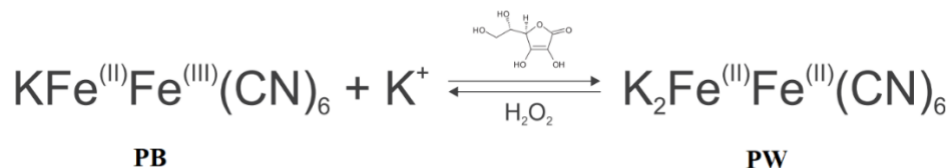
Slika 14. a) Shematski prikaz strukture fleksibilnih KIB-ova, b) Fotografije proizvedenih, fleksibilnih KIB-ova<sup>132</sup>.

Rad skupine poljskih znanstvenika iz 2020. predvođene M. Granicom<sup>135</sup> prezentira optičke senzore koji se temelje na određivanju vrsta na papirnom sustavu u kojem PB predstavlja kemosenzitivni dio. Askorbinska kiselina i vodikov peroksid odabrani su kao modelni analiti jer je u radu provedena njihova kvantifikacija.

Sloj PB može se brzo nanijeti gotovo na bilo koji materijal s dobrom ponovljivošću u jednom koraku. Netopljivost PB-a i lakoća prijelaza iz PB u PW i obrnuto, dopušta korištenje takvih tankih slojeva nanesenih na poliesterski film kao optičkih senzora u sustavima za protočnu analizu. Sposobnost stvaranja organskih kompozita tijekom izrade slojeva čini ga relativno jednostavnim za kemijsku imobilizaciju enzima. Trake osjetljive na vodikov peroksid modificirane su glukoza oksidazom kako bi se dokazala analitička učinkovitost predloženih sustava za procjenu razine glukoze.

Sve otopine reagenasa i uzoraka postavljeni su u zonu uvođenja uzoraka pomoću standardne laboratorijske mikropipete. Papir između hidrofobnih barijera modificiran je s otopinom PB deponiranog *in situ* koja je sadržavala otopine HCl-a, željezovog(III) klorida i kalijevog heksacijanoferata(III) pripremljene i pomiješane neposredno prije koraka taloženja. Nakon jednodnevnog procesa taloženja, sustavi su isprani deioniziranom vodom te je dodano 0,1 mol L<sup>-1</sup> fosfatnog pufera pH = 7. Tako pripremljeni sustavi ostavljeni su na sušenju oko 1 h. Kada se stvorio sloj PW, papirne trake modificirane su PB-om i tretirane otopinom askorbinske kiseline (AA, c = 0,1 mol L<sup>-1</sup>) pripremljene u KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> puferu. Visoka koncentracija

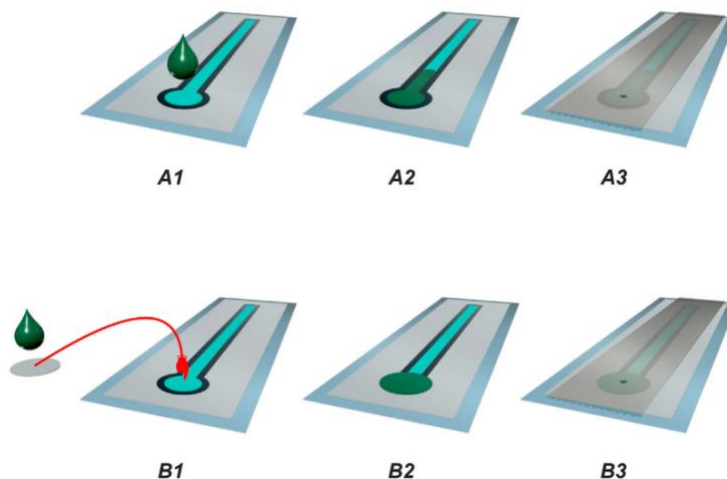
otopine AA osigurava potpunu redukciju PB velikom brzinom, dok kalijevi kationi služe kao protuanioni zbog razlike u naboju stvorenom u PB sloju tijekom reakcije (slika 15.).



Slika 15. Shema reverzibilne pretvorbe PB u PW<sup>133</sup>.

Nakon redukcije testovi pokriveni PW-om prvo su isprani deioniziranom vodom, zatim s 0,1 mol L<sup>-1</sup> fosfatnim puferom te ostavljeni na sušenju pri ambijentalnim uvjetima. Završna faza izrade traka bila je oblijepiti ih običnim selotejpom. Na taj način se PB/PW sustav štiti od uvjeta okoline tijekom skladištenja i isparavanja otopine tijekom mjerenja. U zoni uzorkovanja napravljena je mala rupa promjera 0,5 mm za pribadaču ili iglu u zaštitnoj traci prije nanošenja.

Na slici 16. prikazani su papirnati kanali modificirani enzimima proizvedeni na dva načina. Prvi način uključuje jednokratno nanošenje otopine enzima (5 mL otopine koncentracije 0,5 mg mL<sup>-1</sup> do 2 mg mL<sup>-1</sup>) sa sušenjem (A2) i samoljepljivom trakom (A3). Drugi način uključuje pripremu u dva koraka, u kojoj se ista količina otopine enzima prvo stavlja na vanjske papirne krugove (promjera 5 mm) i suši (B1). Zatim se enzimski modificirane zone postavljaju (B2) i pričvršćuju na protočni kanal pomoću samoljepljive trake (B3).



Slika 16. Shema reverzibilne pretvorbe PB u PW<sup>133</sup>.

Očitavanje analitičkog signala postiže se mjerenjem duljine zone u kojoj se događa proces koloracije/diskoloracije. Kad je traka prekrivena PB-om, a reducens prisutan u uzorku, kapljica uzorka koja se nanosi na početnu točku rezultira promjenom boje od tamnoplave do tirkizne. Obrnuto, kada je senzorska zona u reduciranom obliku (PW), može doći do ponovne oksidacije ako je u uzorku prisutno oksidirajuće sredstvo. Kao polazište za mjerenja, izabrana je oznaka uboda u zoni uzorkovanja.

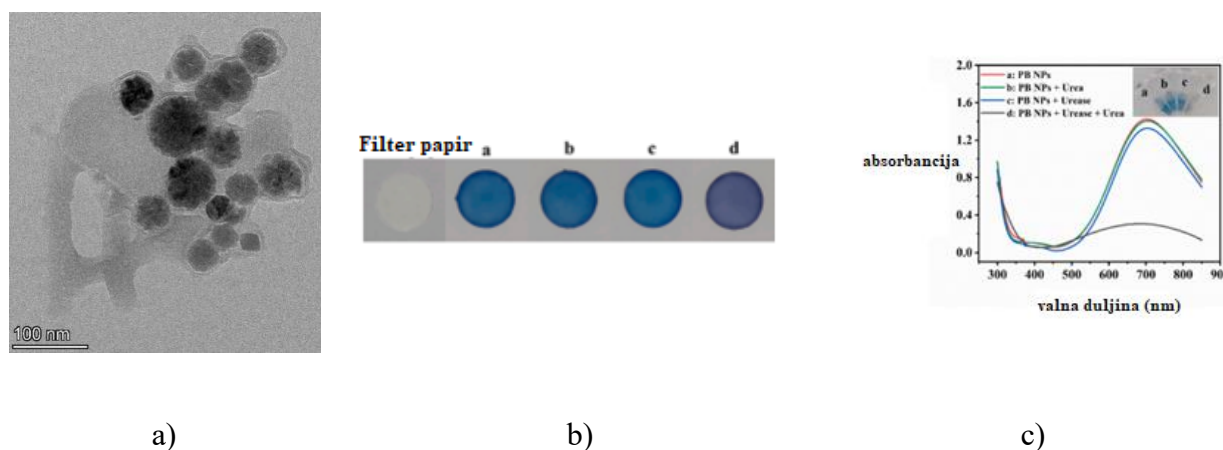
Ovakav senzorski sustav koji detektira vodikov peroksid modificiran je enzimom glukoza-oksidadom koja katalizira razgradnju  $\beta$ -glukoze u glukonsku kiselinu i vodikov peroksid. Taj enzim je fizički imobiliziran na površini papira bez dodavanja drugih reagensa. Sustavi koji se temelje na različitoj udaljenosti prekriveni PB-om deponiranim iz  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  otopine i transformiranim u PW odabrani su kao prikladni za daljnju biomodifikaciju. Oni osiguravaju prihvatljiv interval pouzdanosti i najveću osjetljivost na vodikov peroksid.

Kao analitički signal, izmjerena je veličina obojene zone koja se odnosi na koncentraciju analita. S manipulacijom količine boje deponirane u protoku kanala, promijenjen je dinamički raspon odziva i osjetljivost sustava. Kalibracijske krivulje su pokazale željenu linearnost s izvrsnim koeficijentom determinacije iznad 0,98. Štoviše, pojedinačna mjerenja su zadovoljavajuće ponovljivosti i pouzdanosti s relativnom standardnom devijacijom (RSD) ispod 6 %.

Godine 2022. istraživački tim Wei-Yi Zhanga<sup>136</sup> razvio je papirni senzor posredovan ureazom za kolorimetrijsku detekciju uree. Poznato je kako ureaza selektivno hidrolizira ureu te stvara amonijak i ugljikov dioksid. Amonijak je topiv u vodi i stvara amonijev monohidrat, čime se održava ionizacijska ravnoteža u vodi i raste koncentracija hidroksidnih iona u sustavu. Porastom pH se mijenja boja pH-osjetljivih PBNP što omogućava brzo otkrivanje uree u otopini uzorka. Istraženi su učinci pufera, koncentracije PB prekursora, reakcijske temperature, vremena reakcije i koncentracije ureaze na kolorimetrijsko očitavanje intenziteta, a sama pouzdanost metode u praktičnoj analizi provjerena je analizom uree u uzorcima mlijeka i umjetnog urina.

Nanočestice PB sintetizirane su izravnim miješanjem željezove soli i heksacijanoferata. TEM analizom dobivena je slika 17.a, na kojoj je vidljivo da su sintetizirane nanočestice PB-a sferične. Na slici 17.b, celulozni bijeli filter papir pokazuje jasnu promjenu boje u plavu nakon dodavanja nanočestica PB. Dodavanjem ureaze ili uree ne može se značajno promijeniti plava

boja PB (slika 17.b-c). Međutim, kada nanočestice PB, ureaza i urea koegzistiraju, boja područja detekcije na papiru mijenja se iz plave u ljubičastu (slika 17.b-d). UV-Vis spektri četiri otopine također odražavaju isti fenomen (slika 17.c). Samo ureaza ili urea ne mogu značajno smanjiti apsorbanciju nanočestica PB na 700 nm. Međutim, kada ureaza i urea koegzistiraju, apsorbancija nanočestica na 700 nm značajno je smanjena s blagim plavim pomakom. Ovi rezultati pokazuju da produkti hidrolize uree mogu promijeniti boju otopine nanočestica PB.



Slika 17. a) TEM mikrografija nanočestica berlinskog modrila, b) papirnati kolorimetrijski dijagram i c) UV-VIS apsorpcijski spektar<sup>134</sup>.

Kako bi se procijenila pouzdanost ove metode u praksi, određena je koncentracija uree u tri različita uzorka mlijeka i umjetnog urina. Različite koncentracije uree dodane su u uzorke mlijeka i umjetnog urina istih koncentracija ( $c = 0,0; 2,0; 3,0$  i  $4,0$  mM), a detektirane koncentracije uree izračunate su prema kalibracijskoj krivulji. Urea nije otkrivena u sva tri uzorka mlijeka unutar raspona detekcije, dok je u umjetnom urinu detektirana sa zadovoljavajućom razinom preciznosti.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Materijali i kemikalije

Kemikalije korištene za pripremu berlinskog modrila:

- Kalijev heksacijanoferat(III), *Sigma Aldrich*
- Amonijev željezov(III) citrat, *Sigma Aldrich*

Kemikalije korištene za ispiranje papirnih traka:

- Dušična kiselina ( $c = 0,01 \text{ mol/dm}^3$ )
- otopina NaOH ( $c = 0,01 \text{ mol/dm}^3$ )
- Ultra čista voda, MilliporeDirect-Q UV 3 sistem, *Merck*

Materijali korišteni za imobilizaciju berlinskog modrila:

- Filter papir, plava vrpca, *LLG*

Kemikalije potrebne za pripremu puferskih otopina su navedene u tablici 1.

Tablica 1. Popis kemikalija i formula za pripremu puferskih otopina.

Fosfatni pufer (raspon pH 5 - 8)		
A	B	Formula
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (0,067 M ili 9,073 g/L)	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0,067 M ili 11,87 g/L)	$x \text{ A} + (100-x) \text{ B}$
Amonijačni pufer (raspon pH 8 - 11)		
$\text{NH}_3$ (0,1 M)	$\text{NH}_4\text{Cl}$ (0,1 M)	$x \text{ A} + (100-x) \text{ B}$

### 3.2. Instrumenti

- pH metar MA 5740, *Iskra*
- UV-Vis spektrofotometar, *Shimadzu*
- *FlameSeries* Spektrometar + DH-2000-BAL izvor svjetlosti, *Ocean Optics*
- RPH Refleksijska proba, *Ocean Optics*
- UV lampa

### 3.3. Priprema reagensa

#### 3.3.1. Priprema sintezne otopine

Sintezna otopina je pripremljena miješanjem 100 mL otopina kalijevog heksacijanoferata(III) i amonijevog željezovog(III) citrata. Pripremljene su dvije sintezne otopine različitih koncentracija, adaptirano prema radu Y. H. Zhua iz 2018. godine kako bi se ispitalo utjecaj različitih koncentracija reaktanata na sintezu berlinskog modrila<sup>135</sup>. Prva je otopina sadržavala otopinu kalijevog heksacijanoferata(III) ( $c = 0,00547$  M) i otopinu amonijevog željezovog(III) citrata ( $c = 0,0097$  M). Druga je sintezna otopina sadržavala deset puta veće koncentracije oba reaktanta pri čemu je koncentracija kalijevog heksacijanoferata(III) iznosila 0,0547 M, a otopina amonijevog željezovog(III) citrata 0,097 M. Sukladno tome su izvagane mase svakog reaktanta stavljene u zasebne odmjerne tikvice od 100 mL, nadopunjene destiliranom vodom do oznake i promućkane. Na kraju je otopina amonijevog željezovog(III) citrata u manjim volumnim obrocima dodana u otopinu kalijeva heksacijanoferata(III) uz miješanje na magnetskoj miješalici.

#### 3.3.2. Priprema puferских otopina

Prilikom istraživanja korištena su dva različita pufera, fosfatni pufer za raspon pH 5 – 8 i amonijačni pufer za raspon pH 8 – 11. Koristeći tablicu 1., prikladni volumeni otopina A i B dodani su u odmjernu tikvicu od 100 mL, tikvica je zatim nadopunjena destiliranom vodom do oznake i njezin sadržaj je promiješan. Puferske su otopine premještene u plastične bočice i određen im je pH pomoću pH metra MA 5740, *Iskra*. Za podešavanje pH vrijednosti, dodane su otopine A i B po potrebi. Sve kemikalije bile su analitičke čistoće, dok su vodene otopine pripremljene s deioniziranom destiliranom vodom.



### **3.4. Sinteza berlinskog modrila**

#### **3.4.1. Berlinsko modrilo na papirnim trakama**

Papiri dimenzija 3 cm × 3 cm uronjeni su u sinteznu otopinu. Nakon 5 minuta namakanja, papiri su stavljeni na postolje UV lampe i izlagani UV svjetlosti (UV sinteza) valne duljine od 365 nm. Odmah nakon izlaganja, papiri su isprani s 3 mL 0,01 M otopine HNO<sub>3</sub> i naknadno s 3 mL destilirane vode. Nakon ispiranja, papiri su ostavljeni 24 h na sušenju na zraku.

#### **3.4.2. Berlinsko modrilo u otopini**

Pripremljena je sintezna otopina manje koncentracije na već prethodno opisan način. Uzet je alikvot od 50 mL i premješten u čašu od 100 mL. Čaša je stavljena na magnetsku miješalicu i izlagana UV svjetlosti na valnoj duljini od 365 nm.

### 3.5. Optička karakterizacija

Optička karakterizacija uključivala je mjerenje reflektancije papirnih traka te apsorbcije berlinskog modrila u otopini. Apsorpcijski spektar određen je sa *Shimadzu* UV-Vis spektrofotometrom, dok je *FlameSeries* spektrometar sa DH-2000-BAL izvorom svjetlosti korišten za mjerenje reflektancije papirnih traka.

#### 3.5.1. Mjerenje apsorbcijskih spektara

Apsorbancija otopine berlinskog modrila je mjerena u rasponu valnih duljina od 400 do 1000 nm u vremenskim intervalima. Svakih 15 minuta, uzeto je 0,5 mL otopine berlinskog modrila i dodano u kvarcnu kivetu. Zatim je dodano 2,5 mL destilirane vode tako da ukupan volumen u kiveti bude 3 mL. Kiveta je potom začepljena, promućkana te je nakon 2 minute stabilizacije mjerena apsorbcija.

#### 3.5.2. Mjerenje reflektancijskih spektara

Reflektancija papirnih traka mjerena je u rasponu valnih duljina od 400 do 800 nm, a računalni program *Ocean View* 2.0.8 je korišten za prikupljanje i analizu podataka. U svrhu prolaska elektromagnetskog zračenja od svjetlosnog izvora do detektora, korištena je reflektancijska proba s dva konektora (jedan spojen na izvor svjetlosti, a drugi na spektrometar). Također su prilikom analize papirnih traka, korištena optička vlakna od 600 mikrona te slit dimenzije 25 nm. S ciljem smanjenja utjecaja pozadinskih šumova, odabrane su sljedeće postavke vezane uz rad spektrometra: *scans to average* je postavljen na 35 (što označava broj mjerenja potreban za određivanje aritmetičke sredine spektra), pri čemu je *boxcar-width* (promjena aritmetičke sredine u vremenu) postavljen na 5.

Kao referentni standard, korišten je čisti filter papir korišten za imobilizaciju berlinskog modrila. Sva mjerenja provedena su 24 h nakon imobilizacije berlinskog modrila. Svaka je papirna traka prilikom mjerenja smještena ispod pričvršćenog držača u svrhu osiguravanja snimanja spektra pod jednakim kutom. Detaljan prikaz potrebne opreme za snimanje reflektancije nalazi se na slici 18.



Slika 18. Prikaz uređaja *Ocean Optics Flame* korištenog za mjerenje reflektancije.

## **3.6. Utjecaj različitih parametara na sintezu berlinskog modrila**

### **3.6.1. Utjecaj ispiranja**

Papirne trake sa slojem nanočestica berlinskog modrila pripravljene su korištenjem sintezne otopine. Nakon izlaganja papirnih traka UV svjetlosti u trajanju od 10 minuta, papirne trake ispirane su s 3 mL različitih reagenasa. Papirne trake ispirane su različitim reagensima u svrhu uklanjanja neizreagiranih reaktanata i zaustavljanja reakcije. Prva je papirna traka ispirana s 0,01 M otopinom  $\text{HNO}_3$ , druga samo s destiliranom vodom, treća otopinom  $\text{HNO}_3$  i naknadno destiliranom vodom, dok je četvrta papirna traka ispirana s otopinom  $\text{NaOH}$ . Kako bi efekt ispiranja bio uočljiviji, jedna traka nije ispirana reagensima te je služila kao referentna traka.

Kako bi rezultati bili usporedivi odnosno utjecaj ispiranja razlučiv, sve trake su pripravljene na isti način. Iz tog razloga su sve trake izlagane UV zračenju jednak vremenski period kako bi se uklonio utjecaj različitog vremena izlaganja UV zračenju na reakciju sinteze berlinskog modrila.

### **3.6.2. Ponovljivost**

Ponovljivost papirnih traka ispitana je uranjanjem deset papirnih traka pripremljenih na gore opisan način. 24 sata nakon sušenja, snimljeni su reflektancijski spektri.

### **3.6.3. Utjecaj vremena izlaganja UV svjetlosti**

Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju na sintezu nanočestica berlinskog modrila ispitan je na način da su papirne trake namakane u sinteznoj otopini 5 minuta, zatim izložene UV svjetlosti u različitim vremenskim periodima i na kraju ispirane s 3 mL otopine  $\text{HNO}_3$  i 3 mL destilirane vode. Vrijeme izlaganja UV svjetlosti bilo je sljedeće: 10 s, 30 s, 1 min, 2 min, 4 min, 6 min, 8 min, 10 min, 12 min, 14 min i 15 min.

#### **3.6.4. Utjecaj povećanja koncentracije sintezne otopine**

U cjelini 3.3.1. opisan je postupak pripreme dvije sintezne otopine pri čemu jedna ima deset puta veću koncentraciju od druge. Cilj je bio ispitati utjecaj povećanja koncentracije sintezne otopine na nastanak nanočestica berlinskog modrila na papirnim trakama. Papirne trake uronjene su na 5 minuta u sinteznu otopinu deset puta veće koncentracije, pri čemu je koncentracija kalijevog heksacijanoferata(III) iznosila 0,0547 M, a otopina amonijevog željezovog(III) citrata 0,097 M. Potom su trake izlagane UV zračenju u trajanju od 10 minuta te su isprane prvo kiselinom, a zatim i vodom. Nakon sušenja papirnih traka na zraku, snimljen je reflektancijski spektar.

#### **3.6.5. Utjecaj omjera koncentracija reaktanata**

Kako bi se ispitao utjecaj omjera koncentracije reaktanata na sintezu berlinskog modrila, uzeta je različita koncentracija amonijevog željezovog(III) citrata, dok je koncentracija kalijevog heksacijanoferata(III) bila stalna. Omjeri koncentracija kalijeva heksacijanoferata(III) i amonijeva željezova(III) citrata bili su sljedeći: 1:0,25; 1:0,5; 1:0,6; 1:0,7; 1:0,8; 1:1; 1:1,2; 1:1,4 i 1:1,78. Papirne trake namakane su u sinteznoj otopini u vremenskom periodu od 5 minuta. Nakon čega su izlagane UV svjetlosti 10 minuta te isprane s 3 mL HNO<sub>3</sub> i 3 mL destilirane vode.

#### **3.6.6. Utjecaj pH**

Utjecaj pH na promjenu boje nanočestica berlinskog modrila ispitivan je uranjanjem papirnih traka u puferske otopine pH 5 - 11 (tablica 1.) na 5 minuta te je potom mjerena reflektancija suhih traka. Kako bi se ustvrdila ponovljivost traka uranjanih u puferske otopine različitog pH, u svaku otopinu određenog pH uronjeno je ukupno pet papirnih traka na 5 minuta te je nakon sušenja od 24 h mjerena reflektancija.

### **3.7. Test stabilnosti**

Test stabilnosti rađen je kako bi se ispitaio utjecaj pH na senzorski odziv i imobilizaciju berlinskog modrila. Korištene su papirne trake pripremljene gore opisanom metodom. Potom su tako pripremljene papirne trake uranjane u puferske otopine pH 5, 7, 9 i 11. Mjerena je reflektancija mokrih papirnih traka bez prethodnog sušenja. Nakon mjerenja, ista papirna traka je ponovno uronjena u istu pufersku otopinu. Mjerenja su ponovljena u različitim vremenskim periodima za  $t = 2, 4, 6, 24, 48$  i  $72$  h.

### **3.8. Test reverzibilnosti**

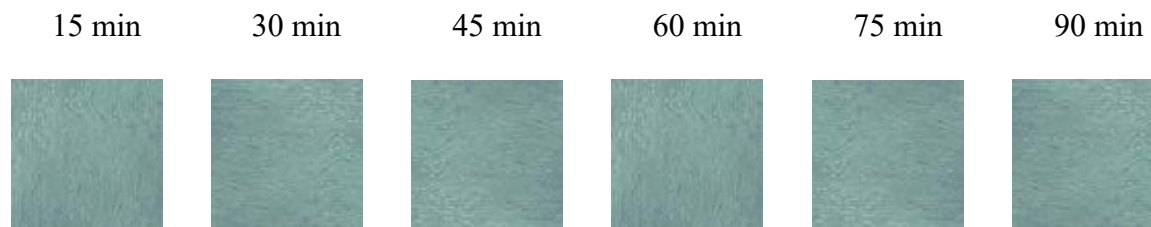
Test reverzibilnosti je proveden kako bi se odredila ponovljivost odziva senzorskih traka pripremljenih na isti način kao i za test stabilnosti. Test je proveden na dvije različite kombinacije pH vrijednosti (pH = 5 i 8 te pH = 5 i 11). Prvo je papirna traka uronjena u pufersku otopinu vrijednosti pH = 5 na 3 minute, izmjerena je reflektancija mokre papirne trake bez prethodnog sušenja te je isprana vodom. Zatim je isti postupak ponovljen, ali je papirna traka uronjena u pufersku otopinu pH 8, izmjerena je reflektancija mokre papirne trake te je isprana vodom i time je završen prvi ciklus. Cijeli postupak je ponovljen još 4 puta što je u konačnici dalo 5 ciklusa promjene pH. Na isti način proveden je i test reverzibilnosti pri pH = 5 i 11.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

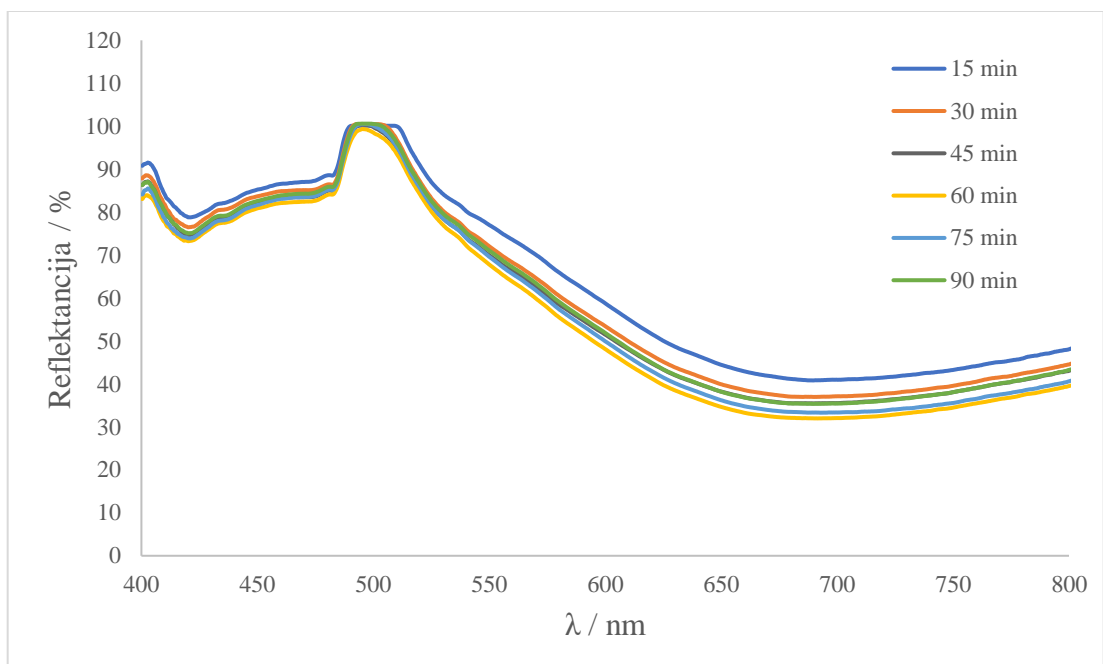


#### 4.1. Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju

Cilj je bio ispitati kako različito vrijeme izlaganja UV zračenju utječe na razvoj nanočestica berlinskog modrila na papiru. Nakon provedenog ispitivanja, bilo je vidljivo kako su papirne trake gotovo iste boje (slika 19.). Na slici 20. je prikazan reflektancijski spektar papirnih traka. Vidljivo je kako se reflektancijski spektri vezani uz različito vrijeme izlaganja u velikoj mjeri preklapaju. Zaključeno je kako je riječ o istoj nijansi plave boje. Nijansa plave boje povezana je i sa količinom nastalih nanočestica berlinskog modrila. Ukoliko je nanočestica manje, boja je svjetlija, dok je povećanjem količine nanočestica nijansa plave tamnija. Može se zaključiti kako je na papirnim trakama, neovisno o vremenu izlaganja UV zračenju, nastala jednaka količina nanočestica berlinskog modrila. Također je zaključeno da se reakcija na papiru nastavlja i nakon izlaganja UV zračenju zbog prisutnih neizreagiranih reaktanata. Ukoliko se neizreagirani reaktanti ne uklone s papirnih traka postupkom ispiranja, reakcija se nastavlja te vrijeme izlaganja UV zračenju u rasponu od 15 do 90 minuta nema utjecaj na količinu nastalog berlinskog modrila.



Slika 19. Papirne trake sa slojem nanočestica berlinskog modrila pri različitom vremenu izlaganja UV zračenju u rasponu 15 - 90 minuta.



Slika 20. Reflektancijski spektar papirnih traka s nanočesticama berlinskog modrila uz različito izlaganje UV zračenju.

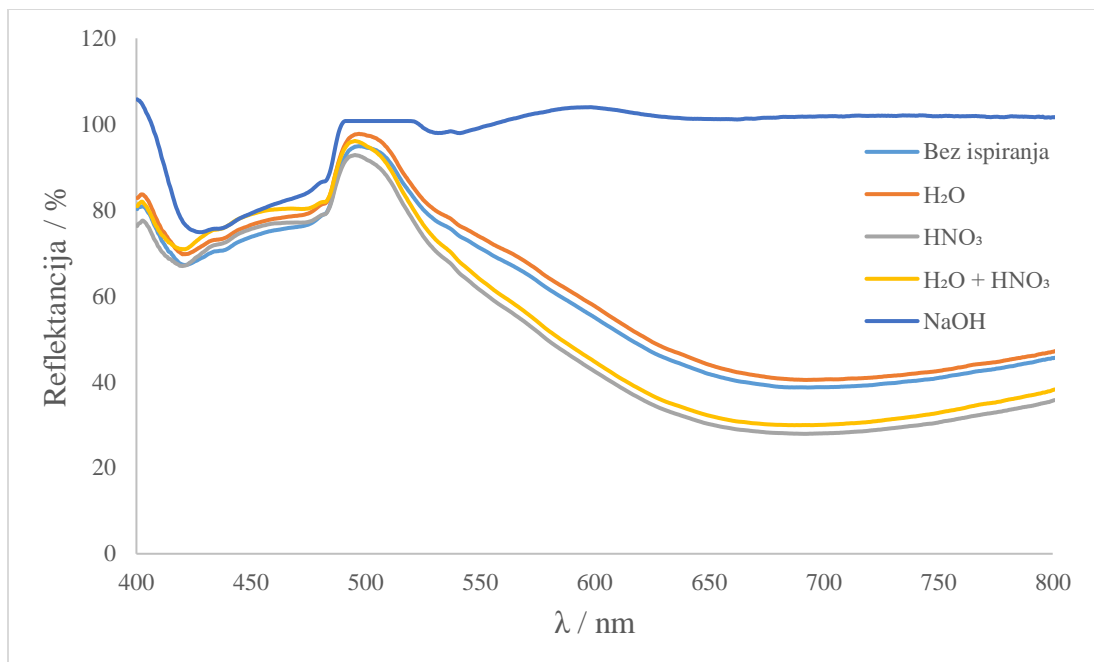
## 4.2. Utjecaj ispiranja papirnih traka različitim reagensima

Cilj je bio ispitati utjecaj ispiranja na razvoj berlinskog modrila na papirnim trakama te su pripadajući reflektancijski spektri prikazani na slici 22. Na slici 21. vidljivo je da ispiranje samo kiselinom te kiselinom i vodom daje najbolje rezultate odnosno najtamniju nijansu plave boje, a samim time i najveću količinu sintetiziranih nanočestica berlinskog modrila. Nešto svjetlija plava boja, a samim time i manja količina berlinskog modrila dobivena je ispiranjem s vodom. Ispiranjem lužinom dolazi do nastanka željezovog(III) hidroksida te natrijevog heksacijanoferata(II) te traka poprima bijelu boju. Bez ispiranja papirna traka poprima svjetlo plavu boju te je on uzet kao referentni uzorak kako bi promjena uzrokovana ispiranjem različitim kemikalijama bila uočljiva i usporediva. Zaključeno je da je za optimalne rezultate papirne trake potrebno isprati prvo otopinom kiseline pa vodom.

Redosljed u kojem se prvo provodilo ispiranje otopinom kiseline, a zatim vodom odabrano je kako bi se osigurao kiseli medij koji pospešuje reakciju, a zatim vodom uklonio suvišak kiseline. Kako je ispiranje otopinom kiseline i vodom dalo najbolje rezultate, u nastavku istraživanja, sve papirne trake su nakon izlaganja UV zračenju isprane otopinom kiseline pa vodom. Ovakav način pripreme papirnih traka je korišten u nastavku istraživanja.



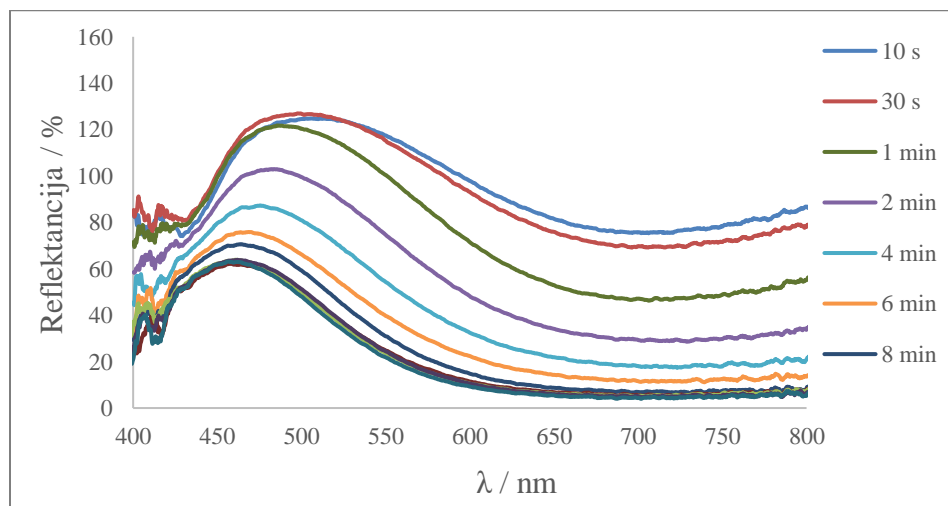
Slika 21. Papirne trake berlinskog modrila: bez ispiranja, ispranih samo vodom, samo kiselinom, vodom i kiselinom zajedno te lužinom.



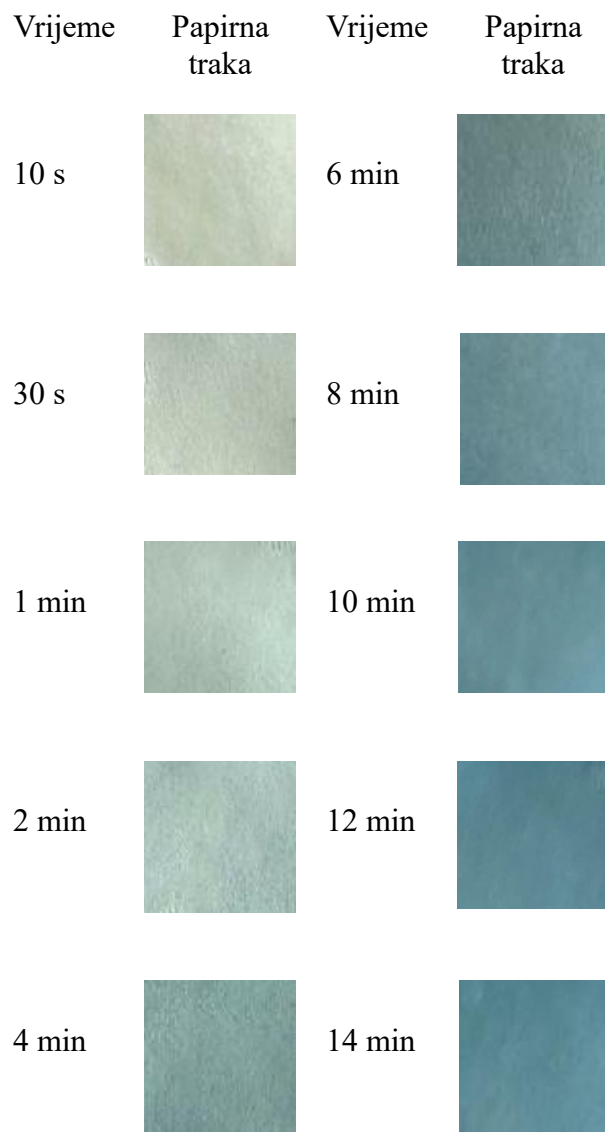
Slika 22. Reflektancijski spektar papirnih traka berlinskog modrila: bez ispiranja, ispiranih vodom, kiselinom, vodom i kiselinom te lužinom.

### 4.3. Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju uz naknadno ispiranje

Zbog utjecaja ispiranja na količinu nastalog berlinskog modrila, ponovno je ispitan utjecaj vremena izlaganja UV zračenju. Slika 24. prikazuje papirne trake nakon izlaganja UV zračenju, ispiranja i sušenja. Vidljivo je kako papirne trake postupno poprimaju sve tamniju nijansu plave boje dužim izlaganjem. To upućuje na povećanje količine sintetiziranih nanočestica berlinskog modrila dužim izlaganjem UV zračenju. Iako papirne trake izložene UV zračenju u vremenskom periodu od 10 i 30 sekundi izgledaju bijelo, reflektancijski spektri pokazuju kako se i na njima sintetizirala određena količina nanočestica berlinskog modrila. Naime, spektralne linije dobivene izlaganjem 10 i 30 sekundi nalik su spektralnim linijama papirnih traka s duljim vremenom izlaganja, no s većim postotkom reflektancije i manjim pikom. Uočava se karakterističan oblik krivulje s maksimumom na 470 nm te minimumom na 680 nm (slika 23.). Također, reflektancijski spektar pokazuje svojevrsan trend. Produljenjem vremena izlaganja, maksimumi i minimumi spektralnih krivulja poprimaju sve manje vrijednosti reflektancije. Vrijednost reflektancije može se povezati sa nijansom papirne trake. Što je papirna traka tamnije nijanse plave, to je reflektancija manja. Vrijedi i obratno, što je papirna traka svjetlije nijanse to je reflektancija veća. Količina nastalog berlinskog modrila također je povezana s nijansom papirne trake te će ona biti tamnija što je nastala količina berlinskog modrila veća. Stoga se može zaključiti kako će reflektancija poprimati manje vrijednosti s povećanjem količine sintetiziranog berlinskog modrila.



Slika 23. Reflektancijski spektar dobiven ispitivanjem utjecaja vremena izlaganja papirnih traka UV zračenju na razvoj nanočestica berlinskog modrila na papiru.



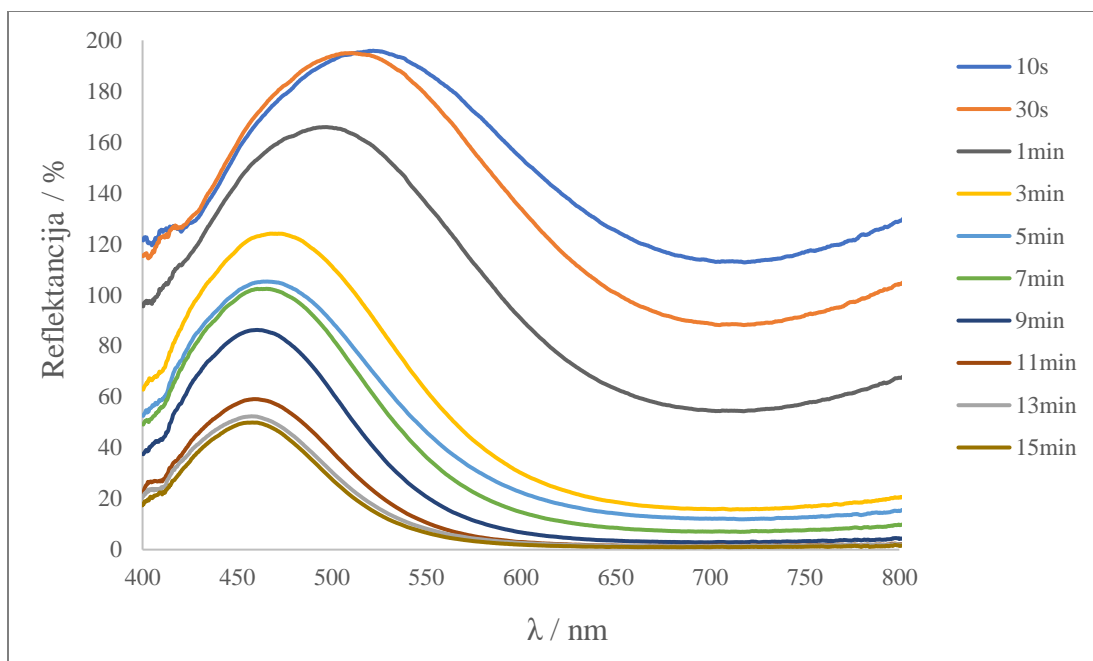
Slika 24. Papirne trake berlinskog modrila dobivene različitim vremenom izlaganja UV svjetlosti.

#### **4.4. Utjecaj povećanja koncentracije uz različito vrijeme izlaganja UV zračenju**

Utvrđeno je da različito vrijeme izlaganja uzoraka UV zračenju, uz naknadno ispiranje kiselinom i vodom, kao rezultat daje različitu obojanost papirnih traka, tj. s povećanjem vremena izlaganja nastaju veće količine nanočestica berlinskog modrila. Iako su se nijanse takvih papirnih traka međusobno razlikovale, težilo se stvaranju papirnih traka s većim razlikama u nijansama te intenzivnijim obojenjem. Iz tog je razloga koncentracija oba reaktanta povećana deset puta u odnosu na početne ispitivane sintezne otopine. Različitim vremenom izlaganja, dobivene su različite nijanse plave boje. Svjetlo plave trake su dobivene uz izlaganje u kraćem vremenskom periodu, izlaganjem do 9. minute dobivene su plave papirne trake, dok su od 11. do 15. minute dobivene tamnoplave papirne trake (slika 26.). Lakše se uočava razlika u nijansama papirnih traka kada je koncentracija sintezne otopine deset puta veća.



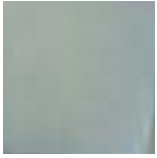




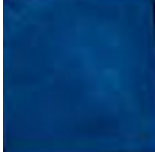


Na reflektancijskom spektru vidljivo je da povećanjem vremena izlaganja, reflektancijski maksimumi postaju sve niži i niži te se pomiču prema manjim valnim duljina (slika 25.). Može se uočiti isti trend smanjenja reflektancijskih vrijednosti maksimuma s dužim vremenom izlaganja kao što je to bio slučaj i kod deset puta niže koncentracije reaktanata.

Zaključno, povećanje koncentracije sintezne otopine deset puta rezultiralo je boljim nijansiranjem papirnih traka te većom količinom sintetiziranog berlinskog modrila. Međutim, papirne trake u tom slučaju nisu bile uniformne jer površinski sloj nanočestica berlinskog modrila nije bio jednolik po cijeloj površini. Pri deset puta nižoj koncentraciji nijansiranje je bilo manje uočljivo, ali je i dalje bilo prisutno i mjerljivo. Pozitivna strana sinteze berlinskog modrila sa sinteznom otopinom deset puta niže koncentracije je nastanak jednolikog, uniformnog sloja berlinskog modrila. S obzirom na dobiveni jednoliki sloj berlinskog modrila na papirnim trakama, u nastavku istraživanja je korištena sintezna otopina deset puta manje koncentracije.



Slika 25. Reflektancijski spektar berlinskog modrila sa sinteznom otopinom deset puta veće koncentracije uz različito vrijeme izlaganja.



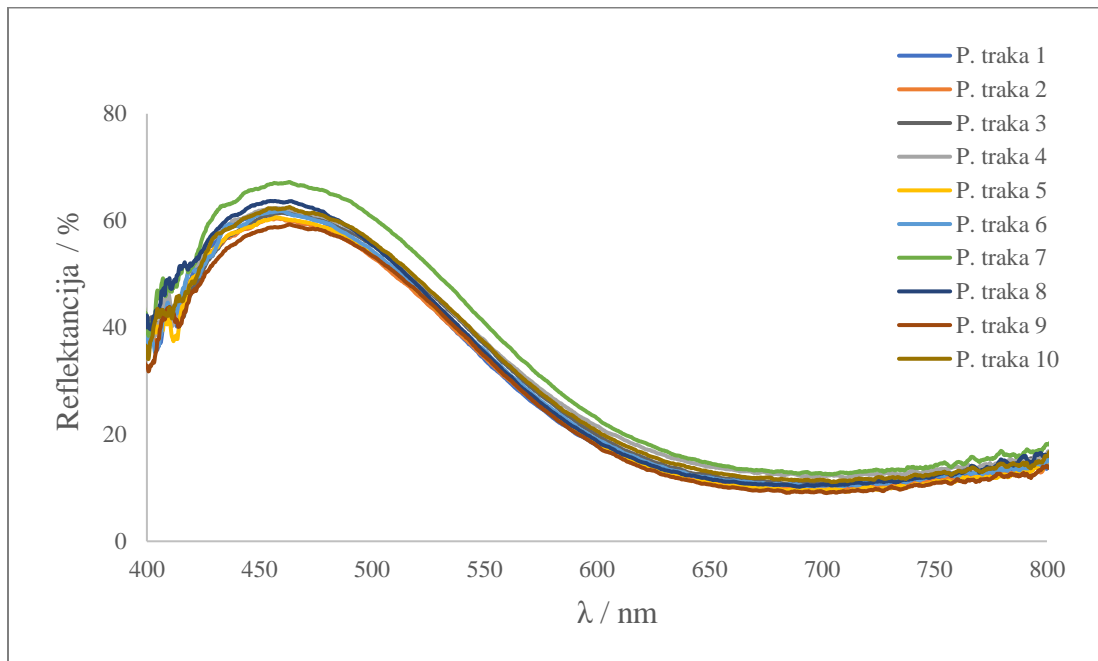
Vrijeme	Papirna traka	Vrijeme	Papirna traka
10 s		7 min	
30 s		9 min	
1 min		11 min	
3 min		13 min	
5 min		15 min	

Slika 26. Prikaz papirnih traka berlinskog modrila dobivenih sinteznom otopinom deset puta veće koncentracije uz različito vrijeme izlaganja.

## 4.5. Ponovljivost priprave materijala

Utvrđeno je kako vrijeme izlaganja UV zračenju te postupak ispiranja papirića imaju značajan utjecaj na sintezu nanočestica berlinskog modrila na papiru. Bitno je bilo ustvrditi kako je sloj nanočestica na papirnim trakama jednakolik te da su uzorci (papirne trake) koji nastaju ponovljivi. Sukladno tim zahtjevima te kako bi daljnje ispitivanje utjecaja ostalih parametara (koncentracija citrata i promjena pH) bilo moguće, provedena je provjera ponovljivosti.

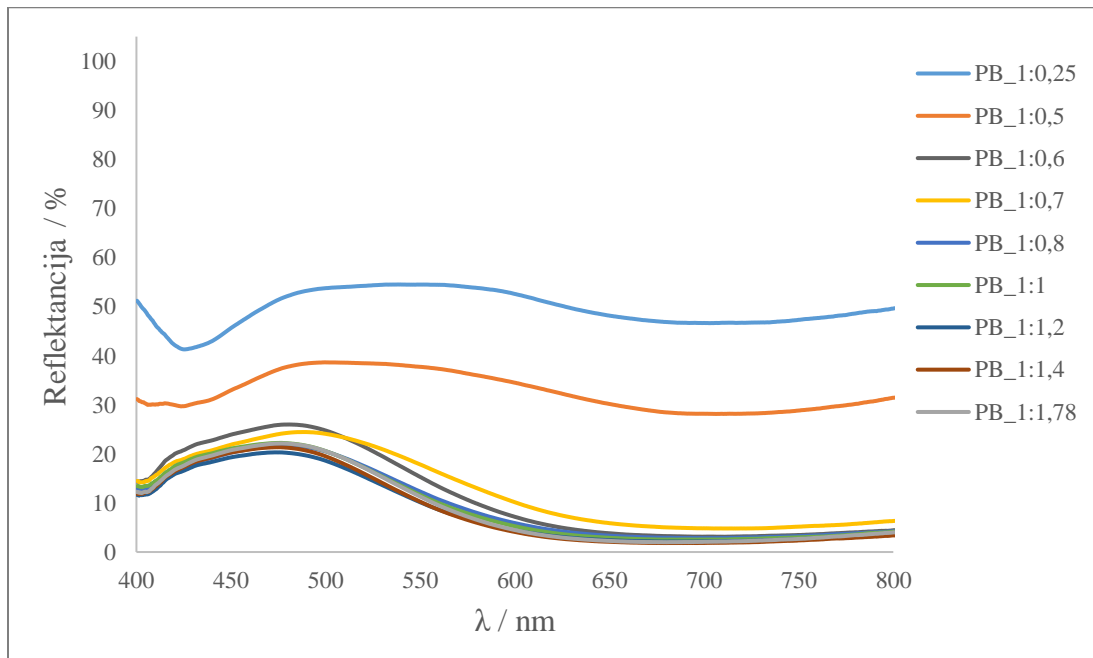
Dobiveni reflektancijski spektri prikazani su na slici 27. Jasno je vidljivo kako se spektralne linije preklapaju te su prisutna manja odstupanja. Statističkom analizom podataka dobiveno je da standardna devijacija iznosi 0,014, dok relativna standardna devijacija iznosi 8,28 %.



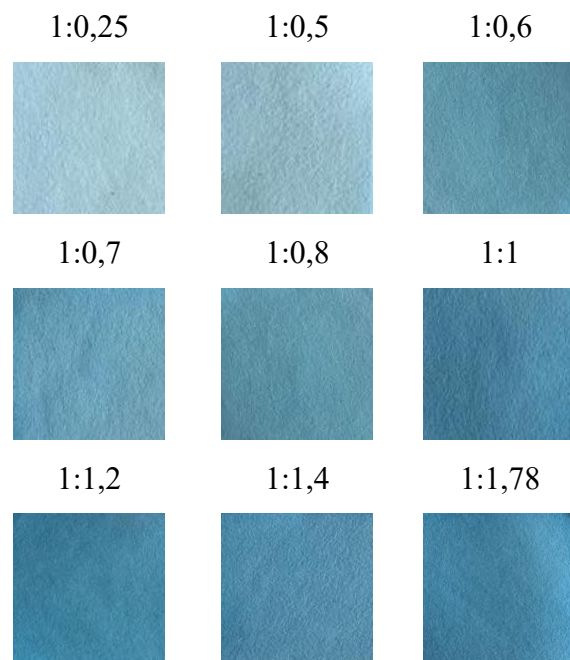
Slika 27. Reflektancijski spektar deset papirnih traka berlinskog modrila.

## 4.6. Utjecaj promjene koncentracije citrata

Pripremljene su sintezne otopine kalijevo­g heksacijanoferata(III) i amonijevog željezovog(III) citrata u različitim koncentracijskim omjerima. Koncentracija kalijevo­g heksacijanoferata(III) ostala je stalna (0,00547 M), dok se koncentracija citrata mijenjala. U prvih pet otopina citrat je bio mjerodavni reaktant, zatim su oba reaktanta bila u omjeru 1:1 nakon čega je citrat bio reaktant u suvišku. Vidljivo je kako povećanjem koncentracije citrata dolazi do smanjenja intenziteta reflektancije (slika 28.). Značajna razlika u spektralnim linijama je uočena kada je omjer koncentracija 1:0,25 i 1:0,5. Upravo su te dvije papirne trake gotovo bijele boje, a reakcija se pri tim koncentracijama sporo odvija te nastaje vrlo mala količina berlinskog modrila (slika 29.). Pri većim koncentracijama citrata dolazi do razvijanja berlinskog modrila, no vizualno je teško uočiti razliku u boji. Može se zaključiti da razlika u nijansi papirnih traka u rasponu omjera od 1:0,6 do 1:1,78 nije značajna te da prilikom sinteze nastaje gotovo ista količina berlinskog modrila. Zaključeno je da je omjer koncentracija 1:0,6 optimalan omjer zbog uštede reaktanata i dobivanja jednake količine nanočestica berlinskog modrila.



Slika 28. Reflektancijski spektar dobiven ispitivanjem utjecaja promjene koncentracije citrata u sinteznoj otopini.

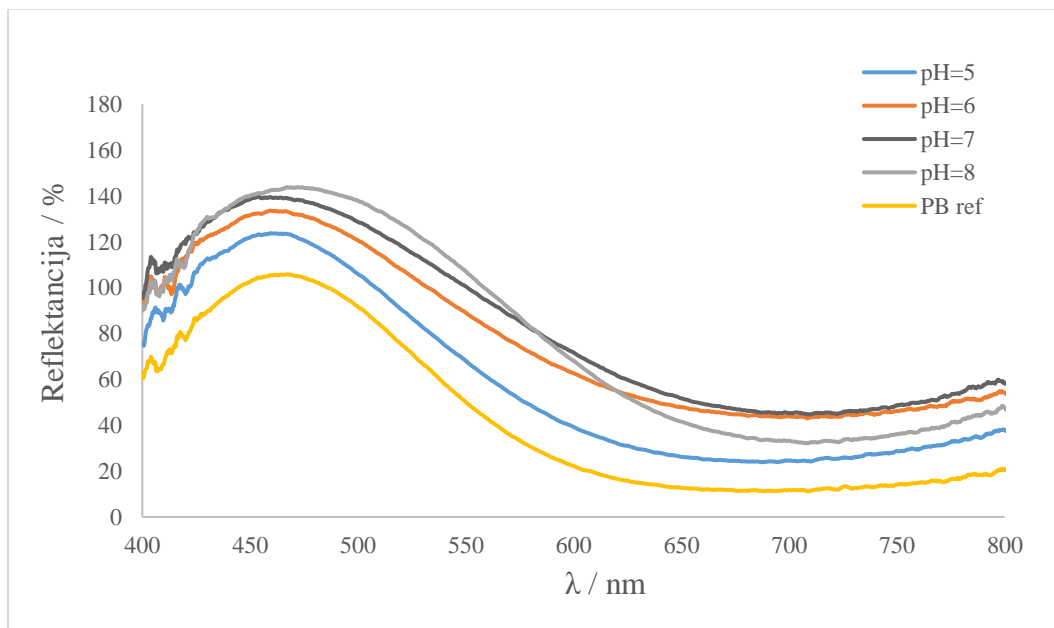


Slika 29. Papirne trake dobivene ispitivanjem utjecaja promjene koncentracije citrata u sinteznoj otopini.

## 4.7. Utjecaj promjene pH

### 4.7.1. Ispitivanje utjecaja pH u rasponu pH 5 - 8

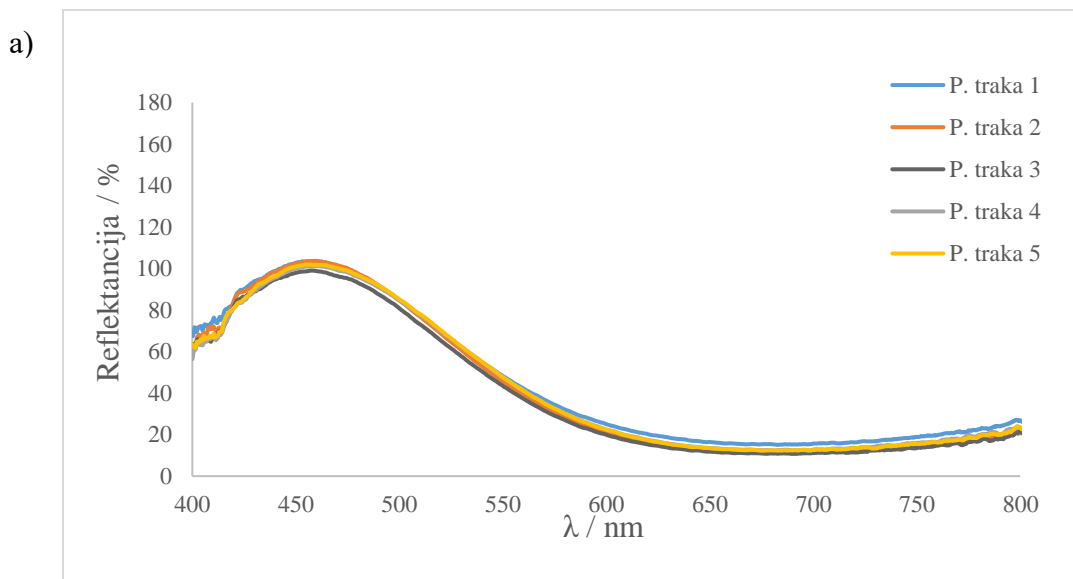
U stručnoj literaturi navedeno je kako berlinsko modriilo mijenja boju ovisno o pH medija u kojem se nalazi<sup>134,137,138</sup>. To je svojstvo prilično zanimljivo te otvara mogućnost potencijalne primjene berlinskog modrila u optičkim pH sensorima. Uz pomoć  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pripravljene su puferske otopine čiji je pH iznosio 5, 6, 7 i 8. Vidljivo je kako se jasno mogu diferencirati spektralne linije vezane uz određenu vrijednost pH (slika 30.). Najniže vrijednosti reflektancije poprima referentna papirna traka koja nije tretirana puferskom otopinom određenog pH, već je samo uronjena u sinteznu otopinu izlagana UV zračenju 10 minuta te isprana kiselinom i vodom. Također je uočljivo da se spektralne linije pomiču prema višim vrijednostima reflektancije kako raste pH puferske otopine kojom je tretirana papirna traka. Zaključeno je kako nanočestice berlinskog modrila na papiru zaista mijenjaju boju ovisno o pH vrijednosti otopine te je potvrđena početna hipoteza o potencijalnoj primjeni takvih nanočestica u optičkom pH senzoru.



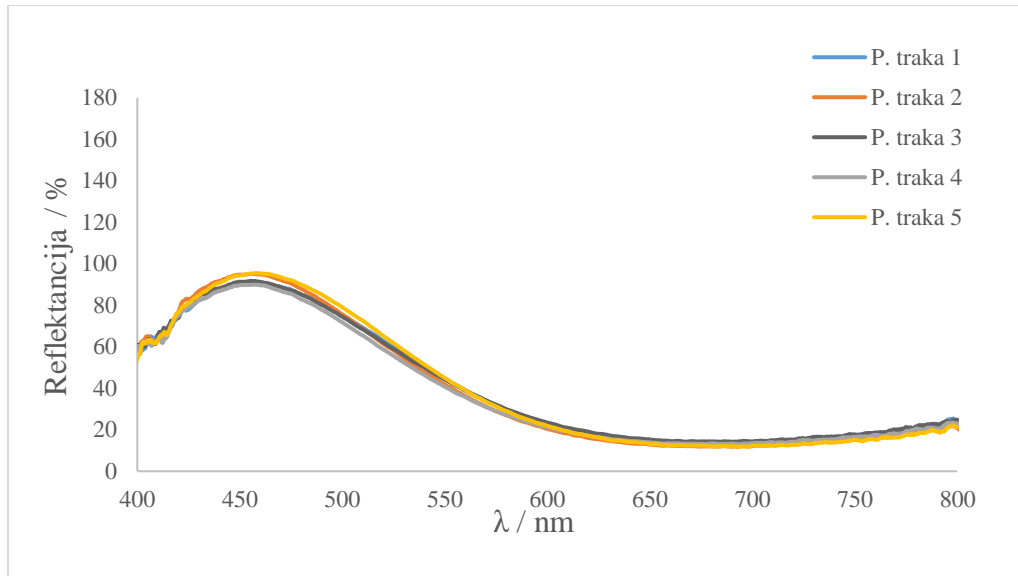
Slika 30. Reflektancijski spektar papirnih traka berlinskog modrila pri pH = 5 – 8.

#### 4.7.2. Ispitivanje ponovljivosti rezultata u rasponu pH vrijednosti 5 - 8

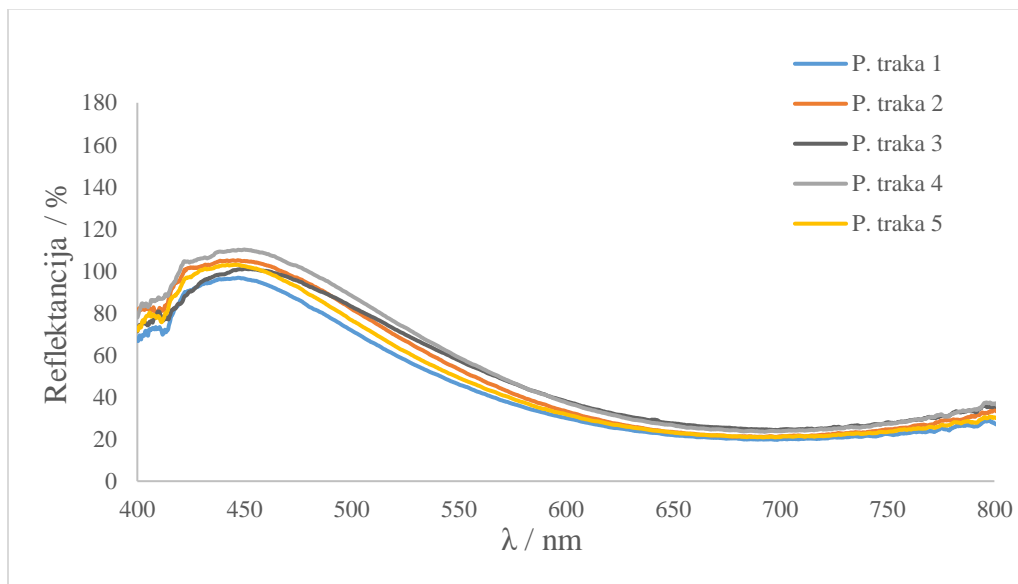
Već je ranije potvrđeno kako je sinteza referentnih papirnih traka ponovljiva (poglavlje 4.5.). Ponovljivost referentnih papirnih traka nužan je preduvjet za mogućnost praćenja promjene boje uslijed kontakta referentne papirne trake i puferne otopine određenog pH. Za svaki pH ispitano je pet papirnih traka te su dobiveni reflektancijski spektri prikazani na slici 31. Najbolje poklapanje tj. ponovljivost pokazuju spektralne linije vezane uz pH = 5 (slika 31.a). Uočljivo je kako s porastom pH vrijednosti ponovljivost u manjoj mjeri opada tj. da se spektralne linije sve manje preklapaju. Statističkom obradom izračunata je da relativna standardna devijacija vezana uz omjer signala na 680 i 470 nm tj. omjer minimuma i maksimuma krivulje, iznosi 12,01 % za pH 5, 13,42 % za pH 6, 16,19 % za pH 7 te 17,42 % za pH 8. Jasno je vidljivo kako relativna standardna devijacija raste s porastom pH te potvrđuje tezu o manjem preklapanju tj. manjoj ponovljivosti s porastom pH. Valja naglasiti kako su sve vrijednosti relativne standardne devijacije u rasponu pH od 5 do 8 manje od 20 %.

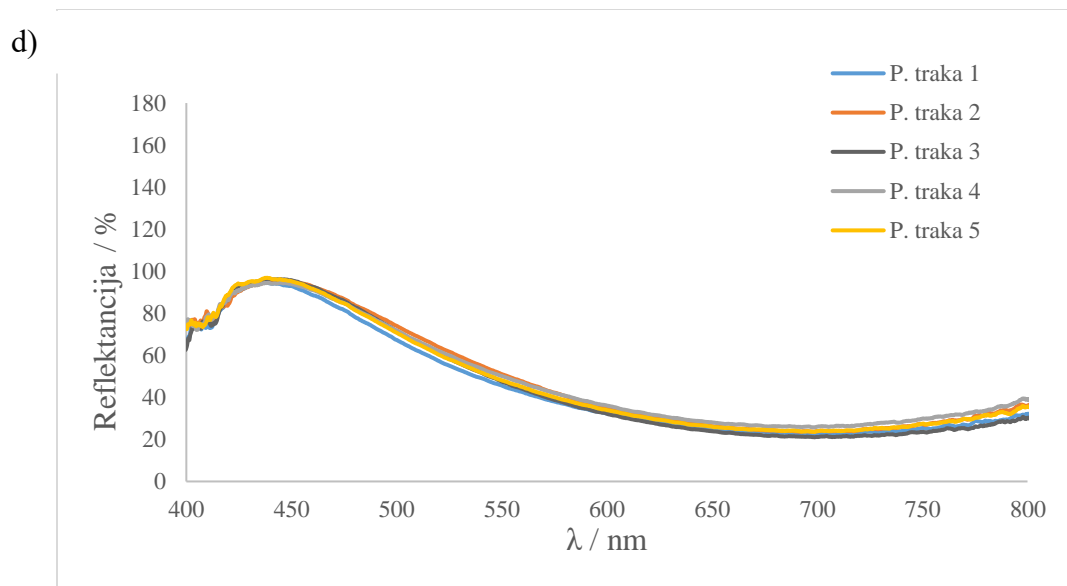


b)

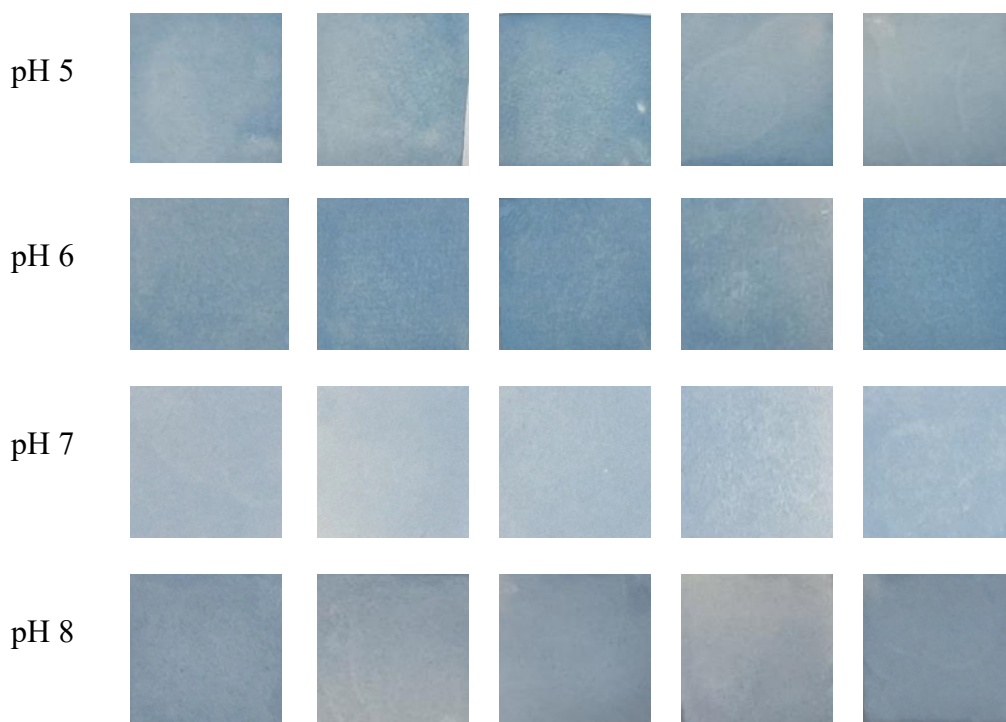


c)





Slika 31. Reflektancijski spektri vezani uz ponovljivost papirnih traka pri: a) pH = 5, b) pH = 6, c) pH = 7 i d) pH = 8.



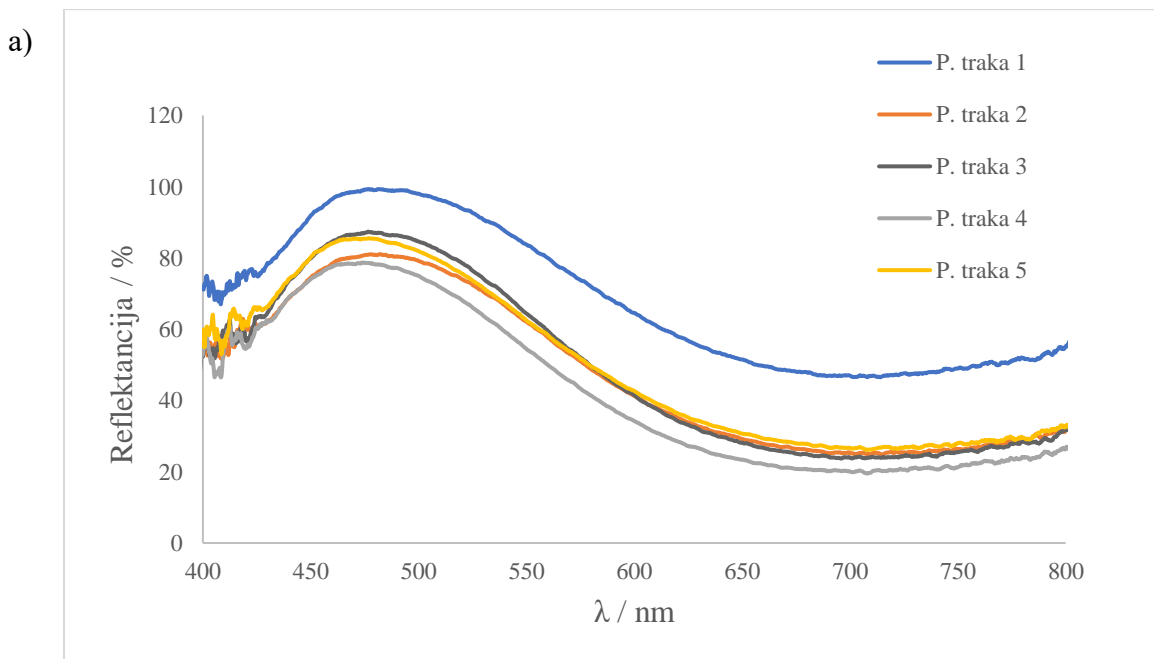
Slika 32. Papirne trake berlinskog modrila pri pH = 5, 6, 7 i 8.



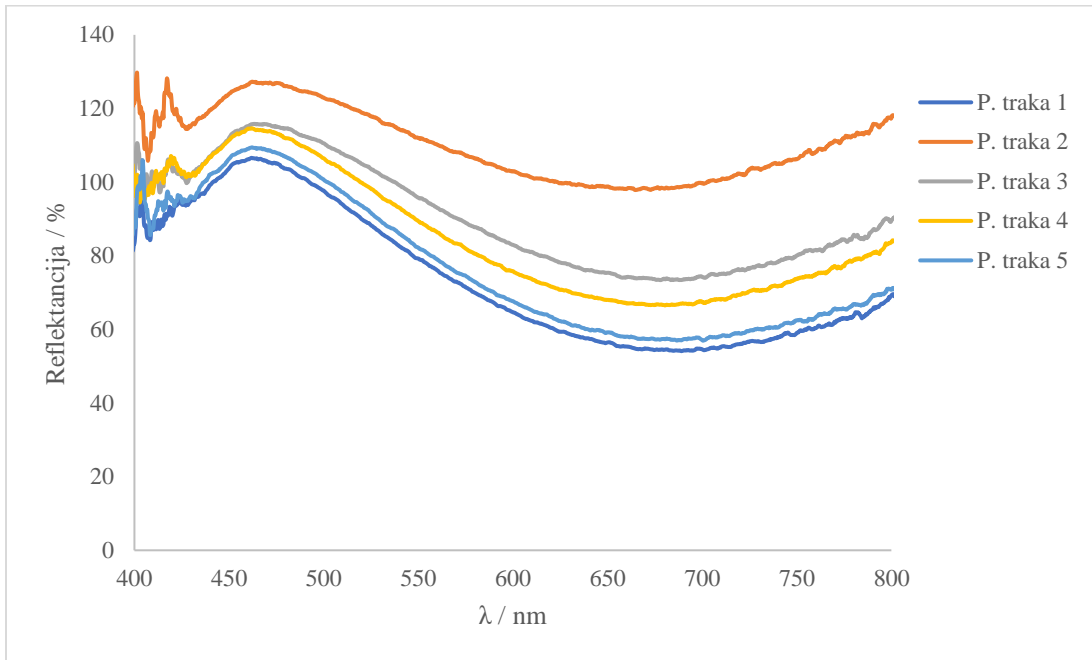
#### 4.7.3. Ispitivanje ponovljivosti rezultata u rasponu pH 9 - 11

U svrhu ispitivanja utjecaja puferских otopina u rasponu pH od 9 – 11 na papirne trake berlinskog modrila te na njihovu ponovljivost, testirano je pet referentnih traka za svaki pH. Promjena boje papirnih traka bila je vizualno primjetna te je razlika u nijansama bila veća nego kod pH 5 – 8 (slika 34.). Reflektancijska mjerenja dodatno su potvrdila kako dolazi do uočljive promjene boje, ali je ujedno uočen i drastičan pad ponovljivosti s porastom pH vrijednosti (slika 33.). Iz reflektancijskih spektara i vizualno je zaključeno da je dobivena značajno manja ponovljivost mjerenja pri višim pH vrijednostima nego pri nižim pH vrijednostima (pH 5 – 8). Statističkom obradom kao i pri nižim pH vrijednostima, dobivene su vrijednosti relativnog standardnog odstupanja te one iznose 19,92 % za pH 9, 25,67 % za pH 10 te 20,64 % za pH 11. Potvrđeno je kako je u ovom slučaju ponovljivost papirnih traka manja nego pri nižim pH vrijednostima. Također, u rasponu pH od 9 do 11 sve vrijednosti relativnog standardnog odstupanja su približno jednake ili veće od 20 %.

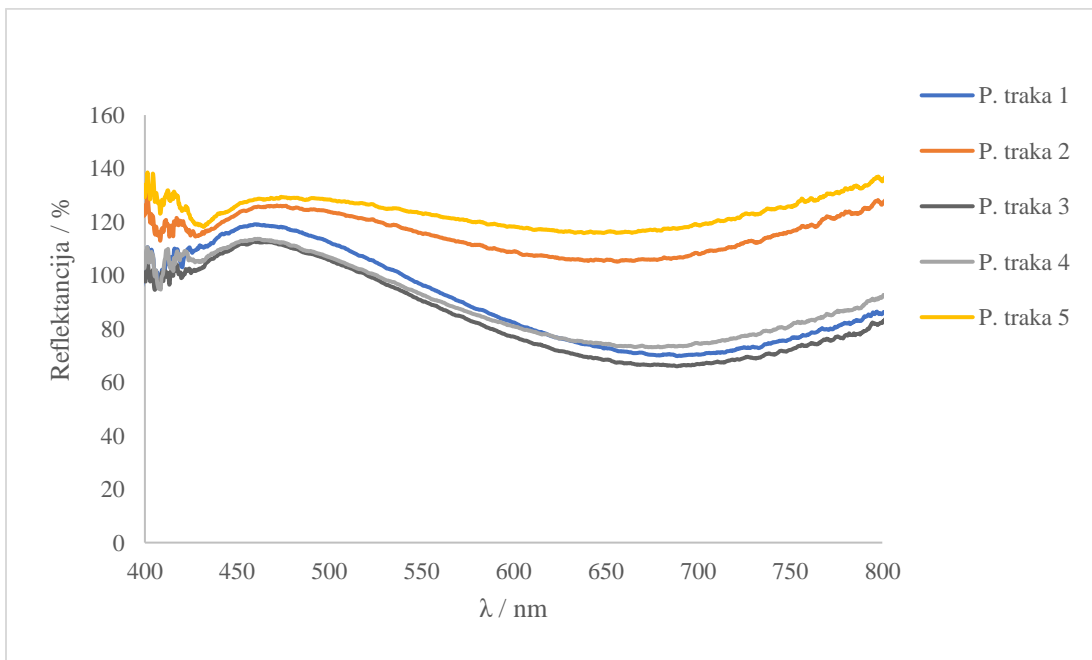
Dodatan problem pri ostvarenju ponovljivosti papirnih traka u rasponu pH od 5 do 11 čini nehomogenost obojenja papirnih traka. Taj faktor dodatno otežava reflektancijska mjerenja pri čemu sam rezultat ovisi o mjestu snimanja spektra na papirnoj traci. Iako je nehomogenost nepoželjna pojava, ona je u jednoj mjeri očekivana, a razlog tome je kompleksnost samog sustava te ireverzibilnost kemijske reakcije pri pH vrijednostima u rasponu od 9 do 11.



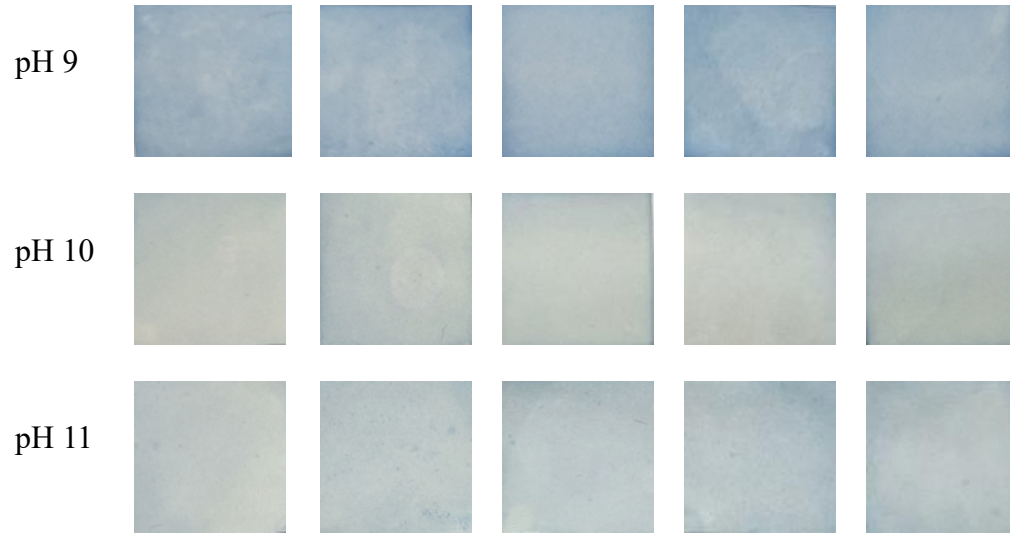
b)



c)



Slika 33. Reflektancijski spektri vezani uz ponovljivost papirnih traka pri: a) pH = 9, b) pH = 10 i c) pH = 11.



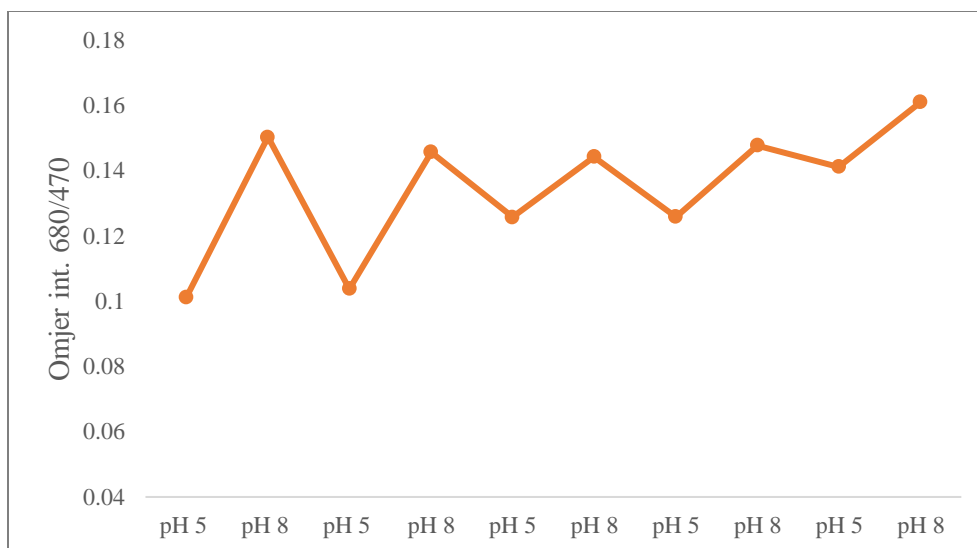
Slika 34. Papirne trake berlinskog modrila pri  $\text{pH} = 9 - 11$ .

#### 4.8. Test reverzibilnosti

Test reverzibilnosti proveden je kako bi se odredila ponovljivost senzorskog odziva nakon izlaganja papirnih traka pripremljenih standardnom metodom uz pomoć dvije puferske otopine različite pH vrijednosti. Ukupno je ispitano pet ciklusa za svaki par puferskih otopina (pH 5 i 8; pH 5 i 11). Iz reflektancijskih mjerenja izdvojeni su podaci vezani uz maksimum krivulje na 470 nm i minimum krivulje na 680 nm. Omjer intenziteta reflektancije na 680 nm i 470 nm uzet je kao analitički signal. Pomoću tih podataka je konstruirana tablica 2. i slika 35. U prva četiri mjerenja, odnosno u prva dva ciklusa postignuta je najbolja reverzibilnost te razlika reflektancije između ta dva ciklusa iznosi samo 2,62 % za pH 5 te 3,04 % za pH 8. Daljnjim provođenjem ispitivanja uočen je rast reflektancije što upućuje na moguće ispiranje berlinskog modrila iz papira. U trećem i četvrtom ciklusu je promjena reflektancije 24,37 %, odnosno 24,52 % za pH 5 te 4,01 % tj. 1,68 % za pH 8. Peti ciklus pokazuje najmanju reverzibilnost te su sukladno tome promjene reflektancije za pH 5 i 8 najveće te iznose 39,61 % za pH 5 i 7,14 % za pH 8. To ukazuje na značajno ispiranje berlinskog modrila u petom ciklusu.

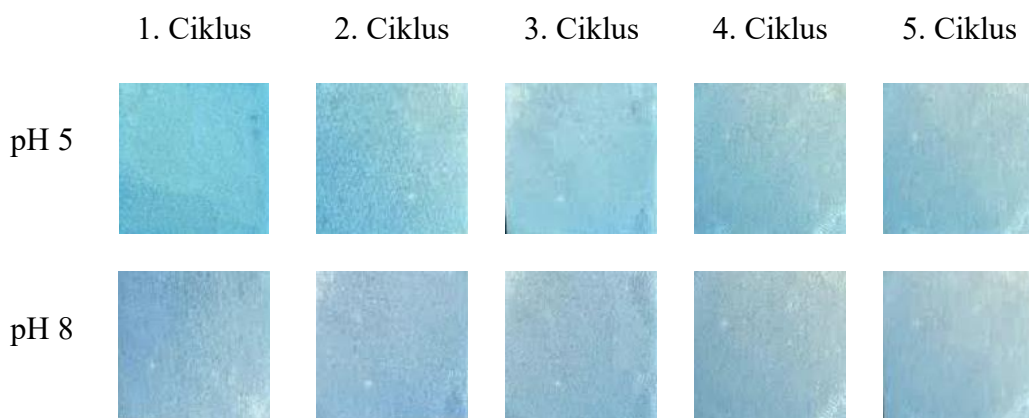
Tablica 2. Relativna promjena reflektancije papirnih traka na pH 5 i 8.

	pH 5				pH 8			
Promjena reflektancije / %	2,62	24,37	24,52	39,61	3,04	4,01	1,68	7,14



Slika 35. Test reverzibilnosti papirnih traka berlinskog modrila pri pH 5 i 8.

Na slici 36. papirne trake pokazuju jasnu promjenu u nijansi plave boje između traka uronjenih u pH 5 te pH 8. Primjetno je kako trake s porastom broja ciklusa blago blijede te je taj efekt najuočljiviji i najizraženiji u zadnjem, petom ciklusu. Može se zaključiti da papirne trake berlinskog modrila pokazuju primjetnu razliku u boji za pH vrijednosti 5 i 8 i mogu se koristiti kao optički senzori do četiri ciklusa kada dolazi do značajnijeg ispuštanja berlinskog modrila.



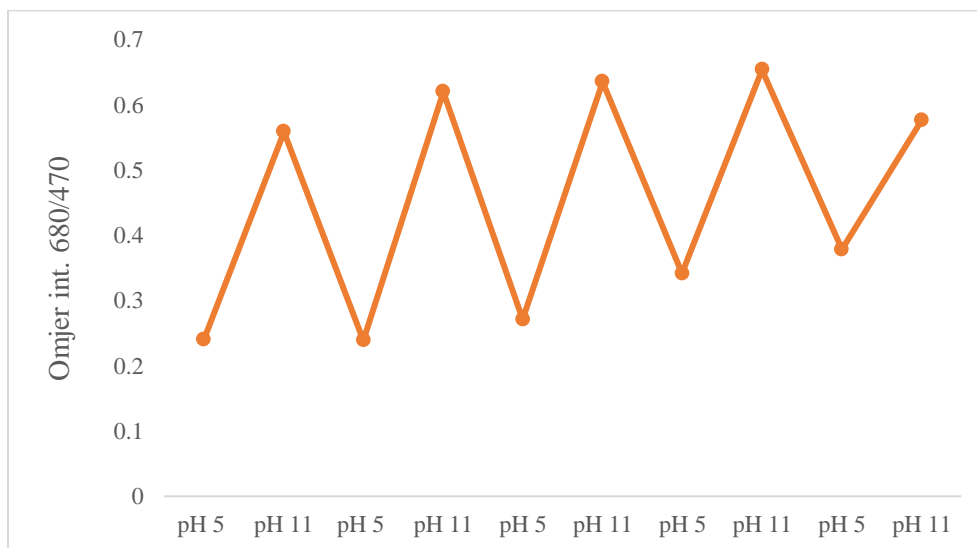
Slika 36. Papirne trake PB nakon uranjanja u puferske otopine pri pH 5 i 8 u 5 ciklusa.

Test reverzibilnosti za pH 5 i 11 napravljen je na isti način kao i test reverzibilnosti za pH 5 i 8. Sukladno tome, mjerenjem reflektancije dobiveni su podaci vezani uz maksimum i

minimum reflektancijske krivulje uz pomoću čega je konstruirana tablica 3. i slika 37. Prva tri ciklusa pokazuju zadovoljavajuću reverzibilnost. U drugom ciklusu promjena reflektancije iznosi 0,64 % za pH 5 te 10,96 % za pH 11, dok u trećem ciklusu ona iznosi 12,63 % za pH 5 te 13,68 % za pH 11. Drastičan pad reverzibilnosti naspram prethodna tri ciklusa pokazuju četvrti i peti ciklus što je osim grafičkim prikazom jasno popraćeno i značajnom promjenom reflektancije. Značajan pad reverzibilnosti ukazuje na ispuštanje berlinskog modrila s papirnatih traka.

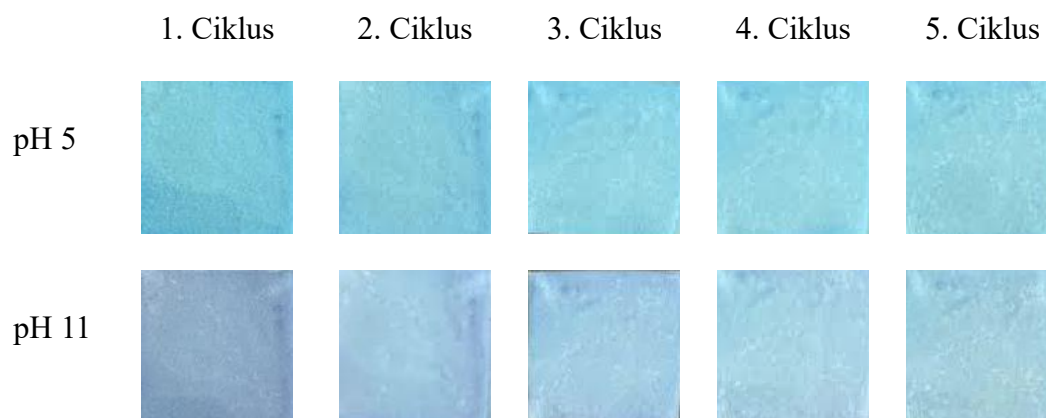
Tablica 3. Relativna promjena reflektancije papirnih traka na pH 5 i 11.

	pH 5				pH 11			
Promjena reflektancije / %	0,64	12,63	41,98	57,28	10,96	13,68	16,97	3,11



Slika 37. Test reverzibilnosti papirnih traka berlinskog modrila pri pH 5 i 11.

Na slici 38. vidljiva je jasna promjena u nijansi plave boje između traka uronjenih u pH 5 i pH 11. Također, porastom broja ciklusa trake blago blijede te je taj efekt izraženiji nego u prethodno razmatranom slučaju. Može se zaključiti da papirne trake berlinskog modrila pokazuju primjetnu razliku u boji za pH vrijednosti 5 i 11 te se mogu koristiti kao optički senzori do tri ciklusa kada dolazi do značajnog ispuštanja berlinskog modrila.



Slika 38. Papirne trake berlinskog modrila nakon uranjanja u puferske otopine pri pH 5 i 11 u 5 ciklusa.

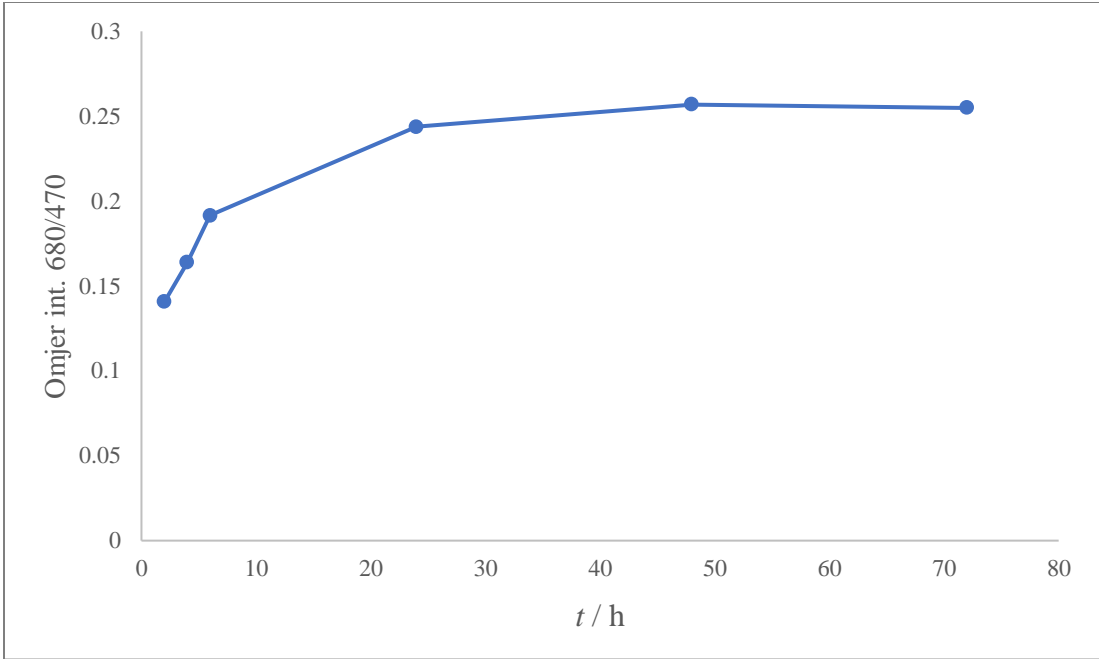
## 4.9. Test stabilnosti

Test stabilnosti rađen je u svrhu ispitivanja utjecaja pH na senzorski odziv i imobilizaciju berlinskog modrila. Test je proveden prema postupku opisanom u poglavlju 3.8., a korištene su puferske otopine pH vrijednosti 5, 7, 9 i 11. Iz reflektancijskih mjerenja izdvojeni su podaci vezani uz maksimum krivulje na 470 nm te minimuma krivulje na 680 nm. Omjer intenziteta reflektancije na 680 nm i 470 nm uzet je kao parametar na y-osi.

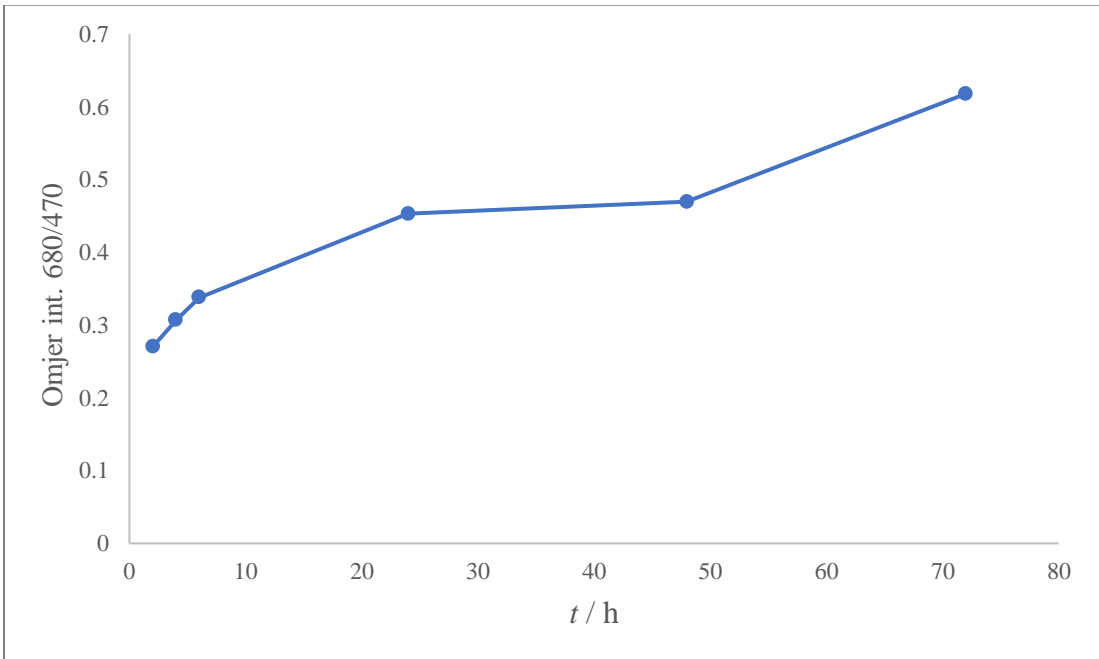
Prve tri točke koje se odnose na vrijeme od 2, 4 te 6 h za sve četiri ispitane pH vrijednosti prate isti trend rasta omjera reflektancije minimuma i maksimuma krivulje (slika 39.). Blagi rast reflektancije ukazuje na dobru stabilnost papirnih traka u prvih 6 h. Grafovi vezani uz pH 5 te pH 7 pokazuju najveću stabilnost jer se nakon 24 h pa sve do 72 h vrijednost omjera reflektancije ne mijenja značajnije, već je postignut svojevrsni plato. Može se također zaključiti da se u prvih nekoliko sati izlaganja reflektancija najznačajnije mijenja te da je za senzorske primjene potrebno trake prethodno kondicionirati u odgovarajućim otopinama dok se odziv ne stabilizira. Pri tome treba naći optimalno vrijeme kondicioniranja kako efekt ispiranja ne bi bio prevelik. Spomenuti trend je vidljiv i na testu reverzibilnosti. Pri većim pH vrijednostima (pH 9 i 11) dolazi do značajnijeg porasta reflektancije nakon 24 h što upućuje na lošu stabilnost papirnih traka berlinskog modrila u bazičnom pH. Iz reflektancijskih spektara je vidljivo da pri svim pH vrijednostima kroz 48 i 72 h dolazi do značajnijeg porasta reflektancije i ispuštanja berlinskog modrila s papirnih traka. To je vidljivo i iz slike 40. jer nijanse plave boje postaju sve svjetlije duljim stajanjem papirnih traka u otopinama.



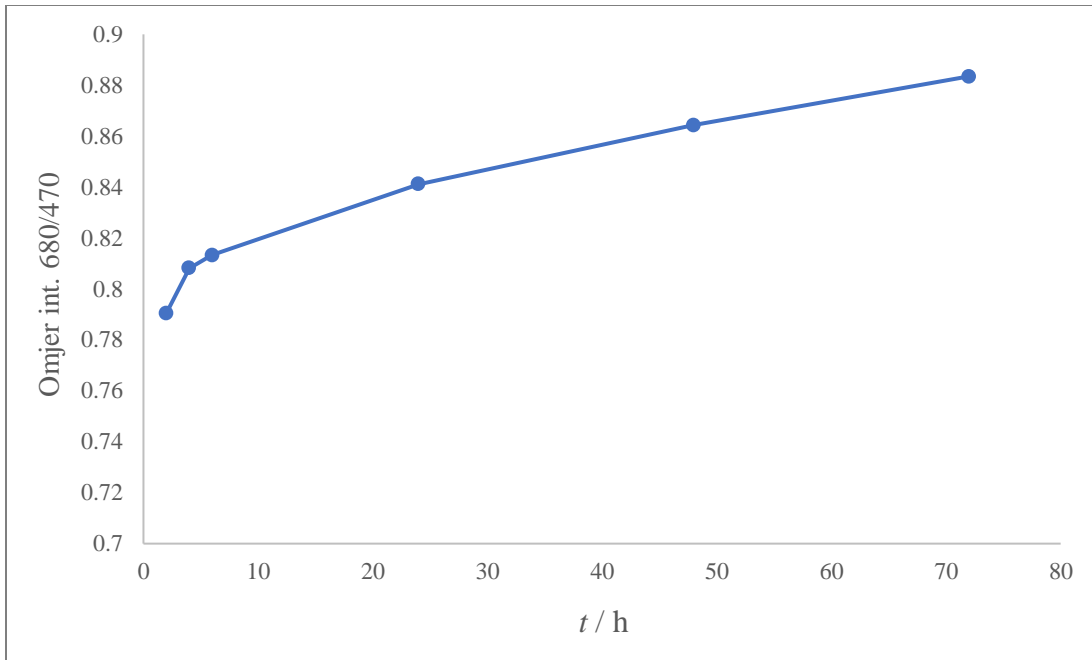
a)



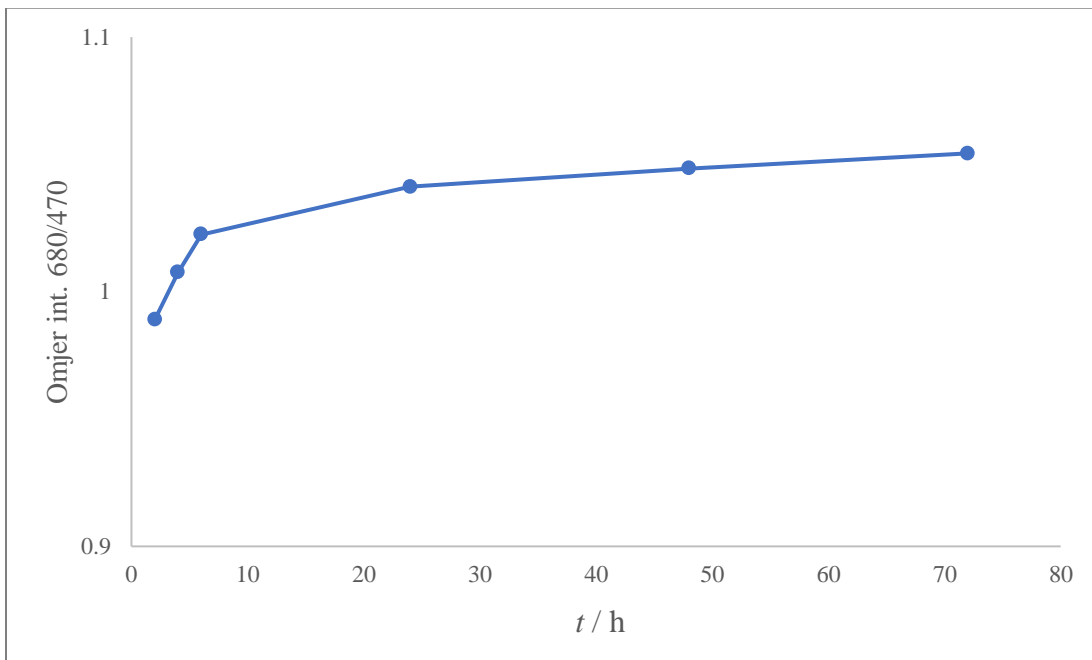
b)



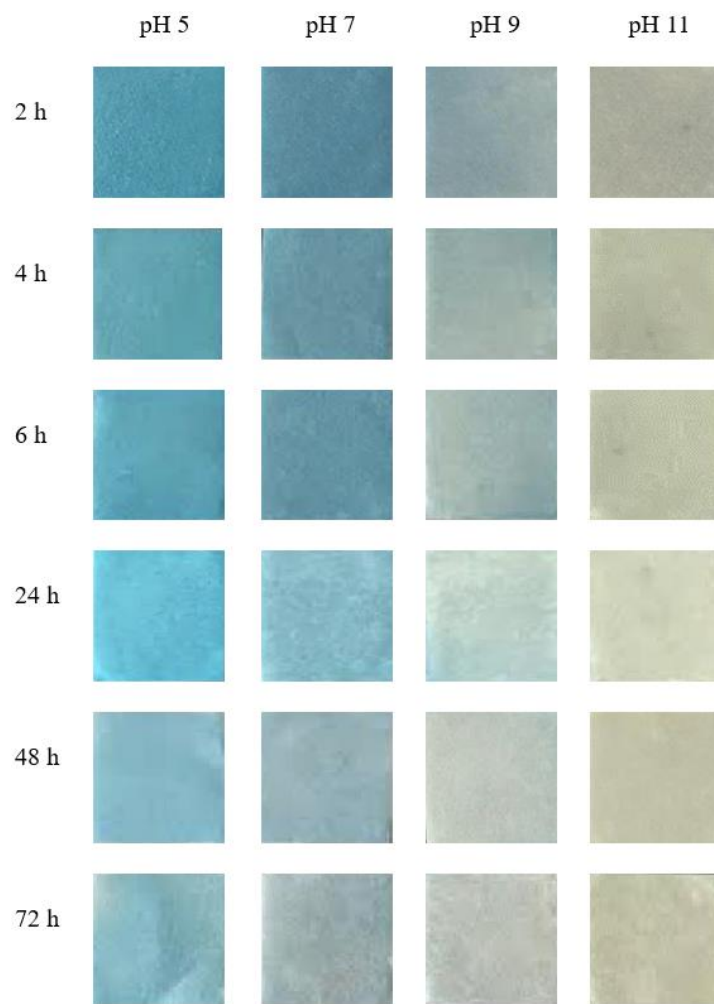
c)



d)



Slika 39. Test stabilnosti papirnih traka berlinskog modrila za: a) pH = 5, b) pH = 7, c) pH = 9 i d) pH = 11.

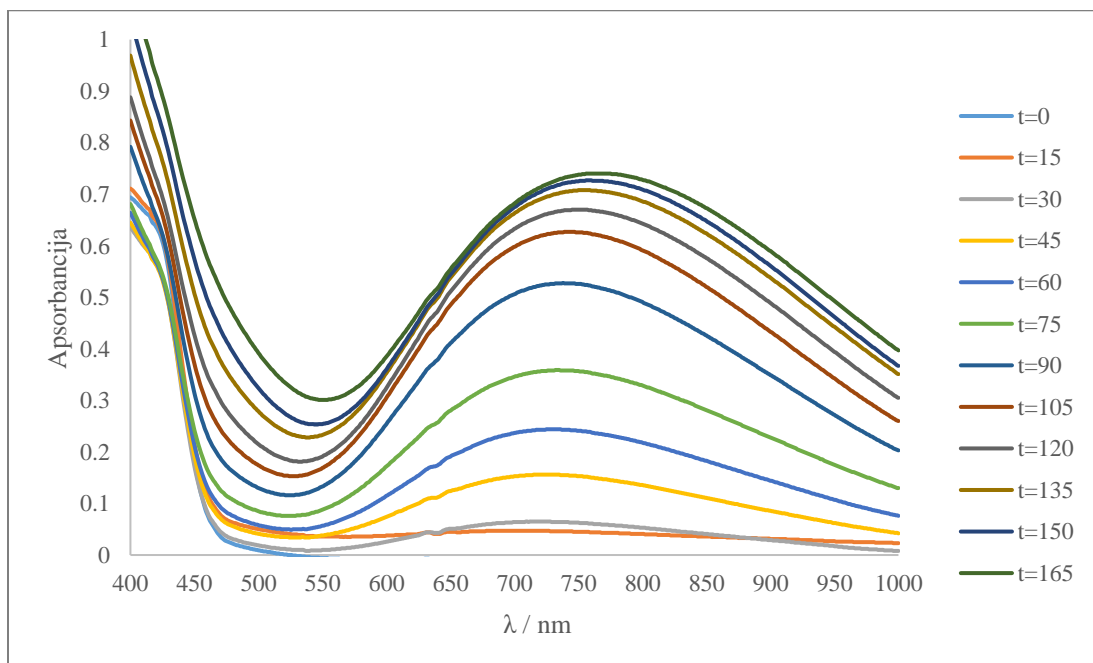


Slika 40. Papirne trake uslijed provedbe testa stabilnosti za pH vrijednosti 5, 7, 9 i 11.

#### 4.10. Apsorpcijski spektri nanočestica u otopini

U ovom istraživanju najveća je pozornost pridana nastanku nanočestica berlinskog modrila na papiru, međutim istražen je i njihov nastanak u otopini. Sam postupak provedbe eksperimenta opisan je u poglavlju 3.4.2.

Na slici 41. prikazan je apsorpcijski spektar sintezne otopine te je vidljivo kako s porastom vremena izlaganja sintezne otopine UV zračenju, dolazi i do porasta apsorpcijskih maksimuma sa 712 nm na početku reakcije ( $t = 30$  min) na 756 nm na kraju reakcije ( $t = 165$  min) te njihovog pomaka udesno, odnosno prema većim valnim duljinama. Taj pomak se naziva batokromnim (crvenim) pomakom. Kako su linije spektra vezane uz vremenski period od 15. do 165. minute izlaganja iznimno bliskih vrijednosti, zaključeno je kako je nakon 165 minuta reakcija privedena kraju te kako daljnje izlaganje UV zračenju ne bi dovelo do značajnijih i mjerljivih promjena u spektru.



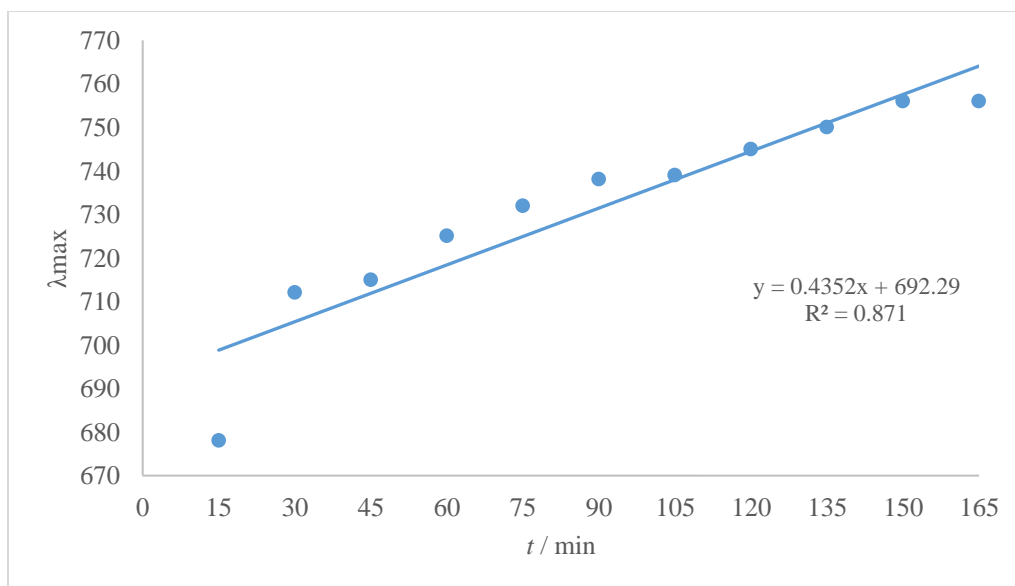
Slika 41. Grafički prikaz apsorbancije sintezne otopine pri različitom vremenu izlaganja otopine UV zračenju.

Osim promjena u apsorpcijskom spektru, jasno se može uočiti i promjena u boji otopine, ovisno o vremenu izlaganja UV zračenju. Sukladno tome otopina je na samom početku žute boje, a s vremenom poprima zelenkastu nijansu i u konačnici poplavi. Upravo se takva promjena boje može uočiti i na ispitivanim papirnim trakama na kojima se vršila sama sinteza nanočestica berlinskog modrila. Papirne trake su nakon namakanja u otopini citrata i heksacijanoferata prvo žute boje, pod UV lampom (ovisno o koncentraciji početne otopine) poprimaju zelenu boju i u konačnici plavu (slika 42.).



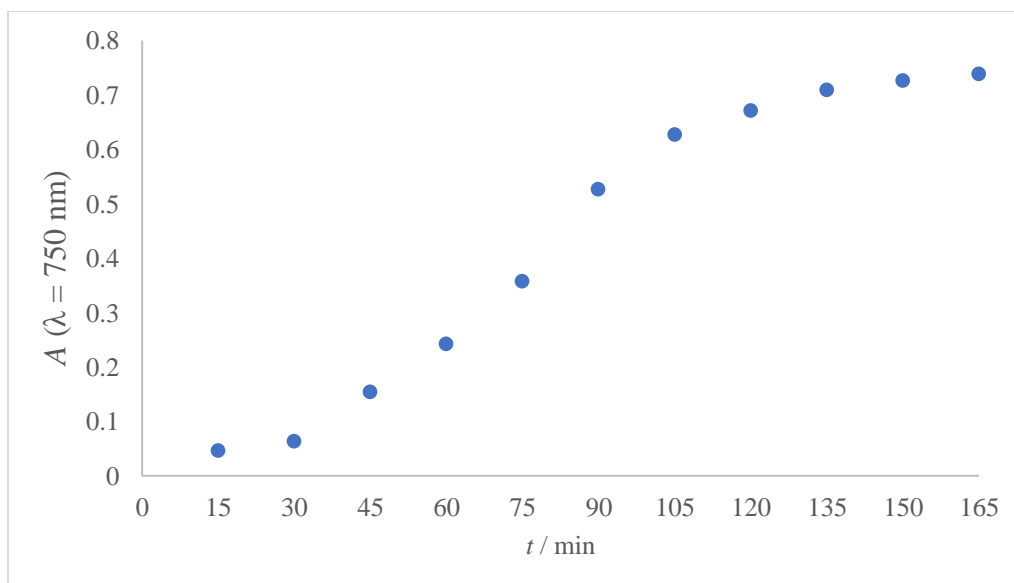
Slika 42. Promjena boje otopine berlinskog modrila uslijed izlaganja UV zračenju u intervalima od 15 min (u ukupnom vremenskom periodu od 165 minuta)

Na temelju snimljenog apsorpcijskog spektra analizirana je ovisnost maksimuma valne duljine o vremenu (slika 43.). Vidljiv je pomak maksimuma prema većim valnim duljinama s porastom vremena izlaganja otopine UV zračenju. Sam pomak maksimuma i posljedično nastali trend mogu se pripisati kompleksnosti mehanizma reakcije te istovremenom nastanku više produkata koji mogu imati slične spektralne karakteristike (detaljnije opisano u poglavlju 2.5.4.).



Slika 43. Ovisnost maksimuma apsorbancijske krivulje o vremenu izlaganja sintezne otopine UV zračenju.

Istražena je i promjena apsorbancije pri valnoj duljini od 750 nm te je dobiven graf prikazan na slici 44.



Slika 44. Promjena apsorbancije s vremenom na valnoj duljini od 750 nm.

## **5. ZAKLJUČAK**

Nanočestice berlinskog modrila uspješno su sintetizirane uranjanjem papirnih traka u sinteznu otopinu i izlaganjem UV zračenju ispod UV lampe (UV sinteza). Ispitan je utjecaj različitih parametara na sintezu berlinskog modrila: vrijeme izlaganja UV zračenju, ispiranje različitim reagensima, koncentracija sintezne otopine, omjer reaktanata te utjecaj pH u svrhu mogućnosti primjene berlinskog modrila kao optičkog senzora. Također je dodatno ispitana reverzibilnost i stabilnost papirnih traka pri različitim pH vrijednostima.

Najuspješnijim se pokazalo ispiranje papirnih traka prvo kiselinom, a zatim vodom pri čemu se vrši imobilizacija nanočestica berlinskog modrila. Utjecaj vremena izlaganja UV zračenju vizualno je uočljiv te je mjerljiv pomoću reflektancije. Dulje vrijeme izlaganja UV zračenju uz naknadno ispiranje kiselinom i vodom rezultira nastankom tamnijih papirnih traka, tj. nastaje veća količina nanočestica. Za zadovoljavajuće rezultate dovoljno je vrijeme izlaganja od 10 minuta. Uočeno je kako je omjer kalijevog heksacijanoferata(III) i amonijevog željezovog(III) citrata od 1:0,6 dovoljan za postizanje jednako dobrih rezultata kao i u slučaju većih omjera. Time je dokazano kako citrat ne treba biti u suvišku čime se postiže njegova značajna ušteda u sintezi.

Nanočestice berlinskog modrila pokazuju promjenu boje prilikom uranjanja u puferske otopine različitog pH u rasponu od pH 5 - 11. Porastom pH raste i reflektancija. Ponovljivost papirnih traka uronjenih u otopine različitog pH smanjuje se s povećanjem pH. Prilikom ispitivanja stabilnosti uočeno je da omjer reflektancije raste s povećanjem pH. To upućuje na veću stabilnost senzora pri nižim pH vrijednostima (pH 5 i 7) unutar 72 h, dok pri većim vrijednostima (pH 9 i 11) dolazi do ispuštanja berlinskog modrila nakon 6 h. Postignuta je dobra reverzibilnost u prva četiri ispitana ciklusa nakon čega se omjer reflektancije značajnije mijenja te se ispušta berlinsko modrilo s papirnih traka.

Nanočestice berlinskog modrila na papirnim trakama pokazale su zadovoljavajuća svojstva glede upotrebe pri razvoju pH senzora. Zbog svojstava kao što su netoksičnost, odobrenost od strane FDA, jednostavnost i ekonomičnost sinteze zasigurno će u budućnosti pronaći širu primjenu u brojnim životnim sferama.

U budućim istraživanjima valjalo bi provesti morfološka ispitivanja te proučiti primjenjivost metode sinteze nanočestica berlinskog modrila na drugim biološkim nosivim materijalima kao što su razne vrste tekstila.



## **6. LITERATURA**

- 
- <sup>1</sup> I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode* (2010) 689.
- <sup>2</sup> A. Lobnik, M. Turel, Š. Korent Urek, *Advances in Chemical Sensors* (2012) 28.
- <sup>3</sup> R. Narayanaswamy, *Analyst* **118** (1993) 322.
- <sup>4</sup> P. Gründler, Springer Science & Business Media (2007) 274.
- <sup>5</sup> D. Wencel, T. Abel, C. McDonagh, *Analytical Chemistry* **86** (2014) 29.
- <sup>6</sup> F. Ricci, A. Amine, G. Palleschi, D. Moscone, *Biosen. Bioelectron.* (2003) **18** 165.
- <sup>7</sup> R. J. Mortimer, C. P. Warren, *J. Electroanal. Chem.* (1999) **460** 263.
- <sup>8</sup> K. Honda, H. Hayashi, *J. Electrochem. Soc.* (1987) **134** 1330.
- <sup>9</sup> X. Feng, Z. Sun, W. Hou, J.-J. Zhu, *Nanotechnology* **18** (2007) 195603.
- <sup>10</sup> J. Turner, A. V. Parisi, N. Downs, *Photochem Photobiol Sci* **13** (2014) 1764.
- <sup>11</sup> O. S. Wolfbeis, *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors* CRC Press: Boca Raton (1991)
- <sup>12</sup> A. Brecht, G. Gauglitz, *Sens. Actuators*, **38** (1997) 7.
- <sup>13</sup> O. S. Wolfbeis, *Fresenius J Anal Chem* **337** (1990) 527.
- <sup>14</sup> C. McDonagh, P. Bowe, K. Mongey, B. D. MacCraith, *J Non-Cryst Solids* **306** (2002) 148.
- <sup>15</sup> W. R. Seitz, *Crit Rev Anal Chem* **19** (1988) 173.
- <sup>16</sup> P. C. A. Jerónimo, A. N. Araújo, M. C. B. S. M. Montenegro, *Talanta* **72** (2007) 27.
- <sup>17</sup> A. P. Demchenko, *Springer* (2009) 196.
- <sup>18</sup> A. Lobnik, F. Baldini, A. N. Chester, J. Homola, S. Martellucci, *Springer* (2006) 98.
- <sup>19</sup> N. Kaur, S. Kumar, *Tetrahedron* **67** (2011) 9264.
- <sup>20</sup> I. Murković Steinberg, A. Lobnik, O. S. Wolfbeis, *Sens Actuators B* **90** (2003) 235.
- <sup>21</sup> X. Ying, Z. Hong, W. Zhijiao, L. Xiangjun, H. Yujian, Y. Zhuobin, *Analyst* **136** (2011) 3730.
- <sup>22</sup> W. Shu-Pao, C. Yi-Pu, S. Yi-Ming, *Analyst* **136** (2011) 1891.
- <sup>23</sup> L. D. Weston, H. Min Su, L. Jae-Seung, A. M. Chad, *J Am Chem Soc* **131** (2009) 6363.
- <sup>24</sup> A. P. Demchenko, *Springer* (2009) 196.
- <sup>25</sup> L. Basabe-Desmonts, D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Chem Soc Rev* **36** (2007) 1017.
- <sup>26</sup> O. S. Wolfbeis, *J Mater Chem* **15** (2005) 2669.
- <sup>27</sup> A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman, *Pure&Appl. Chem.* **63** (1991) 1250.
- <sup>28</sup> A. T. Singh, D. Lantigua, A. Meka, S. Taing, M. Pandher, G. Camci-Unal, *Sensors* **18** (2018) 2838.
- <sup>29</sup> E. W. Nery, L. T. Kubota, *Anal Bioanal Chem.* **405** (2013) 7595.

- 
- <sup>30</sup> P. J. Bracher, M. Gupta, G. M. Whitesides, *J. Mater. Chem.* **20** (2010) 5122.
- <sup>31</sup> D. D. Liana, B. Raguse, J. J. Gooding, E. Chow, *Sensors* **12** (2012) 11526.
- <sup>32</sup> A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, E. Carrilho, *Anal. Chem.* **82** (2010) 10.
- <sup>33</sup> A. K. Ellerbee, S. T. Phillips, A. C. Siegel, K. A. Mirica, A. W. Martinez, P. Striehl, N. Jain, M. Prentiss, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **81** (2009) 8452.
- <sup>34</sup> M. M. Ali, C. L. Brown, S. Jahanshahi-Anbuhi, B. Kannan, Y. Li, C. D. M. Filipe, J. D. Brennan, *Sci. Rep.* **7** (2017) 12335.
- <sup>35</sup> A. K. Ellerbee, S. T. Phillips, A. C. Siegel, K. A. Mirica, A. W. Martinez, P. Striehl, N. Jain M. Prentiss, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **81** (2009) 8452.
- <sup>36</sup> M. Cretich, V. Sadini, F. Damin, M. Pelliccia, L. Sola, M. Chiari, *Anal. Biochem.* **397** (2010) 88.
- <sup>37</sup> Y. Lu, W. Shi, J. Qin, B. Lin, *Anal. Chem.* **82** (2010) 335.
- <sup>38</sup> M. M. Ali, C. L. Brown, S. Jahanshahi-Anbuhi, B. Kannan, Y. Li, C. D. M. Filipe, J. D. Brennan, *Sci. Rep.* **7** (2017) 12335.
- <sup>39</sup> M. Santhiago, C. C. Correa, J. S. Bernardes, M. P. Pereira, L.J. M. Oliveira, M. Strauss, C. C. B. Bufon, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9** (2017) 24372.
- <sup>40</sup> S. Cinti, V. Mazzaracchio, I. Cacciotti, D. Moscone, F. Arduini, *Sensors* **17** (2017) 2267.
- <sup>41</sup> N. Ostrov, M. Jimenez, S. Billerbeck, J. Brisbois, J. Matragrano, A. Ager, V. W. A. Cornish, *Sci. Adv.* **3** (2017) 1603221.
- <sup>42</sup> A. Hatamie, S. Angizi, S. Kumar, C. Mouli Pandey, A. Simchi, M. Willander, B. D. Malhotra, *J. Electrochem. Soc.* **167** (2020) 037546.
- <sup>43</sup> Y. Yu, H. Y. Y. Nyein, W. Gao, A. Javey, *Adv. Mater.* **32** (2019) 1902083.
- <sup>44</sup> D. R. Agrawal, Y. Tanabe, D. Weng, A. Ma, S. Hsu, S.-Y. Liao, Z. Zhen, Z.-Y. Zhu, C. Sun, Z. Dong, *Nat. Biomed. Eng* **1** (2017) 0043.
- <sup>45</sup> P. Rai, S. Oh, P. Shyamkumar, M. Ramasamy, R. E. Harbaugh, V. K. Varadan, *J. Electrochem. Soc.*, **161** (2014) B3116.
- <sup>46</sup> J. Jang, J. I. Han, *J. Electrochem. Soc.* **164** (2017) B136.
- <sup>47</sup> W. Zeng, L. Shu, Q. Li, S. Chen, F. Wang, X. M. Tao, *Adv. Mater.* **26** (2014) 5310.
- <sup>48</sup> X. Liu and P. B. Lillehoj, *Lab Chip* **16** (2016) 2093.
- <sup>49</sup> K.-i. Nomura, Y. Horii, S. Kanazawa, Y. Kusaka, and H. Ushijima, *Sensors* **18** (2018) 240.

- 
- <sup>50</sup> M. Parrilla, R. Cánovas, I. Jeerapan, F. J. Andrade, and J. Wang, *Adv. Healthcare Mater.* **5** (2016) 996.
- <sup>51</sup> B. Li, G. Xiao, F. Liu, Y. Qiao, C. M. Li, and Z. Lu, *J. Mater. Chem.* **6** (2018) 4549.
- <sup>52</sup> M. Jung, S. Jeon, and J. Bae, *RSC Adv.* **8** (2018) 39992.
- <sup>53</sup> S. Y. Kim, E. Jee, J. S. Kim, and D. H. Kim, *RSC Adv.* **7** (2017) 23820.
- <sup>54</sup> B. Mocanu, R. Tapu, and T. Zaharia, *Sensors* **16** (2016) 1807.
- <sup>55</sup> M. Stoppa and A. Chiolerio, *Sensors* **14** (2014) 11957.
- <sup>56</sup> A. Abouraddy, M. Bayindir, G. Benoit, S. Hart, K. Kuriki, N. Orf, O. Shapira, F. Sorin, B. Temelkuran, Y. Fink, *Nat. Mater.* **6** (2007) 336.
- <sup>57</sup> M. Hamed, R. Forchheimer, and O. Inganäs, *Nat. Mater.* **6** (2007) 357.
- <sup>58</sup> A. Hatamie, A. Khan, M. Golabi, A. P. Turner, V. Beni, W. C. Mak, A. Sadollahkhani, H. Alnoor, B. Zargar, S. Bano, O. Nur, M. Willander, *Langmuir* **31** (2015) 10913.
- <sup>59</sup> D. R. Ceratti, B. Louis, X. Paquez, M. Faustini, D. Grosso, *Adv Mater* **27** (2015) 4962.
- <sup>60</sup> E. A. Gaulding, B. T. Diroll, E. D. Goodwin, Z. J. Vrtis, C. R. Kagan, C. B. Murray, *Adv Mater* **27** (2015) 2851.
- <sup>61</sup> M. Dey, F. Doumenc, B. Guerrier, *Eur Phys J E* **39** (2016) 19.
- <sup>62</sup> X. Tang, X. Yan, *J Solgel Sci Technol* **81** (2017) 404.
- <sup>63</sup> <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/dip-coating> (pristup 27.08.2023.)
- <sup>64</sup> M. Faustini, B. Louis, P. A. Albouy, M. Kuemmel, D. Grosso, *J. Phys. Chem. C* **114** (2010) 7637.
- <sup>65</sup> L. Landau, B. Levich, *Acta Physicochim. URSS* **17** (1942) 42.
- <sup>66</sup> F. M. Ye, C. C. Cui, A. Kirkeminde, D. Dong, M. M. Collinson, D. A. Higgins, *Chem. Mater.* **22** (2010) 2970.
- <sup>67</sup> S. Roland, R. E. Prud'homme, C. G. Bazuin, *ACS Macro Lett.* **1** (2012) 973.
- <sup>68</sup> G. C. F. C. J. Brinker, A. J. Hurd, C. S. Ashley, *Thin Solid Films* **201** (1991) 14.
- <sup>69</sup> P. Horcajada, C. Serre, D. Grosso, C. Boissiere, S. Perruchas, C. Sanchez, G. Ferey, *Adv. Mater.* **21** (2009) 1931.
- <sup>70</sup> M. Faustini, A. Capobianchi, G. Varvaro, D. Grosso, *Chem. Mater.* **24** (2012) 1072.
- <sup>71</sup> M. Le Berre, Y. Chen, D. Baigl, *Langmuir* **25** (2009) 2554.
- <sup>72</sup> N. Krins, M. Faustini, B. Louis, D. Grosso, *Chem. Mater.* **22** (2010) 6218.

- 
- <sup>73</sup> D. Grosso, F. Cagnol, G. J. A. A. Soler-Illia, E. L. Crepaldi, H. Amenitsch, A. Brunet Bruneau, A. Bourgeois, C. Sanchez, *Adv. Funct. Mater.* **14** (2004) 309.
- <sup>74</sup> M. Barhoum, J. M. Morrill, D. Riassetto, M. H. Bartl, *Chem. Mater.* **23** (2011) 5177.
- <sup>75</sup> Douglas A. Skoog, F. James Holler, Stanley R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, Cengage Learning (2018) 959.
- <sup>76</sup> T. Lucatorto, A. C. Parr and K. Baldwin, *Experimental Methods in the Physical Sciences*, Elsevier (2014) 533.
- <sup>77</sup> V. Džimbeg-Malčić, Ž. Barbarić-Mikočević, K. Itrić, *Technical Gazette* **18** (2011) 124.
- <sup>78</sup> W. J. Li, C. Han, G. Cheng, S. L. Chou, H. K. Liu, S. X. Dou, *Small* **15** (2019) 1900470.
- <sup>79</sup> P. Syme, *Werners Nomenclature of Colours*. Adapted to Zoology, Botany, Chemistry, Mineralogy, Anatomy, and the Arts (2nd edn) (1821)
- <sup>80</sup> S. Ferlay, T. Mallah, R. Ouahès, P. Veillet, M. Verdaguer, *Nature* **378** (1995) 701.
- <sup>81</sup> J. F. Keggin, F. D. Miles, *Nature* **137** (1936) 578.
- <sup>82</sup> M. J. Piernas Muñoz, E. Castillo Martínez, *Springer* (2018) 118.
- <sup>83</sup> A. Paolella, C. Faure, V. Timoshevskii, S. Marras, G. Bertoni, A. Guerfi, A. Vijn, M. Armand, K. Zaghbi, *J. Mater. Chem. A* **5** (2017) 18932
- <sup>84</sup> X. Wu, C. Wu, C. Wei, L. Hu, J. Quian, Y. Cao, X. Ai, J. Wang, H. Yang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8** (2016) 23712.
- <sup>85</sup> M. B. Robin, *Inorg. Chem.* **1** (1962) 342.
- <sup>86</sup> M. Ware, *J. Chem. Educ.* **85** (2008) 620.
- <sup>87</sup> A. A. Noyes, *J. Am. Chem. Soc.* **27** (1905) 104.
- <sup>88</sup> B. M. Chadwick, A.G. Sharpe, *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.* **8** (1966) 176.
- <sup>89</sup> A. Ito, M. Suenaga, K. Ono, *J. Chem. Phys.* **48** (1968) 3599.
- <sup>90</sup> H. J. Buser, D. Shwarzenbach, W. Petter, A. Ludi, *Inorg. Chem.* **16** (1977) 2710.
- <sup>91</sup> F. Herren, P. Fischer, A. Ludi, W. Halg, *Inorg. Chem.* (1980) 959.
- <sup>92</sup> D. Davidson, *J. Chem. Educ.* **14** (1937) 277.
- <sup>93</sup> P. Day, *Molecules Into Materials: Case Studies in Materials Chemistry-Mixed Valency, Magnetism and Super-Conductivity* (World Scientific, Singapore, 2007) 299.
- <sup>94</sup> N. A. Sitnikova, M. A. Komkova, I. V. Khomyakova, *Anal. Chem.* **86** (2014) 4134.

- 
- <sup>95</sup> J. Jiménez-Gallegos, J. Rodríguez-Hernández, H. Yee-Madeira, *J. Phys. Chem. C* **114** (2010) 5048.
- <sup>96</sup> D. M. Pajerowski, J. E. Gardner, F. A. Frye, *Chem. Mater.* **23** (2011) 3053.
- <sup>97</sup> A. A. Karyakin, O. V. Gitelmacher, E. E. Karyakina, *Anal. Chem.* **67** (1995) 2423.
- <sup>98</sup> D. Hongrui, C. Hong, L. Yong, *Chin. J. Clin. Nutr.* (2012) 20.
- <sup>99</sup> M. A. Busquets, J. Estelrich, *Drug Discov Today*. **25** (2020) 1443.
- <sup>100</sup> J.F. Duncan, P.W.R. Wrigley, *J. Chem. Soc.* (1963) 1120.
- <sup>101</sup> A. A. Karyakin, *Electroanalysis* **13** (2001) 819.
- <sup>102</sup> P. Monk, R. Mortimer, D. Rosseinsky, *Cambridge University Press* (2007) 302.
- <sup>103</sup> M. Ware, the history, science and art of photographic printing in Prussian blue (2004)
- <sup>104</sup> M. Ware, *Journal of Chemical Education* **85** (2008) 612.
- <sup>105</sup> J. Dietvorst, A. Ferrer-Vilanova, S. N. Iyengar, A. Russom, N. Vigués, J. Mas, L. Vilaplana, M. P. Marco, G. Guirado, and X. Muñoz-Berbel, *Analytical Chemistry* **94** (2022) 792.
- <sup>106</sup> H. Ming, N. L. K. Torad, Y. D. Chiang, K. Wu, Y. Yamauchi, *CrystEngComm* **14** (2012) 3396.
- <sup>107</sup> P. Shou, Z. Yu, Y. Wu, Q. Feng, B. Zhou, J. Xing, C. Liu, J. Tu, O. U. Akakuru, Z. Ye, X. Zhang, Z. Lu, L. Zhang, A. Wu, *Adv. Healthcare Mater.* **9** (2019) 1900948.
- <sup>108</sup> Z. Qin, B. Chen, Y. Mao, C. Shi, Y. Li, X. Huang, F. Yang, N. Gu, *ACS Appl Mater Interfaces* **12** (2020) 57390.
- <sup>109</sup> L. Samain, *J. Phys. Chem. C Nanomater. Interfaces* **117** (2013) 9712.
- <sup>110</sup> F. Grandjean, *Dalton Trans.* **45** (2016) 18044.
- <sup>111</sup> G. Zhao, *Chem. Mater.* **17** (2005) 3159.
- <sup>112</sup> T. Uemura, S. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 7815.
- <sup>113</sup> Y. Yang, *Theranostics* **7** (2017) 481.
- <sup>114</sup> V. Hornok, I. De'kany, *J. Colloid. Interface Sci.* **309** (2007) 182.
- <sup>115</sup> T. Uemura, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 7345.
- <sup>116</sup> F. Shiba, *RSC Adv.* **9** (2019) 34594.
- <sup>117</sup> W. Chen, *Adv. Funct. Mater.* **27** (2017) 1605795.
- <sup>118</sup> A. Sahu, *J. Control. Release* **236** (2016) 99.
- <sup>119</sup> M. F. Dumont, *Bioconjug. Chem.* **25** (2014) 137.
- <sup>120</sup> Q. Zhang, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 3055.
- <sup>121</sup> T. Kim, *ACS Nano.* **11** (2017) 9032.

- 
- <sup>122</sup> P. Xue, *Colloids Surf. B Biointerfaces* **125** (2015) 283.
- <sup>123</sup> R. I. Zhdanov, *Bioelectrochemistry* **58** (2002) 64.
- <sup>124</sup> M. Ishizaki, *Green Chem.* **14** (2012) 1544.
- <sup>125</sup> P. Xue, *J. Colloid. Interface Sci.* **509** (2018) 394.
- <sup>126</sup> M. Hu, *Cryst. Eng. Commun.* **12** (2010) 2683.
- <sup>127</sup> J. Qian, *ChemPlusChem* **82** (2017) 895.
- <sup>128</sup> M. Hu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **51** (2012) 988.
- <sup>129</sup> M. Hu, *Chem. Mater.* **24** (2012) 2707.
- <sup>130</sup> Z. Qin, *Adv. Healthc. Mater.* **7** (2018) e1800347.
- <sup>131</sup> S. Vafakhah, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **11** (2019) 5998.
- <sup>132</sup> H. M. Yang, *J. Alloys Compd.* **657** (2016) 393.
- <sup>133</sup> S. Cinti, R. Cusenza, D. Moscone, F. Arduini, *Talanta* **187** (2018) 64.
- <sup>134</sup> Y.-H. Zhu, X. Yang, D. Bao, X.-F. Bie, T. Sun, S. Wang, Y.-S. Jiang, X.-B. Zhang, J.-M. Yan, Q. Jiang, *Joule* **2** (2018) 746.
- <sup>135</sup> M Granica, Ł. Tymecki, *Analytica Chimica Acta* **1136** (2020) 133.
- <sup>136</sup> W.-Y. Zhang, C.-Y. Zhang, H.-Y. Zhou, T. Tian, H. Chen, H. Zhang, F.-Q. Yang, *Microchem. J.* **181** (2022) 107783.
- <sup>137</sup> R. Koncki, T. Lenarczuk, A. Radomska, S. Głąb, *Analyst* **126** (2001) 1085.
- <sup>138</sup> R. Koncki, O. S. Wolfbeis, *Analytical Chemistry* **70** (1998) 2550.