

Optički senzori u analizi okoliša

KUI 30/2002
Prispjelo 30. listopada, 2001.
Prihvaćeno 18. travnja, 2002.

S. Miljanić

Zavod za analitičku kemiju, Prirodoslovno-matematički fakultet,
Sveučilište u Zagrebu, Strossmayerov trg 14, 10000 Zagreb

Urbanizacija i industrijalizacija te povećana proizvodnja otpada uzrokuju neprekidno onečišćavanje okoliša. Otpuštanjem štetnih tvari u okoliš mijenjaju se njegovi fizički, kemijski i biološki parametri ukazujući na potrebu trajnog praćenja stanja zraka, tla i voda. Postavlja se zahtjev za razvojem napredne instrumentacije koja bi omogućila kontinuirano *in situ* određivanje štetnih tvari. Sustav optičkog senzora i optičkih vlakna prikladan za mjerenje u nepovoljnim uvjetima na nedostupnim mjestima predstavlja obećavajuća je alternativa konvencionalnim tehnikama koje uključuju opsežne načine uzorkovanja.

U uvodnom dijelu pregleda ukratko su navedena svojstva kemijskih optičkih senzora i optičkih vlakna. Zatim su detaljno opisani optički senzori konstruirani s namjerom primjene u analizi vodenog okoliša pri određivanju iona metala i kloriranih ugljikovodika te praćenju slanosti morske vode i ugljikova dioksida u slatkovodnom i morskom sedimentu. Primjeri su odabrani radi prikazivanja raznolikosti mehanizma odziva, generiranja optičkog signala i konstrukcija optoda. Na kraju su naglašene prednosti i nedostaci tih sve popularnijih analitičkih uređaja.

Ključne riječi: *Analiza okoliša, optički senzor, optičko vlakno, određivanje iona metala, određivanje kloriranih ugljikovodika, praćenje slanosti mora, praćenje CO₂ u sedimentu*

Uvod

Ubrzani razvoj tehnologije i industrije praćen svakodnevnim porastom broja svjetskog stanovništva rezultira povećanom potrošnjom prirodnih resursa i energije, masovnom proizvodnjom otpada te onečišćenjem i ugrožavanjem eko sustava. Dostupnost i uporaba kemikalija, emisija štetnih tvari u zrak, tlo i vode, izloženost pesticidima, teškim metalima i malim česticama predstavljaju ozbiljna su prijetnja zdravlju ljudi i njihova okoliša.

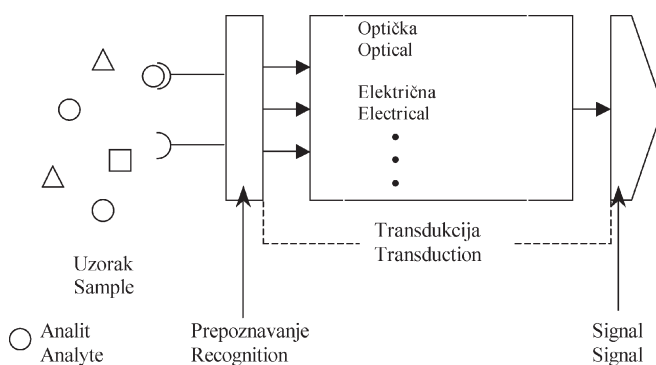
Osim onečišćenosti zraka i tla, posebno se pomno prati onečišćenje podzemnih i površinskih voda. Onečišćena voda smatra se najvećim uzrokom bolesti i smrti ljudi širom svijeta. Prema podacima izvješća Ujedinjenih naroda o stanju okoliša iz 2000. godine, 20 % svjetske populacije nema opskrbu pitkom vodom, a 50 % stanovništva konzumira nedovoljno pročišćenu vodu.¹ Nadalje, predviđa se da će početkom 21. stoljeća četvrtinu svijeta zahvatiti kronična nestašica vode.

Mnoge industrijske zemlje razvile su regulacijske programe za zaštitu ne samo vodenog okoliša već sveukupne biološke raznolikosti i prirodnih eko sustava unutar svojih granica. Oni obuhvaćaju popis štetnih tvari i zakonska pravila radi kontrole upotrebe, transporta i odlaganja tih supstancija. Istodobno se postavlja zahtjev za kontinuiranim praćenjem i određivanjem štetnih tvari u vodi, tlu i zraku. Upravo optički kemijski senzor povezan optičkim vlaknima čini idealan sustav za praćenje i određivanje *in situ* vrlo niskih koncentracija analita.

Kemijski senzori

Kemijski senzori su analitički uređaji relativno malih dimenzija koji na temelju određenog kemijskog svojstva analita generiraju mjerljivi signal. U idealnom slučaju odlikuju se brzim i selektivnim odgovorom te se mogu primijeniti neposredno u kompleksnome uzorku za kontinuirana mjerenja. Tipična područja primjene su klinička rutinska analiza, procesna kontrola i analiza okoliša.

Na slici 1 prikazan je princip rada kemijskog senzora. Uređaj se sastoji od dijela za selektivno i reverzibilno prepoznavanje analita i dijela za pretvorbu signala (transdukciju). Transdukcija može biti električna ili optička, ili se može temeljiti na prijenosu elektrona, promjeni mase, vodljivosti, depolarizacije zračenja, i dr. Dobiveni se neelektrični signal u pravilu pretvara u mjerljivi električni. Iako se naj-



Slika 1 – Shematski prikaz kemijskog senzora.

Fig. 1 – Schematic outline of a chemical sensor.

češće primjenjuje električna transdukcija, u novije se vrijeme vrlo naglo razvijaju optički kemijski senzori. Osjetljivost, specifičnost i različitost optičkih tehnika čine spektroskopiju vrlo popularnom tehnologijom kao temelj takvih sustava.

Optički kemijski senzori

Tehnika mjerenja pomoću optičkih kemijskih senzora najviše se primjenjuje na instrumentalnom području spektroskopskih metoda kemijske analize. One se temelje na interakciji elektromagnetskog zračenja s materijom. Zračenje valnih duljina od interesa za primjenu u optičkim senzorima obuhvaća ultraljubičasto (UV, 200 nm do 400 nm), vidljivo (VIS, 400 nm do 780 nm), blisko infracrveno (NIR, 0,78 μm do 3 μm) te srednje infracrveno područje (IR: 3 μm do 50 μm).

Energijska stanja molekule prikazana su dijagramom na slici 2. Svaka molekula posjeduje više energijskih razina. Svako elektronsko stanje molekule sastoji se od niza vibracijskih i rotacijskih razina. Pri sobnoj temperaturi većina molekula nalazi se na najnižoj vibracijskoj razini (ν_0) osnovnog elektronskog stanja (S_0). Apsorpcijom fotona u vremenu $10^{-15} - 10^{-14}$ s molekule prelaze u različite vibracijske razine viših energijskih stanja ($S_0 \rightarrow S_1, S_0 \rightarrow S_2$), otkuda se, nakon kratkog zadržavanja, vraćaju u osnovno stanje, često emitirajući apsorbirano zračenje. Povratku u osnovno stanje radijacijskim deaktivacijskim procesima (fluorescencija, fosforescencija) prethode unutarnja pretvorba ($S_2 \rightarrow S_1$) odnosno međusustavni prijelaz ($S_1 \rightarrow T_1$). S obzirom da je vrijeme vibracijske relaksacije, 10^{-12} s, znatno kraće od vremena života pobuđenih stanja (singlet $10^{-8} - 10^{-5}$ s, triplet $10^{-4} - 1$ s), energija emisije zračenja uvijek odgovara prijelu

lazu s najniže vibracijske razine pobuđenog elektronskog stanja u osnovno elektronsko stanje. Apsorpciju zračenja ponekad može pratiti pucanje veze (predisocijacija) ili pak ireverzibilna kemijska reakcija u pobuđenom elektronskom stanju.

Apsorpcijska spektroskopija u UV/VIS i IR području temelji se na apsorpciji zračenja analita ili indikatora. Prema Lambert-Beerovom zakonu, ovisnost apsorpcije A o koncentraciji c apsorbirajuće specije linearna je i može se opisati jednadžbom

$$A = \log(P_0/P) = \varepsilon \cdot l \cdot c, \quad (1)$$

gdje je P_0 intenzitet upadnog zračenja, P intenzitet propuštenog zračenja, ε molarni apsorpcijski koeficijent, a l duljina puta zračenja kroz uzorak. U slučaju visoke apsorptivnosti uzorka i dugog puta zračenja apsorpcijska spektroskopija postaje vrlo osjetljiva. Međutim, njezina osjetljivost ne može se povećati pojačanjem intenziteta zračenja izvora (P_0), s obzirom da se u apsorpcijskoj spektroskopiji mjeri omjer intenziteta, a ne apsolutni intenzitet kao što je to slučaj u fluorescencijskoj spektroskopiji. Nadalje, fluorimetrija je selektivnija metoda od fotometrije jer određuje fluorescentnu vrstu pomoću dviju veličina: valne duljine pobude i valne duljine emisije.

Metode kvantitativnog određivanja analita optičkim senzorima na temelju fluorescencije obuhvaćaju mjerenje intenziteta fluorescencije, vremena života pobuđene vrste te prijenos energije. Ovisnost intenziteta fluorescencije F i koncentracije c emitirajuće specije opisuje izraz

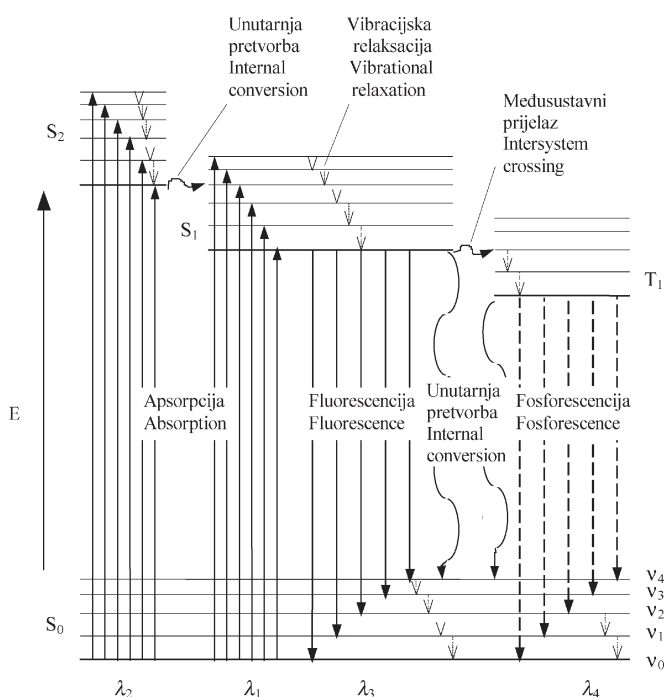
$$F = P_0 \cdot \phi_f \cdot 2,3 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot l \cdot k, \quad (2)$$

gdje je ϕ_f kvantni prinos fluorescencije, a k faktor koji se odnosi na geometrijsku izvedbu instrumenta. Odstupanje od linearne ovisnosti koncentracije i intenziteta fluorescencije uzrokuju apsorpcije veće od 0,05, koncentracijsko gašenje i reapsorpcija.

Brojni organski i anorganski analiti fluoresciraju ili pak reagiraju s fluorescentnim specijama, te se stoga mogu kvantitativno odrediti. Intenzivno zračenje izvora, koje je ponekad nužno za postizanje mjerljivog intenziteta fluorescencije, može uzrokovati fotoizbjeljivanje boje. Gubitak emisijskih značajki mjerenih vrsta uvodi pogreške u kvantitativno određivanje. Prednost u ovom slučaju imaju senzori koji se temelje na mjerenju života fluorescencije kao svojstva fluorofora koje ne ovisi o njegovoj koncentraciji.

Vrijeme života definira se kao prosječno vrijeme koje molekula provede u pobuđenom stanju. Tipično vrijeme života fluorescencije je 2 ns do 20 ns, a fosforescencije 1 μs do 10 s. Optičkim senzorima temeljenim na mjerenju života fluorescencije mogu se određivati analiti koji utječu na vrijeme života indikatora. Takvi analiti su najčešće specije koje gase fluorescenciju.

Optički senzori temeljeni na prijenosu energije iskorištavaju svojstvo pobuđene molekule (donor) da prenosi energiju na drugu molekulu (akceptor). Taj proces je posljedica interakcije dipol-dipol, a njegova brzina ovisi o kvantnom prinosu fluorescencije donora, prekrivanju emisijskog spektra donora s apsorpcijskim spektrom akceptora te nji-



Slika 2 – Dijagram energijskih stanja fotoluminiscentne molekule.

Fig. 2 – Diagram of energetic states of a photoluminescent molecule.

hovoj relativnoj orijentaciji i udaljenosti. Kritična udaljenost na kojoj se može dogoditi prijenos energije nalazi se u rasponu od 0,5 nm do 10 nm. Donori su fluorescirajuće specije, a akceptori su ili fluorescirajuće ili apsorbirajuće specije. Prednost senzora temeljenih na prijenosu energije je da se u njima mogu primijeniti gotovo svi apsorpcijski indikatori. Indikatori (akceptori) se kombiniraju sa stabilnim fluoroforima (donori), a uvjet koji pri tome mora biti ispunjen je da prekrivanje spektara bude dovoljno veliko.

Optička vlakna

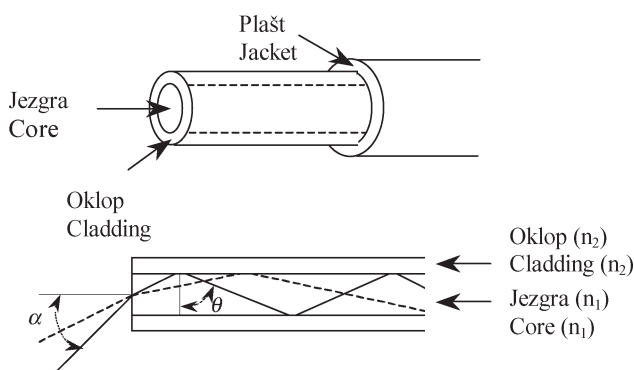
U razvoju optičkih senzora presudno je bilo otkriće iz 1966. godine da se svjetlo može prenositi optičkim vlaknima uz minimalne gubitke na snazi.² Petnaest godina kasnije uslijedila je industrijska proizvodnja djelotvornih optičkih vlakana, kojima je bilo moguće prenijeti velike količine podataka u vrlo kratkom vremenu. Iskorištavajući princip totalne unutarnje refleksije, omogućen je prijenos zračenja na udaljenostima 1 m do 1000 i više metara.

Optička vlakna sastoje se od jezgre indeksa loma n_1 i oklopa manjeg indeksa loma n_2 (slika 3).³ Izvana su prevučena zaštitnim plaštom koji ne utječe na svojstva vodljivosti vlakna. Upadna zraka ulazi pod određenim kutem u optičko vlakno, lomi se pod manjim kutem jer je ušla u optički gušće sredstvo i totalno reflektira na granici jezgre i oklopa. Na taj način kroz vlakno putuju sve zrake koje u vlakno upadaju pod određenim kutem α odnosno one koje na granicu jezgre i oklopa dolaze pod kutem većim od kritičnog kuta θ . Kut α ovisi o indeksima loma jezgre n_1 oklopa n_2 i okoline n_0 prema izrazu

$$\sin \alpha = (n_1^2 - n_2^2)^{1/2} / n_0. \quad (3)$$

Raspon kuteva češće je opisan izrazom *numerička apertura*, NA, definiranom kao

$$NA = n_0 \cdot \sin \alpha. \quad (4)$$

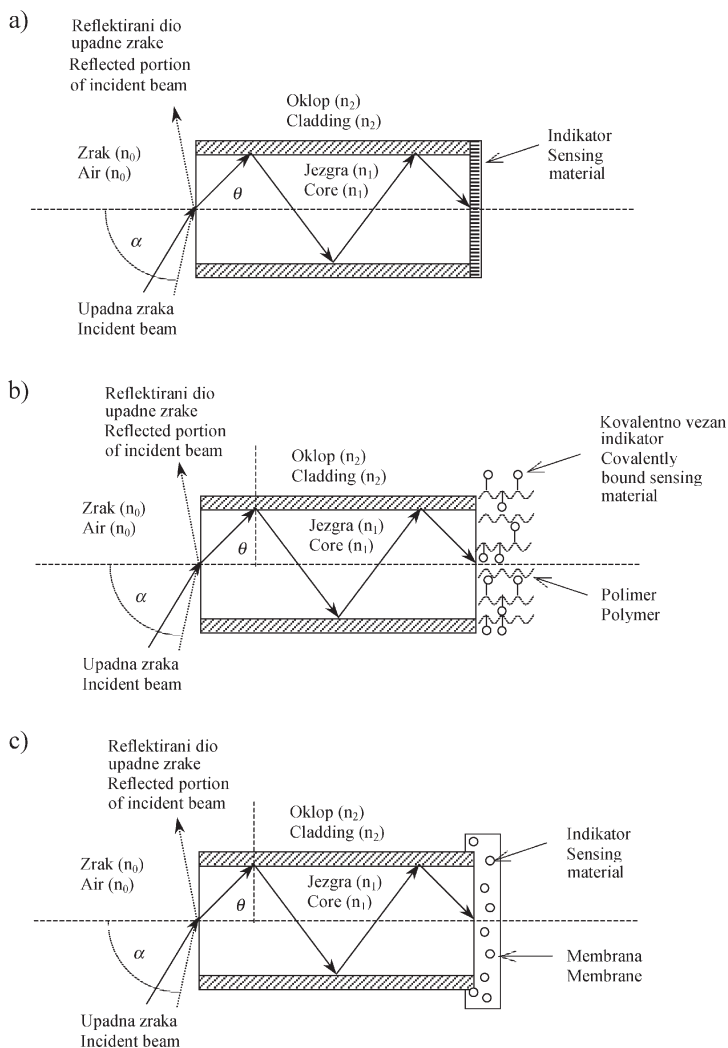


Slika 3 – Shematski prikaz optičkog vlakna i puta zračenja kroz vlakno.

Fig. 3 – Schematic outline of an optical fiber and a path of light through the fiber.

Konfiguracije optičkih senzora

Najšire primijenjene konfiguracije optičkih senzora sastoje se od jednog ili više optičkih vlakna na čijem je vrhu smještena osjetljiva površina koja sadrži indikator selekti-

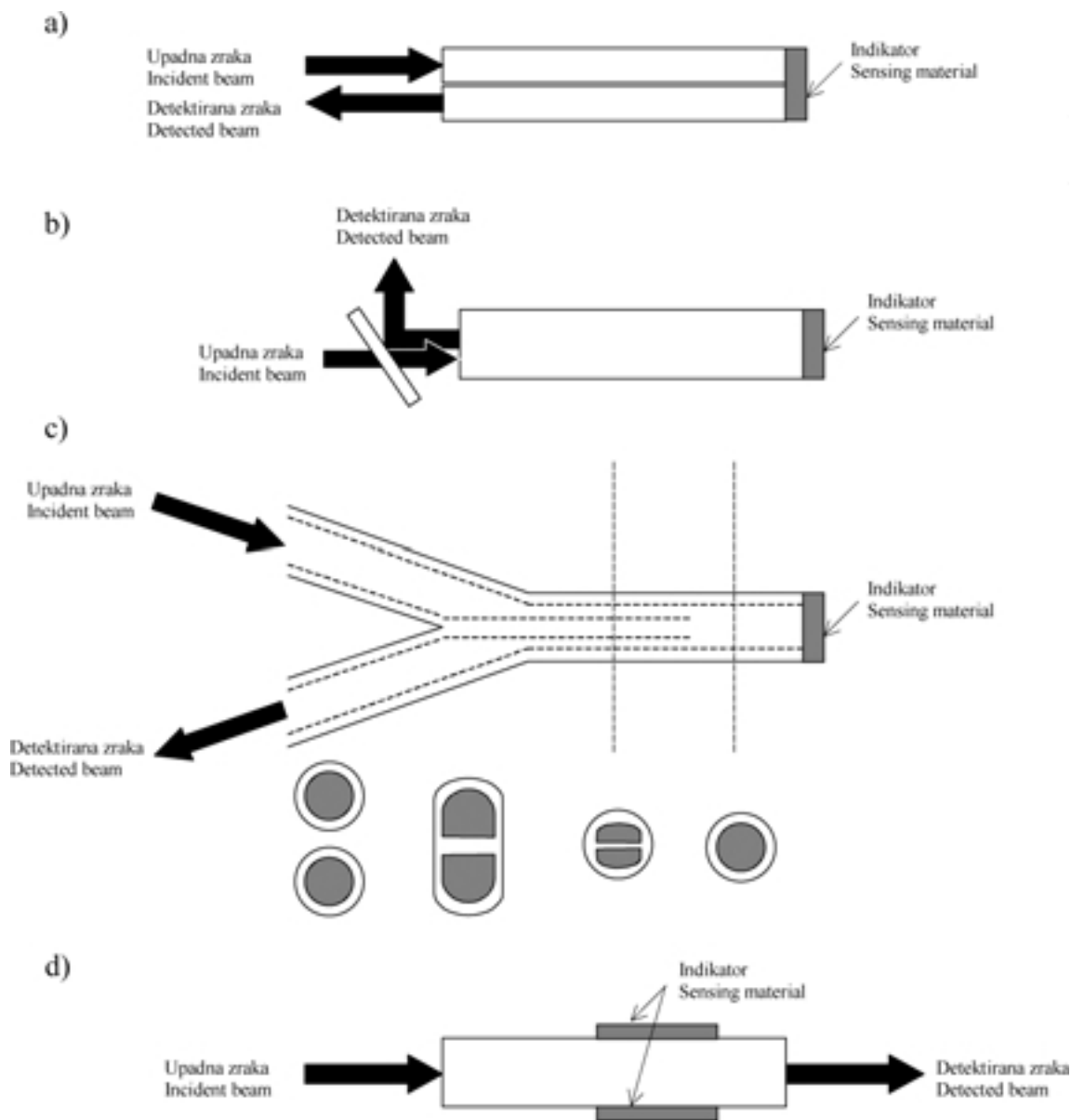


Slika 4 – Sustav optičkog senzora s optičkim vlaknom na čijem je kraju smještena osjetljiva površina.

Fig. 4 – Fiber optic chemical sensor with the sensing material placed at the fiber end.

van za analit (slika 4a). S obzirom na to da se najčešće primjenjuju vlakna promjera između 100 μm i 600 μm , vrlo mala količina reagensa na maloj površini vrha vlakna (od $7 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2$ do $3 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^2$) uzrokuje nepošeljnu pojavu šuma, što ima za posljedicu izobličenje mjernog signala a time i nepouzdanost odziva. Sa svrhom imobilizacije dovoljne količine indikatora i pojačanja signala, aktivni sastojci se kovalentno vežu (slika 4b) ili ugrađuju u polimerne membrane ili porozna stakla (slika 4c).⁴

U optičkim sensorima konstruiranim od dva odvojena optička vlakna, zračenje iz izvora se jednim vlaknom prenosi do vrha senzora, dok se zračenje s vrha senzora drugim vlaknom sakuplja i upućuje prema detektoru (slika 5a). Alternativno, jedno optičko vlakno također može poslužiti za prijenos pobudnog i emitiranog zračenja (slika 5b). U tom slučaju se primjenjuje laser kao izvor vrlo uske i intenzivne pobudne zrake. Nakon prolaska kroz otvor na zrcalu, smještenog na ulazu u vlakno, upadna zraka putuje optičkim vlaknom do vrha senzora. Povratna zraka sa osjetljive površine giba se istim vlaknom nazad, reflektira se na zrcalu i detektira pod kutem od 90°. Radi postizanja boljeg odvajanja reflektiranog ili emitiranog zračenja od upadnog



Slika 5 – Konfiguracije kemijskih optičkih senzora⁴: s dva vlakna (a); s jednim vlaknom (b); s jednim vlaknom koje se dijeli kako je prikazano na presjeku (c); s jednim vlaknom i senzorskim sustavom smještenim direktno na jezgri vlakna.

Fig. 5 – Configurations of chemical optical sensors⁴: with two fibers (a); with single fiber (b); with single fiber spliced as shown in the cross-section (c); with single fiber and sensor system placed directly on the core.

zračenja primjenjuje se optičko vlakno podijeljeno na ogranke koji posebno prenose upadno i povratno zračenje (slika 5c). Ukoliko se senzorski sustav ugradi na samo vlakno, promjena optičkog signala događa se unutar vlakna (slika 5d). Na jednom kraju vlakna upadna zraka ulazi u vlakno, a na drugom kraju promijenjena zraka izlazi iz vlakna i putuje prema detekcijskom uređaju. U slučaju kada je osjetljivi reagens imobiliziran na stijenkama optičkog vlakna čiji je oklop uklonjen odnosno direktno na jezgri vlakna, javlja se efekt iščezavajućeg vala.⁵

Kao što je spomenuto, u optičkom vodiču zračenje se potpuno reflektira na granici između optički gušćeg i optički rjeđeg sredstva, kada je kut upada zrake na granicu jezgre i oklopa veći od kritičnog kuta θ . Omjer između indeksa loma optički gušćeg n_1 i optički rjeđeg sredstva n_2 te kritičnog kuta definiran je izrazom

$$\sin \theta = n_1/n_2 . \quad (5)$$

Međutim, zraka se ne reflektira na samoj granici faza različite optičke gustoće, već djelomice prodire u optički rjeđe sredstvo. Pri tome amplitudna vrijednost električnog polja ne pada trenutno na nulu, već se eksponencijalno smanjuje.

Udaljenost između upadne i reflektirane zrake (D) naziva se Goos-Hänchenov pomak. Pod pretpostavkom da je kut refleksije blizu kritičnog kuta θ , pomak se može izračunati prema sljedećem izrazu:

$$D = d_p \cdot \cos \theta . \quad (6)$$

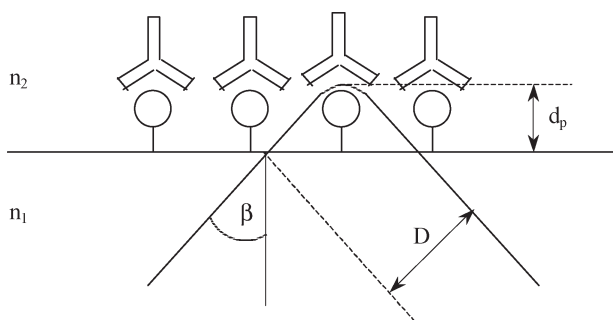
Dubina prodiranja (d_p) definirana je kao udaljenost unutar koje snaga električnog polja vala opada na $1/e$:

$$E = E_0 \cdot e^{-z/d_p}, \quad (7)$$

gdje je E amplituda električnog polja na dubini z . Osim o indeksima loma dvaju medija i kritičnom kutu, dubina prodiranja ovisi i o valnoj duljini zračenja

$$\lambda/d_p = 2 \cdot \pi \cdot n_1 \cdot [\sin^2 \theta - (n_2/n_1)^2]^{1/2}. \quad (8)$$

Za vidljivo zračenje vrijednosti d_p nalaze se u području između 50 nm i 1200 nm, što je više od debljine sloja proteina (primjerice antitijela) imobiliziranih na površini jezgre vlakna. Prema tome, zračenje koje prodire u takvu fazu može inducirati fluorescenciju fluorofora, biti apsorbirano ili raspršeno (slika 6).



Slika 6 – Refleksija zračenja na granici medija indeksa loma n_1 i n_2 , praćena iščezavanjem zračenja u optički rjeđem sredstvu.⁵

Fig. 6 – Reflection of light at the interface between media having refractive indices of n_1 and n_2 followed by the light evanescence into the optically rare medium.⁵

Iako optički sensor povezan optičkim vlaknima izgleda kao prilično jednostavan uređaj, njegov dizajn je složen jer obuhvaća niz disciplina: kemiju, imobilizaciju aktivnih sastojaka, spektroskopiju te optiku vlakna. Međutim, učinkovitost optičkog senzora ipak najviše ovisi o izboru odgovarajuće kemijske reakcije s analitom.⁶ Ona mora biti selektivna (specifična) i osjetljiva te rezultirati mjerljivom veličinom koja se može povezati sa željenom informacijom. Za velik broj analita već postoje vrlo dobro razrađene spektrofotometrijske ili spektrofluorimetrijske metode određivanja. Različite mogućnosti kombinacije dobro poznate indikatorske kemije i tehnika imobilizacije izvrsna su baza za razvoj osjetljivih optoda koje svoju primjenu mogu naći u analizi okoliša.

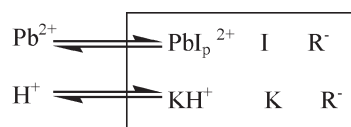
Primjeri optičkih senzora u analizi okoliša

Određivanje iona metala

Standardima o kakvoći pitke vode Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) i Agencije za zaštitu okoliša (EPA) propisana je maksimalna dopuštena koncentracija olova od 0,015 mg dm⁻³.⁷ Veće koncentracije mogu uzrokovati zastoj u mentalnom i fizičkom razvoju novorođenčadi i djece te bolesti bubrega i visoki krvni tlak u odraslih osoba. U vodu olovo najčešće dopijeva korozijom kućnih vodovodnih cijevi ili erozijom prirodnih naslaga u površinske i podzemne vode.

Optički sensor za određivanje olova u uzorcima riječnih voda konstruirali su *M. Lerchi* i sur.⁸ On se temelji na apsorpciji indikatorskog sustava koji omogućava izmjenu kationa između otopine analita i membrane od polivinilklorida (PVC). PVC membrana sadrži dvije različite specije: ligand selektivan za ione olova (ionofor) i indikator selektivan za H⁺ (kromoionofor). Radi očuvanja elektroneutralnosti, u membranu je ugrađen i anionski aditiv, kalijev tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)-fenil]borat. On omogućuje izmjenu iona između vodene i membranske faze te povećava lipofilnost boje i poboljšava njezinu topljivost u membrani.

Pri ionskoj izmjeni kationa, ionofor kompleksira analit iz otopine i unosi ga u membransku fazu (slika 7). Kompleksiranje ionofora s olovom reverzibilna je reakcija. Zbog očuvanja elektroneutralnosti proton istodobno mora izaći iz membrane, što rezultira deprotoniranjem i promjenom apsorpcijskih svojstava kromoionofora. Primjerice, povećanjem koncentracije olova u uzorku smanjuje se apsorpcija protoniranog oblika boje ETH 5418, a povećava apsorpcija deprotoniranog oblika (slika 8a). Promjenu optičkog signala ovisnog o koncentraciji analita moguće je pratiti indirektno apsorpcijom protoniranog oblika kromoionofora pri 665 nm ili deprotoniranog oblika pri 521 nm.



I – ionofor K – kromoionofor R – anionski aditiv
I – ionophore K – chromoionophore E – anionic additive

Slika 7 – Izmjena kationa između otopine analita i PVC membrane.

Fig. 7 – Cation exchange between the analyte solution and the PVC membrane.



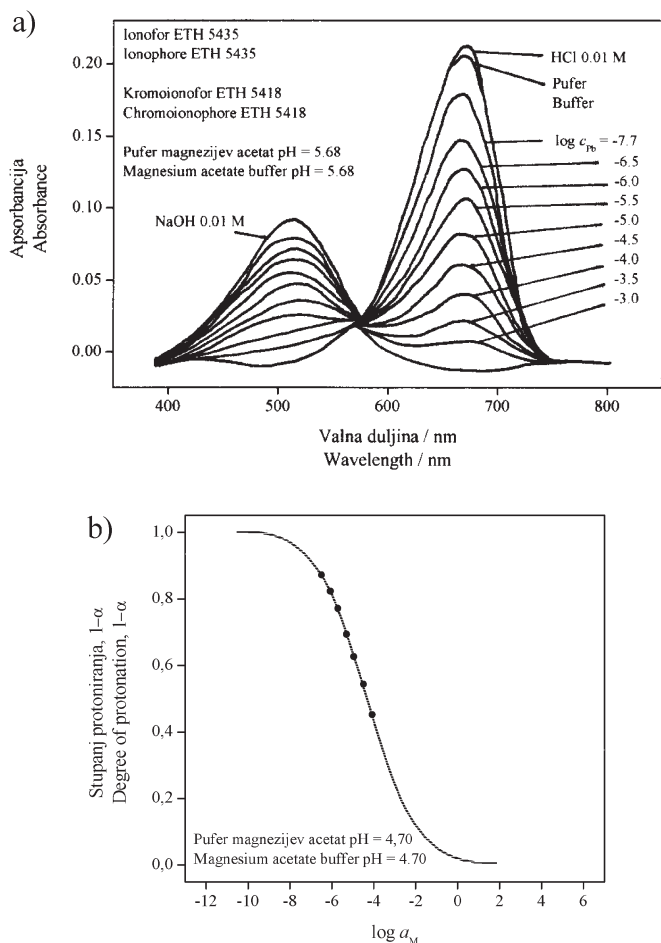
U reakciji su aktivitetom označene vrste prisutne u otopini, a zagradama vrste u membrani, pri čemu je I ionofor, K kromoionofor, a p broj molekula ionofora vezanih u kompleks s ionom olova. Funkcija odziva optode (slika 8b) za mjereni kation Pb^{2+} glasi

$$a_{\text{Pb}^{2+}} = \left(K_{\text{exch}}^{\text{Pb}} \right)^{-1} \cdot \left[\alpha \cdot a_{\text{H}^+} / (1 - \alpha) \right]^2 \cdot \frac{[\text{R}_T] - (1 - \alpha) \cdot [\text{K}_T]}{2 \cdot \{ [\text{I}_T] - p/2 \cdot [[\text{R}_T] - (1 - \alpha) \cdot [\text{K}_T]] \}^p}, \quad (9)$$

gdje je $a_{\text{Pb}^{2+}}$ aktivitet iona olova, $[\text{I}_T]$ ukupna koncentracija ionofora, $[\text{K}_T]$ ukupna koncentracija kromoionofora, $[\text{R}_T]$ ukupna koncentracija anionskog aditiva, $K_{\text{exch}}^{\text{Pb}}$ konstanta ionske izmjene membrane, a veličina α relativni udjel deprotoniranog kromoionofora. Relativni udjel protoniranog kromoionofora $1 - \alpha$ računa se prema izrazu

$$1 - \alpha = [\text{KH}^+] / [\text{K}_T] = (A - D) / (P - D), \quad (10)$$

u kojem su P , D i A signali apsorpcije potpuno protoniranog kromoionofora, potpuno deprotoniranog kromoionofora odnosno kromoionofora pri određenoj ravnoteži.



Slika 8 – Apsorpcijski spektri membrane s ionoforom ETH 5435 i kromoionoforom ETH 5418 (a) i krivulja odziva membrane (b).⁸
 Fig. 8 – Absorption spectra of the membrane with ionophore ETH 5435 and chromoionophore ETH 5418 (a) and the response curve of the membrane (b).⁸

Selektivnost optoda s nizom kombinacija ionofora, ETH 322, ETH, 5428, ETH 5435, ETH 295, i kromoionofora, ETH 5294, ETH 2439, ETH 5418, ETH 5315, (slika 9) uspoređena je s traženim koeficijentima selektivnosti s obzirom na koncentracije iona metala u rijekama (tablica 1). ETH 322 gubi selektivnost za ione olova u prisutnosti zemnoalkalnih metala, što se pripisuje njegovoj molekularnoj strukturi koja nalikuje strukturi ionofora za kalcij. Simetrično supstituirani ionofor ETH 5428 pokazuje vrlo dobru selektivnost za ione olova u prisutnosti magnezijevih iona. Pretpostavlja se da četiri duga lipofilna lanca onemogućuju čvrsto kompleksiranje malih magnezijevih iona. ETH 295 selektivniji je za ione olova u prisutnosti kalcija od ETH 322, ali još uvijek nedovoljno selektivan za primjenu u analizi okoliša. Zadovoljavajući koeficijenti selektivnosti za olovo u prisutnosti iona alkalnih i zemnoalkalnih metala određeni su za optodu koja sadrži ionofor ETH 5435. Pretpostavlja se da su atomi sumpora u strukturi ionofora odgovorni za koordinaciju iona olova.

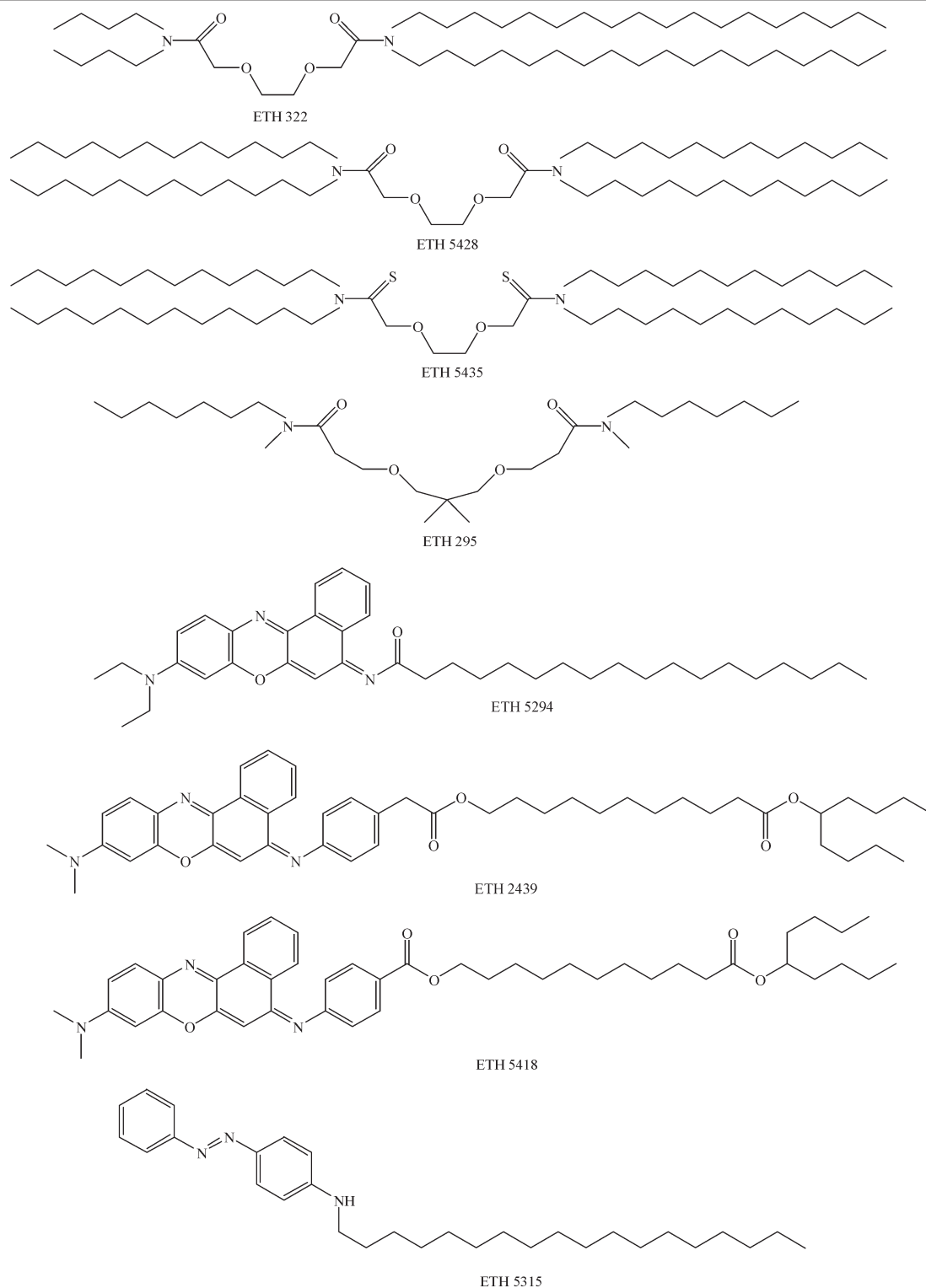
Dinamičko područje optode ovisi o pH vrijednosti uzorka i bazičnosti kromoionofora (slika 10). U otopini veće pH vrijednosti, pH 5,68, baždarna krivulja membrane pomaknuta je prema nižim koncentracijama olova. Što je pH vrijednost uzorka sličnija pK_a vrijednosti boje, manja koncentracija iona metala, unesena u membranu kompleksiranjem s ionoforom, uzrokuje deprotoniranje boje koje rezultira mjerljivom promjenom optičkog signala.

Vrijeme odziva membrane definira se kao vrijeme potrebno za postizanje 95 % ukupne promjene signala. U ovom slučaju izraženo je u minutama, a ovisi o koncentraciji iona olova u uzorku (slika 11). Pri protoku otopina koncentracija manjih od 10^{-6} mol dm^{-3} zasićenje membrane olovom koje rezultira mjerljivom promjenom signala postiže se tek nakon 220 minuta. Međutim, kratka vremena odziva ionako nisu nužna pri praćenju stanja okoliša.

Tablica 1 – Usporedba koeficijenata selektivnosti, \log ispitivanih ionofora i traženih koeficijenata selektivnosti za ione olova u rječnim vodama

Table 1 – Selectivity coefficients, \log , for investigated ionophores in comparison with selectivity coefficients required for lead ions in the river waters

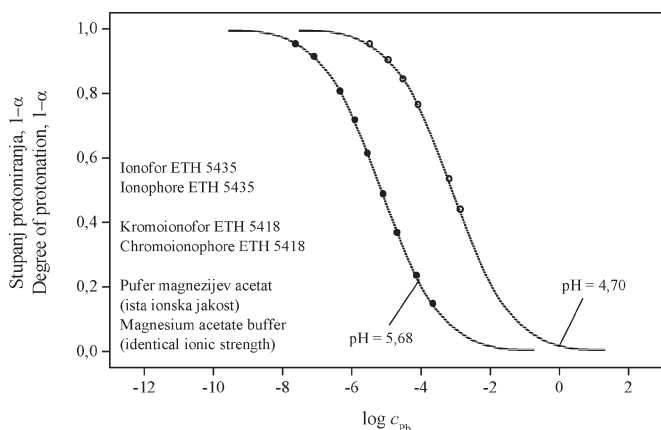
Ion Ion	Traženi koeficijent selektivnosti Required selectivity coefficient	ETH 322	ETH 5428	ETH 295	ETH 5435
Na ⁺	-4,6	-4,4			-5,6
K ⁺	-3,6	-5,0			-5,3
NH ₄ ⁺	-2,9	-5,2			
Mg ²⁺	-4,4	-4,8	-6,4	-4,7	-10,9
Ca ²⁺	-4,9	-0,6		-1,8	-10,8
Ba ²⁺		-0,3			
Mn ²⁺	-0,6				-3,0
Co ²⁺					-6,5
Ni ²⁺	-0,3				-4,8
Cu ²⁺	0,6				0,7
Zn ²⁺	-1,3				-4,6
Cd ²⁺	0,9				1,2

Slika 9 – Molekulske strukture ispitivanih ionofora i kromoionofora.⁸Fig. 9 – Molecular structures of the ionophores and chromoionophores used.⁸

Na istom principu *M. Lerchi* i sur.⁹ razvili su kemijski optički senzor za određivanje iona srebra u pitkoj vodi. Ioni srebra sastavni su dio soli koje se u vodu dodaju radi dezinfekcije. U slučaju kada PVC membrana sadrži kromoionofor ETH 5418 i ionofor za ione srebra, metilen bis(2-tio-benzotiazol) (MBTBT) (slika 12), pH osjetljive promjene apsorpcije boje uzrokovane ionskom izmjenom srebrovih iona iz vodene otopine i protona iz membrane zabilježene

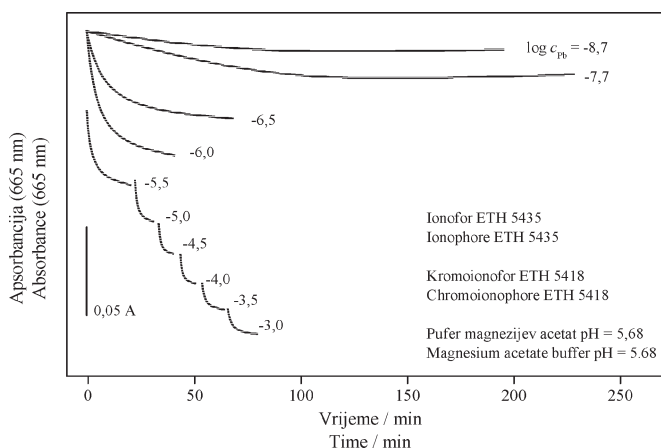
su u koncentracijskom području iona srebra između 10^{-8} mol dm^{-3} i 10^{-6} mol dm^{-3} .

Jednako dinamičko područje optode za određivanje iona srebra karakterizira PVC membranu koja uz isti kromoionofor, ETH 5418, sadrži ionofor drugačije molekulske strukture, metilen bis(diizobutilditokarbamat) (MBDiBDTC) (slika 12). Tom membranom moguće je određivati i živu.¹⁰



Slika 10 – Stupanj protoniranja kromoionofora membrane s ionoforom ETH 5435 i kromoionoforom ETH 5418 u ovisnosti o koncentraciji olova.⁸

Fig. 10 – Degree of chromoionophore protonation of membrane with ionophore ETH 5435 and chromoionophore ETH 5418 as a function of the lead concentration.⁸



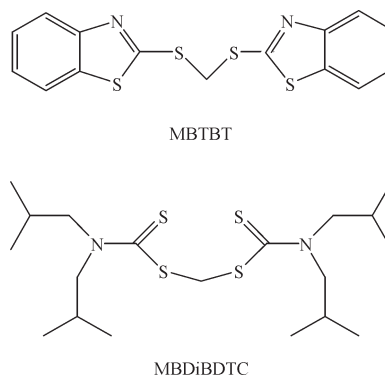
Slika 11 – Vrijeme odziva optode s ionoforom ETH 5435 i kromoionoforom ETH 5418 u ovisnosti o koncentraciji olova.⁸

Fig. 11 – Response time of an optode with ionophore ETH 5435 and chromoionophore ETH 5418 depending on the lead concentration.⁸

Tablica 2 – Dinamičko područje i granice detekcije opisanih optoda

Table 2 – Dynamic range and detection limits of the described optodes

Analit Analyte	Ionofor Ionophore	Kromoionofor Chromoionophore	pH uzorka Sample pH	Granica detekcije / mol dm ⁻³ Detection limit / mol dm ⁻³	Dinamičko područje / mol dm ⁻³ Dynamic range / mol dm ⁻³
Pb ²⁺	ETH 322	ETH 5418	4,60	5,0 · 10 ⁻⁹	5,0 · 10 ⁻⁹ – 1,6 · 10 ⁻⁵
Pb ²⁺	ETH 322	ETH 2439	4,60	5,0 · 10 ⁻⁷	5,0 · 10 ⁻⁷ – 3,2 · 10 ⁻³
Pb ²⁺	ETH 5435	ETH 5418	5,68	3,2 · 10 ⁻¹²	3,2 · 10 ⁻⁸ – 3,2 · 10 ⁻⁴
Pb ²⁺	ETH 5435	ETH 5418	4,70	3,2 · 10 ⁻¹⁰	2,0 · 10 ⁻⁶ – 4,0 · 10 ⁻²
Ag ⁺	MBTBT	ETH 5418	7,80	1,6 · 10 ⁻⁹	1,0 · 10 ⁻⁸ – 1,0 · 10 ⁻⁶
Ag ⁺	MBDiBDTC	ETH 5418	4,70	2,5 · 10 ⁻⁹	1,0 · 10 ⁻⁸ – 1,0 · 10 ⁻⁶
Hg ²⁺	MBDiBDTC	ETH 5418	4,70	1,0 · 10 ⁻⁶	1,0 · 10 ⁻⁶ – 5,0 · 10 ⁻⁵
UO ₂ ²⁺	ETH 295	ETH 5315	3,60	3,2 · 10 ⁻⁸	2,3 · 10 ⁻⁶ – 1,0 · 10 ⁻⁴



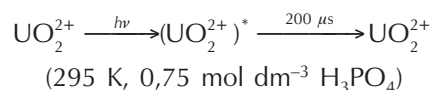
Slika 12 – Molekulske strukture ionofora za katione srebra i žive.^{9,10}

Fig. 12 – Molecular structures of ionophores for silver and mercury cations.^{9,10}

Ukoliko se u PVC membranu ugrade kromoionofor ETH 5315 i ionofor ETH 295 (slika 9), membrana je osjetljiva na uranil ione u vodenim otopinama koncentracija od $2,3 \cdot 10^{-6}$ mol dm⁻³ do $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³.¹¹

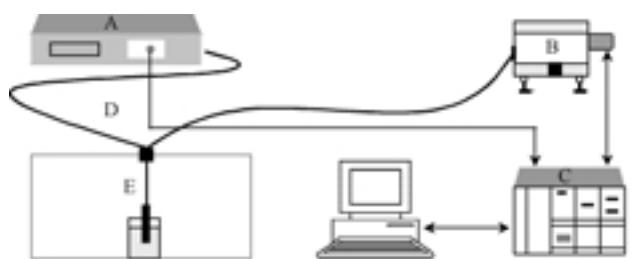
Kombinacijom selektivnih ionofora i kromoionofora moguće je konstruirati optičke senzore za različite analite u analizi okoliša (tablica 2). Odabirom prikladnog kromoionofora i pH vrijednosti mjerne otopine moguće je ispuniti zahtjev za postavljenim granicama detekcije. Iako indikatorski sustavi ugrađeni u PVC membrane omogućavaju relativno brzo, selektivno i osjetljivo određivanje analita, a same membrane se lako mogu pričvrstiti na kraj optičkog vlakna, opisane su i razvijene i drugačije izvedbe optoda.

Primjerice, C. Moulin i sur.¹² konstruirali su optodu za određivanje uranija koja se temelji na fluorescenciji uranil iona u prisutnosti fosforne kiseline. Fosfati kompleksiraju uranil ion, pri čemu sprečavaju njegovu interakciju s vodom i supstancijama koje gase luminiscenciju.



Prednosti te metode su osjetljivost, brzina, dinamičko područje koncentracija od ng dm^{-3} do mg dm^{-3} te trostruka selektivnost. Uranil ioni mogu se pobuditi zračenjem pri 337 nm ili 425 nm, nakon čega emitiraju pri 494 nm, 516 nm, 540 nm i 565 nm. Vrijeme života pobuđenog stanja ovisi o okruženju uranil iona i iznosi između $2 \mu\text{s}$ u nekompleksirajućem mediju i $200 \mu\text{s}$ u kompleksirajućem mediju kao što je fosforna kiselina.

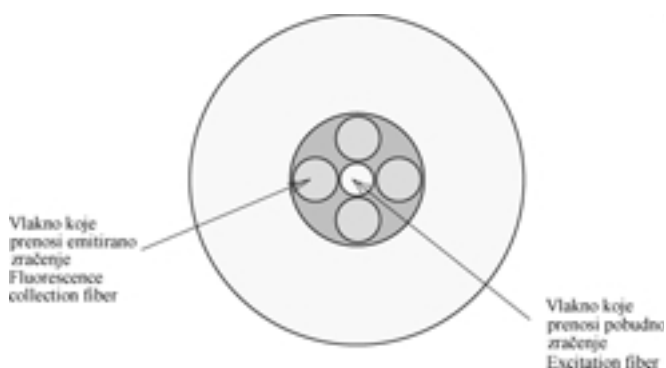
Zračenje iz dušikova lasera valne duljine 337 nm prenosi se 10 m dugim optičkim vlaknom do vrha optode (slika 13). Fluorescencija uranil iona sakuplja se s četiri optička vlakna koncentrično smještenih oko pobudnog vlakna (slika 14) i usmjerava prema spektrofotometru. Optoda je smještena u cijevi od nehrđajućeg čelika ili PVC-a na čijem se vrhu nalazi kvarcno staklo koje sprečava kontakt s mjernom otopinom. S obzirom na to da se mjerni uzorci pripravljavu dokapavanjem fosforne kiseline ovo je primjer "pasivne" optode.



A – laser
A – laser
B – višekanalni analizator
B – multichannel analyser
C – kontrolna jedinica
C – control unit
D – optička vlakna
D – optic fibers
E – "pasivna" optoda
E – "passive" optode

Slika 13 – Shematski prikaz sustava optičkog senzora povezanog optičkim vlaknima za određivanje uranija na temelju fluorescencije.¹²

Fig. 13 – Schematic outline of the fluorescence based fiber optic chemical sensor for uranium determination.¹²



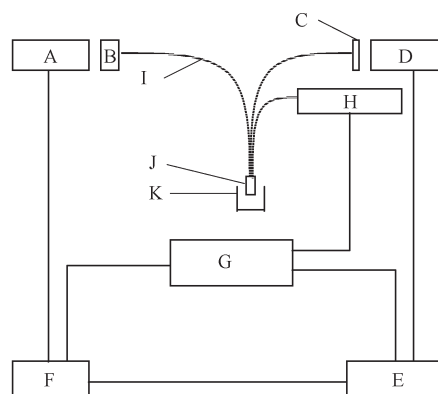
Slika 14 – Presjek optode.¹²
Fig. 14 – Cross section of an optode.¹²

Granica detekcije određivanja uranil iona je 50 ng dm^{-3} ($2,5 \cdot 10^{-10} \text{ mol dm}^{-3}$), a trajanje analize od 15 do 20 min. Optoda je primijenjena pri određivanju koncentracije uranija metodom dodatka standarda u radioaktivnim uzorcima sakupljenim u ciklusu nuklearnog goriva.

Ovakva izvedba kemijski aktivne optode koja bi na vrhu vlakna imala ugrađen i spremnik s kompleksirajućim agensom omogućila bi praćenje uranija u okolišu u područjima odlaganja nuklearnog otpada. Opisani sustav također bi bio prikladan i za određivanje fluorescentnih trovalentnih aktinida, primjerice kurija te lantanida.

Optički senzor za određivanje *in situ* uranija u vodama konstruirali su P. T. Varineau i sur.¹³ Mehanizam odziva ove optode također se temelji na mjerenju intenziteta emisije UO_2^{2+} iona kompleksiranih fosfatnim ionima.

Protočna optoda povezana je optičkim vlaknima s izvorom zračenja, dušikovim laserom koji emitira zračenje valne duljine 337 nm te detektorom ispred kojeg se nalazi filter koji propušta emitirano zračenje valnih duljina od 480 nm do 520 nm (slika 15). Pumpa osigurava protok fosforne kiseline kroz optodu. Ostale komponente u mjernom sustavu omogućuju kontrolu i pretvorbu signala te očitavanje mjerenih podataka.

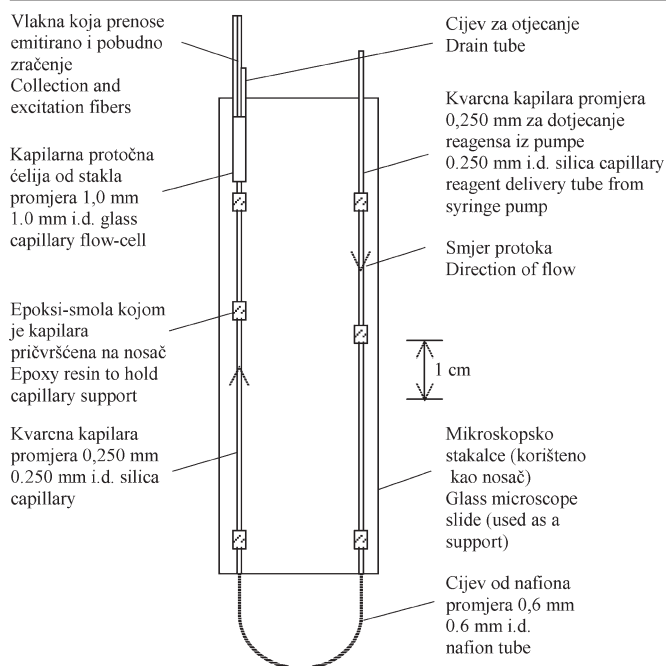


A – laser
A – laser
B – objektiv mikroskopa
B – microscope objective
C – interferencijski filter
C – interference filter
D – fotomultiplikator
D – photomultiplier
E – osciloskop
E – oscilloscope
F – otponac
F – trigger
G – računalom
G – computer
H – pumpa
H – pump
I – vlakno (2 metra)
I – fiber (2 meters)
J – protočna optoda
J – flow optode
K – uzorak
K – sample

Slika 15 – Shematski prikaz sustava optičkog senzora povezanog optičkim vlaknima za određivanje *in situ* uranil iona na temelju fluorescencije.¹³

Fig. 15 – Schematic outline of the fluorescence based fiber optic chemical sensor for *in situ* determination of uranyl ions.¹³

Najvažniji dio protočne optode je cijev od nafiona. Nafion sadrži perfluorosulfonatne skupine koje omogućavaju izmjenu i prijenos kationa. Kapilarnim cijevima fosforna kiselina protječe kroz sustav i puni cijev od nafiona (slika 16). Protok se zatim zaustavlja, nakon čega uranil ioni iz otopine uzorka difundiraju kroz membranu od nafiona u cijev. Istodobno, radi očuvanja elektroneutralnosti, kationi natrija i vodika difundiraju u suprotnom smjeru, tj. iz cijevi u otopinu. Nakon što je ravnoteža uspostavljena, protok kroz ćeliju se nastavlja, pri čemu otopina iz cijevi puni mikrooptičku ćeliju za analizu. S obzirom na to da staklena mikrooptička ćelija nema kontakt s otopinom uzorka, promjene u indeksu loma, apsorpcijskom koeficijentu te koncentraciji supstancija koje bi mogle uzrokovati raspršenje zračenja ne utječu na detektirano zračenje.



Slika 16 – Shematski prikaz protočne optode.¹³
 Fig. 16 – Schematic outline of the flow optode.¹³

Dugo vrijeme života emisije uranil iona, koje u 0,75 mol dm⁻³ fosfornoj kiselini iznosi oko 200 μs, prednost je pri mjerenju u otopinama interferirajućih spojeva. Intenzitet emisije uranil iona izmjeren 45 μs do 55 μs nakon pobude, eliminira utjecaj emitiranog zračenja organskih specija čije je vrijeme života pobuđena stanja manje od 100 ns.

S obzirom na vrijeme potrebno za difuziju iona kroz membranu, intenzitet emisije uranil iona zabilježen je nakon 30 min izlaganja optode otopini analita. Baždarni dijagram za određivanje uranil iona linearan je u području koncentracija od 10⁻⁹ mol dm⁻³ do 10⁻⁴ mol dm⁻³.

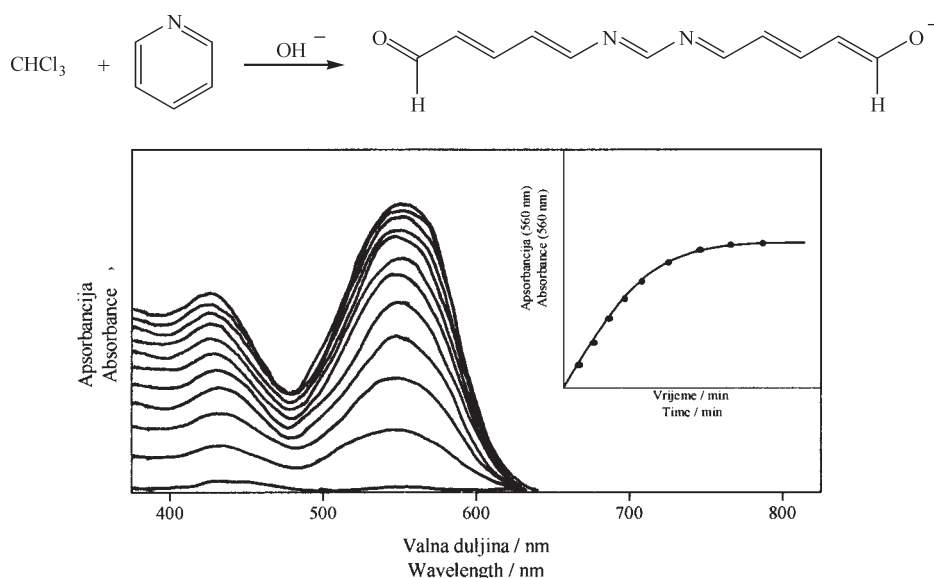
Određivanje kloriranih ugljikovodika

Onečišćenje podzemnih voda najčešće je uzrokovano neprimjerenim skladištenjem i odlaganjem štetnog otpada te istjecanjem mnogih industrijskih kemikalija u okolinu. Između kloriranih ugljikovodika koji putem tla dopijevaju u podzemne vode, najopasniji su kancerogeni trikloretilen i kloroform.

Kemijski senzor za određivanje kloroforma i trikloretilena u vodi konstruirali su *F. P. Milanovich* i sur.¹⁴ On se temelji na apsorpciji crveno obojenih konjugiranih molekula produkta tijekom reakcije kloriranih spojeva i piridina u lužnatom mediju (slika 17). Selektivnost reakcije prema trikloretilenu odnosno kloroformu određena je obujamskim omjerom piridina i tetrabutilamonijevog hidroksida u reagens smjesi.

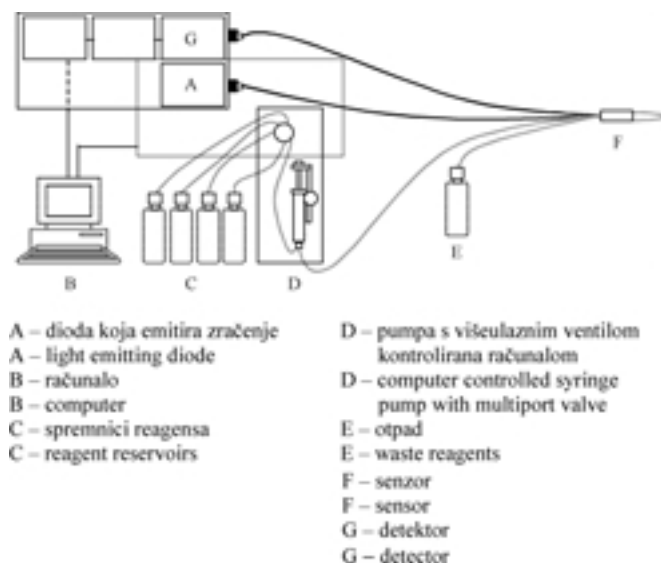
Optički mjerni sustav sastoji se od izvora zračenja koji mogu činiti lučna svjetiljka s filtrom ili laser ili pak luminiscentna dioda (LED) koja emitira zračenje pri 555 nm, senzora, fotodetektora i računala za kontrolu i očitavanje podataka (slika 18). S obzirom na to da je kemijska reakcija indikatorne smjese s analitom ireverzibilna, dotjecanje svježe otopine reagensa te otjecanje otpadne otopine omogućuju pumpa i spremnici reagens otopina i otpada. S izvorom zračenja i detektorom senzor je povezan optičkim vlaknima, a sa spremnicima kapilarnim cijevima (slika 19). Reagens je smješten u cijevi čije stijenke čini polupropusna membrana. Kada nema reakcije reagensa i analita, zračenje iz izvora raspršuje se na bijelim poroznim stijenjkama cijevi i optičkim vlaknom vraća prema detektoru. Međutim, kada se porozna cijev izloži parama analita, klorirani ugljikovodici difundiraju kroz membranu i reagiraju s piridinom. Obojeni produkti reakcije na unutrašnjim stijenjkama cijevi zamjetno smanjuju prijenos vidljivog zračenja kroz senzor.

Brzina promjene signala apsorpcije tijekom 60 s proporcionalna je koncentraciji analita u uzorku. Baždarni dijagram za određivanje trikloretilena linearan je u području masenog udjela 0–100 ppb (slika 20).

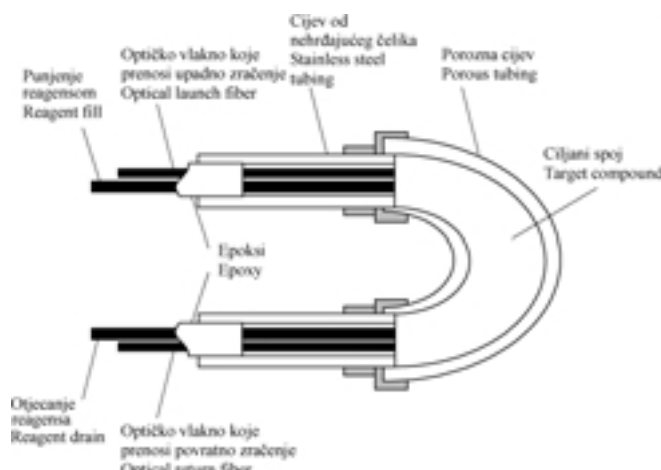


Slika 17 – Apsorpcijski spektri tijekom reakcije piridina s odgovarajućim kloriranim spojevima.¹⁴

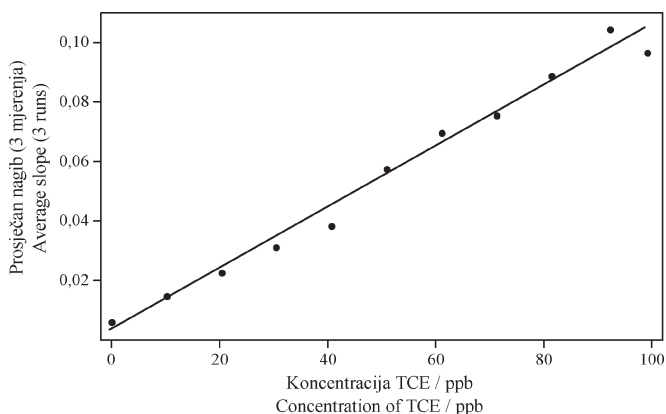
Fig. 17 – Absorption spectra during the reaction of pyridine with certain chlorinated compounds.¹⁴



Slika 18 – Shematski prikaz optičkog sustava senzora povezanog optičkim vlaknima za praćenje kloriranih ugljikovodika.¹⁴
Fig. 18 – Schematic outline of fiber optic chemical sensor for monitoring chlorinated hydrocarbons.¹⁴



Slika 19 – Shematski prikaz optode za određivanje kloriranih ugljikovodika.¹⁴
Fig. 19 – Schematic outline of the optode for chlorinated hydrocarbons determination.¹⁴



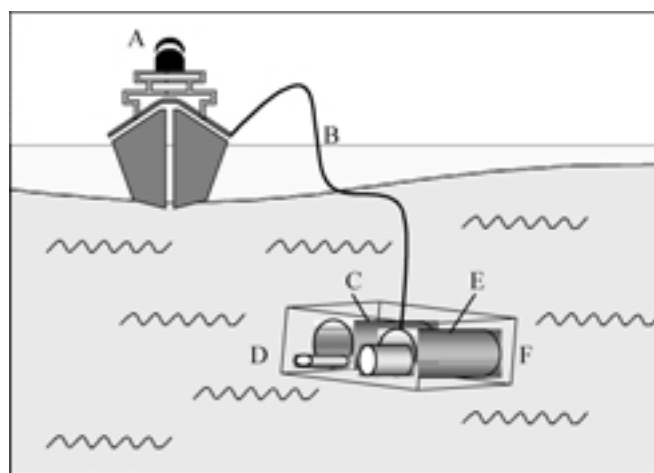
Slika 20 – Baždarni dijagram za trikloroetilen u vodi.¹⁴
Fig. 20 – Calibration curve for trichloroethylene in water.¹⁴

Uspoređeni su rezultati određivanja trikloroetilena u uzorcima podzemnih voda izmjereni optičkim senzorom i plinskom kromatografijom. Usprkos nešto nižim rezultatima izmjerenim optičkim senzorom, slaganje između vrijednosti mjerenja dvjema tehnikama je zadovoljavajuće. Na temelju opisane optode konstruiran je prenosivi uređaj za određivanje trikloroetilena, ugljikova tetraklorida i kloroforma u vodi, tlu i plinovitim uzorcima.¹⁵

Osim zaštiti podzemnih voda, velika pažnja posvećuje se zdravlju morskih eko sustava. Povećano onečišćenje oceana čini ozbiljnu prijetnju globalnim rezervama vode. Za praćenje kloriranih ugljikovodika u moru *B. Mizaikoff*¹⁶ je konstruirao optički senzor koji se temelji na apsorpciji iščezavajućeg vala u srednjem infracrvenom području ($3\ \mu\text{m}$ do $20\ \mu\text{m}$). Specifičnost i visoka osjetljivost senzora određene su jakim vibracijskim vrpčama analita u području "otiska prstiju" odnosno ispod $1100\ \text{cm}^{-1}$.

Prema zahtjevima podvodne instrumentacije, FTIR spektrometar smješten je u cilindričnoj cijevi promjera 250 mm i duljine 1 m (slika 21). U susjednoj cijevi nalazi se dodatni spektrometar koji je moguće povezati s drugim optičkim senzorom i na taj način istodobno mjeriti više različitih veličina. Uređaji se kontroliraju s broda, a komunikacija između računala na palubi i spektrometara pod vodom vođena je sustavom optičkih vlakana. Osnovne komponente FTIR sustava čine interferometar, izvor zračenja, zrcala koja usmjeravaju zračenje na vrh senzora i detektor, živa kadmijev telurid.

Senzorski dio, koji se nalazi na vrhu spektrometra, sastoji se od trapezoidnog kristala cinkova selenida, prevučenog slojem etilen/propilen kopolimera. Hidrofobni polimerni sloj omogućava ekstrakciju hidrofobnih analita iz vode, približavajući ih površini kristala, te djeluje kao zaštita od nagrizajuće morske vode. IR zračenje iz izvora ulazi u kri-



Slika 21 – Sustav optičkih senzora povezanih optičkim vlaknima za praćenje stanja mora.¹⁶
Fig. 21 – Fiber optic sensor based marine monitoring system.¹⁶

stal cinkova selenida, dolazi na granicu kristala i polimera na kojoj se odmah ne reflektira, već djeluje kao iščezavajući val. Zračenje koje prodire u polimer specifično apsorbiraju ekstrahirani klorirani ugljikovodici iz morske vode. S obzirom na to da je debljina polimernog sloja, 8 μm , veća od dubine prodiranja IR zračenja, izbjegnuta je apsorpcija pozadine odnosno vode i otopljenih supstancija u vodi.

Istodobno određivanje kemijski sličnih tvari omogućeno je specifičnim molekulskim apsorpcijskim vrpčama u području "otiska prstiju" (slika 22). Baždarni dijagrami za, primjerice tetrakloretilen i 1,2-diklorbenzen prikazuju ovisnost površina dobro odvojenih apsorpcijskih vrpca pri 911 cm^{-1} odnosno 747 cm^{-1} o koncentraciji analita (slika 23). Uočava se vrlo dobra linearna korelacija te granice detekcije od 100 ppb za tetrakloretilen te 115 ppb za 1,2-diklorbenzen.

Određivanje slanosti morske vode

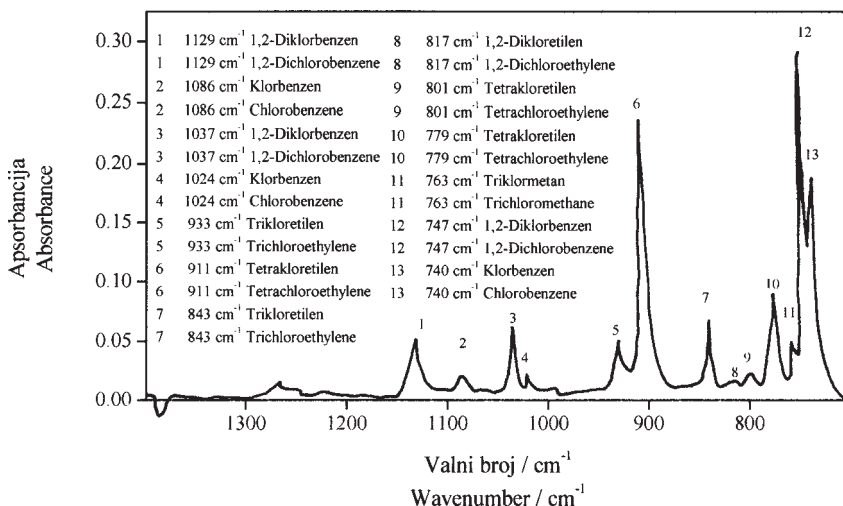
C. Huber i sur.¹⁷ razvili su kemijski optički senzor za određivanje slanosti morske vode koji se temelji na gašenju fluorescencije indikatora lucigenina kloridnim ionima. Slanost vode definira se kao udjel soli odnosno maseni udjel anorganskih tvari u morskoj vodi, a izražava se u $w/10^{-3}$. Kationi natrija, magnezija, kalcija i kalija te kloridni, sulfatni, bromidni i hidrogenkarbonatni anioni čine 99,9 % ukupnih otopljenih tvari, dok prosječna slanost morske vode iznosi 35 ‰ (tablica 3). Procesi koji uzrokuju promjenu slanosti uzrokovani su bilo gubitkom vode (ukoncentriranjem) bilo razrijeđivanjem. S obzirom na to da kemijski sastav pri tome ostaje nepromijenjen, mjerenjem koncentracije samo jednog konstituenta moguće je odrediti maseni udjel soli u otopini. Empirijski izraz koji prikazuje odnos slanosti i udjela klorida je sljedeći:

$$s = 0,03 + 1,805 \cdot w_{\text{Cl}^-} \quad (11)$$

gdje su s i slanost i udjel kloridnih iona izražene u promilima.

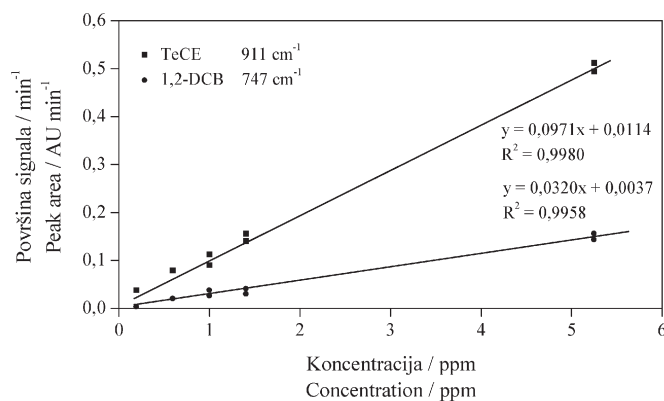
Opisana su dva pristupa određivanju slanosti vode optičkim senzorom koji se temelji na gašenju fluorescencije indikatora lucigenina kloridnim ionima.

U prvoj izvedbi, aktivnu površinu optode čini membrana od nafiona u kojoj je imobiliziran fluorescentni indikator lucigenin čija se emisija gasi u prisutnosti kloridnih iona. Dinamičko područje optode obuhvaća područje koncentracija kloridnih iona od 0,1 mol dm^{-3} do 2,0 mol dm^{-3} , što odgovara njihovoj koncentraciji u morskoj vodi (slika 24). Iako bromidni i jodidni ioni također gase fluorescenciju lucigenina, koncentracije tih iona u morskoj vodi, 0,8 mmol dm^{-3} odnosno 0,5 $\mu\text{mol dm}^{-3}$, niže su od granice detekcije optode za odgovarajuće ione. Membrana optode nije osjetljiva na ione natrija i magnezija, sulfatne i nitratne ione te protone u području $4 < \text{pH} < 9$. Vrijeme odziva membrane je 100 s.



Slika 22 – Asignacija apsorpcijskih vrpca šest kloriranih ugljikovodika.¹⁶

Fig. 22 – Absorption band assignment of six different chlorinated hydrocarbons.¹⁶



Slika 23 – Baždarni dijagrami za tetrakloretilen i 1,2-diklorbenzen iz dva mjerenja za svaku koncentraciju.¹⁶

Fig. 23 – Calibration graphs for tetrachloroethylene and 1,2-dichlorobenzene with two measurements at each concentration.¹⁶

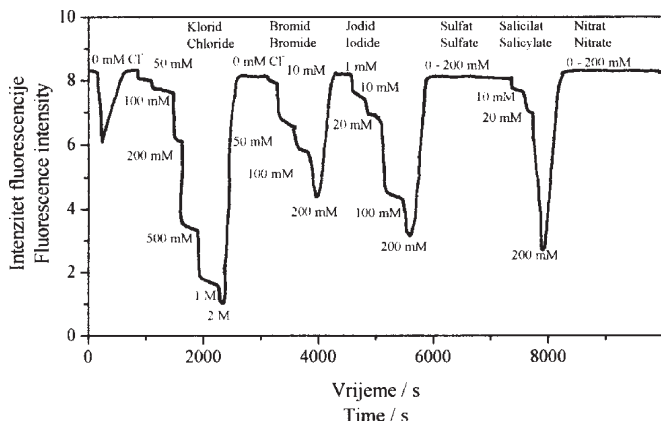
Tablica 3 – Osnovni konstituenti morske vode obzirom na slanost od 35 ‰

Table 3 – Main constituents of seawater corresponding to a salinity of 35 ‰

Kationi Cations	g kg^{-1}		mM		
	g kg^{-1}	mM	Anioni Anions	g kg^{-1}	mM
Natrij Sodium	10,77	479	Klorid Chloride	19,37	559
Magnezij Magnesium	1,30	54,4	Sulfat Sulfate	2,71	28,9
Kalcij Calcium	0,409	10,5	Karbonat ^a Carbonate	0,023	2,33
Kalij Potassium	0,388	10,4	Bromid Bromide	0,065	0,86
Stroncij Strontium	0,010	0,09	Fluorid Fluoride	$1 \cdot 10^{-3}$	0,075

^a prisutan kao HCO_3^- i H_2CO_3

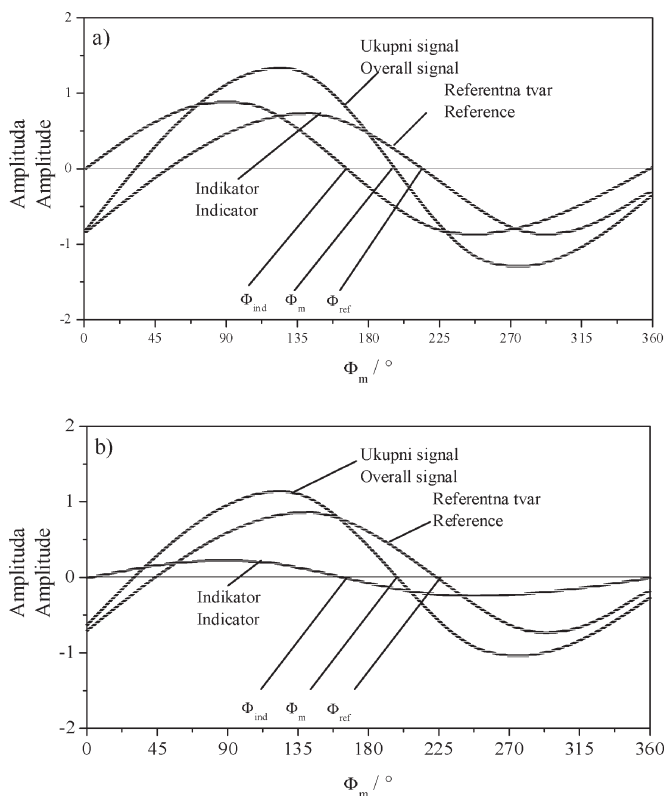
^a present as HCO_3^- and H_2CO_3



Slika 24 – Odziv membrane na kloride, bromide, jodide, sulfat, salicilate i nitrate.¹⁷

Fig. 24 – Response of membrane to chloride, bromide, iodide, sulfate, salicylate and nitrate, respectively.¹⁷

U drugoj izvedbi u membranu od nafiona, osim lucigenina, ugrađena su i poli(akrilonitrilna) zrna impregnirana kompleksom rutenija. Fosforescentni kompleks djeluje kao unutrašnji referentni luminofor, čija emisija ne ovisi o koncentraciji kloridnih iona u otopini. Intenzitet emisije indikatora i referentne tvari u frekvencijskoj domeni konvertira se u kut faze (slika 25). Promjene u omjeru intenziteta emisije fluorofora i luminofora uzrokuju fazni pomak ukupne luminiscencije odnosno promjenu kuta faze superponiranog sinusoidnog vala. U prisutnosti kloridnih io-

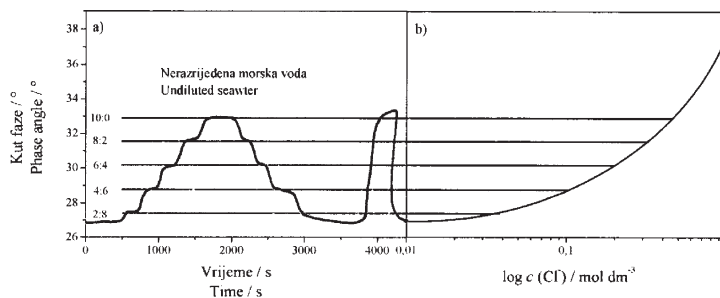


Slika 25 – Fazni pomak ukupne luminiscencije (ϕ_m), referentne tvari (ϕ_{ref}) i indikatora (ϕ_{ind}). Oblik signala u odsutnosti (a) i u prisutnosti (b) kloridnih iona.¹⁷

Fig. 25 – Phase shift of the overall luminiscence (ϕ_m), the reference (ϕ_{ref}) and the indicator (ϕ_{ind}). Signal shape in absence (a) and in presence of chloride (b).¹⁷

na intenzitet emisije lucigenina se smanjuje pri čemu se kut faze ukupne luminiscencije povećava. Dinamičko područje i vrijeme odziva optode za kloridne, bromidne i jodidne ione slaže se s rezultatima optode koja sadrži samo fluorescentni indikator.

Senzor je testiran u uzrocima vode Sjevernog mora (slika 26). Izmjerena koncentracija kloridnih iona, 545 mmol dm⁻³, odgovara slanosti od 34,1 ‰. Vrijednosti izmjerene optičkim senzorom, ionskom kromatografijom te titrimetrijom (metodom po Mohru) odstupaju unutar 1 %.



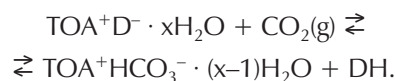
Slika 26 – Mjerenje slanosti morske vode (a). Različita slanost podešena je razrjeđivanjem vodom. Baždarni dijagram za kloride (b).¹⁷

Fig. 26 – Measurement of salinity in seawater (a). Different salinities were adjusted by dilution with water. Chloride calibration plot (b).¹⁷

Određivanje p_{CO_2}

Ugljikov dioksid ključan je čimbenik u brojnim biološkim i biokemijskim procesima. Oslobađa se tijekom metabolizma i troši tijekom fotosinteze. Njegova prisutnost u hidrosferi posljedica je, također, i složenih metaboličkih procesa mikroorganizama prisutnih u biofilmovima ili gornjim slojevima morskog i slatkovodnog sedimenta.

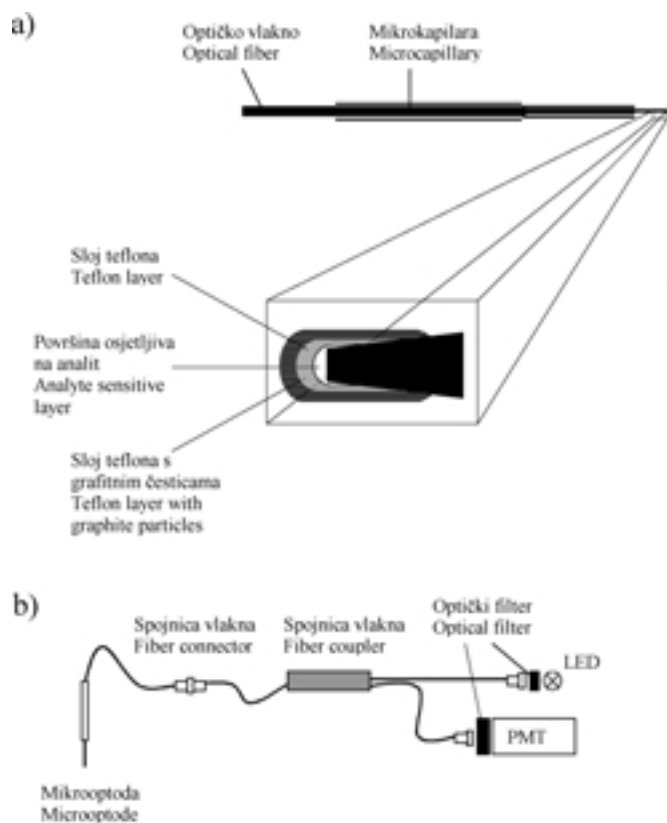
Optički mikrosenzor za određivanje p_{CO_2} konstruirali su G. Neurauder i sur.¹⁸ Optoda se temelji na mjerenju intenziteta fluorescencije pH osjetljivog indikatora. U prisutnosti CO₂ indikator se protonira, pri čemu gubi intenzivnu zelenu fluorescenciju prema sljedećoj reakciji



Na vrhu optičkog vlakna, promjera 20 do 40 μ m, smještena je osjetljiva površina mikrooptode koju čini fluorescentni indikator, 8-hidroksipiren-1,3,6-trisulfonska kiselina lipo-filizirana s tetraoktilamonijevim ionom, otopljen u membrani od etil celuloze. Membrana je prevučena slojem teflona propusnim za plin te dodatnim tamnim slojem teflona koji ima 5 % grafitnih mikročestica radi optičke izolacije. Mikrooptoda je optičkim vlaknima povezana s izvorom zračenja i detektorom (slika 27).

Vrijeme odziva senzora je manje od 1 minute, a dinamičko područje obuhvaća od 0,05 do 7 hPa CO₂.

Primjena optode u vodenom okolišu ispitana je u uzorku slatkovodnog sedimenta uzetog s dna jezera na dubini 0,5 m. Veliko povećanje p_{CO_2} zabilježeno u površinskih 5 mm sedimenta posljedica je disanja različitih prisutnih mikroorganizama (slika 28).

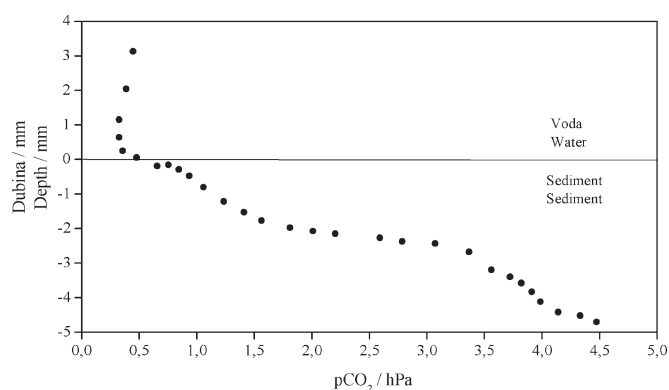


LED – dioda koja emitira zračenje
LED – light emitting diode

PMT – fotomultiplikator
PMT – photomultiplier

Slika 27 – Shematski prikaz $p\text{CO}_2$ mikrooptode (a) i optičkog sustava za mjerenje (b).¹⁸

Fig. 27 – Schematic view of a $p\text{CO}_2$ microoptode (a) and an optical measurement system (b).¹⁸



Slika 28 – Raspodjela $p\text{CO}_2$ u uzorku slatkovodnog sedimenta izmjerena s $p\text{CO}_2$ optodom.¹⁸

Fig. 28 – $p\text{CO}_2$ profile in a freshwater sediment measured with a $p\text{CO}_2$ microoptode.¹⁸

Zaključak

Minijaturizacija omogućuje razvoj vrlo malih, laganih i savitljivih optičkih uređaja. Optode su većinom jednostavnih konstrukcija i imaju malu temperaturnu ovisnost. Budući da se optički signal može optičkim vlaknima prenositi na relativno velike udaljenosti, moguće je optodama mjeriti *in situ*, izvan laboratorija, bez analitičara. To je velika prednost u slučaju potrebe mjerenja u teško dostupnim, opa-

snim i radioaktivnim područjima ili pak na izrazito toplim ili hladnim mjestima. Osim toga, jedno vlakno može prenositi više optičkih signala, što se može iskoristiti pri simultanoj analizi različitih specija.

Optode, za razliku od elektroda, ne zahtijevaju nužno referentni element. Osim toga, na optički signal ne utječu interferencije izazvane statičkim elektricitetom i magnetskim poljima.

Optički senzori su, međutim, ponekad karakterizirani duljim vremenom odziva (nekoliko sekundi do nekoliko minuta) i užim dinamičkim područjem od elektrokemijskih senzora.

Izmjereni optički signal podložan je interferencijama okolnog zračenja, apsorpcije ili fluorescencije pozadine te Ramanovog raspršenja. Na stabilnost optičkog signala utječu vrijeme života fotoosjetljivih tvari te ispiranje aktivnih sastojaka senzora. Stoga su daljnja istraživanja na području kemijskih optičkih senzora usmjerena na sintezu odgovarajućih kromofora i prikladne načine njihove imobilizacije.

ZAHVALA

Tema je dijelom obuhvaćena u magistarskom radu autora "Svojstva oktadecilamida rodamina 19 i primjena u optičkim sensorima" izrađenom u Zavodu za analitičku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanja na području kemijskih optičkih senzora odvijaju se u okviru znanstvenog projekta "Svojstva oktadecilamida rodamina 19 i primjena u optičkim sensorima" izrađenom u Zavodu za analitičku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanja na području kemijskih optičkih senzora odvijaju se u okviru znanstvenog projekta "Svojstva oktadecilamida rodamina 19 i primjena u optičkim sensorima" izrađenom u Zavodu za analitičku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanja na području kemijskih optičkih senzora odvijaju se u okviru znanstvenog projekta "Svojstva oktadecilamida rodamina 19 i primjena u optičkim sensorima" izrađenom u Zavodu za analitičku kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Zahvaljujem doc. dr. sc. Zvezdani Cimerman na uvođenju ovog aktualnog znanstvenog područja i sudjelovanju pri nabavi potrebne instrumentacije.

Literatura References

1. United Nations Environment Programme, Global Environment Outlook 2000, www.unep.org/Geo2000.
2. W. R. Seitz, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **19** (1988) 135.
3. O. S. Wolfbeis, *Fiber Optic Sensors*, u O. S. Wolfbeis (ur.), *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*. Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, 1991, str. 4–8.
4. S. M. Klainer, K. Goswami, D. K. Dandge, S. J. Simon, N. R. Herron, D. Eastwood i L. A. Eccles, *Environmental Monitoring Applications of Fiber Optic Chemical Sensors*, u O. S. Wolfbeis (ur.), *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*. Vol. 2, CRC Press, Boca Raton, 1991, str. 83–122.
5. O. S. Wolfbeis, *Spectroscopic Techniques*, u O. S. Wolfbeis (ur.), *Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors*. Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, 1991, str. 25–60.
6. S. Miljanić, Magistarski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2001.

7. U. S. Environment Protection Agency, National Primary Drinking Water Regulations, www.epa.gov/safewater/mcl.html.
8. M. Lerchi, E. Bakker, B. Rusterholz i W. Simon, *Anal. Chem.* **64** (1992) 1534.
9. M. Lerchi, F. Orsini, Z. Cimerman, E. Pretsch, D. A. Chowdhury i S. Kamata, *Anal. Chem.* **68** (1996) 3210.
10. M. Lerchi, E. Reitter, W. Simon, E. Pretsch, D. A. Chowdhury i S. Kamata, *Anal. Chem.* **66** (1994) 1713.
11. M. Lerchi, Doktorska disertacija, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Zürich, 1994.
12. C. Moulin, S. Rougeault, D. Hamon i P. Mauchien, *Appl. Spectrosc.* **47** (1993) 2007.
13. P. T. Varineau, R. Duesing i L. E. Wangen, *Appl. Spectrosc.* **45** (1991) 1652.
14. F. P. Milanovich, S. B. Brown, B. W. Colston Jr., P. F. Daley i K. C. Langry, *Talanta* **41** (1994) 2189.
15. J. C. Wells i D. A. Gobeli, *SPIE proceedings series* **2367** (1994) 90.
16. B. Mizaikoff, *Meas. Sci. Technol.* **10** (1999) 1185.
17. C. Huber, I. Klimant, C. Krause, T. Werner, T. Mayr i O. S. Wolfbeis, *Fresenius J. Anal. Chem.* **368** (2000) 196.
18. G. Neurauder, I. Klimant i O. S. Wolfbeis, *Fresenius J. Anal. Chem.* **366** (2000) 481.

SUMMARY

Optical Sensors in Environmental Analysis

S. Miljanić

Rapid population growth combined with industrialization, urbanization and agricultural intensification, has resulted in an increased consumption of natural resources and energy, massive waste production, and steadily growing environmental pollution. Availability and use of chemicals, exposure to pesticides, heavy metals and small particulates, emission of hazardous substances in the air, soil and water, pose an increasing threat to the health of humans and their environment.¹ Owing to governmental and public concern over the extent of environmental pollution, considerable effort has recently been directed towards developing advanced sensing instrumentation capable of continuous *in situ* and real-time monitoring.

A chemical sensor is a small analytical device, which can generate a measurable signal on the basis of a certain chemical characteristic of an analyte (Fig. 1). Optical chemical sensors (optodes) are used with optical methods of chemical analysis, mainly spectroscopy in UV/VIS and IR regions, measuring changes in optical property of an analyte or indicator as a function of analyte concentration. Optodes are usually coupled to optical fibers, which on the basis of total internal reflection allow the transmission of light over large distances, typically from 10 to 1000 m (Fig. 3).^{2, 3} There is a diversity of configurations of fiber optic chemical sensors, which differ depending on the arrangement of sensing material and of optical fibers (Fig. 4, 5, 6).^{4, 5}

The ion-selective compound, ionophore, and the proton-selective indicator, chromoionophore, immobilized in plasticized poly(vinyl chloride), are frequently employed in the fabrication of optodes for water monitoring. Based on the cation exchange mechanism between the polymer membrane and aqueous solution (Fig. 7), optodes for sensing lead⁸, silver^{9, 10}, mercury¹⁰ and uranyl cations¹¹ have been developed. Depending on the basicity of the chromoionophore and on the pH of the sample solution, reversibly working optodes show different dynamic ranges and detection limits (Fig. 10). Good sensitivity and selectivity towards lead in river water have been ascribed to an optical sensor with ionophore ETH 5435 and chromoionophore ETH 5418 (Tables 1, 2).

Optodes for uranium determination in the nuclear fuel cycle are based on the fluorescence of uranyl cation in the presence of phosphoric acid. In a setup with a chemically passive optode¹², optical fibers transmit light to and from the cell in which phosphoric acid has been manually added to a sample (Fig. 13, 14). For remote monitoring a flow optode¹³ has been designed. UO_2^{2+} ions diffuse through a Nafion membrane into a reaction/analysis chamber, filled up with H_3PO_4 (Fig. 15, 16). This setup allows environmental monitoring of uranium near a nuclear waste disposal site over concentration range of 10^{-4} – 10^{-9} mol dm⁻³.

An irreversible chemical reaction between chlorinated hydrocarbons and basic pyridine is a response mechanism of an optical sensor for chloroform and trichloroethylene determination.¹⁴ The reaction products in a semipermeable tube are detected by their absorption at 555 nm (Fig. 17) and can be monitored remotely with optical fibers (Fig. 18, 19). On this working principle a portable optical chemical sensor for sensing ppb levels of trichloroethylene, carbon tetrachloride and chloroform in water, soil and gaseous samples has been designed.¹⁵

For seawater monitoring a fiber optic evanescent wave sensor operating in the range 3–20 μm has been developed.¹⁶ The evanescent field, formed by interaction of the incident and reflected light in zinc selenide crystal, penetrates into a polymer medium where absorption by hydrocarbons, extracted from the seawater, occurs. The molecule-specific absorption pattern in the *finger*print region allows the simultaneous determination of chemically similar substances down to the low ppb concentrations (Fig. 22, 23).

Seawater salinity can be determined using an optode based on a chloride-quenchable fluorescent indicator immobilized on a Nafion film (Fig. 24).¹⁷ By addition of an inert phosphorescent reference luminophore into a film, the fluorescence intensity information is converted into phase angle information (Fig. 25). The sensor has been successfully used to determine the salinity in seawater and brackish water of the North Sea (Fig. 26).

Carbon dioxide in marine and freshwater sediments is determined by a pCO₂ fiber optic microsensor.¹⁸ The sensor is based on a change of fluorescence of a pH dependent fluorophore built in ethyl cellulose, covered with a gas permeable Teflon layer (Fig. 27). A significant increase in pCO₂ has been found in the upper 5 mm of the sediment, caused by respiration of the biological system (Fig. 28).

In summary, optical sensors offer a variety of new aspects and possibilities of sensing numerous species using when used with well known spectrophotometric and spectrofluorimetric methods, with newly synthesized and appropriately immobilized chromoionophores and with advanced fiber optic techniques.

*Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry,
Faculty of Science and Mathematics, University of Zagreb,
Strossmayerov trg 14, 10 000 Zagreb, Croatia*

Received October 30, 2001

Accepted April 18, 2002