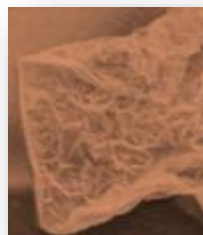


# IZDELAVA BIOSENZORJA NA OSNOVI KROMPIRJEVIH OLUPKOV IN KURKUMINA

## RAZISKOVALNA NALOGA

Področje: Ekologija z varstvom okolja



Avtorja:

**Matej Brecl**, 9. razred, OŠ Kungota

**Gašper Brus**, 9. razred, OŠ Kungota

Mentorica: Zdenka Keuc, prof., OŠ Kungota

## Vsebina

---

<b>1 UVOD .....</b>	<b>6</b>
1.1 Namen inovacijskega predloga.....	6
1.2 Hipoteze.....	7
1.3 Metode dela .....	7
<b>2 PREGELD OBJAV .....</b>	<b>8</b>
2.1 Amonijak v okolju .....	8
2.2 Sintetični polimeri .....	9
2.3 Biopolimeri.....	11
2.3.1 Izbor primernih nosilcev iz obnovljivih virov.....	13
2.4 Sinteza škrobnega biopolimera.....	14
2.5 Detektorji amonijaka .....	16
2.6 pH indikatorji.....	17
2.6.1 Bromtimol modro (BTM).....	18
2.6.2 Kurkumin .....	19
2.7 Razvoj senzorjev z uporabo pH indikatorjev .....	20
2.8 Sestava biosenzorja za amonijak .....	20
<b>3 PRAKTIČNI DEL.....</b>	<b>23</b>
3.1 Sinteza biopolimernega senzorja iz koruznega škroba.....	24
3.2 Rezultati preliminarnih poskusov .....	27
3.2.1 Potek sinteze senzorjev in njihov odziv na amonijak.....	27
3.3 Izdelava biosenzorja iz krompirjevih olupkov z vgrajenim kurkuminom.....	31
<b>4 REZULTATI .....</b>	<b>33</b>
4.1 Vizualna ocena senzorjev iz svežega krompirjevega škroba z vgrajeno kurkumo ...	34
4.2 Delovanje senzorja .....	37
4.3 Izboljšave v sintezi senzorja .....	36
<b>5 RAZPRAVA Z ZAKLJUČKI .....</b>	<b>39</b>

5.1 Družbena odgovornost.....	42
<b>6 VIRI.....</b>	<b>43</b>

### **Kazalo slik**

Slika 1. Proizvodnja ne biorazgradljivih plastičnih materialov v svetu in v Evropi (vir: Plastics Europe Market Research Group, 2022) <sup>1</sup> .....	10
Slika 2. Proizvodne zmogljivosti za biorazgradljivo plastiko (biodegradable) in bioplastiko, ki ni biorazgradljiva (non-biodegradable) (Statista, 2023) .....	11
Slika 3. Razdelitev bioplastike glede na vire in biorazgradljivost (Šprajcar s sod., 2019, str. 7) .....	12
Slika 4. Makromolekula amiloze <sup>3</sup> .....	14
Slika 5. Makromolekula amilopektina .....	15
Slika 6. Dokaz škroba z raztopino joda .....	15
Slika 7. Primer strukturne formule siloksana (Rösche s sod., 2003) .....	16
Slika 8. Primer komercialnega senzorja za merjenje koncentracije amonijevih ionov v vodi (Vernier, 2023) .....	17
Slika 9. Primeri pH indikatorjev .....	17
Slika 10. Strukturne formule bromtimol modrega v odvisnosti od pH (Sigma Aldrich, 2022) <sup>18</sup>	
Slika 11. Barvna lestvica za indikator bromtimol modro v odvisnosti od pH (Sigma Aldrich, 2022).....	18
Slika 12. Keto-enolna izomerizacija kurkumina v odvisnosti od pH (Priyadashi s sod., 2012, str. 3).....	19
Slika 13. Nastanek polimerne strukture iz škroba in glicerola.....	21
Slika 14. Reakcija med glukozo in ureo in nastanek polimerne strukture (Costa s sod., 2012, str. 6).....	21
Slika 15. Možnosti vezave kurkumina (označene z rdečo barvo) v polimerno verigo .....	21
Slika 16. Koruzni škrobni senzor z BTM pred in po izpostavitvi raztopini amonijaka.....	27
Slika 17. Primeri sinteze senzorja s kurkuminom .....	30
Slika 18. Odzivnost senzorja z vgrajenim kurkuminom .....	30
Slika 19. Priprava krompirjevih olupkov .....	31
Slika 20. Izgled biopolimerov iz krompirjevih olupkov .....	35

Slika 21. Kurkuminski senzor z glicerolom kot plastifikatorjem (levo) in ureo kot plastifikatorjem (desno).....	36
---	----

### **Kazalo preglednic**

Preglednica 1. Vizualna ocena biosenzorjev v preliminarnem delu .....	29
Preglednica 2. Masa surovega krompirja .....	33
Preglednica 3. Izkoristek ekstrakcije škroba .....	33
Preglednica 4. Potek izdelave biopolimera .....	34
Preglednica 5. Mase škroba.....	34
Preglednica 6. Vizualna ocena senzorjev iz olupkov krompirjevega škroba z vgrajeno kurkuminom .....	35
Preglednica 7. Poprečni čas odziva biosenzorja na spremembe pH.....	37
Preglednica 8. Cena surovin za sintezo senzorja.....	42

### **Kazalo grafov**

Graf 1. Odzivni čas senzorja, kjer je bil plastifikator glicerol .....	38
Graf 2. Odzivni čas, kjer je bil kot plastifikator uporabljena urea. ....	38

### **Kazalo organigramov**

ORGANIGRAM 1. Načrt dela za preliminarne poskuse .....	23
ORGANIGRAM 2. Sinteza senzorja iz krompirjevih olupkov z vgrajenim kurkuminom.....	33

### **Okrajšave, uporabljene v nalogi:**

<b>Okrajšava</b>	<b>Pomen</b>
K	Krompir
O	Olupki krompirja
G	Glicerol
U	Urea
B ali BTM	Bromtimol modro
C	Kurkumin
NH <sub>3</sub>	Amonijak
HIn	Indikator

## **POVZETEK**

V nalogi predstavljamo biosenzor, ki je občutljiv na spremembe koncentracije amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) v vodnem mediju in izdelan iz škroba, pridobljenega iz krompirjevih olupkov. Vanj je vključen kurkumin, rastlinski pigment, ki se s spremembo barve odziva na znano koncentracijo  $\text{NH}_3$ . Delovanje sensorja smo preverili v temperaturnem območju od  $17^\circ\text{C}$  –  $25^\circ\text{C}$ . Spodnja meja detekcije je 50 ppm, odzivnost znotraj 1 min. Odzivnost je obratno sorazmerna s koncentracijo amonijaka. Senzor za svoje delovanje ne potrebuje nobenega vira električne energije, cenovno je zelo dostopen ter v celoti biorazgradljiv.

***Ključne besede:** krompirjevi olupki, kurkumin, biosenzor, amonijak*

## **ABSTRACT**

A biosensor sensitive to changes in the concentration of ammonia ( $\text{NH}_3$ ) in an aqueous medium is present in the research paper. It is made from starch obtained from potato peels. The sensor contains curcumin, a plant pigment that changes colour in response to a known concentration of  $\text{NH}_3$ . We checked the operation of the sensor in the temperature range from  $17^\circ\text{C}$  -  $25^\circ\text{C}$ . The lower limit of detection is 50 ppm, response within 1 min. Responsiveness is inversely proportional to ammonia concentration. The sensor does not need any source of electricity for its operation, it is very affordable and completely biodegradable.

***Key words:** potato peels, curcumin, bio sensor, ammonia*

# 1 UVOD

---

V zadnjem letu smo priča visokim cenam vseh vrst goriv, ki so posledica rusko-ukrajinske vojne in posledično spremembam na gospodarskem in političnem zemljevidu sveta. Cene električne energije so se izjemno povišale, pri čemer niti ni pomembno iz katerega vira to energijo pridobivamo (hidroelektrarne, termoelektrarne, geotermalna energija, nuklearke itd.). Kriza s pandemijo okužb, ki je posledica Sars-Cov-2, se v času izdelave naloge izteka, saj je edini ukrep, ki ostaja redno prezračevanje prostorov ter meritve kakovosti zraka v njih. V ta namen se uporabljajo digitalni senzorji, ki delujejo, če so priklopljeni na električno ali so izvor električnega toka baterije. Senzorji so zgrajeni iz materialov, ki niso iz obnovljivih virov in na tej točki se je rodila ideja za to raziskavo. Varčevanje z energijo in posledično nafto in naftnimi derivati ter povečana ozaveščenost potrošnikov o prekomerni uporabi neobnovljivih virov, ki so velikokrat namenjeni enkratni uporabi ter skrb za zdravo življenjsko okolje, sva želela združiti v izdelavi kemičnega senzorja za meritev količine amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) v vodnem okolju, ki temelji na uporabi odpadnih organskih snovi in se s spremembo barve odziva na spremembe pH v okolju.

## 1.1 NAMEN INOVACIJSKEGA PREDLOGA

Cilj raziskovalne naloge je razviti biosenzor, ki bo občutljiv na spremembe koncentracije amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) v vodnem mediju in bo izdelan iz škroba krompirjevih olupkov. Vanj bo vključen rastlinski pigment kurkum, ki se bo s spremembo barve odzival na znano koncentracijo  $\text{NH}_3$ . Senzor mora delovati pri sobni temperaturi, za delovanje ne bo potreboval nobenega vira električne energije, bo cenovno dostopen ter v celoti biorazgradljiv in hitro odziven.

Z uporabo krompirjevih olupkov bi zmanjšali porabo fosilnih virov in ogljični odtis (manjše emisije  $\text{CO}_2$ ), z barvno odzivnostjo oz. občutljivostjo na prisotnost amonijaka v vodnem okolju, pa prispevali k lažjemu monitoringu amonijaka (in drugih bazičnih snovi) v vodnih ekosistemih. Pri tem imava v mislih predvsem gnojila, ki vsebujejo dušik za izboljšanje rasti rastlin, vendar njihova prekomerna raba obremenjuje vodne ekosisteme. Njihov presežek tako prehaja v reke in jezera ter posledično vpliva na življenje v njih, žal tudi bogatem podzemnem svetu oz. podtalnici, ki predstavlja naš največji vir pitne vode.

V ta namen bova preučila klasične pH-odzivne indikatorje, ki se barvno odzovejo pri prehodu med pH 6 in pH 8 in jih primerjala z naravnim rastlinskim barvilom kurkuminom, ki je zdravju neškodljiv ter možnost njegove vgradnje v biorazgradljiv polimer.

## 1.2 HIPOTEZE

**Hipoteza 1.** Krompirjevi olupki vsebujejo dovolj veliko količino škroba, da ga lahko brez posebnih pripomočkov ekstrahiramo.

**Hipoteza 2.** Škrobni polimer, pripravljen iz krompirjevih olupkov, bo imel primerljive vizualne in mehanske lastnosti kot senzor grajen iz komercialno dostopnega koruznega škroba, ki se največkrat uporablja v gospodinjstvu.

**Hipoteza 3.** Kurkumin se bo homogeno vgradil v škrobno polimerno osnovo in bo pH odziven.

**Hipoteza 4.** Odzivnost biosenzorja bo v realnem času, znotraj 1 min.

## 1.3 METODE DELA

Najprej smo preučili razširjenost amonijaka v našem okolju, sledil je študij literature o biopolimerih in njihovih lastnostih ter nato eksperimentalni del, kjer smo v nizu poskusov razvili kurkuminski senzor za detekcijo amonijaka, z nosilcem iz škroba, pridobljenega iz krompirjevih olupkov.

## 2 PREGLED OBJAV

---

### 2.1 AMONIJAK V OKOLJU

*»V kmetijstvu krožijo zelo velike količine dušika. Rejne živali v Sloveniji letno izločijo približno 37.000 ton dušika. Približno 27.000 ton dušika izvira iz uporabljenih mineralnih gnojil. 3.000 ton dušika vežejo iz zraka metuljnice, 7.000 ton pa se ga odloži na kmetijska zemljišča s padavinami in prahom iz ozračja. V kmetijske rastline se letno vgradi približno 50.000 ton dušika. Zelo veliko dušika izgubimo v zrak z amonijakom. Največje so izgube iz hlevov in gnojišč (6.000 ton) ter pri gnojenju z živinskimi gnojili (6.000 ton). Sledijo izgube pri gnojenju z mineralnimi gnojili (1.000 ton)« (Verbič, 2020, str. 6).*

Presežek dušika lahko povzroči učinke eutrofikacije in zakisevanja naravnih ekosistemov, kar lahko povzroči spremembe v sestavi rastlinskih in živalskih vrst in druge škodljive učinke (Sheppard s sod., 2008, str. 404).

Kot primer navajamo Veliko Britanijo, kjer so na prelomu 21. stoletja bile skupne emisije amonijaka ocenjene na 283 kt N/leto (Sutton s sod., 2008), pri čemer je 228 kt prihajalo iz kmetijskih virov (Pain s sod., 2019, str. 1). Leta 2010 je bil kmetijski sektor odgovoren za 89% vseh emisij NH<sub>3</sub> v Veliki Britaniji.

V Sloveniji je kmetijstvo v letu 2017 prispevalo 90,7 % vseh izpustov amonijaka. Glavni vir sta gnojevka (razgradnja in izhlapevanje senčine) in uporaba različnih gnojil. V obdobju od 1990 do 2018 so se izpusti v kmetijstvu zmanjšali za 17,9 %. Vključujoč izpuste pri gnojenju z živinskimi gnojili, prispeva največji delež izpustov amonijaka v kmetijstvu govedoreja (66 %) (Verbič, 2020, str. 5). Ker tudi avtorja tega inovacijskega predloga izhajava iz podeželskega okolja, kjer je izlivanje gnojevke pogost pojav, ta problem občutiva in pozna.

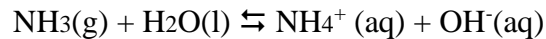
Emisije iz kmetijskih virov se časovno spreminjajo glede na kmetijsko prakso. Povezane so tudi s sezonskimi spremembami; izhlapevanje je večje, ko je topleje. Podnebne spremembe izhlapevanje emisij amonijaka dvigujejo.

Izgube NH<sub>3</sub> zaradi izhlapevanja pri uporabi dušikovih (N) gnojil segajo od zanemarljivih količin, do več kot 50 % uporabljenega dušikovega gnojila. Vse je odvisno od vrste gnojila, prakse nanašanja (npr. vbrizgavanje, površinski nanos) in okoljskih razmer. Sečnina ima višje stopnje izhlapevanja kot amonijev nitrat (Asman s sod., 1998, str. 29).



Amonijak (NH<sub>3</sub>) je zelo reaktiven, v vodi dobro topen alkalni plin. Sprošča se lahko tudi iz številnih neemetijskih virov, kot so katalizatorji v bencinskih avtomobilih, odlagališča odpadkov, kanalizacija, kompostiranje organskih materialov, izgorevanje, industrija itd. (Sutton s sod., 2009, str. 5).

Pri reakciji amonijaka z vodo in spiranja v tla, se lahko spremeni pH tal in pojavijo motnje privzema bazičnih kationov (Sheppard s sod., 2019, str. 180).



Amonijak v velikih koncentracijah neposredno škoduje zdravju in počutju ljudi ter rejnih živali. Še bolj zaskrbljujoč je njegov posredni učinek. Prispeva k nastajanju aerosolov, ki povzročajo bolezni dihal ter bolezni srca in ožilja (Verbič, 2020, str. 7).

Atmosferski amonijak ne pozna državnih meja in v atmosferi reagira s kislinami, kot so aerosoli SO<sub>2</sub> in NO<sub>x</sub>. Pri tem nastanejo amonijevi ioni (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Prenos NH<sub>3</sub> je na razmeroma kratkih razdaljah (<10 -100 km), amonijevi ioni pa prenašajo na veliko daljših razdaljah, od 100 -1000 km. Zato emisije NH<sub>3</sub> prispevajo k mednarodnemu onesnaževanju zraka (Asman s sod., 1998, str. 27).

Če povzamemo, povečane količine amonijaka v okolju lahko povzročajo:

1. Evtrofikacijo, ki vodi do sprememb v združbah rastlinskih in živalskih vrst; povečanje vrst, ki ljubijo dušik na račun vrst, ki potrebujejo manj dušika.
2. Povečano zimsko stopnja izsušitve in poletni sušni stres.
3. Povečano število napadov škodljivcev in patogenov.
4. Neposredno škodo in pogin občutljivih vrst kot so nekateri lišaji in mahovi (*Sphagnum*, *Pleurozium schreberi*).
5. Zvišanje pH tal, ki mu sledi zakisljevanje.
6. Povečanje emisij toplogrednih plinov.

## 2.2 SINTETIČNI POLIMERI

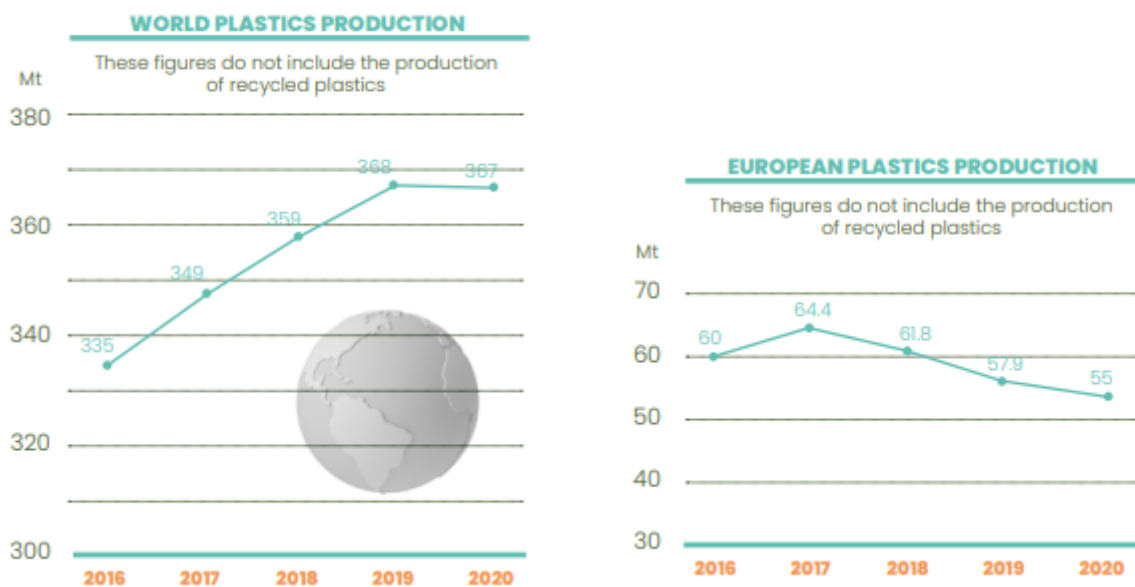
Polimerne podlage, ki bi se lahko uporabljale za imobilizacijo pigmentov, lahko, glede na vir, razdelimo na:

- a) sintetične polimere in
- b) biopolimere.

Glavni surovini za pridobivanje večine komercialnih polimerov sta nafta in zemeljski plin. Za proizvodnjo polimerov se po ocenah strokovnjakov porabi 7 % svetovnih zalog nafte in plina (Peternej, 2018, str. 4).

Leta 2010 je bilo na svetu proizvedenih 265 milijonov ton plastike, od tega 57 milijonov v Evropi (Cvelbar, 2019, str. 1). Od leta 1950 do 2017 se je proizvodnja plastike povečala iz 1,5 na 348 milijonov ton. Svetovna proizvodnja je od 2016 do 2017 narasla še za dodatnih 3,8 %.

Kot vidimo iz slike 1 je proizvodnja polimernih materialov, ki se ne reciklirajo, vse do leta 2019 (svet) oz. 2017 (Evropa) naraščala, od tu dalje pa je v osredju plastika, ki jo je mogoče reciklirati in plastika, ki je biorazgradljiva.

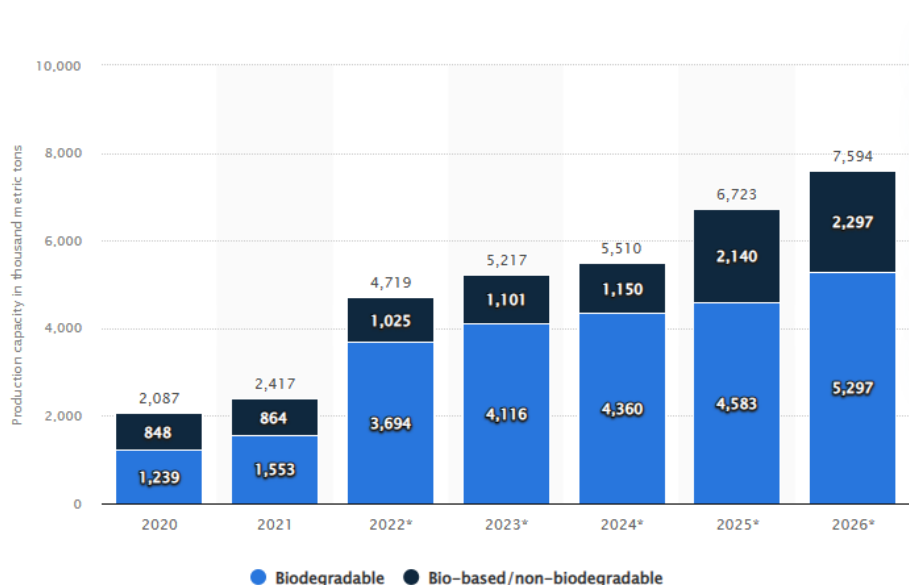


Slika 1. Proizvodnja ne biorazgradljivih plastičnih materialov v svetu in v Evropi (vir: *Plastics Europe Market Research Group, 2022*)<sup>1</sup>

Zaloge naftnih surovinskih virov bodo slej kot prej izčrpane in zato se proizvajalci polimerov vse bolj usmerjajo v iskanje novih sinteznih poti, ki temeljijo na obnovljivih virih. Vendar je potrebno poudariti, da ima večina sintetičnih polimerov odlične fizikalne, kemične in mehanske lastnosti, da so odporni na nihanja temperatur, mikrobne in fizikalne/kemične poškodbe. Problem pa je njihova nezmožnost razgradnje v naravnem okolju, ko postanejo odpadki in zaradi njih povečana raba fosilnih virov.

## 2.3 BIOPOLIMERI

Ponovna raba izdelkov ter njihovo recikliranje sta dve izmed možnosti za zmanjšanje količine odloženih odpadkov in s tem povezanih okoljskih obremenitev. Alternativno možnost predstavlja tudi uporaba polimerov, ki so biološko razgradljivi ali narejeni iz obnovljivih virov. Ti se danes vedno bolj izboljšujejo v kontekstu večje fizikalne, mehanske in kemične odpornosti, v primerjavi s konvencionalnimi polimeri. Velja pa pravilo, da bolj kot je polimer razgradljiv, manj časa lahko služi svoji uporabi. Na sliki 2 je prikazan svetovna proizvodnja bioplastike v obdobju od 2015 – 2021 (Statista, 2023)<sup>1</sup>.

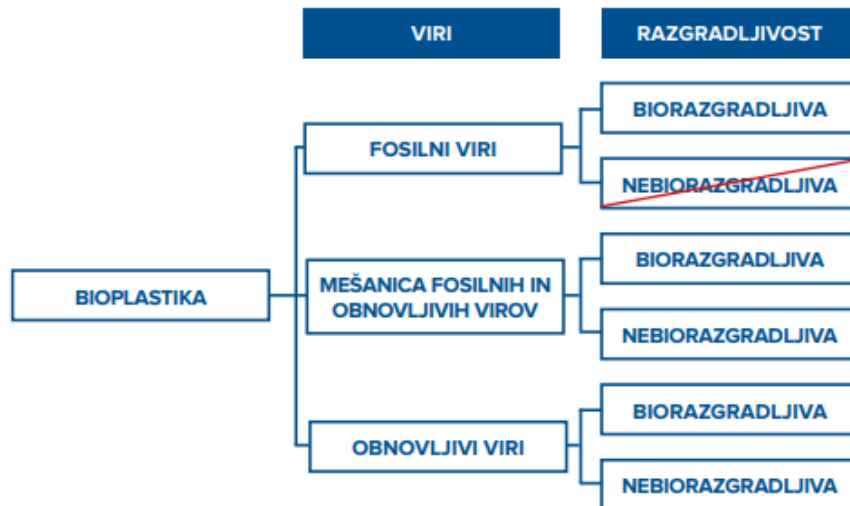


Slika 2. Proizvodne zmogljivosti za biorazgradljivo plastiko (biodegradable) in bioplastiko, ki ni biorazgradljiva (non-biodegradable) (Statista, 2023)

Široka uporaba polimerov, izdelanih na osnovi nafte in njihova pomanjkljiva razgradnja ter škodljiv vpliv na okolje, so privedli do razvoja plastičnih materialov, ki temeljijo na obnovljivih virih (Roy s sod. 2022, str. 98) ali biopolimerov.

Biopolimer je polimer, ki je pridobljen iz obnovljivega vira in je lahko ali pa tudi ne biorazgradljiv (Peternelj, 2019, str. 21). Na sliki 3 so prikazani viri in razgradljivost bioplastike.

<sup>1</sup> Vir: <https://www.statista.com/statistics/678684/global-production-capacity-of-bioplastics-by-type/> Povzeto 2. 1. 2023



Slika 3. Razdelitev bioplastike glede na vire in biorazgradljivost (Šprajcar, s sod., 2019, str. 7)

Biorazgradnja polimera je torej izključno odvisna od kemijske strukture polimera. Za biorazgradljivost ni pomembno, ali je polimer narejen na osnovi obnovljivih virov (biomase) ali na osnovi neobnovljivih (fosilnih) virov, temveč le kakšna je njegova končna struktura.

Trenutno je za komercialno biorazgradljivo plastiko na voljo več obnovljivih materialov, ki so plastike na osnovi (Šprajcar s sod., 2019, str. 10):

- škroba (ang. *starch based plastics*);
- polimlečne kisline (ang. *polylactide, polylactic acid, PLA*);
- polihidroksialkanoatov (ang. *polyhydroxy alkanoates* (PHAs): PHB, PHBV, itn.);
- alifatsko-aromatskih poliestrov;
- celuloze (celofan, itn.);
- lignina.

Čeprav večja uporaba biorazgradljivih polimerov, pridobljenih iz obnovljivih virov, prispeva k manjši obremenitvi okolja z odpadnimi polimernimi materiali, ostaja etična dilema: *Ali je hrano primerno uporabljati za proizvodnjo materialov?*

Zato sva se avtorja tega inovacijskega predloga osredotočila na izdelavo biosenzorja, ki bo izdelan izključno iz prehranskih odpadkov (olupki krompirja) in ne tistega dela rastline, ki ga običajno uporabljamo za prehrano ljudi.

### 2.3.1 Izbor primernih nosilcev iz obnovljivih virov

Strokovna literatura navaja, da se snovi kot so hitozan, natrijev alginat, celuloza in pektin, pogosto uporabljajo pri pripravi polimernih nosilcev (Kumar in Nagy, 2014, str. 1; Priyadrshi s sod., 2021, str. 347). Za namen tega inovacijskega predloga sva bila pozorna predvsem na snovi, ki lahko tvorijo vodikove vezi in ionske interakcije z barvili, ki se odzivajo na pH.

Polimerni nosilec mora izpolnjevati nekatere osnovne zahteve za pripravo pH-odzivnih indikatorjev (Yoshida s sod., 2014, str. 83; Wang s sod., 2021, str. 133). Te so:

1. Omogočati mora fiksacijo naravnih pigmentov.
2. biti mora skoraj brezbarven, da se prepreči prikrivanje barve pH odzivnih pigmentov.
3. Zagotavljati mora stabilnost naravnih pigmentov v območju merjenih pH vrednosti.
4. Imeti mora zadostno mehansko trdnost, da ga lahko uporabljamo v vsakdanjem življenju, brez posebnih pripomočkov.

Polimerni nosilec poleg osnovnega materiala (npr. škroba) vsebuje še druge dodatke, ki nato skupaj določajo končne lastnosti izdelka. To so lahko:

- a) dodatki za stabilizacijo,
- b) lubrikanti<sup>2</sup>,
- c) pigmenti (barvila),
- d) različna polnila in
- e) drugo.

Čeprav ti dodatki predstavljajo manjši delež vseh materialov v plastiki, je za biorazgradljive plastike izjemno pomembno, da so tudi vse dodane komponente biorazgradljive, saj biološka razgradnja poteka kot encimska reakcija v prisotnosti različnih mikroorganizmov.

Tekom presnovnih procesov se biorazgradljivi polimeri lahko razgradijo na dva načina:

- a) aerobno, kjer se pretvorijo v vodo, ogljikov dioksid in biomaso,
- b) Anaerobno, kjer se pretvorijo v metan, vodik in biomaso.

Tudi končnih produkti ne smejo biti toksični (Šprajcar s sod., 2019, str. 14).

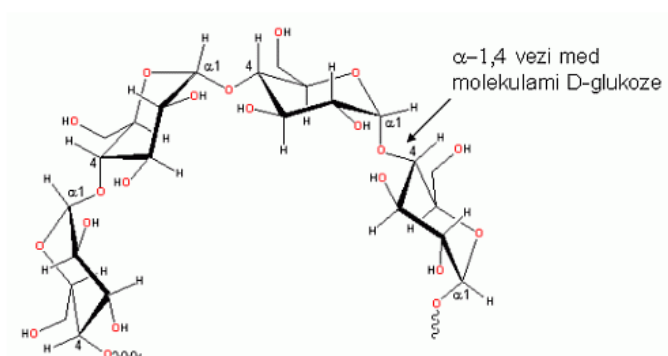
---

<sup>2</sup> Snovi za zmanjšanje trenja (opomba avtorjev).

## 2.4 SINTEZA ŠKROBNEGA BIOPOLIMERA

Med obnovljive vire, ki so lahko vir sinteze bioplastike, sodi tudi škrob, ki ga bomo uporabili za namen raziskave. Škrob ima dolgo tradicijo uporabe v različne namene. V starem Egiptu so 4000 let pred našim štetjem škrob uporabljali za premaze papirusa (Šprajcar s sod., 2019, str. 17) in s tem povečali obstojnost tega materiala.

Škrob je ogljikov hidrat, rastlinski rezervni polisaharid, ki ga večina višjih rastlin shranjuje znotraj celic, v obliki škrobnih zrn. Osnova enota škroba je glukoza, ki se povezuje v dva tipa makromolekul: amilozo in amilopektin.



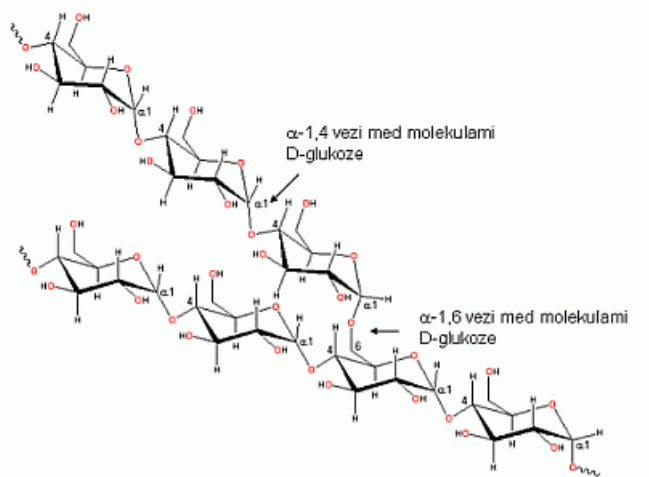
Slika 4. Makromolekula amiloze<sup>3</sup>

Makromolekulo amiloze, ki je nerazvejena, sestavljajo glukozne enote, povezane z  $\alpha$ -1,4-glikozidnimi vezmi.

Makromolekula amilopektina je razvejena, saj so v molekuli poleg  $\alpha$ -1,4-glikozidnih vezi tudi  $\alpha$ -1,6-glikozidne vezi.<sup>3</sup>

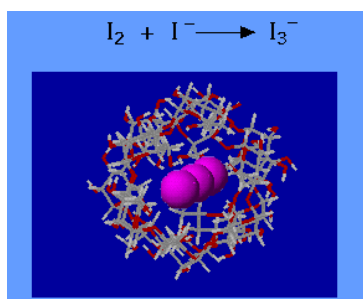
Amilopektina je v škrobnem zrnu od 70 do 90 %, amiloze pa od 10 do 30 %.

<sup>3</sup> vir: <https://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index4.html> Povzeto 31. 1 2023



Slika 5. Makromolekula amilopektina<sup>4</sup>

Prisotnost škroba dokažemo z jodovico. Trijodidni ion se »ujame« v vijačnico amiloze, kar se odraža v modrem obarvanju (slika 6).



Slika 6. Dokaz škroba z raztopino joda<sup>5</sup>

Največ komercialno dostopnega škroba je danes pridobljenega iz koruze (79 %), sledi krompir (9 %), pšenica (7 %), riž in ječmen (Šprajcar s sod., 2019, str. 17). Te rastline vsebujejo velike količine škroba, navadno od 60 do 90 % suhe mase.

Žilavost in vodoodpornost polimerov na osnovi škroba sta sicer slabši od večine polimerov, pridobljenih iz nafte, vendar lahko lastnosti izboljšamo s segrevanjem in tako razbijemo kristalno strukturo do te mere, da se začne obnašati kot termoplast.<sup>6</sup>

Termoplastični škrobni polimeri se že uporabijo kot osnovni gradbeni material za vrečke za recikliranje organskih odpadkov, embalažo in ovojnino, higienske proizvode itd. (Šprajcars sod., 2019, str. 22).

<sup>4</sup> vir: <https://eucbeniki.sio.si/kemija3/1276/index4.html> Povzeto 9. 1. 2023

<sup>5</sup> vir: <http://chemistry.elmhurst.edu/vchembook/548starchiodine.html> Povzeto 9. 1. 2023

<sup>6</sup> termoplasti so linearni in/ali malo razvejani polimeri, sposobni (večkratnega) zmehčanja in preoblikovanja pri povišani temperaturi. – opomba avtorjev.

## 2.5 DETEKTORJI AMONIJAKA

Senzorji za  $\text{NH}_3$ , dostopni na slovenskem trgu, spadajo v naslednje kategorije:

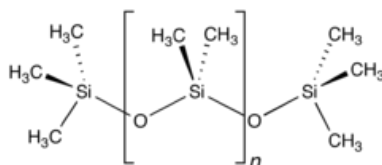
- nedisperzivni infrardeči senzorji (NDIR),
- elektrokemični senzorji,
- polprevodniški senzorji,
- senzorji s katalitičnim izgorevanjem.

**NDIR senzorji** uporabljajo določene valovne dolžine svetlobe, karakteristične za  $\text{NH}_3$  v zraku. Zrak vstopi v senzor, ki aktivira svetlobo, nastavljeno na eno od specifičnih valovnih dolžin za  $\text{NH}_3$ . Na drugi strani senzorja je del, ki meri koliko svetlobe te valovne dolžine pride ven. Tok svetlobe bo zmanjšan za toliko kolikor je molekul  $\text{NH}_3$  v zraku. Količina svetlobe, ki se absorbira, je torej odvisna od količine amonijaka (Kwak s sod, 2019).

**Elektrokemični senzorji** merijo električni tok ali prevodnost. Ko  $\text{NH}_3$  vstopi v senzor z njim kemično reagira, posledica je sprememba v prevodnosti električnega toka. Senzor bo nato na podlagi vrste in količine električne spremembe določil, koliko  $\text{NH}_3$  je prisotno. Ti senzorji so manj občutljivi na vlago v zraku, vendar bolj občutljivi na različna onesnaževala v zraku in manj specifični (Kwak s sod, 2019).

**Polprevodniški senzorji** izrabljajo spremembo v upornosti kovinskih spojin ob prisotnosti plinov. Senzor ima kratko kovinsko žičko, ki je izpostavljena zraku in skozi njo konstantno teče tok. Ko pride  $\text{NH}_3$  v stik s to žičko se zgodi redoks reakcija, kar pomeni, da se upornost ali prevodnost kovinske žičke spremeni. Vrsta spremembe upora, ne glede na to, ali se povečuje ali zmanjšuje, in velikost te spremembe določata koncentracijo ciljnega plina, v našem primeru  $\text{NH}_3$  (Kwak s sod, 2019).

**Katalizatorski senzor**  $\text{NH}_3$  je senzor, katerega osnovni element je katalizator. Katalizatorska prevleka na površini polprevodnika poskrbi da izbrani plin zgori. Kemični plinski senzorji za  $\text{NH}_3$  večinoma temeljijo na hetero polisiloksanu (slika 7).



Slika 7. Primer strukturne formule siloksana (Rösche s sod., 2003)



Primer NDIR detektorja za amonijak je prikazan na sliki 8.

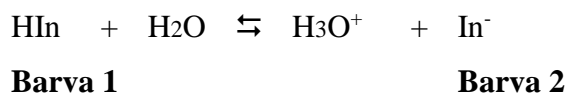


Slika 8. Primer komercialnega senzorja za merjenje koncentracije amonijevih ionov v vodi (Vernier, 2023)

Večina senzorjev deluje v koncentracijskem območju od 0 – 9.000 mg <sup>+</sup>/L.

## 2.6 pH INDIKATORJI

pH indikatorji so lahko sintetičnega ali naravnega izvora. pH indikator (HIn) je snov, ki se s spremembo barve odzove na spremembo pH raztopine. Običajno so to šibke kisline ali baze, ki z vodo protolitsko reagirajo.



Na sliki 9 so prikazani pH indikatorji, ki se največkrat uporabljajo.

Indikatorji	pH	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
metil vijolično														
metil oranž														
bromkrezol zeleno														
metil rdeče														
bromtimol modro														
fenolftalein														
alizarin rumeno														

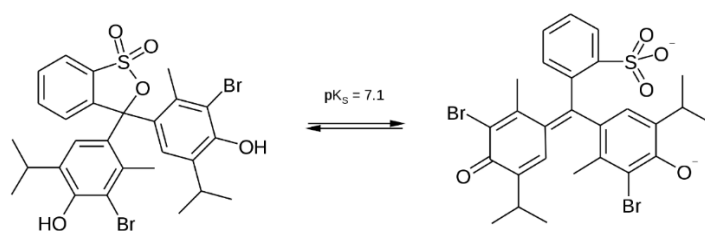
Slika 9. Primeri pH indikatorjev <sup>7</sup>

<sup>7</sup> Vir: <https://eucbeniki.sio.si/kemija2/606/index4.html> Povzeto 24. 2. 2023

Za potrebe tega inovacijskega predloga smo iskali indikator, ki bi spremenil barvo pri pH~7 in v ta namen smo izbrali bromtimol modro (BTM), ki je v kislem rumen in v bazičnem moder, torej v podobnem območju kot kurkumin (Priyardashi s sod., 2012, str. 3).

### 2.6.1 Bromtimol modro (BTM)

Bromotimol modro (BTM) deluje v raztopini kot šibka kislina. Lahko je v protonirani ali deprotonirani obliki, ki je obarvana rumeno ali modro oz. zeleno v nevtralni raztopini (slika 10).



Slika 10. Strukturne formule bromtimol modrega v odvisnosti od pH (Sigma Aldrich, 2022)

Protonirana oblika BTM ( $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ ) absorbira vidni del svetlobe in tako prepušča rumeno svetlobo v kislih raztopinah, deprotonirana oblika pa prepušča modro svetlobo v bazičnih raztopinah.



Slika 11. Barvna lestvica za indikator bromtimol modro v odvisnosti od pH (Sigma Aldrich, 2022)<sup>8</sup>

<sup>8</sup> Vir slike: <https://www.sigmaaldrich.com/SI/en/product/sial/b8630> uporabljeno 2. 1. 2023

## 2.6.2 Kurkumin

Kurkumin, predstavlja pigment iz naravnih virov. Običajno je ekstrahiran iz kurkume (lat. *Curcuma longa L.*). V zadnjem času je pritegnil veliko pozornosti predvsem zaradi širokega spektra svojih fizioloških učinkov, kot so protitumorski, protivnetni, antitrombotični, antidiabetični in protimikrobni učinki (Priyardarshi s sod., 2021, str. 127).

Kurkumin predstavlja netoksično, hidrofobno difenolno spojino, ki se dobro raztaplja v metanolu in etanolu (Priyardarshi s sod., 2021, str. 127). Zaradi njegove strukture (slika 12) smo predvidevali, da bo pozitivno prispeval k zamrežitvi škrobnega polimera, nudil dodatno UV zaščito, imel antioksidativne lastnosti in antibakterijsko delovanje (Ezati s sod., 2020, str. 1), s čimer se bo tudi življenjska doba senzorja podaljšala.

Struktura kurkumina je odvisna predvsem od pH vrednosti raztopine. Pri nevtralnem in alkalnem pH se kurkumin razgradi in deluje kot donor vodika, kar vodi do hidrolize in razgradnje kurkumina. Iz slike 12 vidimo, da obstaja v keto in enolni obliki. Keto oblika je tako obstojna samo pri  $\text{pH} < 6$  (Noureddin s sod., 2019, str.2). Prehod v enolno obliko pomeni prehod iz rumene v oranžno-rdečo barvo.



Slika 12. Keto-enolna izomerizacija kurkumina v odvisnosti od pH (Priyardashi s sod., 2012, str. 3)

V literaturi smo zasledili da se kurkumin kot senzorski material lahko uporablja tudi zaradi svojih optičnih lastnosti, to fluorescence polifenola (Khorasania s sod., 2019, str. 1).

Kurkumin in njegovi derivati lahko tvorijo komplekse s številnimi kationi, kot so  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Pt^{2+}$ ,  $Re^{3+}$  in  $Al^{3+}$ . Kompleksiranje kurkumina z določeno kovino praviloma poveča njegovo topnost v vodi in ustvarjanje različnih barvnih odtenkov. Kurkumin lahko tvori komplekse tudi z anioni kot so  $ClO^-$ ,  $CN^-$ ,  $F^-$  in  $S^{2-}$  (Priyadashi s sod., 2012, str. 4).

Vendar kurkumin predstavlja izziv, saj je molekula slabo topna v vodi, najslabše v kislem delu pH lestvice; topnost se poveča v bazičnem mediju, kjer preide v enolno obliko in kasneje ionsko obliko ter različne razgradne produkte, ki so bolj hidrofilni kot keto oblika.

## 2.7 RAZVOJ SENZORJEV Z UPORABO pH INDIKATORJEV

Pacquit s sod. (v Kushwandi s sod., 2012, str. 184) je prvi razvil t.i. pametni senzor s prevleko polietilen tereftalatnega (PET) filma s pH indikatorjem bromokrezol zeleno. Pametni senzor se danes uporablja za hitro zaznavo spremembe v svežini rib in ima velik potencial kot pokazatelj kakovosti hrane.

Kuswandi s sod. (2012, str. 184) je razvili kolorimetrično metodo, ki temelji na polianilinskih filmih. Njegovo delo je nadgradil Wang s sod. (2018, str. 133) v obliki pametne embalaže za spremljanje kakovosti morskih sadežev.

Čeprav so polimerni izdelki na osnovi nafte priročni, so z njimi povezani številni okoljski in zdravstveni problemi, ki smo jih že opisali, zato je iskanje ustreznih trajnostno naravnih materialov, ki bi nadomestili materiale na osnovi nafte, nujno.

## 2.8 SESTAVA BIOSENZORJA ZA AMONIJAK

Senzor, ki ga želimo sestaviti bo torej sestavljen iz pH-občutljivega kurkumina, v fazi razvoja pa nam bo za primerjavo služil sintetični pH indikator, to je bromtimol modro (BTM), ki svojo barvo spremeni v podobnem delu pH lestvice. Polimerni nosilec indikatorja bo škrob, pridobljen iz krompirjevih olupkov.

V strokovni literaturi so predlagane tri metode za mobilizacijo barvila (Mohebi in Marquez, 2015, str. 3947):

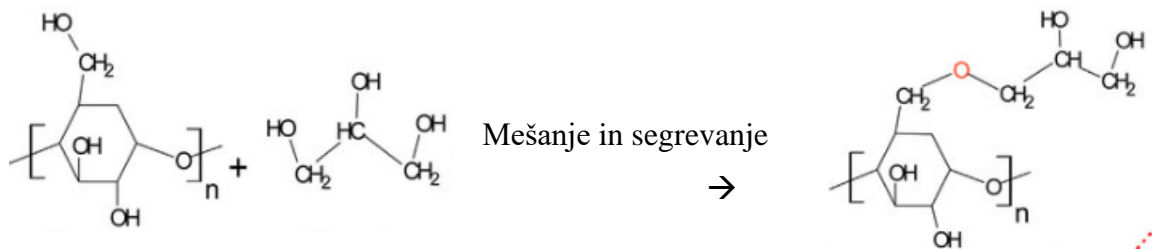
1. fizična adsorpcija: barvilo imobiliziramo na trdnem nosilcu na podlagi ionske izmenjave,
2. kovalentna vezava barvila na (hidrofilno) matriko,

### 3. fizična ujetost barvila v nosilcu na osnovi polimera.

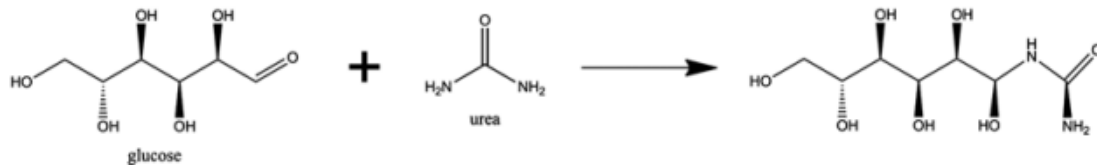
Za namen tega inovacijskega predloga smo predpostavili, da bi se kurkumin lahko kovalentno vezal ali pa fizično ujel v matriko polimera na osnovi molekulskih vezi.

Senzor smo razvijali s pomočjo dveh različnih plastifikatorjev: to sta glicerol (propan-1,2,3-triol,  $C_3H_8O_3$ ,  $CH_2OH-CHOH-CH_2OH$ ) in urea ( $(NH_2)_2CO$ ).

Na sliki 13 je predstavlja enačba reakcije med glukozo in glicerolom. Na sliki 14 je predstavljena enačba med glukozo in ureo.

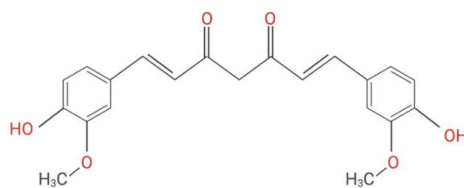


Slika 13. Nastanek polimerne strukture iz škroba in glicerola



Slika 14. Reakcija med glukozo in ureo in nastanek polimerne strukture (Costa s sod., 2012, str. 6)

Vključitev kurkumina je vezana na proste hidroksilne skupine in proste elektronske pare na kisikovem atomu. Predvidevali smo, da bo kurkumin tako imel možnost tvorbe vodikovih vezi s hidroksilnimi skupinami v glukoznih molekulah, glicerolu in amino skupino v sečnini in bo na ta način prispeval k večji zamrežitvi polimera ter enakomerni vgradnji. Možnosti vezave so na sliki 15 označene z rdečo barvo.



Slika 15. Možnosti vezave kurkumina (označene z rdečo barvo) v polimerno verigo

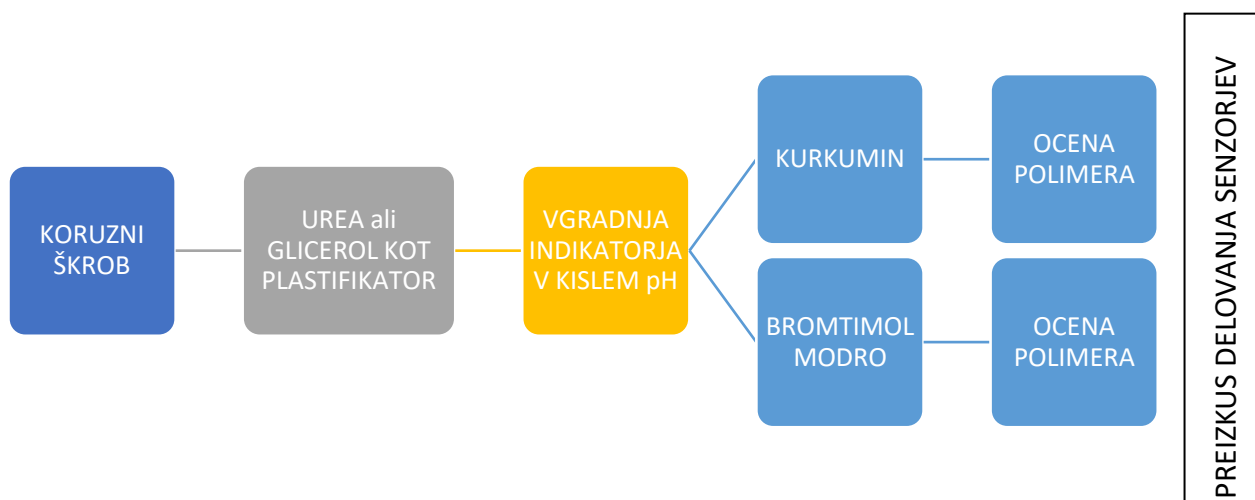
Costa s sod. (2012, str. 10) ugotavlja, da sinteza modificiranega škrobnega polimera, kjer kot plastifikator uporabimo ureo ali glicerol, mora potekati pri nizkem pH. Samo v tem v primeru postane del polimerne strukture. To je razlog, da bomo v procesu sinteze uporabili tudi kislino.

### 3 PRAKTIČNI DEL

Praktični del je sestavljen iz:

1. preliminarnih poskusov, kjer smo iskali najbolj ugodne pogoje za sintezo kurkuminskega senzorja. Vir škroba je predstavljal koruzni škrob, ki je zelo cenovno dostopen, saj bi ekstrakcija škroba iz krompirja v tej fazi dela pomenila prevelike količine uporabljenega krompirja, čisti krompirjev škrob pa je precej dražji. Primerjali smo odzivnost BTM in kurkumina.
2. poskusov, kjer smo upoštevali spoznanja prvega dela in vse sinteze izvedeli s sveže ekstrahiranim škrobom iz krompirjevih olupkov ter kurkuminom.

Prva (preliminarna) faza dela je shematično predstavljena na organigramu 1.



ORGANIGRAM 1. Načrt dela za preliminarne poskuse

Oznake, ki smo jih uporabljali so bile:

Oznaka	Pomen
Š	Škrob (koruzni)
O	Škrob iz olupkov krompirja
G	Glicerol
U	Urea
B	Bromtimol modro
C	Kurkumin

Celotno sintezo smo oblikovali kot kontroliran poskus, zato smo v ločenih preliminarnih poskusih preverjali vpliv škroba, plastifikatorja in pigmentna na končni produkt. Zasnovali smo serijo poskusov, ki so prikazani v matriki 1 (str. 25).

Na osnovi poskusov v preliminarnem delu smo želeli pridobiti znanje in izkušnje o tem katera sintezna pot na koncu daje najbolj elastičen in odziven biosenzor.

### **3.1 SINTEZA BIOPOLIMERNEGA SENZORJA IZ KORUZNEGA ŠKROBA**

#### **Pripomočki:**

- keramično strgalo in keramični/plastični/leseni nož (da se izognemo vnosu kovinskih ionov)
- 250 mL čaše,
- 50 mL čaše,
- terilnice s pestilom,
- steklene palčke,
- Pasteurjeve pipete (3 mL),
- analitska tehtnica Kern ( $\pm 0,001$  g), kuhinjska tehtnica ( $\pm 1$  g)
- univerzalni pH lističi (Riedel-de Haën),
- merilni valji (25 mL, 50 ml),
- pečica,
- kuhalna plošča,
- alkoholni gorilniki,
- trinožna stojala in mrežice,
- teflonske ponve,
- črn alkoholni flomaster.
- Štoparica ( $\pm 0,01$  sek)

#### **Kemikalije**

- koruzni škrob (Mercator),
- kurkumin – 0,6% raztopina (TCI),
- bromtimol modro - 0,4% raztopina (Merck, p.a),
- etanol (Merck, 96%),



- destilirana voda,
- 1L 0,1M HCl in 1L 0,01 M HCl
- 1L 5% CH<sub>3</sub>COOH
- 100 mL 0,1M NaOH,
- 1L glicerol (Riedel-de Haën, p.a.),
- 100 g uree (Riedel-de Haën, p.a.)
- 5 kg krompirja

## I. Izdelava polimera (preliminarni del)

V tej fazi dela smo preučili učinke prisotnosti:

- škroba,
- glicerola,
- uree,
- indikatorja,
- dolžine segrevanja
- načina sušenja polimera

### Delo

1) **2,5 g** koruznega škroba smo dodali 25 mL destilirane vode in 3 ml 0,1M HCl. Vse smo premešali s stekleno palčko in dodali **2 ml glicerola/ oz. 1g uree**. Poskus smo izvajali v 250 ali 500 mL čašah, ki so bile označene kot je prikazano v matriki 1 (serije poskusov). Vsako serijo smo 2-krat ponovili.

### MATRIKA 1

#### 1. serija poskusov

Št. poskusa	Š	G	B
1.1/2.1	DA	DA	DA
1.2/2.2	DA	DA	DA
1.3/2.3	DA	DA	DA
1.4/2.4	DA	DA	NE
1.5/2.5	DA	NE	DA
1.6/2.6	NE	NE	DA

## 2. serija poskusov

Št. poskusa	Š	G	C
3.1/4.1	DA	DA	DA
3.2/4.2	DA	DA	DA
3.3/4.3	DA	DA	DA
3.4/4.4	DA	DA	NE
3.5/4.5	DA	NE	DA
3.6/4.6	NE	DA	DA

## 3. serija poskusov

Št. poskusa	Š	U	B
5.1/6.1	DA	DA	DA
5.2/6.2	DA	DA	DA
5.3/6.3	DA	DA	DA
5.4/6.4	DA	DA	NE
5.5/6.5	DA	NE	DA
5.6/6.6	NE	DA	DA

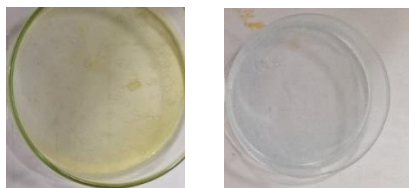
## 4. serija poskusov

Št. poskusa	Š	U	C
7.1/8.1	DA	DA	DA
7.2/8.1	DA	DA	DA
7.3/8.1	DA	DA	DA
7.4/8.1	DA	DA	NE
7.5/8.1	DA	NE	DA
7.6/8.1	NE	DA	DA

- 2) Čaše smo pokrili z urnimi stekli in jih postavili na trinožno stojalo ter nad plamenom alkoholnih gorilnikov segrevali tako dolgo, da zmes ni postala zelo viskozna.

- 3) Zaradi dodatka HCl je nastal kisel produkt<sup>9</sup>.
- 4) Pustili smo, da se je vsebina v čašah ohladila na 25°C in nato dodali še 1 mL 0,6 % vodne raztopine kurkumina<sup>10</sup> oz. 0,4% vodne raztopine bromtimol modro. Snov iz čaše smo s pomočjo steklene palčke prelili v petrijevko, ki je bila predhodno označena po matriki 1 in zmes čim bolj enakomerno prelili po celotni površini.
- 5) V preliminarnem delu smo vse polimere sušili na zraku.

### 3.2 REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV



*Slika 16. Koruzni škrobni senzor z BTM pred in po izpostavitvi raztopini amonijaka*

#### 3.2.1 Potek sinteze senzorjev in njihov odziv na amonijak

V preliminarnem delu smo prišli do naslednjih zaključkov:

- 1) Senzorji, kjer smo z nevtralizacijo približali pH vrednosti 7 so bili lepljivi in smo jih težko odstranili s površine petrijevke. Tanjša kot je bila plast, težje je bilo in senzorji so razpadali. Zaključili smo, da tako sintetizirani senzorji niso primerni za detekcijo hlapov ali tekočin amonijaka. Sinteza polimera mora biti kislinsko katalizirana, brez naknadne nevtralizacije, vendar je lahko koncentracija kisline nižja. To spoznanje smo upoštevali pri vseh sintezah od serije 2 dalje.
- 2) Da bi lažje odstranili polimer iz površine petrijevke, smo ponovitveno serijo naredili tako, da smo v petrijevko položili kos parafilma, ki je zaradi svoje elastičnosti omogočal lažjo odstranitev iz površine posode. Zaključek: polimer smo res lažje odstranili od posode, vendar se je zaradi krčljivosti para filma preveč oprijel na to podlago in to ni bila dobra rešitev.

<sup>9</sup> V seriji poskusov 1 in 2 smo po končani sintezi po kapljicah dodajali 0,1M NaOH, da smo dosegli pH~7. Meritev smo spremljali z univerzalnim indikatorskim papirjem. V seriji 3 in 4 smo ta korak izpustili, saj smo pri preizkusu odzivnosti senzorjev opazili, da ti razpadajo.

<sup>10</sup> Predhodno mora biti raztopljen v etanolu.

- 3) Vsi nastali produkti niso imeli homogene sestave. Predvidevali smo, da je to posledica slabega mešanja tekom sinteze, ki jo moramo izboljšati.
- 4) Vizualna ocena produktov je bila izvedena s pomočjo v naprej pripravljenih kriterijev ter formule ( $\vartheta$ ), ki smo jo oblikovali v ta namen. Najvišja ocena, ki bi jo senzor lahko dobil, je bila 4, saj smo vsak parameter točkovali. Spremljali smo naslednje kriterije: trdoto (T), elastičnost (E) in homogenost (H) polimera.

#### Formula za določitev kvalitete produkta

$$\vartheta = \frac{T + E + H}{3}$$

#### Trdota (T) :

1. zelo trda (strukturo ni mogoče rezati) ali premehka ali lepljiva: 0- 1T,
2. polimer možno rezati s škarjami ali nožem, vendar razpada: 2-3 T,
3. optimalna trdota polimera (lahko jo režemo s škarjami in ne razpada) - 4T.

#### Elastičnost (E):

1. zelo toga struktura. Ob deformaciji (upogibanju) se plastika lomi na manjše koščke ali se ne povrne vrne v prvotno obliko: 1- 2 T,
2. preveč elastična (plastika se deloma vleče kot »čigumi«): 1-2 T,
3. plastika je upogljiva, vendar ne v celoti: 3 T
4. optimalna (plastika obdrži obliko ob upogibanju): 4 T.

#### Homogenost (H):

1. povsem ali skoraj povsem nehomogena struktura:0 - 1T,
2. delno nehomogena struktura: 2T,
3. skoraj v celoti homogena struktura: 3 T,
4. povsem homogena struktura: 4T.

Iz ocene smo izpustili vse poskuse, kjer do polimerizacije ni prišlo oz. produkt ni bil odziven na spremembo pH (oznake poskusov s **.4, .5, .6**)

Preglednica 1. Vizualna ocena biosenzorjev v preliminarnem delu

Oznaka poskusa	Vizualna ocena senzorja (maks. 4)	Popr.ocena
1.1	2,7- BTM	2,8
1.2	2,3- BTM	
1.3	3,0- BTM	
2.1	4,0- BTM	
2.2	1,0- BTM	
2.3	3,0- BTM	
3.1	2,7-C	2,9
3.2	2,7 -C	
3.3	2,7- C	
4.1	3,2- C	
4.2	3,2- C	
4.3	3,0- C	
5.1	3,2- BTM	3,1
5.2	3,3- BTM	
5.3	3,3- BTM	
6.1	3,0- BTM	
6.2	3,0- BTM	
6.3	3,0- BTM	
7.1	2,5 - C	2,8
7.2	1,3 - C	
7.3	3,3 - C	
8.1	2,2 - C	
8.2	2,2 - C	
8.3	3,5 - C	

Legenda:

Glicerol	Urea
----------	------

C – kurkumin BTM – bromtimol modro

Kot vidimo iz preglednice 1 se povprečna ocena biosenzorjev, glede na postavljene kriterije, giblje med 2,8 do 2,9 pri vgrajenem kurkuminu in med 2,8 do 3,1 pri vgrajenem bromtimol modrem. Standardni odmik od poprečne vrednosti je velik. Zdi se, da je urea boljši plastifikator, vendar so razlike med posameznimi ponovitvami velike, kar pomeni, da bolj kot sam plastifikator na končne lastnosti polimera verjetno vpliva njegov način sušenja.



Slika 17. Primeri sinteze senzorja s kurkuminom

Odzivnost kurkuminskega biosenzorja na bazičen pH je bila takojšnja in izrazita, kar vidimo iz slike 18.



Primer produkta 4.3 (odrezan kos)



Pred izpostavitvijo bazičnemu pH  
(razdelitev na dva dela)



2 sekundi po izpostavitvi 10%  
NH<sub>3</sub>

Slika 18. Odzivnost senzorja z vgrajenim kurkuminom

Na tej osnovi smo sprejeli naslednje sklepe za nadaljnje delo:

- 1) Izbira parafilma, kot ustrezne podlage, kamor smo vlili produkt, se je izkazala za slabo rešitev, predvidevali smo, da bo teflonska podlaga boljša.
- 2) Sušenje produktov na zraku v zaprtih petrijevkah je zelo počasno, v odprtih petrijevkah ni dovolj kontrolirano in še vedno zelo počasno in neenakomerno, zato smo se odločili, da bomo produkte sušili na kuhalni plošči, na najnižji možni temperaturi.
- 3) Za senzorje s kurkumo transparentnost polimernega nosilca ni nujno potrebna, saj je sprememba barve zelo intenzivna (iz rumene (kislo) v oranžno (bazično)).
- 4) Razlika med senzorji, kjer smo kot plastifikator uporabili ureo ali glicerol je minimalna, zato bomo v nadaljevanju uporabili oba plastifikatorja.
- 5) HCl, ki jo uporabimo v sinteznem postopku, ima lahko nižjo koncentracijo, ker bomo s tem odzivnost senzorja povišali, zato smo v nadaljevanju uporabili 0,01 M HCl.

6) V polimerih, kjer indikatorjev ni, ne pride do odziva na spremembo pH, zato te kontrole v nadaljevanju ne bomo uporabili.

7) Mešanice, kjer nismo dodali plastifikatorjev (ure ali glicerol), so povsem neelastične, zato te negativne kontrole v nadaljevanju ne bomo uporabili.

8) V koliko v reakcijski mešanici ni bilo škroba, polimerizacija ni potekla, zato teh kontrol v nadaljevanju ne bomo več delali.

### 3.3 IZDELAVA BIOSENZORJA IZ KROMPIRJEVIH OLUPKOV Z VGRAJENIM KURKUMINOM

#### A. EKSTRAKCIJA ŠKROBA

1. Najprej smo dobro oprali več kosov krompirja in jih olupili ter stehtali. V preglednici 4 je primer rezultatov tehtanja.



*Slika 19. Priprava krompirjevih olupkov*

2. Olupkom smo v terilnici dodali 100 mL destilirane vode in trli, gnetli ter filtrirali skozi plastično cedilo. Filtrat smo zbirali v 250 mL čašah.

3. Postopek smo ponavljali toliko časa, da se je na dnu čaše zbrala večja količina usedline belega škroba. Zgornji del smo odlili in ponovno dodali nekaj mililitrov destilirane vode (čiščenje škrobnih zrn). Vse smo premešali s stekleno palčko in počakali, da se je škrobna usedlina povsem ločila od tekočine.

4. S pomočjo dekantiranja, smo škrob ločili od vodne raztopine in ga posušili (pečica, 10 min, 80°C). Maso škroba smo stehtali in vpisali v preglednico 3.

## **B. SINEZA BIOSENZORJA IZ ŠKROBA KROMPIRJEVIH OLUPKOV**

1) V 2,5 g pridobljena škroba iz olupkov smo dodali 25 ml destilirane vode in 3 ml 0,01 M HCl. Vse smo premešali s stekleno palčko in dodali 2 ml glicerola ali 1g uree (serija poskusov s številko 9 in 10). Poskus smo izvajali v 250 mL čašah, ki so bile označene kot je prikazano v matriki 2. V vsaki seriji smo izvedeli 3 poskuse.

### **MATRIKA 2**

#### **1. serija poskusov**

<b>Št. poskusa</b>	<b>O</b>	<b>G</b>	<b>C</b>
9.1	DA	DA	DA
9.2	DA	DA	DA
9.3	DA	DA	DA

#### **2. serija poskusov**

<b>Št. poskusa</b>	<b>O</b>	<b>U</b>	<b>C</b>
10.1	DA	DA	DA
10.2	DA	DA	DA
10.3	DA	DA	DA

2) Čaše smo pokrili z urnimi stekli in jih postavili na trinožno stojalo ter nad plamenom alkoholnih gorilnikov segrevali, dokler zmes ni postala zelo viskozna.

3) Pustili smo, da se je vsebina v čašah ohladila na sobno temperaturo in nato dodali še 1 mL 0,6 % vodne raztopine kurkumina.<sup>11</sup> Snov iz čaše smo s pomočjo steklene palčke prelili v teflonsko ponev, in zmes čim bolj enakomerno prelili po celotni površini.

4) Ponev smo postavili na kuhhalno ploščo in jo segrevali na najnižji temperaturi.

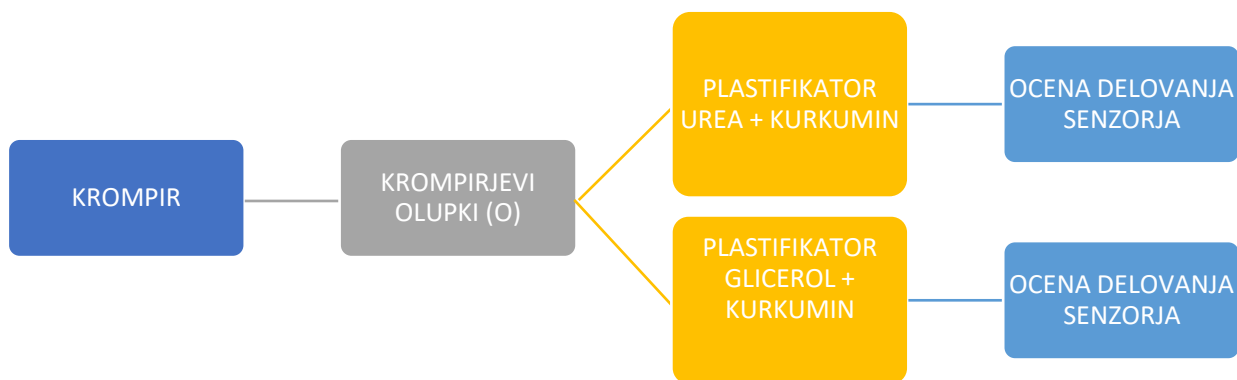
5) Sledila je vizualna ocena senzorjev in nato preizkus njihove odzivnosti na različne koncentracije amonijaka ter pare amonijaka.

Sinteza je predstavljena na organigramu 2.

---

<sup>11</sup> Predhodno mora biti raztopljen v etanolu.





ORGANIGRAM 2. Sinteza senzorja iz krompirjevih olupkov z vgrajenim kurkuminom

## 4 REZULTATI

Krompirji, ki smo jih uporabili, so bili različnih velikosti in oblik, zato v preglednici 2 predstavljamo le eno od meritev, na osnovi katerih smo izračunali izkoristek ekstrakcije.

Preglednica 2. Masa surovega krompirja

Biomasa	Masa ( $\pm 1$ ), g
Krompir (a)	1155
Olupki (b)	310
Olupljen krompir (c)	845

Preglednica 3. Izkoristek ekstrakcije škroba

Biomasa	Masa škroba ( $\pm 0,001$ ), g	Izkoristek ekstrakcije, $\partial$ (%)
Olupki (d)	62,032	20,0
Olupljen krompir (e)	182,012	21,5

Izračun izkoristka:

$$\partial_1 = \frac{d \times 100}{b}$$

$$\partial_2 = \frac{e \times 100}{c}$$

Izkoristki ekstrakcije škroba so se gibali od 5,5% do 21,0%, odvisno od debeline olupka in velikosti naribanih delcev. Manjši kot so bili, več škroba se je izločilo.

Preglednica 4. Potek izdelave biopolimera



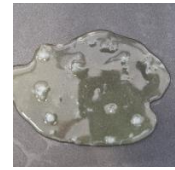
Usedanje škrobnih zrn



Škrob iz krompirjevih olupkov



Sinteza



Sušenje produkta

Škrob pridobljen iz krompirjevih olupkov ni bil povsem suh, niti uprašen. Ker je bil grudičast, je bilo težko odmeriti točno maso, kar je vidno iz preglednice 5.

Preglednica 5. Mase škroba pridobljenega iz olupkov krompirja

Oznaka poskusa	Masa škroba ( $\pm 0,001$ ), g
10.1	2,517
10.2	2,515
10.3	2,507
9.1	2,514
9.2	1,503
9.3	2,504

Opažanja:

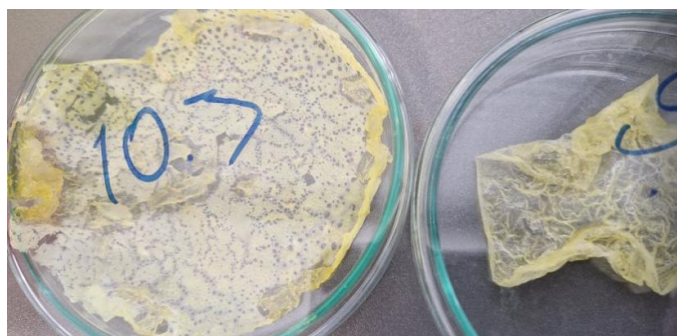
1. 80°C je previsoka temperatura za sušenje ekstrahirane škroba. Škrob bi se moral sušiti na nižji temperaturi (med 40°C in 50°C), kar pa v pečici ni bilo mogoče nastaviti.
2. Vlivanje produktov v teflonsko ponev je bila dobra izbira, le ponve bi morale biti bistveno manjše, saj so bili vsi polimeri zelo tanki ali pa moramo povečati maso reagentov.
3. Tudi za sušenje polimerov velja, da bi temperatura morala biti nižja (40°C - 50°C) ali uporabiti sušenje pri sobni temperaturi.

#### 4.1 VIZUALNA OCENA SENZORJEV IZ SVEŽEGA KROMPIRJEVEGA ŠKROBA Z VGRAJENO KURKUMO

Po formuli, predstavljeni v prejšnjem poglavju, smo vse produkte ocenili.

Preglednica 6. Vizualna ocena senzorjev iz olupkov krompirjevega škroba z vgrajeno kurkuminom

Oznaka poskusa	Vizualna ocena senzorja (maks. 4)	Poprečna ocena
Iz krompirjevih olupkov		
9.1	3,5	3,5
9.2	3,6	
9.3	3,5	
10.1	2,8	2,7
10.2	2,5	
10.3	2,9	



Slika 20. Izgled biopolimerov iz krompirjevih olupkov

Vizualni izgled polimerov iz škroba pridobljenega iz krompirjevi olupkov se razlikujejo od polimerov iz koruznega škroba v naslednjem:

1. so manj homogenega izgleda,
2. so bolj elastični,
3. imajo nižja gostoto,
4. imajo manj steklast videz.

Ocenili smo, da imamo naslednje možnosti izboljšav:

1. Sušenje na kuhalni plošči povzroči prehitro izhlapevanje vode. V osnovni »recepturi« moramo zmanjšati količino vode v primerjavi z ostalimi reagenti in produkt sušiti na zraku, na podlagi, ki ne bo omogočala oprijemanja (teflon, aluminijeva folija).
2. Povprečna ocena polimerov pokaže, da so polimeri, kjer smo kot plastifikator uporabili glicerol, nekoliko boljše ocenjeni kot tisti z ureo. To bi lahko bila posledica večjega deleža vode v škrobu, ki smo ga uporabili in s tem močnejše vezave (vodikove vezi) z glicerolom ali pa več vezavnih mest, ki jih glicerol ima v primerjavi z ureo.

3. Vsi polimeri so bili zelo tanki, vendar elastični. Elastičnost so obdržali vsaj še naslednje štiri tedne. Za optimalno uporabo bi morali biti nekoliko debelejši oz. imeti večjo gostoto.

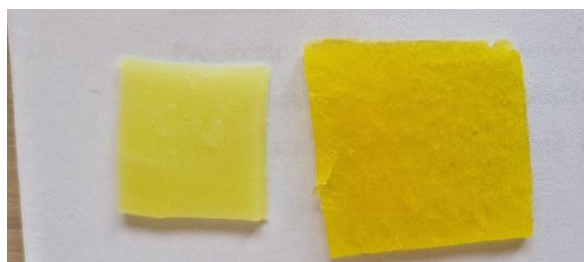
#### 4.2 NADALJNJE IZBOLJŠAVE V SINTEZI SENZORJA

Na osnovi vseh pridobljenih izkušenj smo s razvojem biosenzorja nadaljevali. Ker je bil glavni problem sušenje produkta, smo se odločili, da bomo zmanjšali količino uporabljene vode na polovico in količino preostalih reagentov povečali za 20-krat. To je pomenilo, da smo v zadnji seriji poskusov sintezo izvedli na naslednji način:

V 50 g škroba, pridobljenega iz krompirjevih olupkov smo dodali:

50 g 5% raztopine očetne kisline (9% kis za vlaganje smo ustrezno redčili), 40 ml (45 g) glicerola in 40 ml vode ter vse skupaj, ob res intenzivnem mešanju segrevali nad alkoholnim gorilnikom. Ko je zmes pridobil maksimalno viskoznost, smo počakali, da se ohladi na sobno temperaturo in dodali še 2 ml 0,6% raztopine kurkumina. Ponovno vse skupaj močno premešali in s plastično kuhinjsko spatulo (ki se običajno uporablja za okraševanje tort) zmes nanесли na aluminijevo folijo. Izvedli smo devet poskusov z glicerolom in tri z ureo.

Polimer z vgrajenim kurkuminom se je zelo hitro strdil in zavzel želeno obliko, z lahkoto smo ga odstranili s površine folije in že po 10 min lahko rezali s škarjami. Tehnične lastnosti produkta z glicerolom so bile v poprečju ocenjene s 3,9 in z ureo 3,8. Kot vidimo iz slike 21, je senzor z ureo v primerjavi s senzorjem z glicerolom, že v osnovi bolj temno rumeno obarvan, kar je logično, saj  $-COOH$  skupina etanojske kisline in  $-NH_2$  skupina uree lahko tvorita amid ( $-CONH-$ ), ki ima bazične lastnosti. Zato smo sprejeli še zadnjo odločitev – za kurkuminski senzor, izdelan na osnovi olupkov krompirja je najbolj primeren plastifikator glicerol, saj je senzor z ureo precej bolj temno rumeno obarvan.



Slika 21. Kurkuminski senzor z glicerolom kot plastifikatorjem (levo) in ureo kot plastifikatorjem (desno)

Odzivnost smo preizkusili tudi z različni raztopinami natrijevega hidroksida. Senzor se je vedno odzval s spremembo barve, ni pa se odzval na karbonate v pitni vodi, ki je imela pH 7,5.

Produkte smo potopili v vodo in 5% kisa (ocetne kisline) V času ene ure so se povsem razgradili, v kislini že po 30 min.

#### 4.3 DELOVANJE SENZORJA

Da bi preizkusili odziv kurkuminskega senzorja smo si pripravili naslednje raztopine amonijaka: **0,1%, 0,5%, 1,0%, 5%, 10%, 25%**.

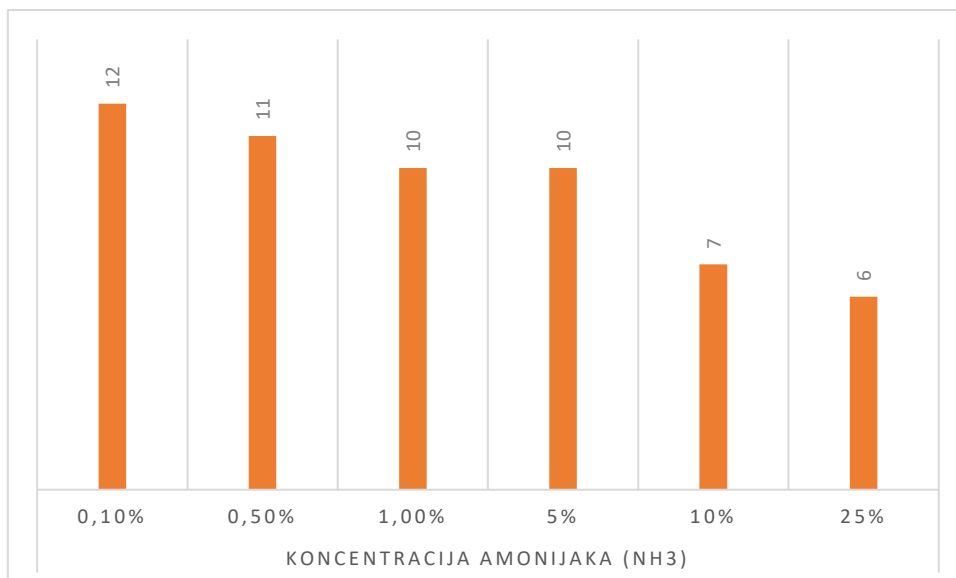
Produkte (biosenzorje) smo razrezali na koščke, približno 1cm x 1cm, in dodali 1 mL ustrezne raztopine amonijaka. Merili smo čas spremembe barve iz rumene v oranžno. Rezultati so predstavljeni v preglednici 7.

*Preglednica 7. Poprečni čas odziva biosenzorja na spremembe pH*

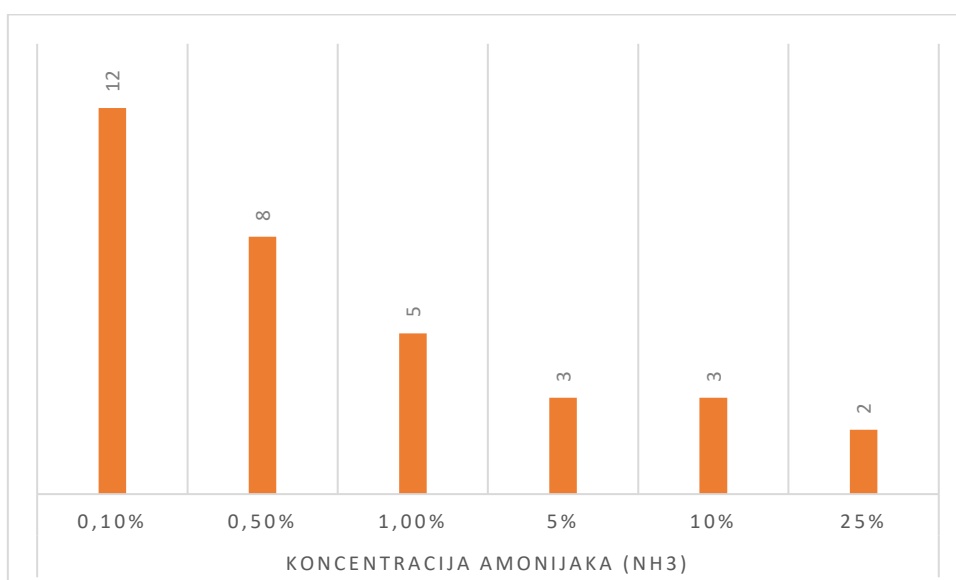
Oznaka poskusa in odzivni čas ( $\pm 1$ ), s	Koncentracija amonijaka ( $\text{NH}_3$ )					
	0,1%	0,5%	1,0%	5%	10%	25%
9.1/9.2/9.3	12	11	10	10	7	6
10.1/10.2/10.3	12	8	5	3	3	2

*Opomba:*

*Štoparica sicer meri na  $\pm 0,001$  sekundo natično, vendar, ker je to merjene bilo ročno, smo čas zaokrožili na 1 sekundo.*



*Graf 1. Odzivni čas senzorja, kjer je bil plastifikator glicerol*



*Graf 2. Odzivni čas, kjer je bil kot plastifikator uporabljena urea.*

Oba tipa biosenzorjev (urea in glicerol) sta se na prisotnost amonijaka odzvala obratno sorazmerno s koncentracijo amonijaka. Kurkumin se je v primeru, da smo kot plastifikator uporabili ureo, odzval hitreje. To velja za vse preučevane koncentracije amonijaka razen 0,1%. Pri vseh opažamo spremembo barve iz sveto rumene v svetlo oranžno.

Pri obeh tipih polimerov iz škroba krompirjevih olupkov ugotavljamo, da je odzivnost senzorja zelo visoka, tudi pri zelo nizkih koncentraciji amonijaka (0,1%). Zanimalo nas je katera je najnižja koncentracija, ki jo tako pripravljen senzor še zazna.

V ta namen smo pripravili še naslednje koncentracije amonijaka: 0,01%, 0,005%, 0,0025%, 0,001%. Pri koncentracija 0,01% in 0,005% je bil odzivni čas med 30 in 60 sekund, medtem, ko pri nižjih koncentracijah (0,0025% in 0,001%), senzor ni več zaznal prisotnosti amonijaka oz. ni bilo spremembe barve. Vzorce biosenzorja smo preizkusili tudi na koncentrirane hlape amonijaka (25%) in dobili pozitiven rezultat znotraj 1 min.

## 5 RAZPRAVA Z ZAKLJUČKI

---

Namen raziskovalne naloge je bil razviti senzor, ki:

- bo zgrajen iz odpadne biomase (krompirjevi olupki),
- bo občutljiv na spremembe koncentracije amonijaka v vodnem okolju,
- bo odziven na koncentrirane hlape amonijaka,
- bo deloval pri sobni temperaturi,
- za svoje delovanje ne bo potreboval vira električnega toka,
- bo grajen iz naravnih biorazgradljivih snovi.
- cenovno zelo dostopen,
- v celoti biorazgradljiv.

To nam je uspelo, vendar ima naš produkt še zelo veliko prostora za izboljšave.

Kot osnovno surovino za izdelavo polimernega nosilca smo uporabil krompirjeve olupke. Leta 2020 smo v Sloveniji pridelali 89000 ton ali 31 t/ha, kar je bila najboljša letina, odkar Statistični urad republike Slovenije spremlja te podatke. Ta količina predstavlja 48,5 % samooskrbo, preostali krompir dobimo iz uvoza (SURS, 2020). V povprečju porabimo 68,4 kg krompirja/prebivalca<sup>12</sup> (SURS, 2017). Ob predpostavki da se 140.910 ton porabi zgolj za prehrano, to pomeni da letno zavržemo približno 28.000 ton krompirjevih olupkov. Ta količina lahko predstavlja osnovo za sintezo ustreznih biopolimerov, ki bi lahko imeli ne samo funkcijo embalaže ali nosilnih vrečk, ampak tudi detekcije amonijaka v predpakiranih živilih, ki se lahko zelo hitro začne sproščati pri živilih živalskega izvora, predvsem ribah in morskih sadežih.

Senzor, ki smo ga razvili, ima naslednje lastnosti:

---

<sup>12</sup> Vir: <https://www.kgz-ptuj.si/nasveti/poljedelstvo/ArtMID/802/ArticleID/1232> Povzeto 25. 2. 2023

1. **Deluje.** Zelo hitro se barvno odzove na prisotnost amonijaka, vendar iz barve ne moremo sklepati na koncentracijo amonijaka. Kalibracija bi morala biti narejena na odzivni čas. Ugotovili smo, da je odzivni čas obratno sorazmeren s koncentracijo amonijaka. Senzor se odzove tudi na raztopine hidroksidov, ne pa tudi raztopine karbonatov v pitni vodi. Torej ni specifičen.
2. Senzor **je stabilen** (ne razpada, razen v primeru koncentrirane raztopine amonijaka).
3. Senzor **ni reverzibilen**. Je torej samo za 1-kratno uporabo. Razlog je kurkumin, ki se kemično razgradi ob spremembi barve. BTM senzor je bil reverzibilen, vendar BTM ni biorazgradljiva snov.
4. Razviti senzor omogoča detekcijo amonijaka v koncentracijah **od 0.005% naprej**, torej od 50 ppm, kar pomeni, da je zelo občutljiv.
5. Njegova odzivnost pri koncentracijah nad 1% amonijaka je 10 ali manj sekund, pri nižjih koncentracijah se odzivnost podaljša do 1 min, kar pomeni, da je tudi zelo **odziven**.
6. Dodana vrednost razvitega sensorja je, da ga lahko zaužijemo in je **povsem biorazgradljiv**. Njegova razgradljivost v kislem okolju je zelo hitra (manj kot 1 h).

Kljub navdušenju nad dosedanjim razvojem, naslednja vprašanja ostajajo odprta:

1. *Kolikšna je dejanska življenjska doba uporabe takšnega sensorja? Ali s časoma izgublja na odzivnosti in začne razpadati?*

Senzorje smo shranili v zip-lock vrečke in pustili na zraku. Opazovanja še tečejo. Predvidevamo, da visoka antioksidativna učinkovitost kurkumina pomaga zaščiti senzor pred prehitro oksidacijo in podaljšuje življenjsko dobo.

2. *Ali smo izbrali najbolj optimalna razmerja in koncentracije sestavin?*

Začetne recepture smo kontrolirano spreminjali. Zadnja se zdi najbolj optimalna, vendar verjamemo, da je produkt mogoče še izboljšati, predvsem z vidika natezne trdnosti. Zdaj ga brez težav gnetemo, valjamo in oblikujemo, nima pa velike natezne trdnosti. Vendar je res, da za detekcijo amonijaka, natezna vrednost ni pomembna.

3. *Kako se senzor odziva na druge baze v okolju (npr. amine in amide)?*

Zamenjava klorovodikove kisline z oetno kislino je prinesla spremembe v barvi produkta, če smo kot plastifikator uporabili ureo. Senzor ima temnejši odtenek rumene barve in je bolj občutljiv.



#### 4. Bi lahko uporabili kar navadno kurkumo (začimbo) kot indikator?

To bi ceno takšnega senzorja bistveno pocenilo, vendar kurkuma ni čista snov in njen način pridelave morda preveč vpliva na njeno sestavo, posledično bi vplival tudi na delovanje senzorja.

Če povzamemo:

**Hipotezo ena smo potrdili.** V krompirjevih olupkih je dovolj škroba, da jih lahko uporabimo za pripravo biorazgradljivega polimera.

**Hipoteza dve** v kateri smo predpostavili, da bo škrobni polimer pripravljen iz krompirjevih olupkov imel primerljivo konsistenco, kot senzor grajen iz komercialno dostopnega koruznega škroba, ki se uporablja v gospodinjstvu, je **potrjena**.

**Potrdimo lahko tretjo hipotezo** v kateri smo predpostavili, da se bo kurkumin homogeno vgradil v škrobno polimerno osnovo in bo pH odziven.

**Potrdimo lahko tudi četrto hipotezo** saj je odzivnost biosenzorja v realnem času, torej znotraj 1 min.

Vendar občutljivost in odzivnost detektorja nista edina dejavnika, ki ju upoštevamo pri oceni detektorja. Natančnost in zanesljivost, njegovo delovno temperaturno območje in seveda interakcije z drugimi snovmi v vodnih okoljih, so prav tako pomembne. Mi smo senzorje vedno preizkušali v temperaturnem območju od 17°C (temperatura vodnih raztopin) do 25°C.

Razviti senzor bi lahko takoj uporabili kot senzor za zaznavanje prevelike količine amonijaka v vodah za gojenje rib. Voda, ki je primerna za ribe (*ciprinidne vrste*) lahko vsebuje največ 0,005% raztopine amonijaka<sup>13</sup>, kar je spodnja detekcijska meja koncentracija amonijaka, ki ga naš senzor še lahko zazna. Meritve koncentracij amonijaka v ribogojnicah ali akvarijih so nujne, saj prevelika količina amonijaka vodi do zastrupitve in kasneje celo do smrti rib. Predstavljen senzor bi ribe lahko tudi pojedel brez negativnih posledic.

Ima pa razviti senzor še veliko možnosti izboljšav. Če povzamemo samo nekatere:

1. Škrob pridobljen iz krompirjevih olupkov mora biti povsem dehidriran, saj se drugače zelo hitro lahko začnejo razvijati mikroorganizmi, in uprašen.

---

<sup>13</sup> Vir: <https://fishlab.com/ammonia-levels/> Povzeto 25. 2. 2023

2. V procesu sinteze biopolimera je potreben stresalnik ali magnetno mešalo, ki bi omogočilo pridobiti čim bolj homogeno zmes (brez grudic).
3. Nujna je kontrola temperature tekom sinteze polimera in vlivanje v kalupe, ki bi omogočili kontrolo debeline polimera in s tem tudi intenziteto spremembe barve. Pri zadnji seriji poskusov smo uporabili kar gospodinji strojček za izdelavo širokih rezancev.
4. Potrebna je kalibracija s komercialnim senzorjem za amonijeve ione in amonijak.

Izboljšave so izziv za nadaljnje delo, saj je sinteza takšnega sensorja res enostavna, poceni in kar je še pomembneje, deluje!

Ceno smo sensorju določili na osnovi cene materialov, ki smo jih uporabili (<https://uk.vwr.com/store/product>). Sensorji dimenzij 4 cm x 4 cm bi stali cca. 20 centov, kar je v primerjavi s komercialnimi sensorji zanemarljivo malo.

*Preglednica 8. Cena surovin za sintezo sensorja*

Surovina	Cena (EUR)
5% CH <sub>3</sub> COOH, 1L	3,00
Glicerol, 1L	136,73
Kurkumin, 10 g	52,50
<b>SKUPAJ</b>	<b>192,23</b>

Količine predstavljene v preglednici 8 zadoščajo vsaj za 1000 sintez, kar pomeni 0,20 EUR/kos

## 5.1 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Družbena odgovornost se nanaša na odgovornost posameznikov in organizacij za svoje ravnanje in vpliv na družbo in okolje. Ena od ključnih tem, ki se danes pogosto pojavljajo v razpravah o družbeni odgovornosti, je uporaba obnovljivih virov. Uporaba obnovljivih virov ima veliko prednosti, saj zmanjšuje izpuste toplogrednih plinov, ki prispevajo k podnebnim spremembam, in zmanjšuje odvisnost od neobnovljivih virov, kot sta nafta in plin. Senzor, ki je še v razvoju in predstavljen v tej nalogi, vključuje prizadevanja za zmanjšanje škodljivega vpliva na okolje in podnebne spremembe in izraža naš prispevek k družbeni odgovornosti.

Asman, B.W., Sutton, M.A., Schjørringa, J., K. (1998) Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. *New Phytol.* (1998), 139, str. 27–48 Dostopno na: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1469-8137.1998.00180.x> (Povzeto 2. 2. 2023).

Costa, N.A., Joao, F., Pereira, J., Cruz, P. (2012). The Role of succrose in amino polymers synthesised by the strongly acid process. *J. of Adhesion Science and technology*, January 2012; str. 1-12.

Cvelbar, J. (2019). Vpliv strukture na razgradljivost Biopolimerov. Diplomsko delo, fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani.

Ezati, P.; Bang, Y. J.; Rhim, J. W. (2021). Preparation of a ShikoninBased PH-Sensitive Color Indicator for Monitoring the Freshness of Fish and Pork. *Food Chem.* 2021, 337, str.127995.

Kuswandi, B.; Restyana, A.; Abdullah, A.; Heng, L.Y.; Ahmad, M. A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film. *Food Control* 2012, 25, str. 184–189.

Kerry, J.; Butler, P. *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2008.

Khorasania, M.Y., Langaric, H., Sanyd, S.B.T., Rezayib,R., Sahebkar, A. (2019). The role of curcumin and its derivatives in sensory applications. *Materials Science & Engineering C* 103 (2019); 109792; Elsevier. Dostopno na: [www.elsevier.com/locate/msec](http://www.elsevier.com/locate/msec) Uporabljeno: 8. 1. 2023.

Kwak, D., Lei, Y., Maric, R. (2019). Ammonia gas sensors: A comprehensive review. *Talanta*. 2019 Nov 1;204:713-730. doi: 10.1016/j.talanta.2019.06.034.

Kumar, A.; Negi, Y.S.; Choudhary, V.; Bhardwaj, N.K. Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste. *J. Mater. Phys. Chem.* 2014, 2, str. 1–8.

Mannozi, C.; Tylewicz, U.; Chinnici, F.; Siroli, L.; Rocculi, P.; Dalla Rosa, M.; Romani, S. (2018). Effects of chitosan based coatings enriched with procyanidin by-product on quality of fresh blueberries during storage. *Food Chem.* 2018, 25; str. 18–24.

Mohebi, E.; Marquez, L. (2015). Intelligent Packaging in Meat Industry: An Overview of Existing Solutions. *J. Food Sci. Technol.* 2015, 52 (7), str. 3947–3964.

Noureddin, S. A.; El-Shishtawy, R. M.; Al-Footy, K. O. (2019). Curcumin Analogues and Their Hybrid Molecules as Multifunctional Drugs. *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 182, 111631.

Pain, J. (2019). Inventory of Ammonia Emissions from UK Agriculture. V DEFRA Contract SCF0107, Inventory Submission Report March 2021. T H Misselbrook, S L Gilhespy Rothamsted Research, North Wyke, Okehampton, Devon EX20 2SB.

Peternelj, A. Vključevanje vsebin o bioplastiki v pouk kemije v osnovni šoli. Magistrsko delo, pedagoška fakulteta v Ljubljani, Univerza v Ljubljani, 2018.

Priyadarshi, R.; Kim, S.-M.; Rhim, J.-W. Pectin/pullulan blend films for food packaging: Effect of blending ratio. *Food Chem.* 2021, 347; str. 129022.

Priyadarshi, R., Ezati, P., Rhim, J.-W. (2021). Recent Advances in Intelligent Food Packaging Applications Using Natural Food Colorants.

Dostopno na: <https://dx.doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00039> Uporabljeno 2. 1. 2023

Roy, S.; Rhim, J.-W. Preparation of carbohydrate-based functional composite films incorporated with curcumin. *Food Hydrocoll.* 2020, 98, str. 105302.

Rösche, L.; John, P.; Reitmeier, R. "Organic Silicon Compounds" Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. John Wiley and Sons: San Francisco, 2003. doi:10.1002/14356007.a24\_021.

Sheppard, S. C. and Bittman, S. (2016). Ammonia, in: Environmental sustainability of Canadian agriculture: Agri-environmental indicator report series, edited by: Clearwater, R. L., Martin, T., and Hoppe, T., Report 4, Agriculture and Agri-Food Canada, chap. 16, str. 180–194.

Shephard M.W. s sod. (2019). Ammonia measurements from space with the Cross-track Infrared Sounder: characteristics and applications. *Atmos. Chem. Phys.*, 20, 2277–2302, 2020  
Dostopno na: <https://doi.org/10.5194/acp-20-2277-2020>.

Sheppard, L., Joy, L. (2008). Stress responses of *Calluna vulgaris* to reduced and oxidised N applied under 'real world conditions'. *Environmental Pollution* 154(3): str. 404-13  
DOI:10.1016/j.envpol.2007.10.040 SourcePubMed.

Sutton, M., A., Samantha, S., R., Baker, M., H. (2009). Detecting emission changes and environmental impacts. Results of an Expert Workshop under the Convention on Long-range

Transboundary Air Pollution. Centre for Ecology & Hydrology, (CEH), UK. ISBN: 978-1-4020-9121-6.

Šprajcar, M., Horvat, P., Kržan, A. (2019). Biopolimeri in bioplastika. Kemisjski inštitut v Ljubljani. Dostopno na: [https://www.konopko.si/files/file/Bioplastika-skladna-z-naravo\\_gradivo-za-sole.pdf](https://www.konopko.si/files/file/Bioplastika-skladna-z-naravo_gradivo-za-sole.pdf) Pridobljeno 2. 1. 2023

Verbič, J. (2020). Svetovalni kodeks dobrih kmetijskih praks za zmanjševanje izpustov amonijaka. Kmetijski inštitut Slovenije. ISBN 978-961-6998-40-6.

Yoshida, C. M., Maciel, V.B.V.; Mendonça, M.E.D.; Franco, T.T. Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. LWT-Food Sci. Technol. 2014, 55; str. 83–89.

Wang, W.; Li, M.; Li, H.; Liu, X.; Guo, T.; Zhang, G.; Xiong, Y. A (2018). Renewable intelligent colorimetric indicator based on polyaniline for detecting freshness of tilapia. Packag. Technol. Sci. 2018, 31; str. 133–140.