

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie

**Příprava a využití fluorescenčních uhlíkových teček na bázi
tenzidu**

Surfactant-based fluorescent quantum carbon dots: synthesis and
application

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce:
Studijní obor:
Vedoucí diplomové práce:

Bc. Sandra Štěpánková
Materiálová chemie
Ing. Ondřej Kozák, Ph.D.

Olomouc, 2014

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Sandra Štěpánková

Název práce: Příprava a využití fluorescenčních uhlíkových teček na bázi tenzidu

Typ práce: Diplomová

Pracoviště: Katedra fyzikální chemie

Vedoucí práce: Ing. Ondřej Kozák, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2014

Abstrakt:

V této diplomové práci jsem se zabývala syntézou fluorescenčních uhlíkových teček, které byly připraveny hydrotermální karbonizací z kationického surfaktantu cetylpyridinium chloridu (CPC). Tato příprava je jednoduchá, šetrná k životnímu prostředí a takto vzniklé uhlíkové tečky se vyznačují laditelnou fotoluminiscencí a dobrou koloidní stabilitou. Uhlíkové tečky vykazovaly selektivitu vůči kationtům Fe^{3+} , proto je možná jejich aplikace jakožto senzory pro stanovení Fe^{3+} iontů, která je založená na zhášení fluorescence uhlíkových teček.

Klíčová slova: uhlíkové tečky, fotoluminiscence, hydrotermální příprava, zhášení, železo

Počet stran: 77

Počet příloh: 0

Jazyk: čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Sandra Štěpánková
Title: Surfactant-based fluorescent quantum carbon dots: synthesis and application
Department: Department of Physical Chemistry
Type of thesis: Master
Supervisor: Ing. Ondřej Kozák, Ph.D.
The year of presentation: 2014

Abstract:

In this work I present fluorescent carbon dots (CDs) prepared by facile and eco-friendly synthesis, which is hydrothermal carbonization from cationic surfactant cetylpyridinium chloride (CPC). These carbon dots have tunable photoluminescence and long-term colloidal stability. Moreover they exhibit high selectivity and sensitivity towards Fe^{3+} ions. Therefore a specific quantitative method is proposed for the determination of Fe^{3+} ions based on fluorescence quenching of carbon dots.

Keywords: carbon dots, photoluminescence, hydrothermal synthesis, quenching, iron
Number of pages: 77
Number of appendices: 0
Language: Czech

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Abstrakt

V této diplomové práci jsem se zabývala syntézou fluorescenčních uhlíkových teček, které byly připraveny hydrotermální karbonizací z kationického surfaktantu cetylpyridinium chloridu (CPC). Tato příprava je jednoduchá, šetrná k životnímu prostředí a takto vzniklé uhlíkové tečky se vyznačují laditelnou fotoluminiscencí a dobrou koloidní stabilitou. Uhlíkové tečky vykazovaly selektivitu vůči kationtům Fe^{3+} , proto je možná jejich aplikace jakožto senzory pro stanovení Fe^{3+} iontů, která je založená na zhášení fluorescence uhlíkových teček.

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Abstract

In this work I present fluorescent carbon dots (CDs) prepared by facile and eco-friendly synthesis, which is hydrothermal carbonization from cationic surfactant cetylpyridinium chloride (CPC). These carbon dots have tunable photoluminescence and long-term colloidal stability. Moreover they exhibit high selectivity and sensitivity towards Fe^{3+} ions. Therefore a specific quantitative method is proposed for the determination of Fe^{3+} ions based on fluorescence quenching of carbon dots.

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry fyzikální chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne.

Podpis

Univerzita Palackého v Olomouci

Přírodovědecká fakulta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli Ing. Ondřeji Kozákovi, Ph.D. (RCPTM, UP Olomouc), za jeho odborné vedení, ochotu a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Kláře Šafářové, Ph.D. (RCPTM, UP Olomouc), za mikroskopickou analýzu.

Tato práce byla umožněna a financována projektem Operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace (CZ.1.05/2.1.00/03.0058) a dále Operačního programu Vzdělávání pro konkurenceschopnost (CZ.1.07/2.3.00/20.0155) a (CZ.1.07/2.3.00./30.0041, MŠMT ČR).

Také bych chtěla poděkovat svým rodičům a svému příteli, za velkou podporu během mého studia.

Obsah

1	Úvod	3
2	Teoretická část	4
2.1	Koloidní systémy	4
2.2.1	Sedimentačně stálé částice a Brownův pohyb	5
2.2.2	Asociativní koloidy	6
2.2.3	Surfaktanty	7
2.2.4	Organické surfaktanty	8
2.2	Nanomateriály	10
2.2.1	Historie nanomateriálů	10
2.2.2	Nanotechnologie	10
2.2.3	Příklady nanomateriálů	11
2.2.4	Historie kvantových teček	12
2.3	Uhlík a uhlíkové nanostruktury	12
2.3.1	Uhlík	12
2.3.2	Uhlíkové kvantové tečky a nanodiamant	14
2.3.3	Grafen	15
2.3.4	Fulleren	16
2.3.5	Uhlíkové nanotrubičky	17
2.4	Syntetické metody příprav uhlíkových nanomateriálů	18
2.4.1	Příprava uhlíkových nanomateriálů	18
2.4.2	Příprava uhlíkových kvantových teček	19
2.4.3	Nanokompozity	20
2.4.4	Funkcionalizace povrchu nanočástic	20
2.5	Fyzikální a chemické vlastnosti uhlíkových kvantových teček	20
2.5.1	Rozdílné chování ve srovnání s makroskopickou látkou	20
2.5.2	Velký podíl atomů na povrchu	21
2.5.3	Hustota energetických stavů	22
2.5.4	Elektronová struktura kvantových teček	22
2.5.5	Optické vlastnosti kvantových teček	23
2.6	Luminiscence	25
2.6.1	Fosforescence	27
2.6.2	Fluorescence	27

2.6.3	Jablonského diagram	29
2.6.4	Nezávislost na excitační vlnové délce	31
2.6.5	Stokesův posun	32
2.6.6	Kvantový výtěžek	33
2.6.7	Zhášení fluorescence	33
2.6.8	Senzorické aplikace	35
2.7	Toxicita	36
2.8	Aplikace nanomateriálů	37
2.8.1	Aplikace uhlíkových kvantových teček	38
3	Experimentální část	40
3.1	Cíle práce	40
3.2	Syntéza kvantových uhlíkových teček z cetylpyridinium chloridu	41
3.3	Instrumentace	43
3.4	Měření fotoluminiscenčních spekter	43
3.4.1	Spektrofluorimetr	43
4	Výsledky a diskuze	45
4.1	Syntéza uhlíkových teček	45
4.2	Charakterizace CPC-QD	46
4.2.1	Transmisní elektronová mikroskopie	46
4.2.2	Zeta potenciál	50
4.2.3	Absorpční spektrum	51
4.3	Fotoluminiscenční studie	53
4.3.1	Vliv přidaného množství NaOH	54
4.3.2	Časová závislost	56
4.4	Aplikace CPC-QD	59
4.4.1	Vliv rozpouštědla	59
4.4.2	Senzorování pomocí zhášení fluorescence	61
5	Závěr	70
6	Summary	71
7	Literatura	72
8	Seznam obrázků	77

1 Úvod

Nanomateriály a jejich studium jsou jednou ze stále se rozvíjejících a stále intenzivně zkoumaných vědních disciplín, která propojuje chemii, fyziku, i biologii. Nanomateriály mají rozměry 10^{-9} m, a právě tyto nano-rozměry způsobují jejich odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti a chování od materiálů s makroskopickými vlastnostmi. U nanomateriálů se navíc mohou objevit i vlastnosti zcela nové, nepozorované u makroskopické látky. V této diplomové práci se budu zabývat hydrotermální syntézou, studiem vlastností a aplikací kvantových uhlíkových teček na bázi tenzidu. Uhlíkové tečky můžeme označit jako nejmladší z rodiny uhlíkových nanomateriálů, jejíž členy tvoří fullereny, grafen a uhlíkové nanotrubičky. Uhlíkové tečky jsou částice o velikostech pod 10 nm, které vynikají svými fluorescenčními vlastnostmi. Na rozdíl od polovodičových kvantových teček typu CdSe, které jsou rovněž fluorescenční, jsou uhlíkové tečky syntetizovány z biogenních prvků, a to především z uhlíku. Syntéza těchto nanočástic tedy nezatěžuje životní prostředí. Rovněž jejich netoxické složení umožňuje aplikace, jako jsou buněčná značení.

2 Teoretická část

2.1 Koloidní systémy

Koloidní roztok, nebo koloidní soustava, obsahuje částice o velikosti od 10^{-9} do 10^{-6} m. Studium koloidů je interdisciplinární vědou, pokrývající chemii, biologii, fyziku, materiální vědy a mnohá další odvětví. Při studiu koloidů se nezaobíráme chemickým složením (jestli je látka organické, či anorganické povahy), či fyzikálním stavem, ale zajímá nás právě rozměr částic tvořící koloidní soustavu. Právě díky velmi malému rozměru mají koloidní částice obrovský povrch a povrchovou energii a také odlišné vlastnosti od makroskopického materiálu [1].

Koloidy patří mezi tzv. disperzní soustavy. Disperzní soustava je tvořena z dispergované fáze a disperzního prostředí, což je homogenní část soustavy, ve které je dispergovaná fáze rovnoměrně rozptýlena. Disperzní soustavy jsou děleny podle stupně disperzity, což je převrácená hodnota rozměru částice (např. průměru). Vysoký stupeň disperzity znamená velice jemnou disperzní fázi. Soustavy tedy dále rozlišujeme jako monodisperzní (spíše vzácné), ve které mají všechny částice soustavy stejnou velikost, polydisperzní (které jsou časté), kdy mají velikost různou a homodisperzní, kdy jsou všechny částice soustavy stejného tvaru. Mimo koloidní disperze patří do disperzních soustav dvě další, a to analytické disperze ($d < 10^{-9}$ m) a hrubé disperze ($d > 10^{-6}$ m), viz Tab. I. [1], [2].

Tab. I. Dělení disperzních soustav dle disperzity

Disperzní soustavy		
analytické disperze	koloidní disperze	hrubé disperze
$d < 10^{-9}$ m	10^{-9} m $<$ $d < 10^{-6}$ m	$d > 10^{-6}$ m

d je velikost částic v metrech

Disperzní soustavu můžeme dále dělit na homogenní a heterogenní a to podle toho, jestli obsahuje pouze jednu, či dvě fáze. U heterogenních, tedy nestejnorodých soustav, tvořených dvěma fázemi, existuje určité fázové rozhraní. Na rozdíl od homogenního systému, kdy pozorujeme jen jednu fázi, jelikož dispergovaná fáze je

natolik rozptýlena v disperzním prostředí, že není možno uvažovat o fázovém rozhraní a tuto soustavu považujeme za homogenní, jinak řečeno stejnorodou [2].

Koloidní disperze jsou významné pro své fyzikálně chemické vlastnosti, např. závislosti absorpce světla na velikosti dispergovaných částic. Toto odlišné chování od makroskopické látky vychází z jejich malých rozměrů. U takto malých částic bude totiž jiné uspořádání energetických hladin elektronů, což se poté projeví v optických vlastnostech jako je absorpce, luminiscence, rozptyl aj. S klesajícím poloměrem částic roste plocha povrchu částic a roste i plocha fázového rozhraní mezi dispergovanými částicemi a disperzním prostředím [2].

Koloidní soustavy se dále dělí podle různých kritérií. Pokud vezmeme v potaz skupenský stav (pevný, kapalný, plynný) dispergované fáze a disperzního prostředí, můžeme koloidní soustavu rozdělit do osmi skupin. Asi nejzajímavější skupinou pro účely této diplomové práce jsou lyosoly, což jsou soustavy tvořené kapalným disperzním prostředím a pevnou dispergovanou fází. Tuto skupinu lze opět dále klasifikovat na soustavy lyofóbní, lyofilní a asociativní koloidní soustavy. Lyofóbní soustava má na rozdíl od lyofilní pevně vymezené fázové rozhraní a tvoří ji látky anorganické povahy, které se často neobejdou bez dodatečné stabilizace. Asociativní koloidní soustava, která nemá pevně definované fázové rozhraní, vzniká spojováním molekul surfaktantů v útvary koloidní velikosti (tedy 10^{-9} až 10^{-6} m). Lyofilní koloidní soustavy jsou povětšinou tvořeny vysokomolekulárními látkami, které se snadno rozpouští a jsou termodynamicky stálé (na rozdíl od lyofobních), proto se označují jako koloidní roztoky. Pokud je disperzní prostředí tvořeno vodou, nazýváme takovou soustavu jako hydrofilní koloidní soustavu [2].

2.2.1 Sedimentačně stálé částice a Brownův pohyb

Vlivem Brownova pohybu se částice v roztoku neustále pohybují, jelikož do nich naráží molekuly disperzního prostředí. Brownův pohyb je velice důležitý pro vysvětlení difúze a sedimentace. Jde o náhodný a zcela chaotický pohyb, který se zintenzivňuje s menší velikostí částic a vyšší teplotou. Pokud má částice rozměry v řádech několika μm , bude bombardována molekulami disperzního prostředí ze všech stran a během krátké doby, což bude mít za následek vyrušení těchto sil. Taková částice bude vlivem gravitace sedimentovat. Pokud však budeme mít koloidní částici o

nanometrových rozměrech, která díky své malé velikosti utrhá za stejný čas méně srážek, potom už nebude docházet k vzájemnému vyrušení sil působících na částici a částice se bude pohybovat ve směru výsledné síly. V tomto směru bude setrvávat až do srážky s další molekulou disperzní fáze [2].

Na koloidní částice působí jako na všechny hmotné objekty gravitační síla F_g . Částice se jejím vlivem pohybují ve směru působení síly a sedimentují. V opačném směru sedimentace působí však na částice i síla vztlaková F_{vzt} a síla viskozitního odporu F_{vis} . Působení sil na částici můžeme popsat jednoduchým vztahem, nazývaným jako Stokesův vztah:

$$F_g = F_{vzt} + F_{vis} \quad (2.1)$$

Po dosazení a úpravě dostáváme následující rovnici, ze které vyplývá, že sedimentační rychlost v roste s druhou mocninou velikosti částice r a také s větším rozdílem hustot částice ρ a disperzního prostředí ρ_0 a je nepřímo úměrná viskozitě disperzního prostředí η . Malé g značí gravitační zrychlení [1], [2].

$$v = \frac{2 r^2 (\rho - \rho_0) g}{9 \eta} \quad (2.2)$$

Pokud máme částice o velikosti menší než 100 nm, tedy nanočástice, budou se, díky Brownovu pohybu a jejich malému rozměru, schopny udržet v objemu roztoku a nesedimentovat. Mluvíme tedy o tom, že jsou sedimentačně stálé [2].

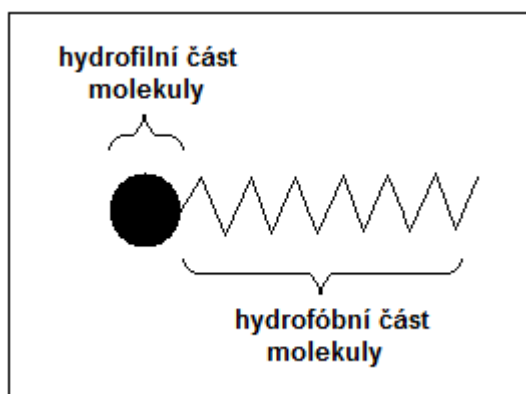
2.2.2 Asociativní koloidy

Jak již bylo zmíněno výše, asociativní koloidy vznikají spojováním molekul surfaktantů, tedy povrchově aktivních látek (PAL). Spojování molekul PAL je spontánní proces a hovoříme o tom, že dochází k samouspořádání [1]. Asociativní koloidy jsou, stejně jako lyofilní soustavy, termodynamicky stabilní soustavy. Při spojování molekul surfaktantů dochází ke tvorbě kulovitého útvaru, jelikož koule má nejmenší plochu povrchu na jednotku objemu. Tento kulovitý útvar nazýváme micela [1], [3]. Micely však nemají jen sférický tvar, ale mohou vznikat i tvary eliptické, cylindrické, diskovité, tyčovitě, či vláknité atd. Micely se začínají vytvářet v roztoku po

překročení tzv. kritické micelární koncentrace (CMC), což je hodnota, která je pro specifická pro danou látku [1], [4], [5]. Jsou to útvary složené z nahromaděných molekul povrchové aktivní látky, které vznikají vlivem odpuzivé interakce mezi rozpouštědlem a lyofobní částí surfaktantu, která se tímto procesem skryje dovnitř koule [3], [4]. Micely jsou dynamickými útvary, to znamená, že i po jejich vytvoření stále vyměňují molekuly surfaktantu mezi sebou a disperzním prostředím [2].

2.2.3 Surfaktanty

Název surfaktant pochází z anglického větného spojení „surface-active agent“, neboli „surfactant“. Tyto povrchově aktivní látky (také označovány jako tenzidy), jsou látky snižující povrchové napětí mezi fázemi tím, že se hromadí právě u fázového rozhraní. Molekuly surfaktantu se adsorbují na fázovém rozhraní, kde bude jejich koncentrace největší [6]. Molekula surfaktantu se skládá z lyofilní (hydrofilní) hlavičky a lyofobního (hydrofobního) řetězce, proto je popisována jako amfifilní, tedy obojetná (viz Obr. 1) [1], [3], [4]. Pokud je rozpouštědlem voda, je hydrofilní hlavička tvořena např. skupinou $-\text{OSO}_3\text{H}$, nebo $-\text{COOH}$ a hydrofobní část je tvořena uhlovodíkovým řetězcem. Existují dvě hlavní komerční cesty získávání surfaktantů. První jsou biologické (přírodní) zdroje a druhé petrochemický průmysl (který má ovšem také biologické kořeny) [3].

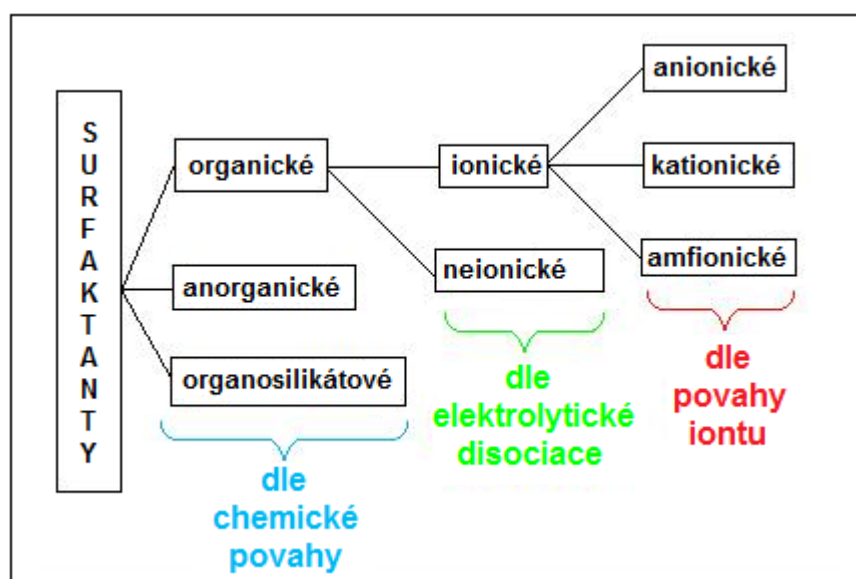


Obr. 1 Molekula surfaktantu

Čím delší uhlovodíkový řetězec bude, tím více bude surfaktant hydrofobní, a tím snáze rozpustný v organických rozpouštědlech [6]. Hydrofóbní část je tedy tvořena

alkylovým řetězcem o délce C₈-C₂₂, který může být lineární i větvený, s nasycenými i nenasycenými vazbami [3].

Surfaktanty můžeme dělit podle třech hlavních kritérií (Obr. 2), kterými jsou chemická povaha, elektrolytická disociace a povaha povrchově aktivního iontu. Dle chemické povahy rozlišujeme surfaktanty organické (nejčastější), anorganické a organosilikátové. Dalším kritériem je elektrolytická disociace, kdy surfaktanty dělíme na ionické a neionické. Ionické surfaktanty se dále dělí podle povahy aktivního iontu na anionické, kationické a amfionické [7].



Obr. 2 Schéma dělení povrchově aktivních látek s detailnějším pohledem na organické surfaktanty

2.2.4 Organické surfaktanty

Organické surfaktanty jsou v praxi nejpoužívanější skupinou surfaktantů, a i v této diplomové práci je použit organický tenzid. Do skupiny neionických organických surfaktantů, tedy surfaktantů, které nenesou elektrický náboj, patří např. adiční produkty etylenoxidu, které patří zároveň k nejstarším představitelům této skupiny [8]. Dále zde patří přírodní zástupci povrchově aktivních látek, jako jsou glyceridy a sacharidy, nebo průmyslově vyráběné Tritony a Tweeny [1], [2].

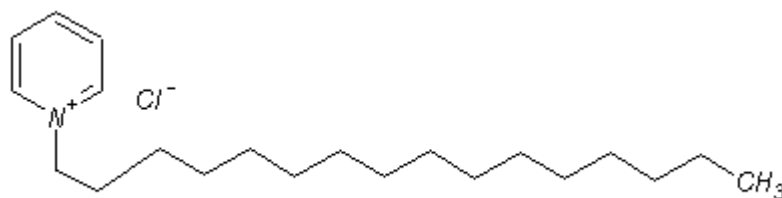
Do skupiny anionických organických surfaktantů, u kterých je hydrofilní část záporně nabitou skupinou, jako je RCOO⁻, řadíme jednu z nejvýznamnějších skupin, a

to soli karboxylových kyselin neboli mýdla. Jde o v praxi nejdéle používanou skupinu PAL. Skupinu, která vychází z esterů kyseliny sírové, nazýváme alkylsulfáty, kde je zástupcem SDS, dodecylsulfát sodný, hojně používaný u elektroforézy. Dalším příkladem je skupina fosfátů a esterů kyseliny fosforečné, tyto se používají v pracích prostředcích [2]. Obecně lze o anionických surfaktantech říci, že jsou na rozdíl od neionických biologicky špatně odbouratelné a nepříliš šetrné k životnímu prostředí [6].

Mezi amfoterní organické PAL, které mají jak bazickou, tak kyselou funkční skupinu a jsou nabitě podle okolního pH, patří přírodní látky, jako jsou aminokyseliny a betainy [2].

Mezi kationické organické PAL, jež mají hydrofilní část nesoucí kladný náboj a můžeme je dále dělit na neutrální a kyselé, patří alkylaminy, soli pyridinových zásad a soli kvarterních amoniových zásad. Kationické PAL nejsou využívány jako detergenty, ale jejich hlavním využitím jsou kondicionéry a dezinfektanty. Kvarterní amoniové zásady jsou nejpoužívanější skupinou kationických PAL a jejich uhlíkový řetězec má délku C_{12} - C_{18} [2].

Právě mezi kationické organické PAL, které jsou neutrální, patří i cetylpyridinium chlorid (CPC), používaný v experimentální části této diplomové práce. CPC má 16-ti uhlíkatý řetězec a polární část tohoto surfaktantu je tvořena pyridinovým kruhem (viz Obr. 3). Sumární vzorec této sloučeniny je $C_{21}H_{38}ClN \cdot H_2O$ [9]. Tento tenzid obsahuje dusík, který je třemi vazbami vázán na uhlík a vykazuje planární (sp^2) σ vazbu a násobné π vazby. CPC je bílý prášek, který má širokou aplikační oblast. Používá se v zubních pastách, ústních vodách, nosních kapkách ale i v pesticidech. Má antiseptické (germicidní) vlastnosti [7], [10].



Obr. 3 Cetylpyridinium chlorid

2.2 Nanomateriály

2.2.1 Historie nanomateriálů

Nanomateriály nejsou zcela novým materiálem vyskytujícím se v přírodě. Slovo nanomateriál je sice poměrně nový pojem, avšak není novou oblastí. V přírodě se totiž nanomateriály vyskytují v různých formách už od pradávna [11]. Teprve však s rozvojem mikroskopie jako je STM (Scanning Tunneling Microscopy), čili skenovací (rastrovací) mikroskopie a AFM (Atomic Force Microscopy), mikroskopie atomárních sil, bylo možné tyto částice charakterizovat, dát jim rozměr a pojmenovat je [12]. STM spolu s AFM patří obecně pod mikroskopie skenující sondou SPM (Scanning Probe Microscopy) [13]. STM byla poprvé zrealizována v roce 1981. Jejimi autory byli G. Binnig a H. Rohrer, kteří za tento objev dostali o pět let později Nobelovu cenu [1], [13]–[15].

Předpona nano pochází z řeckého *nanos* a znamená trpaslík, rozměrově je rovna 10^{-9} m. Nanočástice jsou objekty hmoty s alespoň jedním rozměrem v rozmezí od 1 do 100 nm, mající unikátní fyzikální vlastnosti [13], [16]–[18]. Důležitým mezníkem v oboru nanomateriálů byl rok 1959, kdy Richard Feynman přednesl při zasedání Americké fyzikální společnosti na Kalifornské technologické univerzitě (Caltech) slavnou přednášku s názvem a poselstvím „There’s plenty of room at the bottom“, volně přeloženo jako „Tam dole je ještě spousta místa“ [17], [19], [20]. Touto přednáškou položil vizi pro následující léta, vizi nanotechnologického věku.

2.2.2 Nanotechnologie

Nanotechnologie je obor, který se zabývá syntézou, studiem, charakterizací a aplikací nanomateriálů [18]–[20]. Cílem nanotechnologie je řídit atomy a molekuly k vytváření žádaných struktur, které mají nové a unikátní vlastnosti [18]. Na rozdíl od „klasické“ chemie, která studuje makroskopické soubory atomů a molekul, nanotechnologie pracuje a manipuluje přímo s jednotlivými atomy a molekulami [19]. Je to výjimečný obor hlavně tím, že vytvářením nanostruktur je možno ovlivňovat

optické, fyzikálně-chemické, či elektronické vlastnosti vzniknuvších nanomateriálů [21], těmi jsou např. barva, tvrdost a pevnost, teplota tání vodivost, či syntetizovat nanostruktury přímo pro danou aplikační oblast. Můžeme tedy říct, že nanotechnologie je schopna vytvářet „na míru ušité“ nanostruktury [18].

2.2.3 Příklady nanomateriálů

Je nutno zdůraznit, že nanomateriály nemusí být čistě člověkem uměle připravené látky. Jak již bylo zmíněno výše, nanomateriály se vyskytují v přírodě od pradávna. I lidské tělo je jakousi továrnou na nanomateriály, jelikož obsahuje struktury v řádech nanometrů, jako jsou proteiny, sacharidy, či tuky. I samotná živočišná buňka je producentem nanomateriálových struktur, jako jsou například ribozomy. Mezi nanočástice patří, díky své velikosti, i neživé organismy, jako jsou viry [22].

Jako další příklad nanomateriálu, nacházejícím se v těle, je feritin, což je železo-uchovávající protein, který obsahuje nanočástici Fe_2O_3 . Feritin slouží jako hlavní zásobní forma železa, jelikož samo o sobě by bylo železo pro buňky toxické. Feritin tedy umožňuje transport železa a nachází se v krevní plazmě, játrech, slezině, či kostní dřeni [23].

Vyrábět nanočástice železa však není umění jen lidského těla. Pokud se podíváme na nižší živé organismy, nalezneme nanočástice železa v magnetotaktické bakterii. Ta si tyto nejčastěji sférické nanočástice, s velikostí v rozmezí od 35 do 120 nm, sama syntetizuje a používá je jako kompas [24]. Jedná se o nanočástice magnetitu Fe_3O_4 (nebo méně často nanočástice greigitu Fe_3S_4), které jsou obalené membránou. Bakterie má tyto nanočástice pospojované, takže tvoří jakýsi řetízek, který se nazývá magnetosom [24], [25]. Dalším živým organismem, který má co dočinění s nanočásticemi, je měkkýš Abalon, který si konstruuje superpevnou skořápku tím, že uspořádává uhličitan vápenatý do pevných nanostrukturních bloků. Tato skořápka je pak velmi odolná a oplývá hrou barev [26].

Dalším producentem nanomateriálů v přírodě jsou automobily, především jejich brzdné brzdičky. Z brzdných destiček se při brzdění uvolňují nanočástice, jejichž velikost je závislá na intenzitě a rychlosti brzdění. Velikosti těchto částic se pohybují od nano-rozměrů až po mikro-rozměry, tj. 10 nm až 20 μm . Tyto částice se hromadí kolem

cest a analýzou jejich složení bylo zjištěno, že se jedná o multikomponentní materiál, s nejvíce zastoupenými prvky železa a uhlíku [27].

2.2.4 Historie kvantových teček

Kvantové tečky jsou definovány jako kvazisférické nanočástice s průměrem od 1-10 nm, které se vyznačují silnou fluorescencí [28]–[31]. Jak již bylo zmíněno, nanomateriály provázejí člověka od nepaměti, a i když se v dávných dobách lze jen těžko opírat o nanotechnologické postupy, jisté přípravy nanočástic se prováděly už před více než 2000 lety. Římané a Řekové používali přírodní materiály jako je PbO a Ca(OH)₂ smíchané s vodou k přípravě kvantových teček PbS. Ten se používal jako černo-hnědý pigment k obarvování vlasů. Pokud se podíváme do nedávné historie, úpravou velikostí kvantových teček v křemičitých sklech dostaneme různá zbarvení, čehož se hojně využívalo pro barevné vitráže v katedrálách [32].

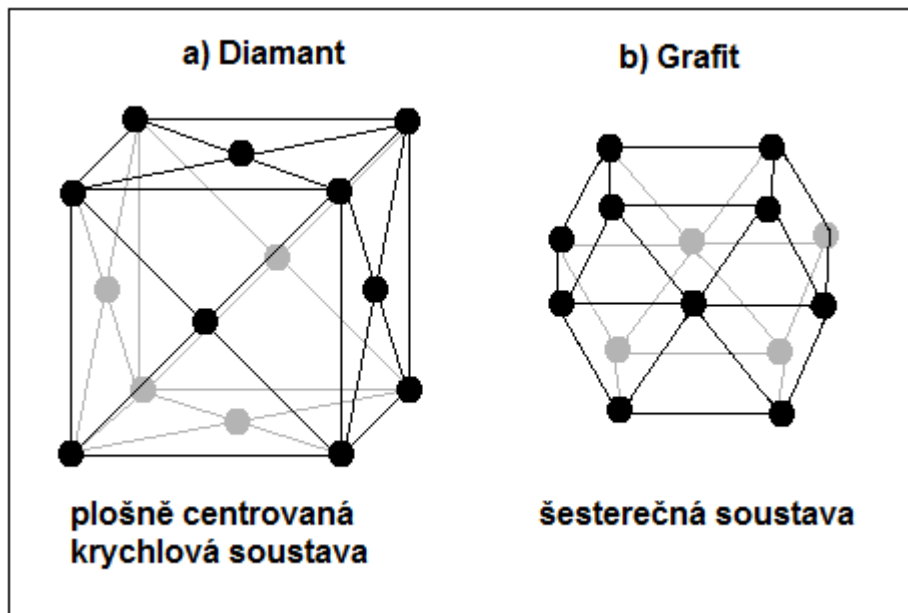
V novodobé historii se objevily jako první polovodičové kvantové tečky, jako je CdSe, PbS, GaAs, ZnTe, které se nazývají konvenční kvantové tečky, jelikož to byly první studované kvantové tečky [33]–[35]. Mezi jejich unikátní vlastnosti patří fluorescence, vysoká fotostabilita, široká excitační, úzká a velikostí-ovlivněná emisní spektra a také velký povrch. Tyto kvantové tečky jsou skvělými alternativami organických fluorescenčních barviv, jelikož mnohonásobně převyšují jejich fotostabilitu [36]. Avšak konvenční kvantové tečky obsahují těžké kovy a pro jejich toxicitu a škodlivost v životním prostředí se začalo s hledáním jiných alternativ, které by byly stejně fluorescenční a fotostabilní, ale byly by netoxické a nezatěžovaly by životní prostředí [30], [36]–[38].

2.3 Uhlík a uhlíkové nanostruktury

2.3.1 Uhlík

Uhlík je typický nekovový prvek, obecně známý jako černý materiál, který byl donedávna považován za málo rozpustný ve vodě a slabě fluoreskující [28]. V přírodě vyskytuje ve dvou hlavních alotropických modifikacích, a to jako grafit s sp² hybridizací, krystalizující v šesterečné soustavě a diamant s sp³ hybridizací, který

krystalizuje v plošně centrované krychlové soustavě (viz Obr. 4). Existuje i méně známá forma uhlíku, která se nazývá karbyn a má hybridizaci sp . Tato forma uhlíku má řetězovitou, téměř lineární strukturu [39].



Obr. 4 Krystalové soustavy diamantu a grafitu

Uhlík je biogenní prvek a je jeden z nejdůležitějších prvků pro život vůbec. Jakožto prekurzorový materiál pro výrobu uhlíkových kvantových teček je uhlík skvělou volbou, jelikož je to biogenní, netoxický a hojně zastoupený prvek. Na rozdíl od konvenčních kvantových teček, uhlíkové kvantové tečky se mohou uplatnit v oblastech jako je biologické značení a sensorování [28], [40]. Uhlíkové tečky, nazývané také uhlíkaté nanočástice, či kvantové uhlíkové tečky, byly náhodně objeveny v roce 2004 při přečišťování jednotěnných uhlíkových trubiček (SWCNT), vyrobených ze sazí pomocí obloukového výboje [31], [41], [42]. Uhlíkové tečky mají stejně jako konvenční kvantové tečky skvělé a laditelné fotoluminiscenční vlastnosti a skvělou fotostabilitu [28], [40], [42], [43]. Od jejich objevení doplňují rodinu uhlíkových nanomateriálů jako je fulleren, grafen a uhlíkové nanotrubičky.

2.3.2 Uhlíkové kvantové tečky a nanodiamant

Nanodiamant je velikostí podobný kvantové tečce, ale je nutno tyto dva útvary dobře rozlišovat. Nanodiamanty jsou vyráběny mletím mikrodiamantů, chemickou depozicí z par (CVD), nárazovou vlnou, či explozivními procesy. Skládají se většinou z 98 % uhlíku, kde zbylá 2 % tvoří vodík, kyslík a dusík. Jádro nanodiamantu je sp^3 hybridizováno a na povrchu mohou mít nepatrnou část grafitického uhlíku (sp^2). Na rozdíl od uhlíkových teček, které se vyznačují svojí fluorescencí, nanodiamant emituje pouze z bodových defektů, jako jsou záporně nabitě dusíkové vakance [42].

Uhlíkové kvantové tečky mají na rozdíl od nanodiamantů převážně sp^2 grafitický charakter a mají menší celkový obsah uhlíku [42]. Uhlíková kvantová tečka se totiž skládá nejen z čistého uhlíku, ale je zde hojně zastoupen i kyslík, což jim vysloužilo správnější název uhlíkaté tečky [42], [44]. Složení uhlíkové tečky vychází z metod přípravy a z prekurzorů, ze kterých danou uhlíkovou tečku připravujeme [42]. Nejčastějšími prvky tvořících uhlíkovou tečku jsou kromě uhlíku a kyslíku ještě dusík a vodík [41].

Kvantové tečky mají obecně amorfni až nanokrystalický charakter, což bylo zjištěno pomocí SAED (Selected-area elektron-diffraction) a XRD (X-ray diffraction) experimentů. Tyto experimenty odhalily u některých kvantových teček prstencovitý vzor a strukturu podobnou diamantu, u dalších zase neuspořádanou strukturu uhlíků [28], [42].

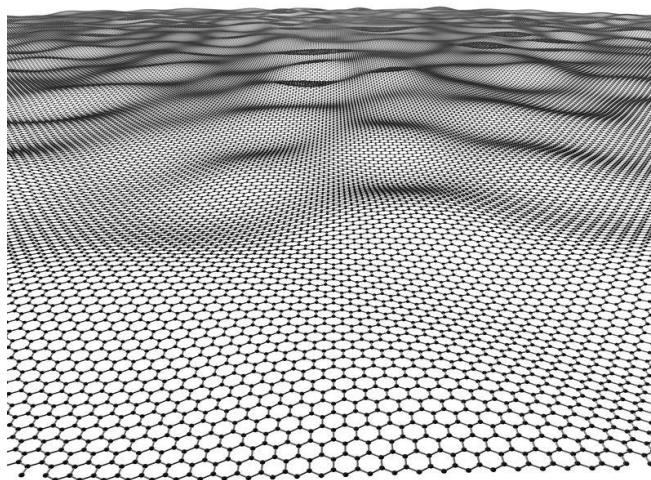
Díky ^{13}C NMR a Ramanovým spektrům byla potvrzena přítomnost sp^2 uhlíků, které převažují nad sp^3 uhlíky. Ovšem i zde platí, že charakter vazeb bude záviset na zvoleném typu přípravy kvantových uhlíkových teček [28], [42]. Chemické složení a struktura uhlíkových teček byly také zkoumány pomocí metody EELS (Electron energy loss spectroscopy), která rovněž potvrdila sp^2 uhlíkový charakter [28].

Stejně důležitým parametrem jako je velikost uhlíkových kvantových teček a nanomateriálů obecně, je také důležitý jejich tvar. Tvar totiž ovlivňuje další vlastnosti nanomateriálu, jako je porozita, povrchová drsnost, což zase ovlivňuje poměr povrchových atomů k objemovým, tedy povrch nanočástice. I fázové diagramy nanomateriálů závisí na velikosti, tvaru a prostředí nanočástice. Tvar je tedy důležitým parametrem a jeho pomocí můžeme rozdělit nanomateriály do skupin podle dimenzí. 0D

nanočástice mají nanometrové rozměry ve všech směrech a příkladem jsou kvantové tečky a fullereny, 1D nanoobjekty mají dva rozměry v řádech nanometrů a jeden rozměr větší (například mikrometrový). Zástupci 1D jsou jednostěnné a vícevěnné uhlíkové nanotrubičky (SWCNT a MWCNT), 2D nanoobjekty jsou atomárně tenké filmy, jako je grafen a mezi 3D nanostruktury patří např. nanokrystalický diamant [17].

2.3.3 Grafen

Grafen je definován jako jedna vrstva grafitu [17]. Grafen sdílí strukturu a většinu fyzikálních vlastností se svým mateřským materiálem grafitem, jelikož tvoří stavební jednotku, jejímž vrstevním grafit vzniká. Atomy uhlíku v grafenu jsou uspořádány do 2D hexagonální mřížky (viz Obr. 5) a mají hybridizaci sp^2 . Délka vazby mezi dvěma atomy C-C v jedné rovině má délku $a = 0,142$ nm [45]. Jako grafen můžeme označovat až 10 plátů, nad tuto hodnotu již mluvíme o grafitu. Od roku 1990 bylo na uhlíkové nanotrubičky pohlíženo jako na stočený plát grafenu, což se potvrdilo o pár let později, kdy se podařilo nanotrubičky rozvinout [17]. Grafen je základním stavebním prvkem nejen uhlíkových nanotrubiček, ale i fullerenu a samozřejmě grafitu. Monovrstva grafitu byla popsána již v roce 1946, jako teoretický stavební kámen grafitu. Poprvé byl však grafen připraven v roce 2004 exfoliací grafitu pomocí lepicí pásky a to vědci A. Geimem a K. Novoselovem, kteří byli za tento objev v roce 2010 oceněni Nobelovou cenou za fyziku [17], [45].

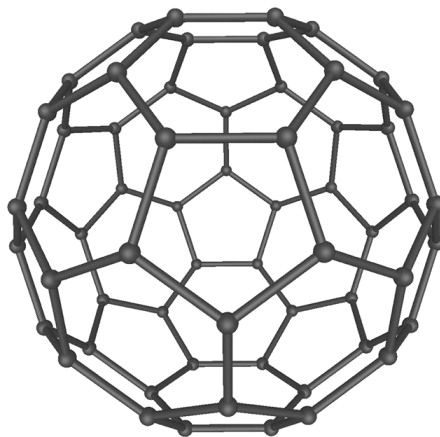


Obr. 5 Struktura grafenu ¹

Grafen je označován jako 2D látka, navzdory tomu, že to není úplně rovný plát, ale spíše vlnící se plát atomů uhlíku [17]. Je jedinečný v mnoha ohledech, například díky velké síle v tahu patří mezi nejpevnější materiály na světě [46]. Má také pozoruhodné termoelektrické vlastnosti. Je skvělým vodičem, jelikož velmi rychle přenáší elektrony [17]. Díky jeho vlastnostem je grafen slibným materiálem pro elektronické aplikace, průhledné vodivé filmy, fotovoltaické a optoelektronické aplikace. Jeho použití je však limitováno jeho nepříliš snadnou ani levnou výrobou [45].

2.3.4 Fulleren

Fulleren je 0D sférická nanočástice a může být charakterizován jako uzavřená uhlíková skořápka, kde každý atom uhlíku je vázán se třemi dalšími atomy uhlíku [17], [45]. Struktura nejznámějšího fullerenu C_{60} obsahuje hexagonální kruhy, které alternují s pentagonálními kruhy a tvarem připomíná fotbalový míč (viz Obr. 6) [17], [45], [47], [48]. Za objev fullerenu C_{60} , neboli Buckminsterfullerenu, v roce 1985 byli poté o jedenáct let později oceněni Nobelovou cenou za chemii vědci R. Curl, H. Kroto a R. Smalley [17], [45]. Jeho jméno pochází od slavného architekta Richarda Buckminstera Fullera, tvůrce stavby geodetické kopule, připomínající tvarem právě fulleren [45].



Obr. 6 Fulleren C_{60} ²

U fullerenu je jedním z nejzajímavějších znaků jejich kulatý tvar a vysoká symetrie. I u fullerenu nacházíme sp^2 hybridizaci a také vzdálenosti mezi atomy uhlíku jsou stejné jako u grafenu (0,142 nm). Fullereny jsou supravodivé a lze je využít ve

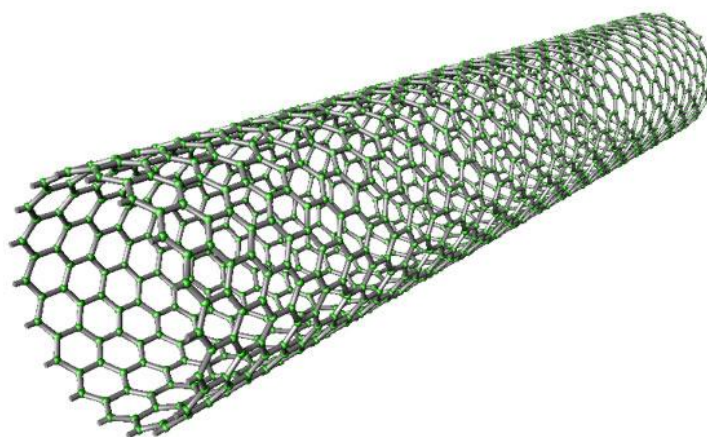
fotovolatických člancích [45]. Kromě nejznámějšího fullerenu C_{60} existují i další fullereny jako např. C_{32} , C_{50} , C_{70} a další [49].

Použití fullerenů je již dlouhou dobu směřováno i do oblasti medicíny. Fullereny mají vnitřní dutý prostor, takže tvoří jakousi klec, která může být použita pro přepravu různých léčiv, či kontrastních látek [17].

Další zajímavou látkou jsou tzv. uhlíkové cibule, nebo také matrioškové fullereny. Jedná se o vedlejší produkt při výrobě C_{60} pomocí obloukového výboje. Jsou to fullereny, od nejmenšího po největší, tvořící jakousi fullerenovou cibuli. Pomocí vysokorozlišovací transmisní elektronové mikroskopie (HRTEM) bylo zjištěno, že ve středu této cibule dochází díky vysokému tlaku k tvorbě nanodiamantu [17] [5].

2.3.5 Uhlíkové nanotrubičky

Vícestěnné uhlíkové nanotrubičky (MWCNTs) byly objeveny S. Iijimou v roce 1991 a SWCNTs, tedy jednostěnné uhlíkové nanotrubičky (viz Obr. 7) v roce 1993 [17], [45]. Rozdíl mezi nimi je ve velikosti, u SWCNTs je poloměr v řádech nanometrů, u MWCNTs jsou to i desítky nanometrů [17], [50]. Existují rovněž i dvojstěnné uhlíkové nanotrubičky DWCNTs, které spojují výhody modifikace povrchu, při současném zachování mechanických vlastností [17].



Obr. 7 Jednostěnná uhlíková nanotrubička³

Uhlíkové nanotrubičky se uplatňují jako elektrody v bateriích, jelikož mají obrovský povrch a velkou kapacitu a jsou stejně jako fullereny supravodivé. Uhlíkové nanotrubičky jsou vynikající vodiče tepla. Další uplatnění nalézají v palivových

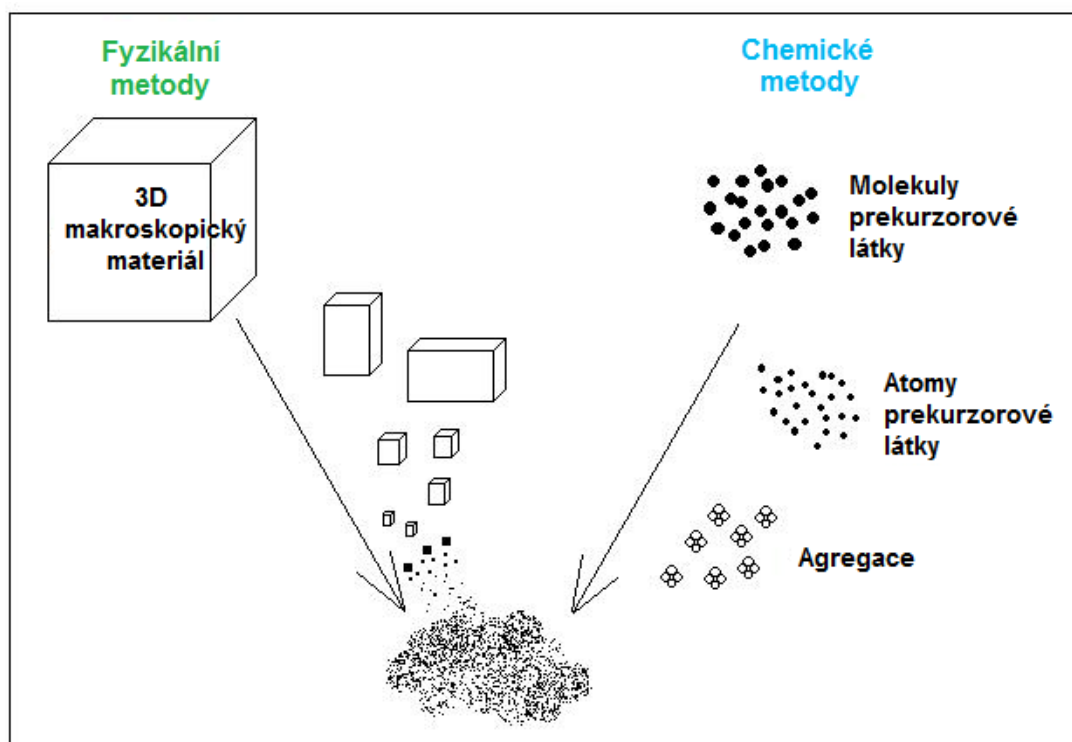
článcích, či organických solárních článcích [17], [50]. Uhlíkové nanotrubičky mají také uplatnění v AFM mikroskopii, kde se trubička připojí ke špičce hrotu AFM, jelikož čím menší bude poloměr křivosti hrotu, tím lepší zobrazení dostaneme [13].

2.4 Syntetické metody příprav uhlíkových nanomateriálů

2.4.1 Příprava uhlíkových nanomateriálů

Obecně jsou známy dvě cesty příprav nanomateriálů, a to tzv. „top-down“ známá jako fyzikální a „bottom-up“ jako chemická metoda [17], [43], [51], [52]. U metody top-down jsou nanomateriály získávány z makroskopického materiálu pomocí sofistikovaných metod. Metoda top-down může být přirovnána k tesání a opracovávání sochy, kdy vycházíme z objemového materiálu a postupně jej zmenšujeme. U metody bottom-up jsou materiály vystavěny z výchozího materiálu pomocí tzv. „self-assembly“, neboli samouspořádání. Tato metoda je naopak přirovnávána ke stavbě budovy z cihel (Obr. 8) [17].

Top-down metody obecně zahrnují litografii (Focus Ion Beam lithography, FIB), psaní pomocí AFM a STM, dále mechanické cesty, jako je mletí. Bottom-up metody na druhou stranu zahrnují chemickou depozici (kondenzaci) z par (CVD), kde nanomateriál „roste“ na podkladu katalyzátoru. Tato metoda se hojně používá při výrobě SWCNT a MWCNT. Dále jsou to roztokové metody (pyrolýza vhodných roztoků), u kterých záleží na koncentraci použitých výchozích látek, teplotě reakce a množství surfaktantu, či jiné látky zabraňující agregaci. Další metody zahrnují mikrovlnné pyrolýzy a sonotermální cesty. Také exfoliace 2D materiálu pro výrobu nanomateriálů patří mezi bottom-up cesty, jelikož nemáme úplnou kontrolu nad přesným zformováním a vlastnostmi vzniklého nanomateriálu. Naskýtá se i možnost kombinace obou metod. Například kombinace metody AFM (top-down) a samouspořádání (bottom-up) [17].



Obr. 8 Příprava nanomateriálů

2.4.2 Příprava uhlíkových kvantových teček

Ve většině případů příprav uhlíkových kvantových teček není potřeba složitého vybavení a pro výrobu teček lze použít různorodé prekurzory. S trochou nadsázky by se dalo říct, že lze uhlíkové kvantové tečky připravit téměř z čehokoliv. Prekurzorovým materiálem může být glukóza, saze, glycerol, surfaktanty, kávová zrna, vejce, či dokonce lidský vlas a mnoho dalších [34], [40], [43]. Obecně lze syntézu provést z látek obsahujících dostatečné množství uhlíku, podléhající karbonizaci.

Postup přípravy teček je podobný obecným typům příprav nanomateriálů. I zde jsou dva typy syntézy a to top-down a bottom-up. Mezi top-down metody patří metoda laserové ablace, obloukového výboje a elektrochemické cesty. Mezi bottom-up patří mikrovlnné cesty, (hydro)termální cesty a syntéza kvantových teček na podkladu, neboli templátová syntéza [28], [41]–[43]. Připravené kvantové tečky však nebudou uniformní ve velikosti, ale bude to mix různých velikostí. K tomu, abychom měli tečky o jedné velikosti, tedy monodisperzní vzorek, je nutno použít separačních kroků jako je dialýza, či elektroforetická separace [28].

2.4.3 Nanokompozity

Nanokompozity jsou materiály složené minimálně ze dvou, či více různých složek, kde alespoň jedna ze složek je přítomna ve formě částic o velikosti jednotek až desítek nanometrů. Výhodou nanokompozitů je možnost syntézy látky, která bude mít zkombinované vlastnosti od všech svých složek. Složka s nanometrovými rozměry je většinou aktivní látka, která je rozptýlena v inertní matici. Úloha matrice je různá, ale většinou jde o pevné spojení nanočástic, či jakýsi podklad, a také může být přítomna pro zabránění agregace nanočástic [42], [53].

2.4.4 Funkcionalizace povrchu nanočástic

Pomocí různých povrchových skupin můžeme měnit rozpustnost daných uhlíkových kvantových teček a ovlivnit i jejich fluorescenční a aplikační vlastnosti. Jednou z často používaných skupin pro funkcionalizaci povrchu je skupina látek s amino skupinou (např. ethanolamin, PEG_{1500N}). Jako možný krok u syntézy uhlíkových kvantových teček je také jedno-kroková syntéza, která nevyžaduje další funkcionalizaci [42]. Tento postup byl použit v experimentální části této práce.

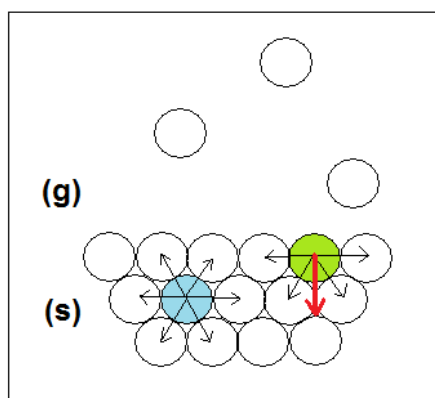
2.5 Fyzikální a chemické vlastnosti uhlíkových kvantových teček

2.5.1 Rozdílné chování ve srovnání s makroskopickou látkou

Při studiu nanomateriálů by se dalo předpokládat, že budou mít stejné, či podobné vlastnosti, jako jejich prekurzorová látka. Ve spoustě případů však mají nanomateriály jiné vlastnosti, či se u nich objevují vlastnosti zcela nové, oproti tzv. „bulk“ materiálům, tedy oproti klasickým materiálům s makroskopickými vlastnostmi. Dalším faktem je, že řada jejich vlastností závisí na velikosti a morfologii daného nanomateriálu, stejně jako na způsobu přípravy [17], [32], [33], [43].

2.5.2 Velký podíl atomů na povrchu

Kvantové tečky a nanomateriály obecně, mají velkou část, či většinu svých atomů na povrchu, a tím pádem disponují ohromným měrným povrchem [17], [32]. Na Obr. 9 je znázorněna část hmoty a fázové rozhraní mezi pevnou (s) a plynnou fází (g). Modře je znázorněn tzv. objemový atom (či molekula) a zeleně atom povrchový.



Obr. 9 Schéma objemového a povrchového atomu

Jak je známo, povrchové atomy se díky chybějícím meziatomovým interakcím liší od atomů vnitřních, či objemových. Tyto chybějící interakce způsobí vyšší energii povrchových atomů oproti objemovým, jelikož u povrchových atomů nedošlo k takovému snížení energie, což vyplývá i z následující rovnice, známé jako Lennardův-Jonesův potenciál [1].

$$V = 4\xi \left[\left(\frac{A}{r}\right)^{12} - \left(\frac{B}{r}\right)^6 \right] \quad (2.3)$$

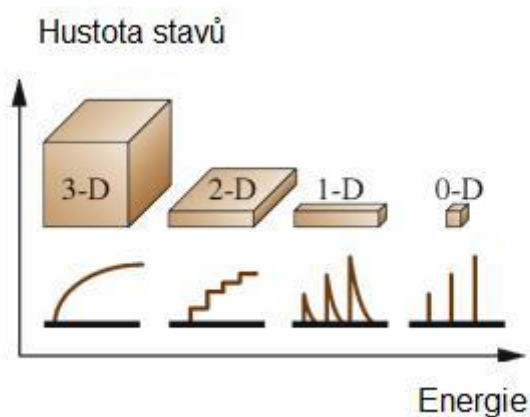
Kde V představuje celkovou energii interakce dvou molekul, ξ je hloubka (minimum) potenciální jámy, A a B materiálové konstanty a r vzdálenost mezi dvěma atomy [54]. První člen představuje odpudivé interakce a druhý člen interakce přitažlivé. Právě přitažlivé interakce snižují celkovou energii systému a tento druhý člen chybí povrchovým atomům. U nich, jak je vidět z Obr. 9, míří výslednice sil dovnitř materiálů. Toto pnutí nazýváme povrchové napětí. To je nejvýraznější u tuhých látek, u

nichž nelze lehce minimalizovat povrch jako u kapalin. Nutno dodat, že povrchová energie poroste, stejně jako povrch částice se zmenšujícím se poloměrem této částice.

Na základě tohoto jevu dochází nejen ke vzniku povrchového napětí, ale také dochází ke změnám v mechanických, elektrických a teplotních vlastností. Například bod tání nanomateriálů bývá značně rozdílný od makroskopického materiálu (nanomateriál bude mít nižší bod tání). Tuto závislost snižování teploty tání se zmenšujícím se rozměrem částic popisuje Gibbs-Thomsonova [17].

2.5.3 Hustota energetických stavů

Pokud se podíváme na hustotu energetických stavů (Obr. 10), která je definována jako počet dovolených stavů pro určitou hodnotu energie, pozorujeme jasný rozdíl mezi makroskopickým materiálem a nízko-dimenzionálními materiály. U makroskopického materiálu je hustota elektronů tak vysoká, že graf zachycující hustotu stavů v závislosti na energii je téměř kontinuální křivka. Limitovaný počet elektronů u nízko-dimenzionálních materiálů má za následek diskrétní kvantované hladiny pro tyto 2D až 0D systémy [32].

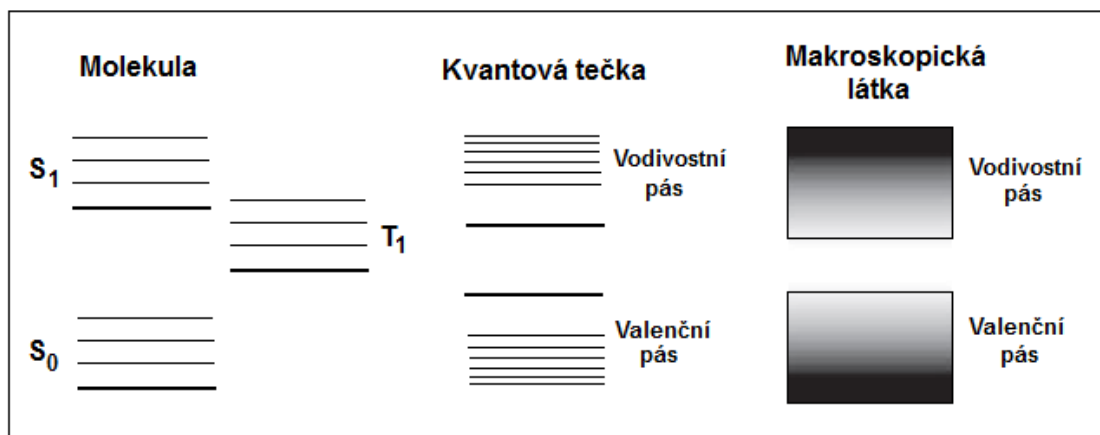


Obr. 10 Hustota stavů různě-dimenzionálních látek ⁴

2.5.4 Elektronová struktura kvantových teček

Vysoká hustota stavů u makroskopických těles vytváří kontinuální hustotu elektronových stavů a dělí makroskopické těleso na dva pásy, valenční a vodivostní (viz Obr. 11), které jsou odděleny tzv. zakázaným pásem. Se zmenšujícím se rozměrem

látky se šířka zakázaného pásu zvětšuje a s ní i mezery mezi energetickými hladinami. Molekula má diskrétní elektronové stavy, jako jsou excitované singletové a tripletové stavy s vibračními podhladinami. Kvantová tečka vykazuje variaci těchto stavů, při nižších energiích má větší mezery a při vyšších energiích se tyto mezery zmenšují [43].



Obr. 11 Elektronová struktura polovodičů

2.5.5 Optické vlastnosti kvantových teček

Výhody využití konvenčních kvantových teček, v porovnání s organickými fluorescenčními látkami, jsou z hlediska jejich optických vlastností následující: vyšší hodnoty extinkčních koeficientů, vyšší kvantový výtěžek, méně fotovybělování, absorpční a emisní spektra se mění s velikostí částic a mohou tedy být laděna [32].

Díky nano rozměrům kvantových teček je distribuce jejich elektronových energetických stavů na pomezí molekuly a makroskopického materiálu. Makroskopické polovodiče mají určitou charakteristickou hodnotu šířky zakázaného pásu E_g , která je závislá na typu materiálu a značí minimum energie potřebné pro excitaci elektronu ze základní hladiny – valenčního pásu do prázdného pásu vodivostního. Když elektron na základním valenčním pásu absorbuje energii větší než E_g , je excitován do pásu vodivostního za současného vytvoření excitonu, což je pár elektron (ve vodivostním pásu) díra (ve valenčním pásu) [43]. Nejhořejší stavy ve valenčním pásu u makroskopického polovodiče odpovídají u molekuly HOMO, což je nejvyšší obsazený molekulový orbital a naopak, nejnižší stavy z vodivostního pásu odpovídají u molekuly

LUMO, tedy nejnižšímu neobsazenému molekulovému orbitalu. Energetický rozdíl mezi vodivostním a valenčním pásem tedy odpovídá HOMO-LUMO přechodu u molekuly. Jelikož se bude elektron přitahovat s pozitivně nabitou dírou ve valenčním pásu, sníží tato Coulombická přitažlivost celkovou energii páru elektron-díra a dojde k vytvoření excitonu. Právě excitony jsou zodpovědné za absorpční a emisní vlastnosti kvantových teček [55].

Exciton má omezenou nanometrovou velikost, která je definována Bohrovým excitonovým průměrem. Pokud je velikost nanokrystalu menší než je průměr Bohrova excitonu (který je specifický pro každou látku), dojde k prostorovému omezení nosičů náboje, což zvýší energii. Za těchto podmínek, známých jako efekt kvantového omezení, závisí optické a elektronické vlastnosti na velikosti nanokrystalu [43], [55].

Dalším parametrem majícím vliv na fluorescenci jsou povrchové defekty u kvantových teček. Povrchové defekty mohou u nanočástice převládnout a to díky její malé velikosti a velkému počtu atomů na jejím povrchu ($1/3$ až $1/2$ všech atomů). Pokud je tedy značný počet defektů, luminiscenční vlastnosti nanočástice už nebudou tolik závislé na její velikosti a luminiscenci nanočástice můžeme ladit počtem přítomných defektů [43].

Uhlíkové kvantové tečky vykazují silnou absorpci v UV oblasti, zasahující až do oblasti viditelného záření, ovšem jejich absorpční spektrum, stejně tak jako fluorescenční spektrum, je závislé na způsobu jejich přípravy. Jedním z fascinujících znaků uhlíkových teček a kvantových teček obecně, je jejich fotoluminiscence, díky níž jsou právě kvantové tečky tak zkoumanou oblastí v posledních letech [42]. Pokud budeme sledovat emisní spektrum jednoho izolovaného atomu, který není ovlivněn interakcemi se sousedními, dostaneme úzký a vysoký emisní pík. Nanočástice jsou tvořeny cca 100-10 000 atomy a jejich optické vlastnosti budou, stejně jako i další vlastnosti, na pomezí vlastností molekul a makroskopických materiálů [32], [55].

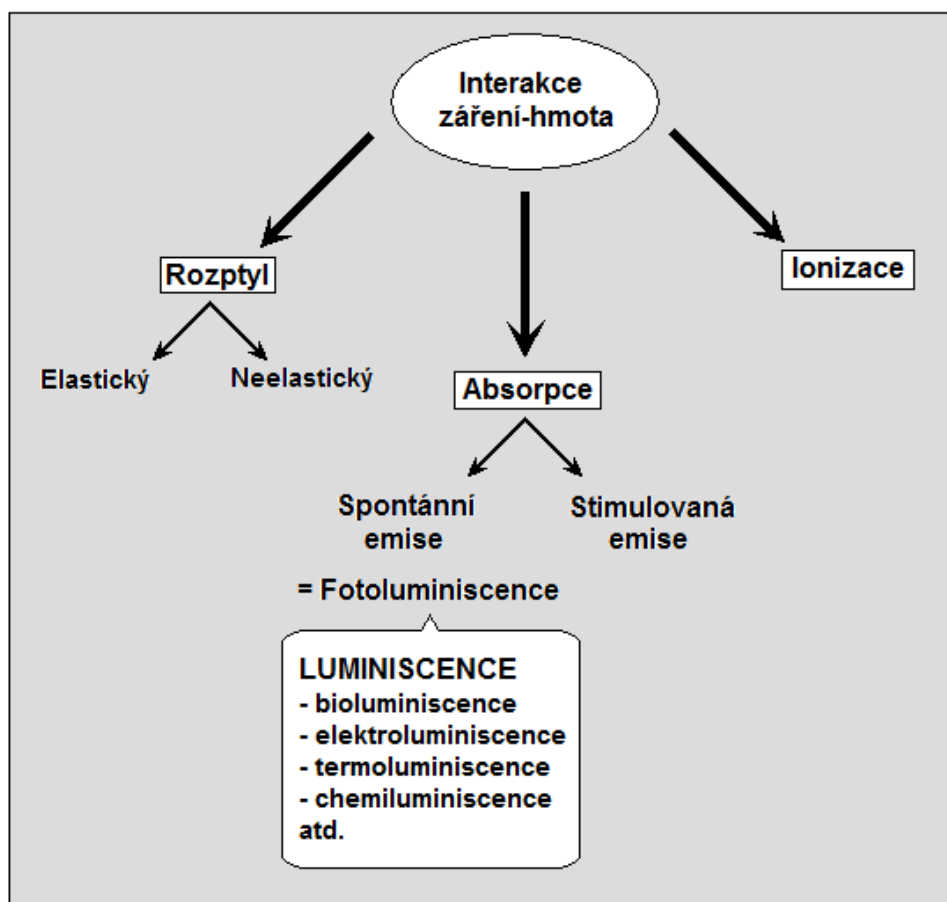
Optické vlastnosti uhlíkových teček nelze jednoduše sumarizovat kvůli závislosti na způsobu jejich přípravy. Společným rysem uhlíkových teček je však závislost jejich emisních spekter na excitační vlnové délce [28], [42], [43]. Tato závislost je u fluorescenčních spekter výjimkou, jelikož jsou obecně nezávislá na excitační vlnové délce, jak již bylo zmíněno výše. Tato závislost na excitační vlnové délce může být způsobena rozdílnou velikostí uhlíkových teček, fotoselekcí různých

skupin, přítomností různých emisivních pastí na povrchu teček, či mechanismy, které dosud nejsou objasněné [28], [42]. Uhlíkové kvantové tečky vykazují silnou fluorescence a odolnost proti fotovybělování [41]. Uhlíkové tečky mohou být povrchově upravovány různými skupinami, tedy funkcionalizovány, díky čemuž jsme schopni zlepšovat kvalitu fluorescence, či měnit aplikační oblast uhlíkových teček [32], [42], [43].

Je důležité zmínit rozdíl mezi původem fluorescence u konvenčních kvantových teček typu CdSe a uhlíkových teček. U konvenčních teček pochází jejich fluorescence převážně z jádra nanokrystalu, kdežto u uhlíkových teček pochází fluorescence nejen z jádra, ale významně i z jejich povrchu [43]. Proto je u uhlíkových teček tolik důležitý povrch, tedy „surface to volume ratio“, což je poměr objemových atomů k povrchovým a také funkcionalizace povrchu.

2.6 Luminiscence

Molekuly látky absorbující záření (energii) ve viditelné, či ultrafialové oblasti, mohou absorbovanou energii předat ostatním částicím při kolizích, nebo část energie ztratí srážkami a zbylou energii vyemitují jako tzv. luminiscenční záření (Obr. 12). Luminiscenční záření můžeme dělit na fotoluminiscenci, termoluminiscenci, chemiluminiscenci, bioluminiscenci, elektroluminiscenci, triboluminiscenci, sonoluminiscenci, mechanoluminiscenci atd. [56]–[58]. Luminiscence je tedy emise světla z jakékoliv látky a dochází k ní, pokud se látka nachází v elektronicky excitovaných stavech. Právě fotoluminiscence má velký analytický význam a formálně ji můžeme dělit na fluorescence a fosforescenci. Tyto dva děje se liší povahou excitovaného stavu a délky dosvitu mezi absorpcí a emisí [55], [57], [59].



Obr. 12 Diagram popisující následky interakce záření s hmotou

Luminiscence je závislá na teplotě. Především u pevných látek se bude luminiscence vyskytovat až po výrazném ochlazení pod pokojovou teplotu. U látek, které luminiskují i při pokojové teplotě, dochází ve většině případů, ke zvyšování intenzity luminiscence s poklesem teploty. Tento jev je však v protikladu s tepelným zářením těles, které je popsáno Planckovým a Stefanovým-Boltzmannovým zákonem. Z tohoto důvodu se luminiscenci říká také studené světlo [58].

Poslední dobou stále více narůstá používání fluorescenční spektroskopie v různých vědních oborech a také biologických aplikacích. K tomuto nárůstu fluorescence pomohlo jak zlepšení přístrojového vybavení, tak i lepší metody zpracování dat a lepší detekce. Fluorescenční spektroskopie a časově rozlišená fluorescenční spektroskopie jsou považovány za jedny z primárních nástrojů výzkumu biochemie a biofyziky. Hlavní výhodou fluorescenční detekce je její vysoká citlivost. Další velkou výhodou je nahrazení radioaktivních značek, které se používají u biochemických měření, fluorescenčními látkami, které jsou levnější a méně náročné na

manipulaci. V posledních letech byl zaznamenán značný nárůst v používání fluorescence pro buněčné a molekulární značení. Pomocí časově rozlišené fluorescenční spektroskopie jsme schopni studovat strukturu proteinů, nukleových kyselin a pomocí fluorescenční mikroskopie pořídit dvourozměrné obrázky zachycující například distribuci látek, či proteinů v buňkách. Pomocí fluorescenčního značení můžeme lokalizovat útvary v buňce. Fluorescenční detekce se může dostat až na úroveň jedné molekuly [59]–[61].

2.6.1 Fosforescence

Fosforescence je emise světla z tripletového excitovaného stavu, ve kterém má elektron v excitovaném orbitalu stejně orientovaný spin jako elektron v základním stavu. Návrat elektronu do základního stavu je tedy spinově zakázaný a doba trvání emise je velmi malá, tj. asi 10^{-3} až 10^0 s, takže se doby života fosforescence pohybují v milisekundách až sekundách. Po expozici světlu mohou fosforescenční látky zářit až po dobu několika minut, zatímco se excitované elektrony vracejí do základního stavu. Fosforescenci většinou nepozorujeme u roztoků při pokojové teplotě, jelikož zde probíhají konkurenční procesy, jako jsou nezářivé přechody a zhasací procesy. Je nutné poznamenat, že rozdíl mezi fosforescencí a fluorescencí není vždy zcela jednoznačný. Jako příklad jsou přechodné kovovo-ligandové komplexy (MLCs), které obsahují kov a jeden nebo více organických ligandů a jež vykazují smíšené singleto-tripletové stavy. Tyto tzv. MLCs mají dobu života od stovek nanosekund až do několika mikrosekund [59].

2.6.2 Fluorescence

V excitovaném singletovém stavu S_1 je elektron v excitovaném orbitalu v opačném spinu oproti elektronu, který se nachází v orbitalu v základním stavu. Takto excitovaná molekula může energii předat srážkami jiným částicím, či pokud je stav S_1 relativně stabilní, může přejít zpět do S_0 základního elektronového stavu při současném vyzáření kvanta energie. Tento proces se nazývá fluorescence. Fluorescence je nejčastěji pozorována právě z první excitované hladiny S_1 , jelikož při excitaci na vyšší energetické hladiny bude převládat disipace energie skrze vnitřní konverze a vibrační

relaxace. Návrat excitovaného elektronu z hladiny S_1 do základního stavu je proces spinově povolený. Tento proces je velmi rychlý a dochází při něm k emisi fotonu [59].

Doba trvání fluorescence se pohybuje kolem $10^{-9} - 10^{-7}$ s. Fluorescenční doba života fluoroforu (doba života excitovaného stavu) je průměrná doba mezi jeho excitací a návratem do základního stavu. Je to průměrná hodnota, tedy jen pár molekul bude emitovat fotony přesně při $t = \tau$ [59]. Doba života je tedy časové zpoždění mezi absorpcí a emisí. Tato veličina není typickou analytickou informací, tj. není specifická a dostačující pro určení kvality, nebo kvantitý studované látky, ale může nám poskytnout cenné údaje. Těmi jsou např. přiblížení reakční kinetiky, testování okolí, či určení rychlostí konkurenčních deexcitačních cest [62].

$$\tau = \frac{1}{k_M + k_{nr}} \quad (2.4)$$

Kde k_M je rychlost emise chromoforu a k_{nr} je rychlostní konstanta všech nezářivých přechodů na základní hladinu (S_0) [59]. Doba života lze změřit vložení velmi krátkého excitačního pulzu světla a následným měřením úbytku fluorescenční intenzity. Mnoho fluoroforů vykazuje sub-nanosekundovou dobu života. Kvůli této krátké časové škále měření časově rozlišených fluorescenčních spekter vyžaduje sofistikovanou optiku a elektroniku. I přes vyšší náročnost vybavení, je časově rozlišená fluorescence široce používanou metodou, poskytující doplňující informace ke stacionárnímu měření [59].

Fluorescenci typicky pozorujeme u látek s konjugovanými dvojnými vazbami, převážně u látek aromatických. Příklad fluorescenční látky je chinin, který byl jednou z prvních objevených a studovaných fluoroforů. Právě chinin byl látkou zodpovědnou za stimulaci vzniku prvních spektrofluorimetrů, které se objevily v 50. letech 20. století. Dalšími příklady fluoroforů jsou například pyridin, akridinová oranž, fluorescein a rhodamin B, tedy organické molekuly s konjugovaným systémem π vazeb. Příkladem fluoroforů biologické povahy jsou molekuly jako je chlorofyl, kolagen, či aminokyseliny tryptofan, tyrosin a fenylalanin [56], [59], [60]. Mezi anorganické fluorofory patří malé anorganické molekuly, jako jsou vzácné plyny a také anorganické krystaly. Další fluorescenční látky jsou například polynukleární aromatické uhlovodíky,

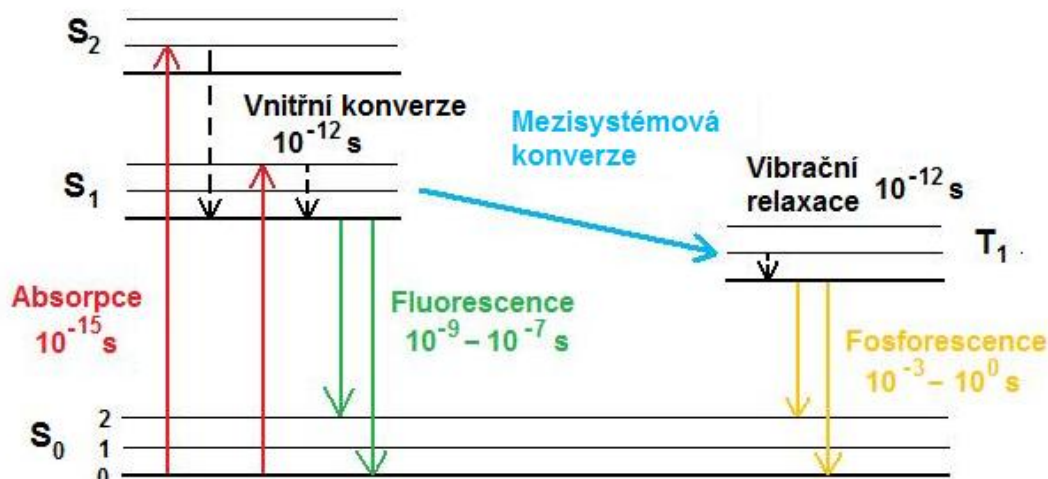
jako je naftalen, anthracen, fenantren a perylen. Pyridin 1 a rhodamin jsou fluorescenční látky používané v barvivových laserech a akridinová oranž je často používána jako DNA značkovač. V porovnání s aromatickými organickými molekulami jsou atomy v kondenzovaném stavu obecně nefluorescenční. Jednou velkou výjimkou je však skupina prvků známá jako lanthanoidy. Fluorescence prvků od europia po terbium je výsledkem elektronových přechodů mezi f orbitaly [59].

Fluorescenční data jsou prezentována ve formě fluorescenčních spekter. Emisní spektrum je graf, ve kterém je znázorněna fluorescenční intenzita oproti vlnové délce (nm) či vlnočtu (cm^{-1}) při konstantní excitační vlnové délce [57]–[59]. Emisní spektra jsou silně závislá na chemické struktuře fluoroforu a také na použitém rozpouštědle. Hlavní výhodou fluorescence je již zmíněná vysoká citlivost detekce [59].

Excitační spektrum je na rozdíl od spektra emisního měřeno při konstantní emisní vlnové délce. Excitační spektrum je podobné spektru absorpčnímu, hlavně u slabě absorbujících vzorků, avšak nebývá s ním zcela totožné [57], [58]. Podobnost excitačního a absorpčního spektra je výhodná u vzorků, které jsou špatně měřitelné v transmisní optické spektroskopii např. z důvodů jejich neprůhlednosti, či takto můžeme změřit i práškové materiály [58].

2.6.3 Jablonského diagram

Procesy, které se dějí během absorpce a emise světla, se dají zakreslit pomocí Jablonského diagramu. Tyto diagramy mohou mít různé podoby a různými cestami zobrazují, jak elektron přijímá a následně disipuje energii získanou od fotonu, který má určitou vlnovou délku. Diagramy byly pojmenovány podle profesora Alexandra Jablonského, jenž je také nazývá otcem fluorescenční spektroskopie [59].



Obr. 13 Jablonského diagram

Na Obr. 13 je zakreslen typický Jablonského diagram. Je zde vidět singletový základní, první a druhý elektronový stav, znázorněny jako S₀, S₁ a S₂. V každé z těchto elektronových energetických hladin může daný fluorofor existovat na několika různých vibračních energetických hladinách. Po absorpci světla se může odehrát více procesů. Fluorofor je excitovaný na některou z vyšších vibračních hladin S₁ nebo S₂. Až na pár výjimek, molekuly v kondenzované fázi rychle zrelaxují a přecházejí nezářivým přechodem na nejnižší z vibračních hladin S₁. Tento proces se nazývá vnitřní konverze, pokud probíhá z vyšší elektronové hladiny na nižší (např. z S₂ na S₁), či vibrační relaxace, pokud se proces děje mezi vibračními hladinami v rámci jedné elektronové hladiny. Oba procesy trvají přibližně 10⁻¹² s, či méně. Jelikož fluorescenční doba života je kolem 10⁻⁸ s, jsou již veškeré nezářivé přechody ukončeny před emisí. Právě z hladiny S₁, z nejnižší vibrační energetické hladiny, tedy dochází k fluorescenci, kdy se elektrony vrací do různých vibračních podhladin základního singletového stavu S₀. Fluorescence je pozorována, pokud je její rychlostní konstanta větší, či rovna součtu rychlostních konstant vnitřního přechodu k_i a mezisystémového přechodu k_x podle rovnice 2.5 [59].

$$k_F \geq k_i + k_x \quad (2.5)$$

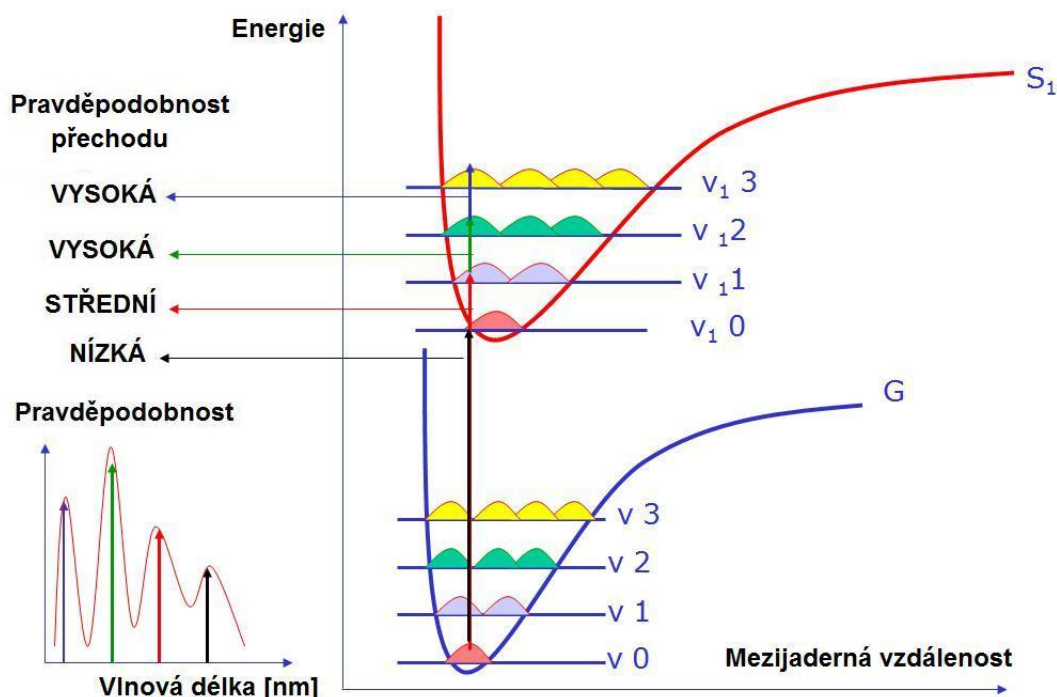
Emisní spektrum je v mnoha případech zrcadlovým obrazem spektra absorpčního. Spektra bývají přirovnávána ke dvěma vedle sebe položeným rukám. Tato podobnost se vyskytuje v důsledku toho, že elektronová excitace nemění zásadně jadernou geometrii a také faktu, že vzdálenosti mezi energetickými hladinami v excitovaném a základním stavu jsou velmi podobné [59].

Molekula v S_1 stavu může ale podlehnout spinové konverzi do prvního tripletového stavu T_1 . Emise z T_1 stavu je fosforescence a je obecně posunuta k vyšším vlnovým délkám (nižší energii) oproti fluorescenci. Přechod z S_1 na T_1 se nazývá mezisystémová konverze. Přechod z T_1 na singletový základní stav je zakázaný proces, což má za následek, že rychlostní konstanty pro tripletovou emisi jsou několikařádkově menší než pro fluorescenci, a také energie emise z T_1 stavu je menší oproti emisi z S_1 hladiny [59].

2.6.4 Nezávislost na excitační vlnové délce

Další charakteristikou fluorescence je nezávislost emisních spekter na excitační vlnové délce λ_{ex} . Jinými slovy, stejný tvar fluorescenčního emisního spektra by mělo být pozorováno nezávisle na excitační vlnové délce. Tato nezávislost na λ_{ex} se nazývá Kashovo pravidlo. Důvodem je fakt, že po excitaci na vyšší elektronovou hladinu (S_1 , S_2 , atd.), se fluorofor velmi rychle zbaví přebytečné energie a skončí na nejnižším vibračním stavu S_1 a emise poté probíhá ve většině případů právě z hladiny S_1 . Tato relaxace energie trvá přibližně 10^{-12} s a právě díky této rychlé relaxaci jsou emisní spektra většinou nezávislá od excitační vlnové délky. Jistá symetrie u absorpčního a emisního spektra je tedy výsledkem stejných přechodů, které se vyskytují u absorpce a emise a podobných hladin vibračních energií u S_0 a S_1 . Tuto podobnost absorpčního a emisního spektra popisuje Franckův-Codonův princip. Princip popisuje, že jsou všechny elektronové přechody vertikální, tj. že nastávají beze změny pozice jádra. Je-li potom určitá pravděpodobnost přechodu elektronu mezi nultou a první vibrační hladinou při absorpci, je tato cesta také pravděpodobná při emisi. Pohyb jádra je v porovnání s elektronovými přechody o mnoho pomalejší, proto jsou preferovány vibrační hladiny, které korespondují s minimální změnou pozice jádra. Jinými slovy, jak je vidět na Obr. 14, při elektronových přechodech je pravděpodobnější změna z jedné vibrační

hladiny na druhou, pokud se tyto vibrační vlnové funkce budou co nejvíce překrývat [59].



Obr. 14 Diagram k popisu Franckova-Codonova principu ⁵

Ovšem i zde existují výjimky, kdy tato nezávislost na výběru excitační vlnové délky neplatí. Jsou to například fluorofory, které existují ve dvou ionizačních stavech, kdy každý z těchto stavů vykazuje své absorpční a emisní spektrum. Dalším příkladem jsou molekuly, které emitují z S_2 hladiny. Důležitý je taky vliv pH u pH citlivých fluoroforů, kdy dochází při změně pH ke změnám spekter. Kvantové tečky jsou také jednou z výjimek, u kterých závisí na výběru excitační vlnové délky. Závislost jejich fotoluminiscence na excitační vlnové délce je jednou z jejich charakteristických vlastností [42], [59].

2.6.5 Stokesův posun

Po prostudování Jablonského diagramu je zřetelné, že energie emise je menší, než energie absorpce. Fluorescence se tedy ukazuje při nižších energiích neboli větších vlnových délkách. Tento fenomén byl poprvé pozorován Sirem G. G. Stokesem v roce 1852, a proto jej nazýváme Stokesův posun [55], [59]. Stokes udělal jednoduchý pokus.

Pomocí hranolu rozložil dopadající sluneční svazek světla na světelné spektrum. Napřed vložil kyvetu s roztokem chininu do viditelné části spektra, avšak nic nepozoroval. Když pak kyvetu s roztokem přiblížil oblasti, kde končila fialová část spektra (kde začínala oku neviditelná ultrafialová oblast), roztok chininu se rozzářil do modra. Tento experiment z roku 1852 dokázal, že došlo k absorpci světla, která byla následována jeho emisí. A rovněž, že emitované světlo má kratší vlnovou délku než světlo excitační [56].

2.6.6 Kvantový výtěžek

Kvantový výtěžek Φ je poměr počtu vyzářených kvant N_{emit} a celkového počtu zářivých kvant absorbovaných soustavou N_{absorb} . Pomocí této hodnoty můžeme hodnotit intenzitu fluorescence. Látky, jejichž kvantový výtěžek se blíží jedné, jako jsou např. rhodamidy, jsou silně fluorescenční. Kvantový výtěžek se blíží jedné, pokud je rychlostní konstanta nezářivých přechodů k_{nr} výrazně menší než rychlostní konstanta fluorescence k_F .

$$\Phi = \frac{N_{emit}}{N_{absorb}} \quad (2.6)$$

$$\Phi = \frac{k_F}{k_F + k_{nr}} = \frac{k_F}{k} = \frac{\tau}{\tau_r} \quad (2.7)$$

Kde k je rychlostní konstanta všech deaktivčních procesů, τ je změřená fluorescenční doba života a τ_r je střední doba života daného fluoroforu [57], [59]. Kvantový výtěžek uhlíkových teček se liší s použitou metodou jejich výroby a také s jejich použitou pasivací povrchu [42]. Obecně je však možno říct, že kvantové tečky mívají vysoký kvantový výtěžek [30].

2.6.7 Zhášení fluorescence

Jako zhášení fluorescence se označuje jakýkoliv proces, který snižuje fluorescenční intenzitu látky. Během zhášení fluorescence nedochází k žádné trvalé změně molekul, tzn., že ke zhášení dochází bez fotochemických reakcí [59]. Existuje

např. tepelné zhášení, což je pokles luminiscenční intenzity se vzrůstající teplotou [58]. Ke zhášení vede řada molekulárních interakcí, mezi něž patří reakce v excitovaném stavu, přeskupování molekul, přenos energie a kolizní zhášení, které je výsledkem srážek mezi molekulami (např. mezi fluoroforem a zhášečem), a je také nazýváno dynamickým zhášením. Kromě dynamického zhášení existuje i zhášení statické. Oba druhy zhášení vyžadují molekulární kontakt mezi fluoroforem a zhášečem. V případě dynamického zhášení je nutný kontakt mezi fluoroforem a zhášečem během doby života excitovaného stavu. Po kontaktu se zhášečem se fluorofor vrací do základního stavu bez vyžáření fotonu. Při statickém zhášení dochází ke tvorbě nefluorescenčního komplexu na základním stavu mezi fluoroforem a zhášečem. Jakmile tento komplex absorbuje světlo, ihned se vrací do základního stavu bez emise fotonu [59]. První použití techniky zhášení fluorescence se vyskytlo na konci 60. let 20. století a to pro biochemické účely studia proteinů, membrán a dalších makromolekulárních útvarů. Jako zhášeče mohou působit například molekulární kyslík, nebo těžké atomy jakou jsou jód a brom [59], [61]. Rovnice, která popisuje zhášení fluorescence a vliv koncentrace zhášeče se nazývá Stern-Volmerova rovnice.

$$\frac{F(t)}{F_0} = \exp\left(-\frac{t}{\tau_0}\right) \quad (2.8)$$

$$\left(\frac{F(Q)}{F_0}\right) = \frac{1}{1 + K_{SV}[Q]} \quad (2.9)$$

Kde F a F_0 jsou fluorescenční intenzity s určitou přidanou koncentrací zhášeče $F(Q)$ a bez něj F_0 , τ_0 je fluorescenční doba života bez přítomnosti zhášeče, τ doba života s přítomností zhášeče a $K_{sv}[Q]$ je Stern-Volmerova zhásecí konstanta. Tyto rovnice platí pouze pro homogenně emitující látku, pro heterogenní fluorescenci platí složitější závislosti. Rovnice popisuje vliv zhášeče na fluorescenci dané látky. V rovnici vystupuje Stern-Volmerova zhásecí konstanta, která je rovna násobku rychlostní konstanty zhášení k_q a τ_0 . Pokud je zhášení způsobeno pouze dynamickými procesy, pak se bude poměr τ_0/τ rovnat $1 + K_{sv}[Q]$.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] = \frac{\tau_0}{\tau} \quad (2.10)$$

$$K_{SV} = k_q \tau_0 \quad (2.11)$$

Rychlostní konstanta zhášení bude rovna násobku účinnosti zhášení γ a k , což je rychlostní konstanta pro bimolekulární kolizi, která může být vypočtena teoreticky ze Smoluchowského rovnice (2.13).

$$k_q = \gamma k \quad (2.12)$$

$$k = 4 \pi D R_0 N' \quad (2.13)$$

kde D a R_0 jsou sumy difúzních koeficientů (D) a molekulových poloměrů (R_0) zhášeče a fluoroforu a N' je Avogadrovo číslo dělené 1000 [59], [61].

2.6.8 Senzorické aplikace

Změřením fluorescenční intenzity můžeme zjistit koncentraci přítomného fluoroforu. U fluorescenčního sensorování však nejde o zjištění koncentrace fluorescenční látky, nýbrž o zjištění koncentrace určitého (nefluorescenčního) analytu. Fluorescenční sensorování vyžaduje změnu ve vlastnostech spektra, jako odezvu na analyt. Touto změnou může být např. změna fluorescenční intenzity, změny v excitačním, či emisním spektru, změna anizotropie, či změna doby života fluorescenční látky (sondy). Nejpřímější metodou sensorování je právě změna fluorescenční intenzity sondy v přítomnosti analytu. K těmto změnám ve spektru dochází často díky dynamickému (koliznímu) zhášení fluoroforu pomocí analytu. Navzdory relativní snadnosti tohoto sensorování, ke koliznímu zhášení dochází jen s určitými analyty [59]. Sensorování chemických a biochemických analytů pomocí fluorescenčních sond je stále více zkoumanou oblastí, jelikož je snaha eliminovat používání radioaktivních značek, u nichž je nákladné jejich používání i následné odstraňování. Fluorescenční sensorování se používá např. u analýzy DNA fragmentů, sekvenování DNA, či u fluorescenčních immunoassay metod [59], [63]. Jedním z cílů fluorescenčního sensorování je neinvazivní monitorování významných látek a fyziologických parametrů [59].

2.7 Toxicita

Toxicita nanomateriálů je v dnešní době stále více zkoumanou oblastí, jelikož není jasné, jaká je škodlivost nanomateriálů pro živé organismy. Proto vznikl podobor nanotechnologie, a to nanotoxikologie, který se touto otázkou a studiem toxicity nanomateriálů zabývá [64]. Nanočástice mohou do organismu vniknout šesti hlavními cestami: inhalováním, přes kůži, orálně, intra-venózně, podkožně a skze pobřišnici [64], [65]. Vliv na možnou toxicitu daného nanomateriálu má kromě cesty vniknutí nanomateriálu také většina jeho parametrů, od velikosti, měrné plochy povrchu, funkcionalizaci povrchu, rozpustnosti až po jeho tvar a nanotoxikologie bere v potaz všechny tyto aspekty [20], [21], [64], [66]. Tato skutečnost však není novým objevem, jelikož je už déle známa škodlivost vdechování malých částic např. prachových, u kterých závisí na jejich velikosti a chemicko-fyzikálních vlastnostech. Známá je např. nebezpečnost vdechování azbestu, čili tenkých křemičitých vláken. Azbestová vlákna mechanicky ničí plicní tkáň, ovšem ta samá vlákna potažená vrstvou jílu jsou již o mnoho méně nebezpečná [21].

V posuzování toxicity nanomateriálu je velký rozdíl, pokud ji studujeme in vitro (tedy ve zkumavce), nebo in vivo (v živém organismu). Převážná většina testů se provádí in vitro, avšak právě to může být zavádějící, jelikož nanočástice in vitro mohou způsobit jen zlomek škod, které by byly schopny napáchat in vivo. Příčinou tohoto rozdílu a obtížného převádění výsledků z in vitro studií na působení na organismus je hlavně translokace a toxikokinetika. Problém tedy může nastat, pokud je nanomateriál vyhodnocen jako neškodný z in vitro testování, ale přitom je pro organismus toxický. Jako příklad mohou sloužit přečištěné SWCNT, které u in vitro testování prošly jako neškodné, ovšem po inhalaci způsobují fibrózu u myši [66].

Obecně se předpokládá, že jsou nanočástice nebezpečné díky jejich malé velikosti, jelikož právě ta jim umožňuje lehce pronikat do tkání, buněk a buněčných organel. Ale jak se ukázalo, důležité jsou i povrchové vlastnosti nanočástice. Při studii, která se zabývala pronikáním nanočástic do mozku bylo zjištěno, že pokud nanočástice nebudou mít funkcionalizovaný povrch, nebudou moci proniknout hematoencefalickou bariérou, což je bariéra tvořená pevně spojenými endoteliálními buňkami [64].

2.8 Aplikace nanomateriálů

Nanomateriály mohou mít kovový, polokovový, či nekovový charakter. V praxi se využívají například nanočástice zlata, stříbra, železa, křemíku, či uhlíkové struktury. Nanomateriály nacházejí využití v mnoha oblastech průmyslu i medicíny. Jsou používány pro elektrochemické aplikace, dále jsou pro svůj velký povrch vhodné jako katalyzátory (velký podíl atomů na povrchu), jsou vhodné pro senzorické aplikace, či do baterií, kondenzátorů a solárních článků. Právě do solárních článků lze použít kvantové tečky, které zvýší účinnost a to zachycením více fotonů [17], [32].

Nanomateriály mají velký potenciál, co se týče jejich využití v medicíně. Mohou být použity při diagnostice, či diagnostice a léčbě zároveň. Snahou je totiž syntetizovat taková léčiva, která mají méně vedlejších příznaků a působí specifičtěji, tedy přímo cíleně se v těle dostanou např. k určitým typům buněk, jako jsou nádorové buňky [18].

Jako vize nanobudovnosti se jeví tzv. komplexní nanozařízení v protinádorové léčbě, které by bylo schopné rozpoznat a zobrazit nádorové buňky, uvolnit cíleně léčivo do nádorových buněk a informovat o účinnosti procesu.

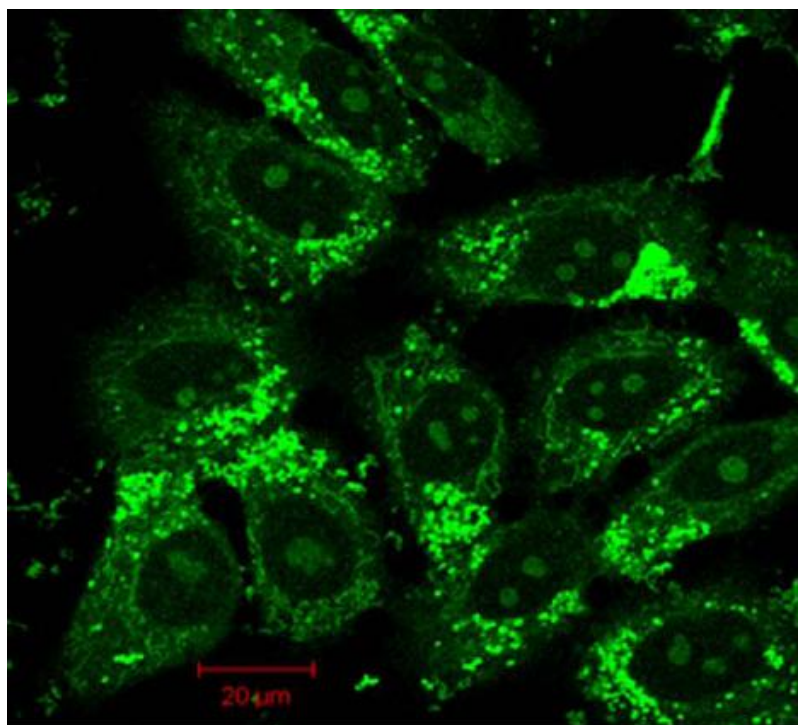
Patent z roku 2009 zavedl do praxe používání kontrastní látky pro magnetickou rezonanci k diagnostice dutiny břišní. Jedná se o negativní kontrastní činidlo, které je tvořené tzv. vodnou suspenzí bentonitu, což je jílovitý aluminosilikátový minerál a superparamagnetických nanočástic oxidů železa – maghemitu, tedy Fe_3O_4 . Právě tato kontrastní látka nahrazuje používání síranu barnatého [67].

Další aplikační půdou nanomateriálů je ekologie a to přesněji čištění podzemních vod pomocí nanočástic nulamocného železa. Velká plocha povrchu nanočástic zajišťuje vysokou reaktivitu. Částice pro tyto účely mají velikost v rozmezí 30-100 nm a vhodnou modifikací povrchu lze zabezpečit jejich odolnost proti agregaci a vůči oxidaci. Pomocí těchto nanočástic železa lze v podzemních vodách redukovat a odbourávat chlorované uhlovodíky, estrogení hormony, některá léčiva, alifatické či aromatické uhlovodíky (hlavně PCB – polychlorované bifenyly), těžké kovy (As, Cr, Pb, Ni, Cd, Hg), pesticidy jako je DDT, herbicidy a mnohé další [68].

Pokud zůstaneme u patentů a medicíny, patent z roku 2012 pro imobilizaci nanočástic stříbra popisuje použití této vazby např. u tracheostomálních katetrů, kde je nutná vysoká čistota, která je zajištěna právě antibakteriálními vlastnostmi stříbra, u nějž díky pevné vazbě na podkladový plast nedochází k jeho uvolňování [69].

2.8.1 Aplikace uhlíkových kvantových teček

Uhlíkové tečky mají tu výhodu, že je jejich prekurzorem biogenní prvek. Právě díky tomu jsou možné jejich biologické aplikace, jako jsou buněčná značení. Další výhodou uhlíkových teček je jejich schopnost dobře penetrovat dovnitř buňky. Ideální fluorescenční kontrastní látka pro použití *in vivo* je ideálně světlá, netoxická, biokompatibilní a odolná proti fotovybělování. Všechna tato kritéria uhlíkové tečky splňují [28], [42], [43]. Na Obr. 15 je snímek souboru buněk z fluorescenčního mikroskopu, označených pomocí uhlíkových teček vyrobených z DNA pomocí self-assembly, tedy samouspořádání. Pro výrobu těchto teček se dvoušroubovice DNA zahřeje při teplotách cca 80 °C (po dobu 12 hod.), kdy se rozpadne na dvě vlákna a poté se pomocí samouspořádání přemění na bio-tečky. Roztok těchto bio-teček fotoluminiscuje modře při 365 nm, na rozdíl od roztoku samotné DNA, který nelumineskuje [70].



Obr. 15 Fluorescenční fotografie buněk označených bio-tečkami ⁶

Jako další možnou aplikací pro uhlíkové tečky jsou senzorické aplikace. Nanomateriály jsou skvělými senzory díky jejich vysoké citlivosti. Čím vyšší bude

podíl povrchových atomů k objemovým, tím větší změnu měřené povrchově-závislé vlastnosti materiálu pozorujeme. Vyšší podíl povrchových atomů je potřebný z toho důvodu, že objemové atomy se na rozdíl od povrchových neúčastní procesu. I zde hraje zásadní roli tvar a velikost částic [17]. Uhlíkové tečky mohou být použity jako biosenzory pro DNA, senzory fosfátů, glukózy, či kovových iontů [28], [44], [71].

3 Experimentální část

3.1 Cíle práce

Cíl této diplomové práce je jednak hydrotermální příprava fluorescenčních kvantových uhlíkových teček z tenzidu, a to konkrétně z kationtového tenzidu cetylpyridinium chloridu (CPC). Dále se v této práci zabývám studiem vlastností těchto uhlíkových teček v závislosti na reakčních podmínkách a v neposlední řadě nalezením využití takto vyrobených uhlíkových teček pro vybrané senzorické aplikace.

3.2 Syntéza kvantových uhlíkových teček z cetylpyridinium chloridu

Kvantové uhlíkové tečky byly syntetizovány hydrotermálně a jejich prekurzorem byl kationický surfaktant cetylpyridinium chlorid (CPC). Hydrotermální metody patří mezi tzv. bottom-up metody, neboli chemické a jak již název napovídá, jde o přípravu ve vodném roztoku.

Typická příprava roztoku vypadala následovně. Pro přípravu 20 mM roztoku surfaktantu bylo naváženo 0,358 g cetylpyridinium chloridu monohydrátu (Sigma-Aldrich, $M_r = 358,00$ g/mol), rozpuštěno v 50 ml deionizované vody (Aqual, Česká republika) a roztok byl umístěn na cca 2 min do ultrazvukové lázně pro úplné rozpuštění tenzidu. Do tohoto roztoku byl poté přidán 5 M NaOH (Lachema, Česká republika) a to v různých testovaných množstvích (0, 15, 25, 50 a 75 μ l). Tato směs byla poté nalita do teflonového kelímku, který byl vložen do autoklávu z nerez oceli (Parr 4566, mini Reactor, 300 ml). Směs se ponechala karbonizovat v reaktoru při 150 °C po dobu 10 min – 24 hod a to za neustálého míchání. Po dobu karbonizace byly odebírány vzorky (cca 1 – 1,5 ml vzorku) ve stanovených intervalech (10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 240, 300, 360 min. a 24 hod.).

Bylo připraveno několik sad kvantových teček, u kterých byly zkoumány změny třech parametrů a to koncentrace prekurzoru (20, 30 a 40 mM), množství přidaného NaOH (0, 15, 25, 50 a 75 μ l) a délka reakce, neboli doba karbonizace (10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 240, 300, 360 min. a 24 hod.).

Při odebírání vzorků bylo patrné tmavnoucí zbarvení směsi, vzorky z časů 10 až 60 min. byly žluté až světle hnědé a s delším časem směs dále tmavla. Po šesti hodinách, či 24 hodinách byl reaktor vypnut a směs byla ponechána zchladnout. Finální hnědě zbarvený koloidní roztok byl poté, spolu se vzorky odebíranými v daných intervalech, bez dalších úprav studován pomocí spektrofluorimetru, kdy byla měřena excitační a emisní spektra. Jako další byla měřena absorpční spektra, změřen ξ -potenciál a vybrané vzorky byly studovány na transmisním elektronovém mikroskopu (TEM).

Uhlíkové tečky CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) byly po karbonizaci přečištěny přechodem přes fázové rozhraní vody a směsi acetonu s chloroformem, aby došlo k odstranění přebytečného surfaktantu a iontů (Na^+ , Cl^-) vnikajících při syntéze

uhlíkových teček. Tato směs se potom nechala při laboratorní teplotě vysušit a vzniklý hnědý prášek byl opět redispersován ve vodě a použit pro další experimenty. Tyto experimenty byly zaměřeny na studium senzorickeho potenciálu připravených uhlíkových teček.

V prvním experimentu byla sledována fluorescenční odezva uhlíkových teček na přítomnost methanolu v ethanolu. Pro měření byl tedy použit přečištěný prášek uhlíkových teček o původní koncentraci surfaktantu 40 mM (s 50 μ l 5 M NaOH, doba karbonizace 2 hodiny). Bylo rozpuštěno 10 mg tohoto prášku vždy ve 2 ml daného čistého rozpouštědla a ve 2 ml jejich směsi 1:1 ethanol : methanol (ethanol – Kojetín; methanol – Penta, Česká republika). Prášek uhlíkových teček se dobře rozpouští v ethanolu a ve směsi 1:1 etOH : metOH, v samotném methanolu už hůře. Pro lepší rozpuštění byly všechny vzorky vloženy na cca 2 minuty do ultrazvukové lázně. Vzorky byly poté proměřeny na spektrofluorimetru. Dalším krokem bylo napodobení 50% lihoviny s různým množstvím methanolu. Maximální povolené množství je 12 g methanolu na litr čistého lihu, čili 6 g methanolu na 50% lihovinu (což činí 1,52 %). Proto byly vyrobeny tři vzorky, které opět obsahovaly 10 mg prášku uhlíkových teček, o různém poměru ethanolu, methanolu a vody, a to v množstvích: podlimitních (4 g methanolu na 50% lihovinu), přesně odpovídajících max. povolenému množství (6 g methanolu na 50% lihovinu) a nadlimitních (12 g methanolu na 50% lihovinu). Tyto vzorky byly poté opět změřeny na spektrofluorimetru.

V druhém experimentu byla sledována odezva fluorescence uhlíkových teček na přídavky kationtů kovů, jelikož je již známo, že některé kovy jsou schopny zhaset fluorescenci uhlíkových teček. Pro tyto experimenty byl opět použit přečištěný prášek uhlíkových teček o původní koncentraci surfaktantu 40 mM (50 μ l 5 M NaOH, doba karbonizace 2 hodiny) a roztoky kovů. Bylo studováno 8 kationtů kovů, vždy se jednalo o chloridovou sůl daného kovu: Fe³⁺, Cd²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺ a Fe²⁺ (vše Sigma-Aldrich, vyjma ZnCl₂ – Lachema, Česká republika). Bylo rozpuštěno 10 mg prášku uhlíkových teček v 10 ml destilované vody, byl tedy připraven roztok uhlíkových teček, jehož intenzita byla změřena na spektrofluorimetru. Poté byly připraveny zásobní roztoky od každého kovu a to o koncentraci 10⁻² M, které byly v přídavcích 10, 15, 25, 25 a 25 μ l přidávány do roztoku uhlíkových teček (1000 μ l) a

po každém přidavku byla změřena odezva fluorescenční intenzity. Každý kov byl tedy změřen v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-3}$ M, každý přírůstek byl změřen 5x.

3.3 Instrumentace

Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) byla provedena na pracovišti Regionálního centra pokročilých technologií a materiálů v Olomouci (RCPTM) a to na mikroskopu JEOL 2010F, při 200 kV (LaB₆ katoda, rozlišení 0,19 nm), za použití měděné mřížky potažené uhlíkem jako podkladu. Absorpční spektroskopická studie byla provedena na UV-VIS spektrofotometru Specord S 600 s diodovým polem (Analytik Jena, Německo) a fluorescenční studie na spektrofluorimetru QuantaMaster 40 (Photon Technology International, U.S.A.). Na přístroji Zetasizer Nano ZEN3600 (Malvern Instruments, UK) byl změřen ξ -potenciál. Všechna data a grafy byly vyhodnoceny v programech Excel a OriginPro 8.1.

3.4 Měření fotoluminiscenčních spekter

3.4.1 Spektrofluorimetr

Hlavními komponenty spektrofluorimetru QuantaMaster 40, na kterém byla fluorescenční spektra měřena, jsou zdroj excitačního záření (Xenonová lampa s maximem při 470 nm), dva monochromátory - excitační a emisní (Czernyho-Turnerova typu), prostor pro kyvetu a detektor. Mezi další optické části přístroje patří štěrbinu na vstupu a výstupu do monochromátorů. Fluorescence je pozorována v křemenné kyvetě (1 cm) pod úhlem 90° vzhledem ke směru dopadajícího paprsku ze zdroje záření, jinak by bylo fluorescenční záření potlačeno zářením excitačním. Měřitelné rozmezí pro emisní spektrum je 250 – 680 nm.

Princip měření je takový, že excitační zdroj (Xe lampa) dodává budící energii do vzorku, záření emitované vzorkem bude poté rozloženo ve spektrálním přístroji, detektor převede optický signál na elektrický a ten bude dále zpracován elektronickými obvody a daným měřicím softwarem [58].

Parametry pro měření byly nastaveny v programu FelixGX 4.1.2. (PTIGraphicX, U.S.A.). Šířka štěrbin byla nastavena pro všechna měření stejně a to na 4 nm na všech

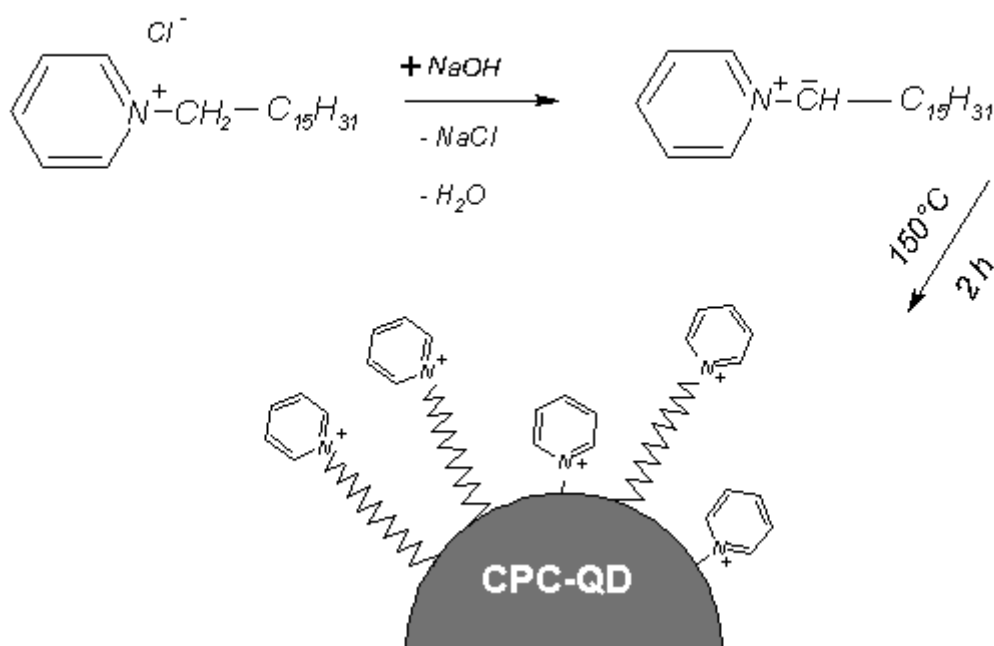
štěrbínách (excitačních i emisních). Integrační čas byl nastaven na 0,1 s. Před každým měřením bylo v programu automaticky nastaveno měření pozadí (background) a rovněž byla nastavena korekce excitačních i emisních spekter. Cca 30 min. před začátkem měření bylo nutné zapnout a nechat ustalovat excitační zdroj záření (tj. Xe lampu).

4 Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza uhlíkových teček

Příprava ze surfaktantu je jednoduchá a její velkou výhodou je fakt, že takto vyrobené uhlíkové tečky nevyžadují následnou funkcionalizaci povrchu. Surfaktant zde totiž hraje roli nejen zdroje uhlíku, ale i roli stabilizační a také přispívá k emisi záření tím, že zapojuje svůj heteroatomický π elektronový systém [40].

Na Obr. 16 je schéma, které ukazuje, jakým způsobem pravděpodobně dochází k syntéze kvantových uhlíkových teček ze surfaktantu CPC. Při hydrotermální karbonizaci může docházet k různým chemickým reakcím, jako je hydrolýza, dekarboxylace, dehydratace, polymerizace atd. Přesný mechanismus není znám, ale předpokládá se, že zvýšená teplota a bazické prostředí vede k dehydrogenaci alkylových řetězců, což je následováno tvorbou aromatických struktur v rámci jádra uhlíkové tečky, ve kterém se utvoří jak sp^2 tak i sp^3 domény [40].

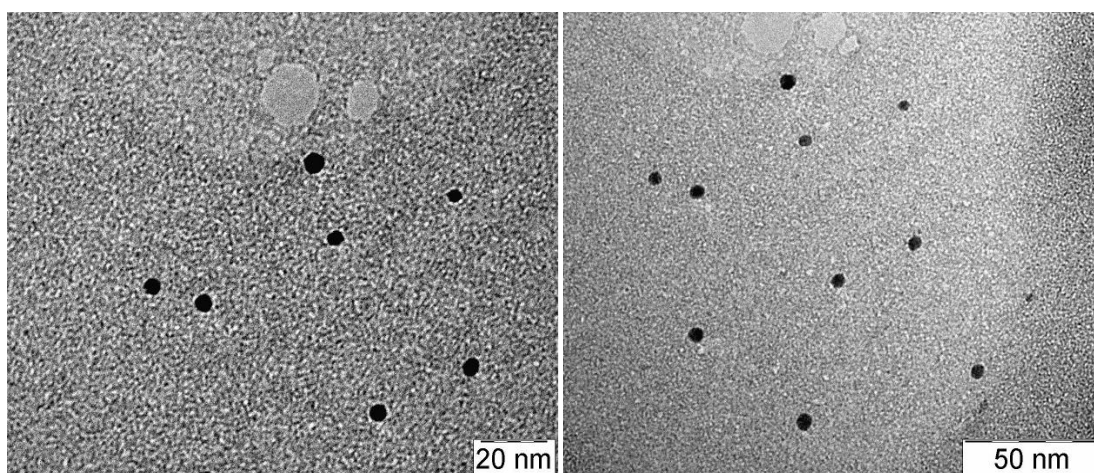


Obr. 16 Schéma vzniku kvantové uhlíkové tečky CPC-QD.

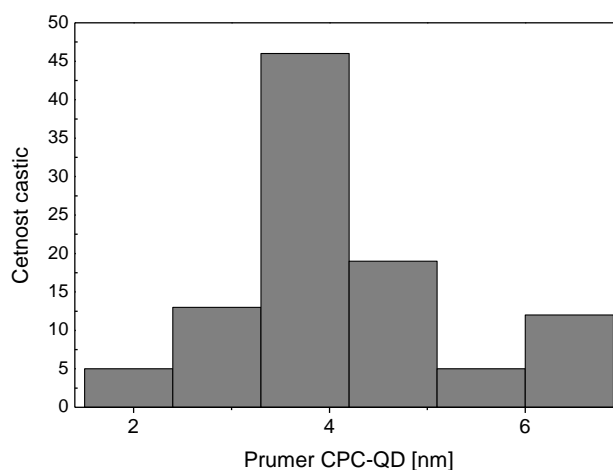
4.2 Charakterizace CPC-QD

4.2.1 Transmisní elektronová mikroskopie

Pro představu o tvaru uhlíkových teček a jejich velikosti byly vybrány vzorky studované Transmisní elektronovou mikroskopií (TEM). Na Obr. 17 jsou zachyceny uhlíkové tečky připravené z 20 mM roztoku CPC (s 50 μ l 5 M NaOH), jejichž doba karbonizace byla 2 hodiny. Jde o dobře zřetelné částice, které jsou sférické a separované. Na dalším Obr. 18 je histogram jejich průměrů, které se pohybují od 2,5 do 6,5 nm, s průměrnou hodnotou velikosti uhlíkové tečky 4 nm.

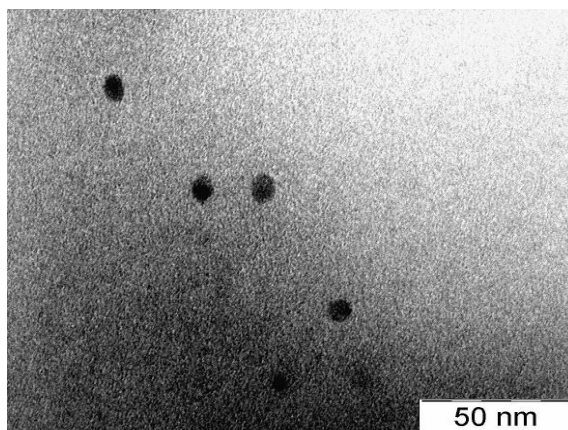


Obr. 17 TEM fotografie CPC-QD 20 mM, doba karbonizace 2 hodiny

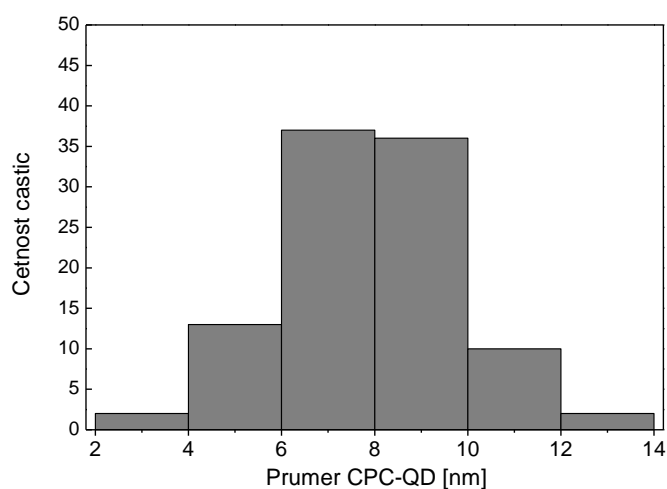


Obr. 18 Histogram uhlíkových teček CPC-QD 20 mM (počítáno ze 100 částic)

Na dalším Obr. 19 jsou uhlíkové tečky, které vycházely z 30 mM koncentrace surfaktantu (s 50 μ l 5 M NaOH) a jejichž doba karbonizace byla opět 2 hodiny. Na Obr. 20 je histogram, který ukazuje, že průměry CPC-QD 30 mM se pohybují v rozmezí 2 až 14 nm a průměrná velikost uhlíkové tečky je 7,5 nm. Jedná se opět o dobře separované a sférické nanočástice.



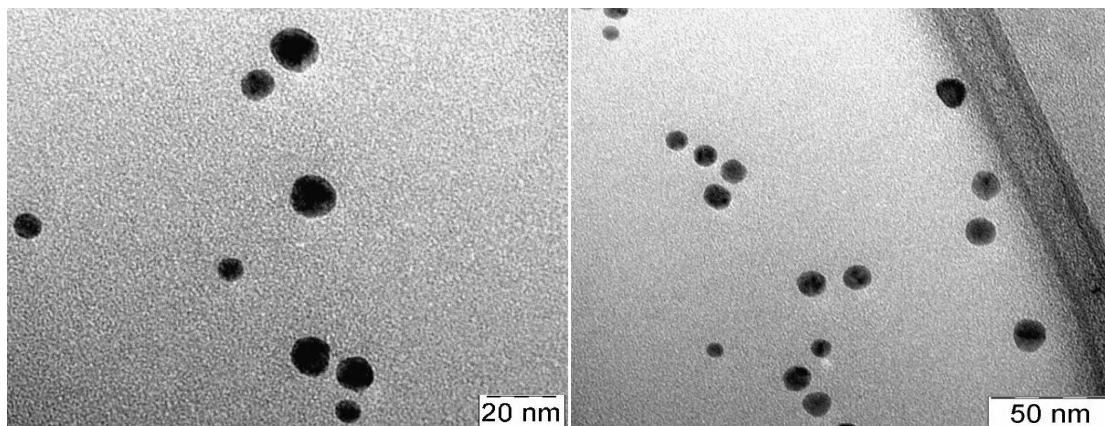
Obr. 19 TEM fotografie CPC-QD 30 mM, doba karbonizace 2 hodiny



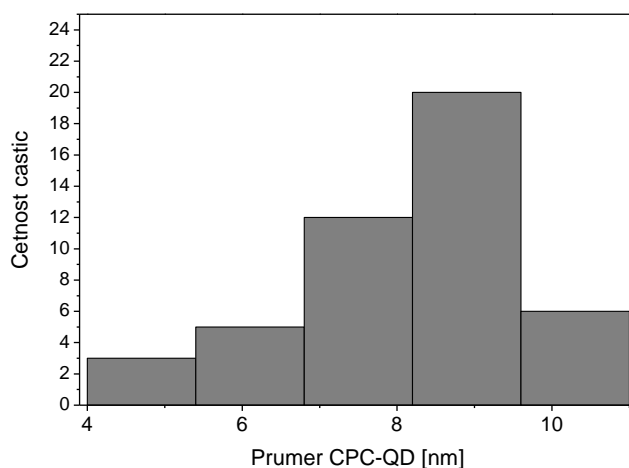
Obr. 20 Histogram uhlíkových teček CPC-QD 30 mM (počítáno ze 100 částic)

Na Obr. 21 jsou zachyceny uhlíkové tečky z nejkonzentrovanejší sady, tj. 40 mM CPC (s 50 μ l 5 M NaOH), jejichž doba karbonizace byla, stejně jako u

předchozích dvou vzorků, 2 hodiny. Tyto tečky mají průměry 4 až 10,5 nm. Průměrná velikost uhlíkové tečky je 8,5 nm (viz Obr. 22).



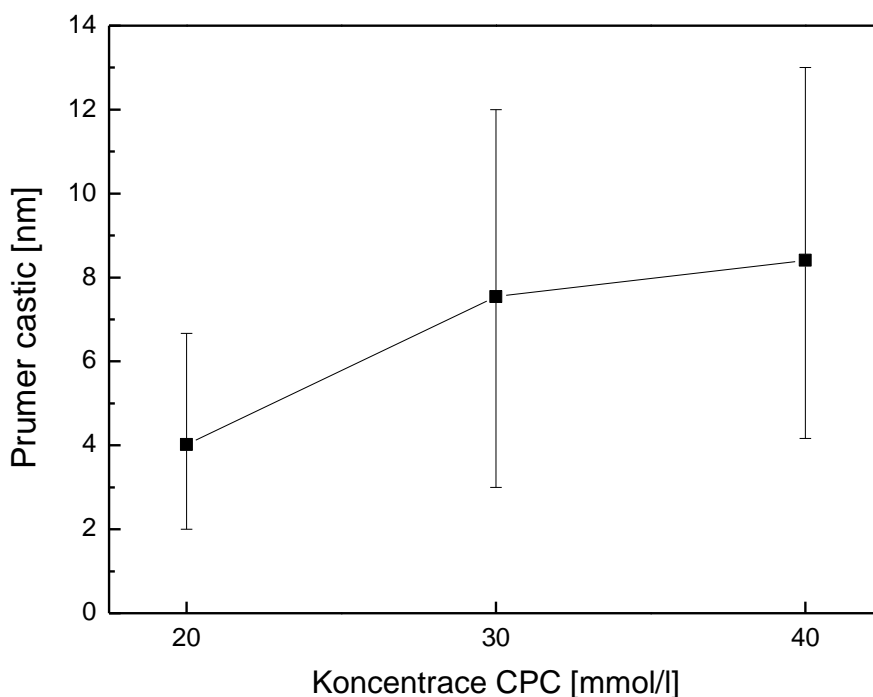
Obr. 21 TEM fotografie CPC-QD 40 mM, doba karbonizace 2 hodiny



Obr. 22 Histogram uhlíkových teček CPC-QD 40 mM (počítáno z 50 částic)

Celkově lze o vzorcích říci, že jde o jasně zřetelné sférické nanočástice, na snímcích nejsou stopy po agregaci, tedy nedochází k nechtěnému shlukování uhlíkových teček, které obecně negativně ovlivňuje optické vlastnosti nanomateriálů. To je pravděpodobně dané přítomností nezreagovaného surfaktantu, který zde hraje stabilizační roli [40].

Pokud jde o velikosti uhlíkových teček, je z jejich histogramů vidět jistá korelace vyšší koncentrace původního surfaktantu a větší výsledné velikosti uhlíkových teček. Na Obr. 23 jsou vidět průměrné velikosti částic vzniklých z daných koncentrací. Korelace větší koncentrace a větší výsledné velikosti uhlíkových teček by mohla vycházet z předpokladu, že v roztoku, po rozpuštění surfaktantu, dochází ke tvorbě větších micel a ty vedou k syntéze větších částic. Tuto domněnku lze podpořit tím, že u surfaktantu CTAB (Cetyltrimethylammonium bromid), který má stejně jako CPC hydrofobní část tvořenou 16-ti atomy uhlíku, byl potvrzen vznik větších micel s rostoucí koncentrací CTAB [4], [5]. S vyšší koncentrací surfaktantu dochází u CTAB ke změně tvaru micely ze sférického na protáhlý tyčovitý [4], [5]. Ke vzniku větších částic z koncentrovanějšího roztoku může rovněž docházet vlivem většího množství materiálu (CPC) pro syntézu uhlíkové tečky, které je dostupné při karbonizaci.



Obr. 23 Průměrné velikosti uhlíkových teček (o koncentracích CPC 20, 30 a 40 mM).

U uhlíkových teček CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) bylo dále provedeno i přečištění pomocí fázového transferu (viz experimentální část). Uhlíkové tečky měly po

přečištění stále dobré koloidní i optické vlastnosti, jelikož i po přečištění ve směsi pravděpodobně zůstala část nezreagovaného surfaktantu. Více stupňové čištění však již není vhodné, jelikož dostaneme materiál o pastovité konzistenci, který je dále špatně dispergovatelný ve vodě, u něhož nejspíše dochází k úplnému vymytí stabilizujícího surfaktantu a následné agregaci kvantových teček.

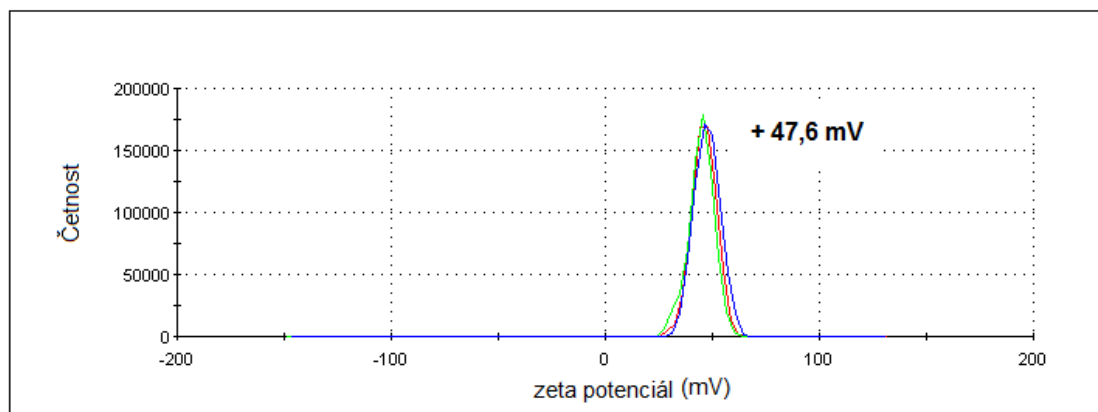
Roztoky uhlíkových teček nevykazují známky sraženin ani po dlouhém skladování (1 rok). U některých vzorků dochází pouze k usazování ke dnu, které po promíchání ihned mizí.

4.2.2 Zeta potenciál

Pro měření ξ -potenciálu byla nastavena 3 kola měření a každé kolo bylo měřeno 10x, přístroj poté z naměřených dat vypočítal průměrnou hodnotu. Zeta potenciál byl změřen pro 3 různé koncentrace surfaktantu (20, 30 a 40 mM). Na Obr. 24 je graf distribuce zeta potenciálu pro CPC-QD 20 mM. Výsledky měření viz Tab. II. Hodnoty ξ -potenciálu uhlíkových teček jsou vysoké a kladné, což ukazuje na přítomnost velkého množství nezreagovaného surfaktantu, či kladných skupin vytvořených na povrchu uhlíkových teček po karbonizaci. Právě tyto faktory příznivě ovlivňují koloidní stabilitu roztoku uhlíkových teček. Uhlíkové tečky o koncentraci 40 mM byly měřeny po přečištění fázovým transferem, proto byla nejspíše naměřena nižší hodnota ξ -potenciálu, než u předchozích dvou koncentrací.

Tab. II. Naměřené hodnoty ξ -potenciálů

Koncentrace (mol/l)	ξ -potenciál (mV)
20	51,6
30	53,9
40	47,6

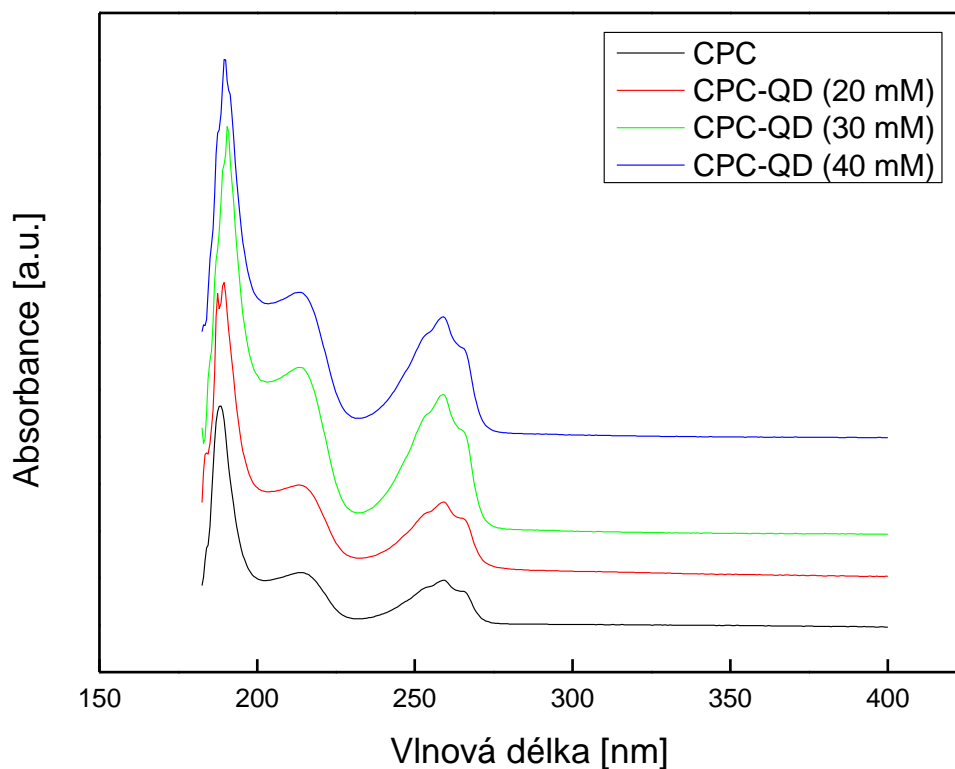


Obr. 24 Distribuce zeta potenciálu uhlíkových teček CPC-QD 20 mM.

4.2.3 Absorpční spektrum

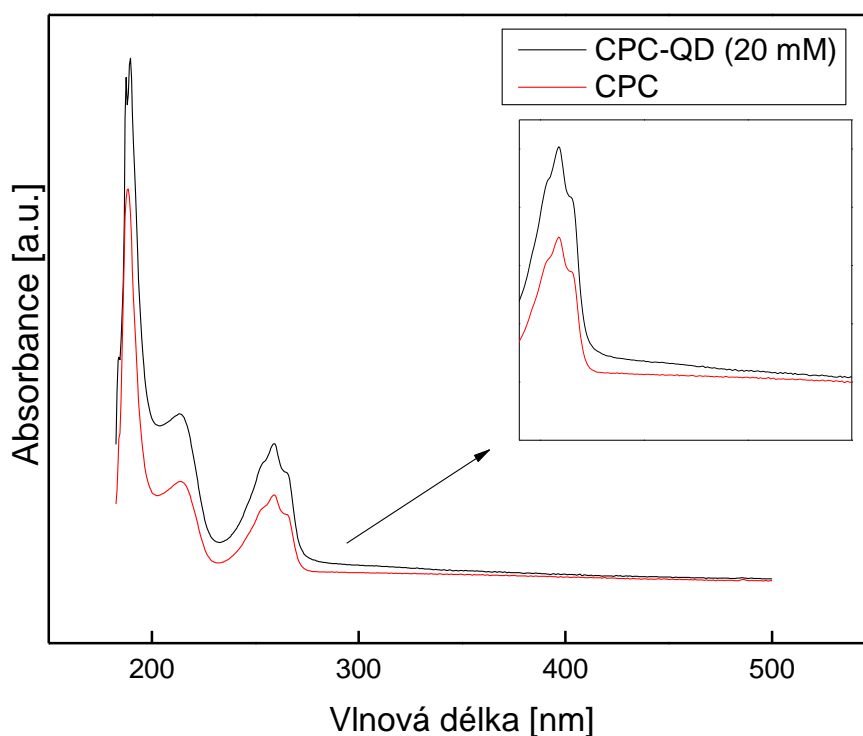
Absorpční spektra byla měřena na UV-VIS spektrofotometru Specord S 600 s diodovým polem (Analytik Jena, Německo) a s programem WinAspect. Bylo proměřeno celé spektrum (vlnové délky 182,5 – 1019,5 nm), integrační čas byl nastaven na 34 ms a jako reference použita destilovaná voda.

Roztok kvantových teček je silně absorpční, proto bylo nutné vzorky značně ředit a to 200x (10 µl vzorku do 1990 µl destilované vody). Na Obr. 25 jsou čtyři absorpční spektra daná pro názornost do jednoho grafu a posunuta od sebe v rámci osy y. První křivka zachycuje absorpční spektrum roztoku surfaktantu cetylpyridinium chloridu rozpuštěného ve vodě bez karbonizace. Další křivky již ukazují absorpční spektra roztoků kvantových teček o vzrůstající původní koncentraci CPC.



Obr. 25 Absorpční spektra roztoku CPC a roztoků uhlíkových teček.

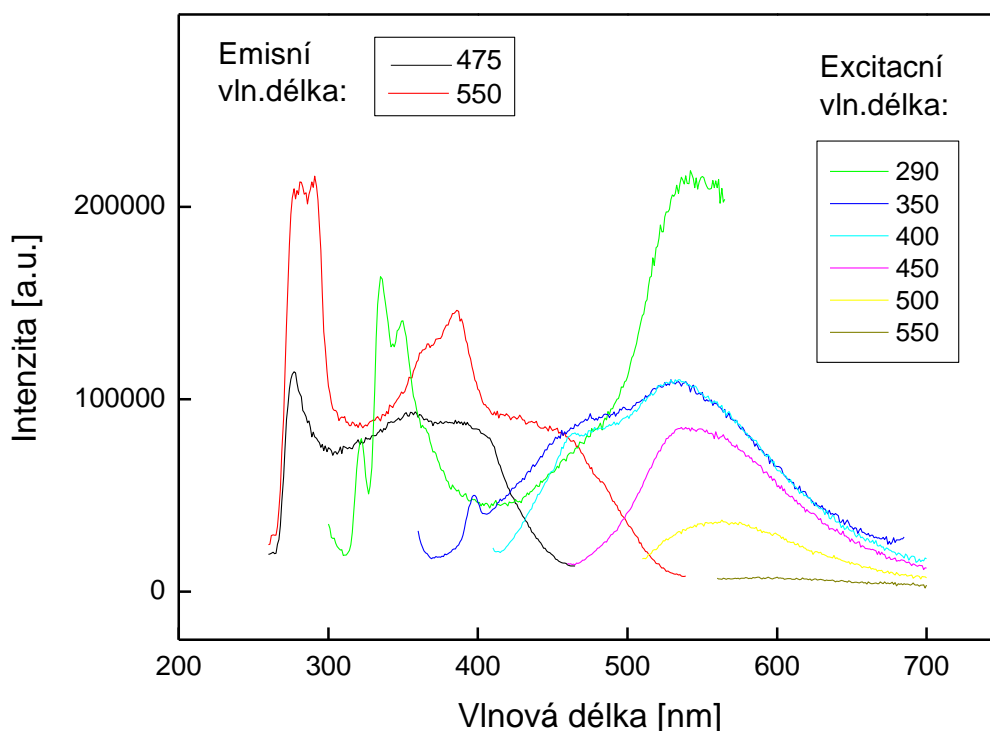
V absorpčním spektru nedochází po karbonizaci a vzniku kvantových teček k výrazným změnám oproti absorpčnímu spektru samostatného CPC. To může být dáno vlivem surfaktantu CPC, který sám o sobě značně absorbuje záření. Koncentrace vzniklých uhlíkových teček je navíc malá oproti koncentraci nezreagovaného surfaktantu, a jakýkoliv vliv vzniknuvších uhlíkových teček na absorpční spektrum bude přítomným nezreagovaným surfaktantem potlačen. Ovšem přítomnost uhlíkových teček se projeví zvýšenou absorpcí základní linie roztoku uhlíkových teček CPC-QD (viz Obr. 26) oproti samostatnému CPC a to v oblasti 280 – 400 nm. Právě toto pozvolné klesání je charakteristické pro uhlíkové tečky a je dáno širokospektrální absorpcí, která klesá směrem od nižších k vyšším vlnovým délkám.



Obr. 26 Absorpční spektra roztoku CPC a roztoku uhlíkových teček CPC-QD 20 mM.

4.3 Fotoluminiscenční studie

Fluorescence kvantových uhlíkových teček je jednou z jejich největších předností. Na Obr. 27 je znázorněno excitačně-emisní spektrum uhlíkových teček s danými emisními a excitačními vlnovými délkami (viz legendy). Jedná se o vzorek o původní koncentraci CPC 20 mM s přidanými 50 μ l 5 M NaOH. Doba karbonizace byla 2 hodiny při 150 °C. Pozorujeme zde závislost tvarů emisních spekter na excitační vlnové délce. Fluorescenční spektra jsou většinou nezávislá na excitační vlnové délce, s její změnou běžně dochází pouze k nárůstu či poklesu intenzity, ale nedochází ke změně polohy maxim. U uhlíkových kvantových teček je však charakteristická právě závislost na excitační vlnové délce a s její změnou dochází k posouvání emisních píků. Na grafu jsou ve viditelné části emisního spektra pozorována dvě maxima a to při 475 nm a 540 nm. Při zvolení excitační vlnové délky monochromátoru nad 450 nm zůstává už jen maximum při 540 nm.

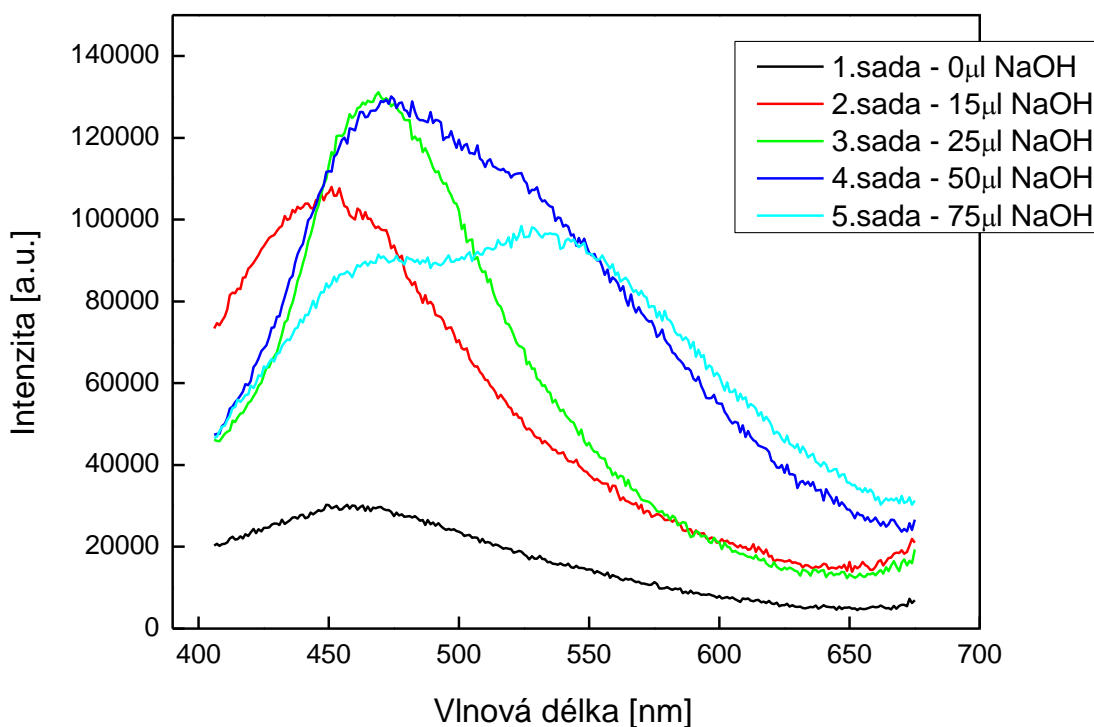


Obr. 27 Excitačně-emisní fluorescenční spektrum CPC-QD 20 mM (50 μ l 5 M NaOH), doba karbonizace 2 hodiny, zředěno 20x, emisní a excitační vlnové délky viz graf.

4.3.1 Vliv přidaného množství NaOH

Jak již bylo zmíněno, bylo testováno 5 sad s různým množstvím přidaného 5 M NaOH (0, 15, 25, 50 a 75 μ l). Zásadité prostředí je nutné pro správnou karbonizaci surfaktantu a tvorbu uhlíkových teček. Výsledky jsou vidět na Obr. 28. Čas karbonizace byl 5 hodin a výchozí koncentrace surfaktantu 20 mM. Pokud do směsi nebude přidán NaOH (viz 1. sada), bude fluorescence vzniklých uhlíkových teček velmi nízká a pravděpodobně tedy nedošlo k dostatečné tvorbě uhlíkových teček. Naopak vysoké množství NaOH způsobí přílišnou karbonizaci, výsledný roztok bude velmi tmavý a neprůhledný a bude jen málo fluorescenční, což je nejspíše způsobeno spotřebováním většiny surfaktantu na výrobu teček a tedy postrádáním nezreagovaného surfaktantu na stabilizaci.

Jako optimum byla tedy zvolena sada č. 4 s 50 μl 5 M NaOH, jež má vysokou fluorescenční intenzitu s maximem píku kolem cca 475 nm. Tato fluorescence vychází ze samotných uhlíkových teček. Podíváme-li se na emisní spektrum ze sady č. 5, vidíme zde i druhý pík kolem 540 nm, který odpovídá fluorescenci surfaktantu, který je sám o sobě mírně fluorescenční. I tento druhý pík je částečně zřetelný u vybrané sady č. 4. Tento předpoklad fluorescence dvojího typu je také podepřen i dále mezi výsledky měření z časové závislosti. Při vybraném množství 50 μl 5 M NaOH bylo pH roztoku před karbonizací 11,8, což je optimální pH, jak vychází ze studie [40]. Při nižším pH je fluorescence potlačena emisí v UV oblasti a nedochází k emisi ve viditelné oblasti. Při příliš vysokém pH bude, jak již bylo zmíněno, docházet k příliš vysoké karbonizaci, ztratím stabilizační role surfaktantu a poklesu emise [40].



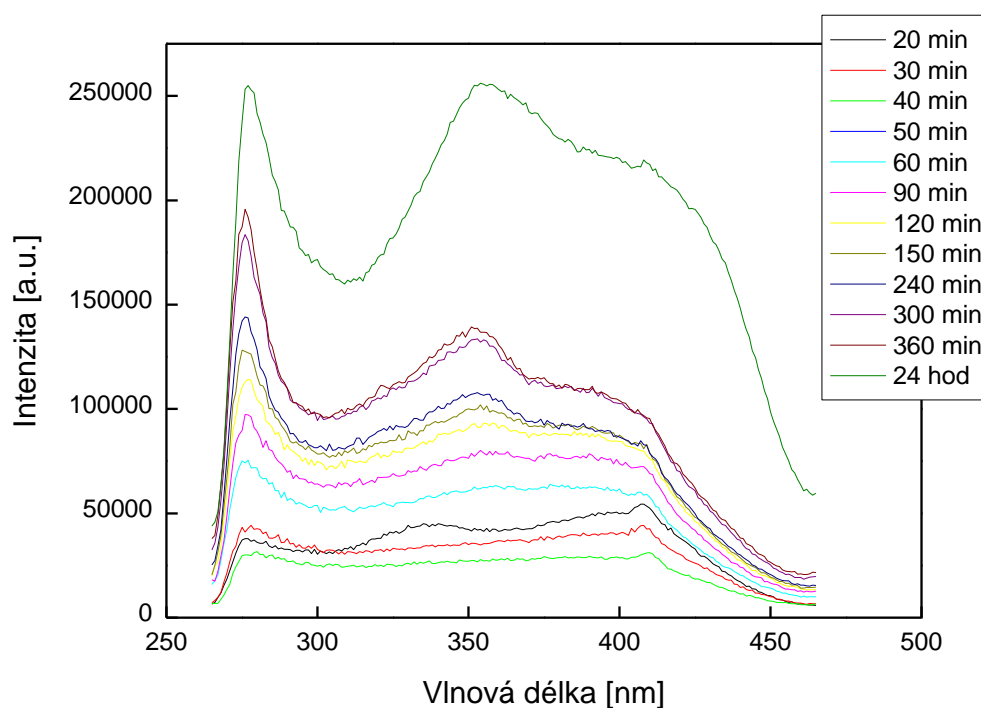
Obr. 28 Emisní spektrum CPC-QD 20 mM, srovnání sad s různými přídávky NaOH.

Vzorky 20x zředěné, doba karbonizace 5 hodin, $\lambda_{\text{ex}} = 350 \text{ nm}$.

4.3.2 Časová závislost

Všechny sady (kde sadou je míněno cca 13 vzorků o jedné koncentraci, které se mezi sebou liší délkou karbonizace, tj. 10 min. až 24 hod.) o koncentracích 20 – 40 mM a přidaných množství 0-75 μ l 5 M NaOH byly proměřeny na spektrofluorimetru, na němž byla změřena jejich excitační a emisní spektra.

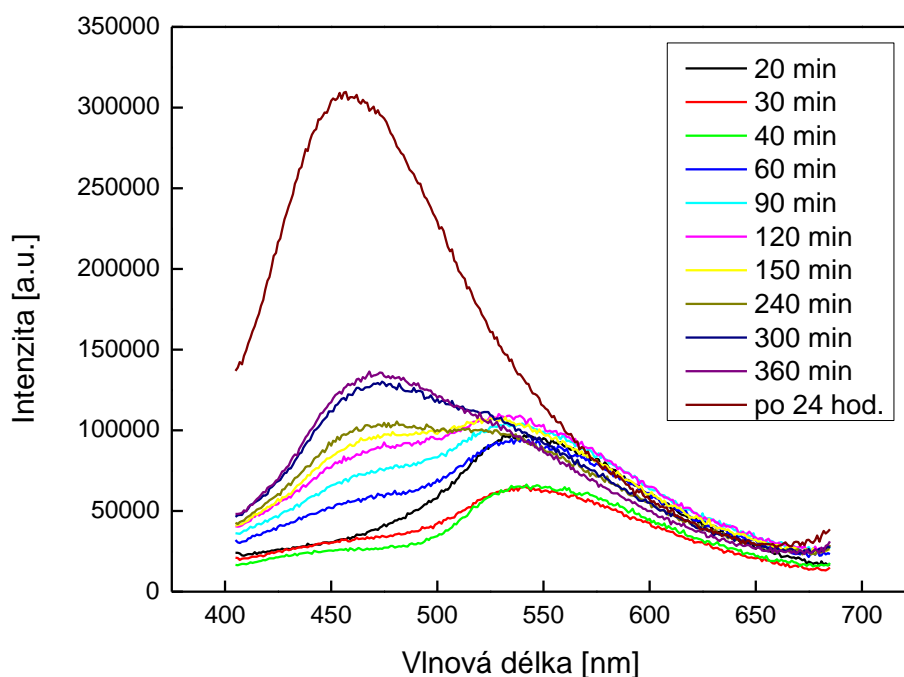
Na Obr. 29 je zachyceno excitační spektrum sady CPC-QD 20 mM s 50 μ l 5 M NaOH, teplota karbonizace byla 150 $^{\circ}$ C, na spektru je vidět pík u cca 350 nm, který narůstá od času 2 hodin. Měření a studium excitačních spekter je vhodné právě pro výběr nejvhodnější excitační vlnové délky pro emisní spektra. Jelikož nevýhodou luminiscenčního záření bývá nízká intenzita, je vhodné zabývat se zlepšením luminiscenčního signálu [58]. Právě vlnová délka 350 nm byla proto vybrána jako optimální excitační vlnová délka pro emisní spektra.



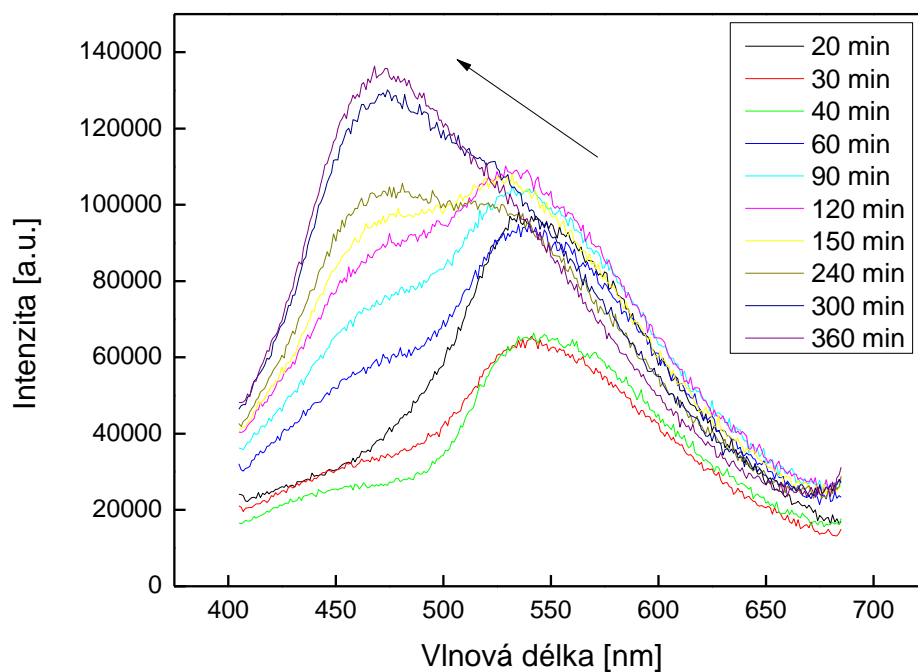
Obr. 29 Excitační spektrum CPC-QD 20 mM (50 μ l 5 M NaOH), vzorky 20x zředěné, doba karbonizace viz rámeček, $\lambda_{em} = 475$ nm,

Na Obr. 30 je fluorescenční spektrum směsi uhlikových teček o původní koncentraci surfaktantu 20 mM a přidaného množství 50 μ l 5 M NaOH (doba karbonizace viz legenda), teplota karbonizace byla 150 $^{\circ}$ C. Je zde zachycen posun maxima (viz šipka), které se posouvá od vlnové délky cca 545 nm k 470 nm. Tento posun je ještě lépe viditelný z Obr. 31. V časech 20 až 120 min. je jasné maximum při 545 nm, jehož fluorescence pochází od surfaktantu, jelikož v tomto čase ještě nejsou dostatečně vytvořené uhlikové tečky. Teplota reaktoru při čase 20 min. je 120 $^{\circ}$ C a teprve dosahuje zvolené hodnoty pro karbonizaci. Tento posun je vidět i u další sady CPC 20 mM, 75 μ l 5 M NaOH, viz Obr. 32.

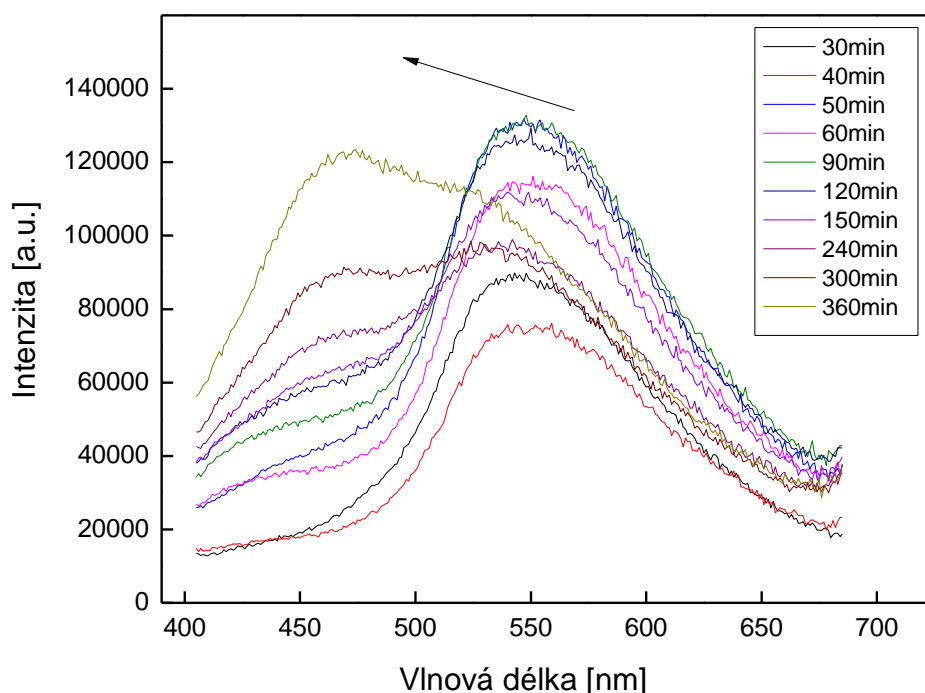
U sady CPC 20 mM s 50 μ l 5 M NaOH je patrný rostoucí pík při 470 nm od času 2 hodin. Proto byl právě tento čas vyhodnocen jako optimum (pro koncentraci CPC 20 mM s přidavkem 50 μ l 5 M NaOH), pokud chceme získat fluorescenční směs uhlikových teček a surfaktantu (pro stabilizaci) za co nejkratší čas, což je vhodné zejména pro senzorické aplikace, jelikož dostaneme od jednoho systému dva zhruba rovnocenné a nezávislé emisní píky (od CPC-QD a od surfaktantu).



Obr. 30 Emisní spektrum CPC-QD 20 mM (50 μ l 5 M NaOH), vzorky 20x zředěné, doba karbonizace viz rámeček, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, v časech 0-24 hod.



Obr. 31 Emisní spektrum CPC-QD 20 mM (50 μ l 5 M NaOH), vzorky 20x zředěné, doba karbonizace viz rámeček, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, detailnější pohled na posun maxima.



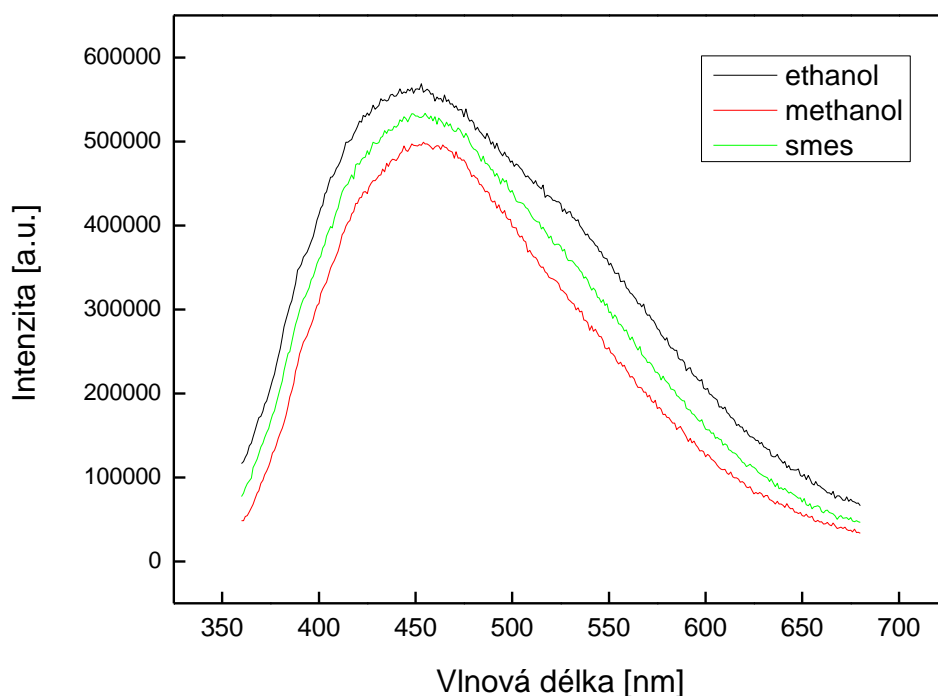
Obr. 32 Emisní spektrum CPC-QD 20 mM (75 µl 5M NaOH), vzorky 20x zředěné, doba karbonizace viz rámeček, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.

4.4 Aplikace CPC-QD

4.4.1 Vliv rozpouštědla

Je známo, že kvantové tečky mění své spektrální vlastnosti v různých rozpouštědlech [40]. Proto byl sledován vliv dvou významných rozpouštědel a to ethanolu a methanolu, jelikož důkaz a stanovení methanolu je stále aktuálním tématem.

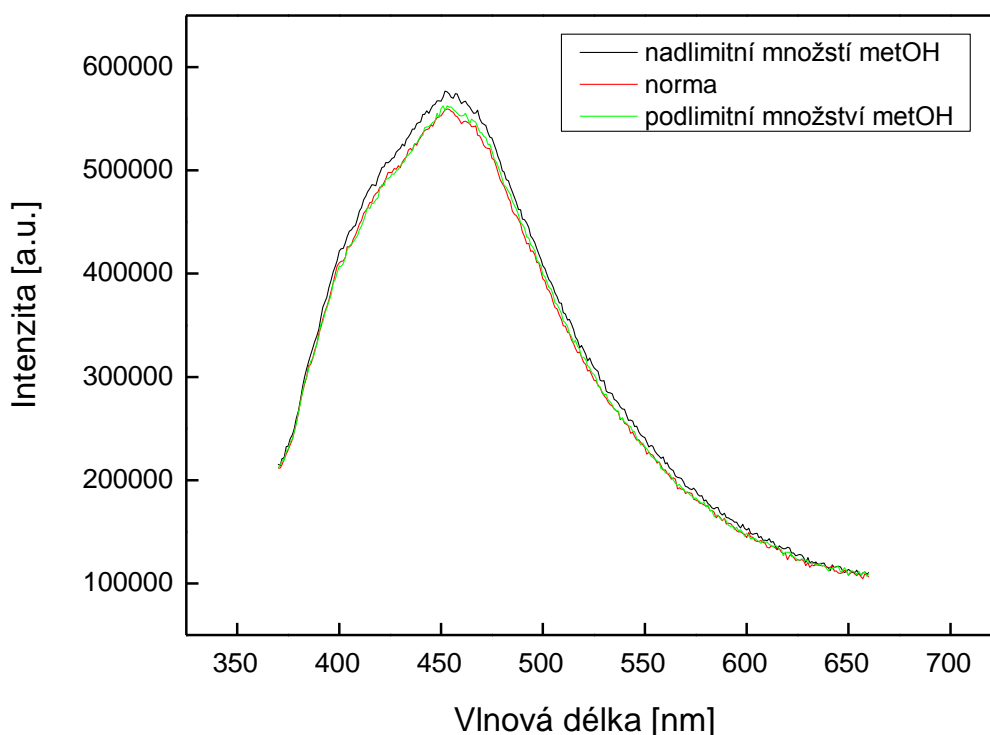
Pro měření byl použit přečištěný prášek uhlíkových teček o původní koncentraci surfaktantu 40 mM (přidané množství 50 µl 5 M NaOH, doba karbonizace 2 hodiny). Prášek uhlíkových teček se dobře rozpouštěl v ethanolu, v methanolu už hůře. Na Obr. 33 jsou vidět všechna tři změřená emisní spektra. Vzorky byly pro fluorescenční měření 10x zředěny.



Obr. 33 Spektra CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) v ethanolu, methanolu a jejich směsi 1:1, vzorky 10x zředěné, $\lambda_{ex} = 350$ nm.

Jelikož po měření emisních spekter uhlíkových teček rozpuštěných v ethanolu, methanolu a jejich směsi se emisní spektra lišila (docházelo ke snižování fluorescenční intenzity uhlíkových teček v methanolu), zabývala jsem se dále možnou aplikací uhlíkových teček jako senzoru pro odhalení methanolu v ethanolu.

Jak již bylo popsáno v experimentální části, byla napodobena 50% lihovina s množstvím methanolu: podlimitním, přesně odpovídajících max. povolenému množství a nadlimitním. Na Obr. 34 je graf s naměřenými spektry měřenými při excitační vlnové délce 350 nm.



Obr. 34 Spektra CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) s množstvím methanolu v 50% ethanolu viz legenda, vzorky 10x zředěné, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.

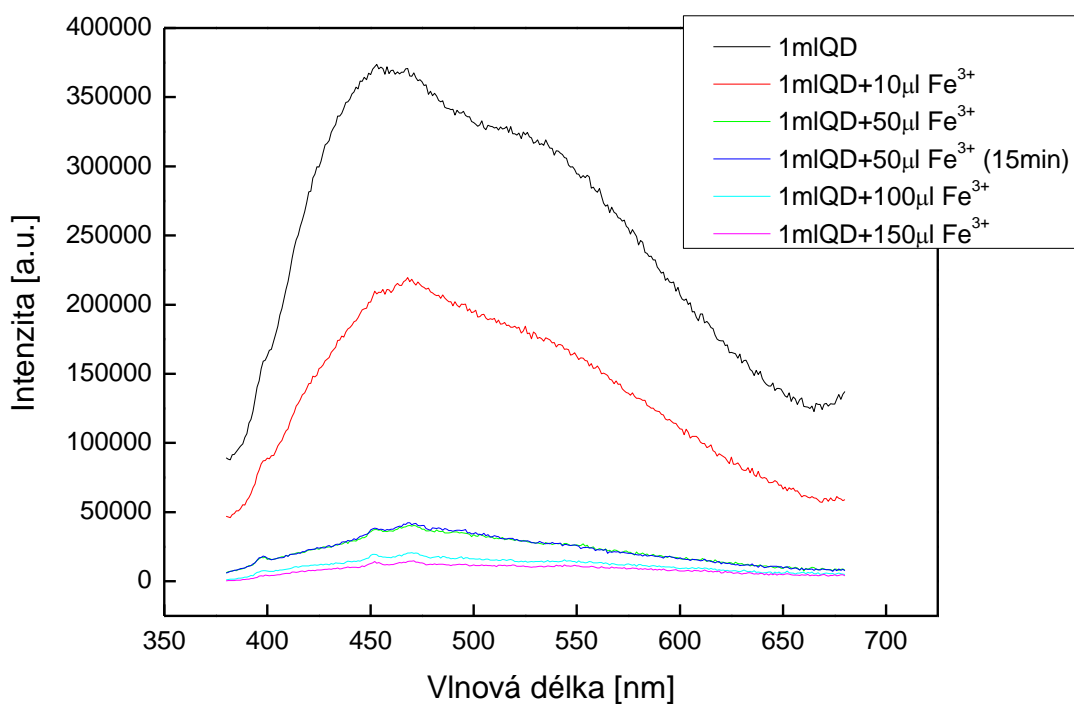
Nicméně uhlíkové tečky CPC-QD 40 mM se neukázaly jako dobrý senzor pro stanovení methanolu v ethanolu, jelikož studovaná tři množství (nadlimitní, norma a podlimitní obsah metOH) se spektrálně nelišila. Citlivost uhlíkových teček na dané množství methanolu v ethanolu je velmi malá a to i na nejvyšší přípustné množství 6 g/l 50% lihoviny. Nebylo by tedy možné stanovit takto obsah methanolu, či prokázat jeho přítomnost.

4.4.2 Senzorování pomocí zhášení fluorescence

Na téma zhášení fluorescence uhlíkových teček kovy jsou již známy studie [71]–[73]. Pro tyto experimenty byl použit roztok uhlíkových teček o původní koncentraci surfaktantu 40 mM (50 μ l 5 M NaOH, doba karbonizace 2 hodiny) a roztoky kovů. Bylo

studováno 8 biologicky důležitých kationtů (Fe^{3+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} a Fe^{2+}). Emisní spektra byla opět měřena při excitační vlnové délce 350 nm.

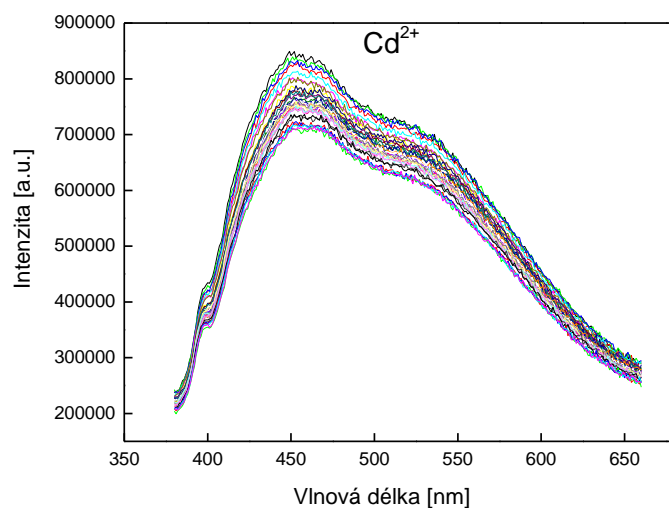
Při prvních pokusech bylo zjištěno, že uhlíkové tečky reagují na přítomnost železitých iontů v roztoku snížením fluorescenční intenzity, kdežto u ostatních kovů k poklesu nedocházelo. Na Obr. 35 je vidět zhášení fluorescence uhlíkových teček při přidavcích Fe^{3+} iontů (přidávky viz legenda). První křivka je roztok samotných uhlíkových teček CPC-QD 40 mM (1 ml, neředěné), další křivky již přidávky železité soli o koncentracích v kyvetě $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$ a $1,5 \cdot 10^{-2}$ M. Přídavek $50 \mu\text{l}$ Fe^{3+} byl změřen znova po 15 min. (tmavě modrá křivka), aby byl vyloučen časový vliv na měření. Je vidět, že už s přidavkem $100 \mu\text{l}$ Fe^{3+} (tj. koncentrací $1 \cdot 10^{-2}$ M) byla fluorescence uhlíkových teček potlačena (zhášena).



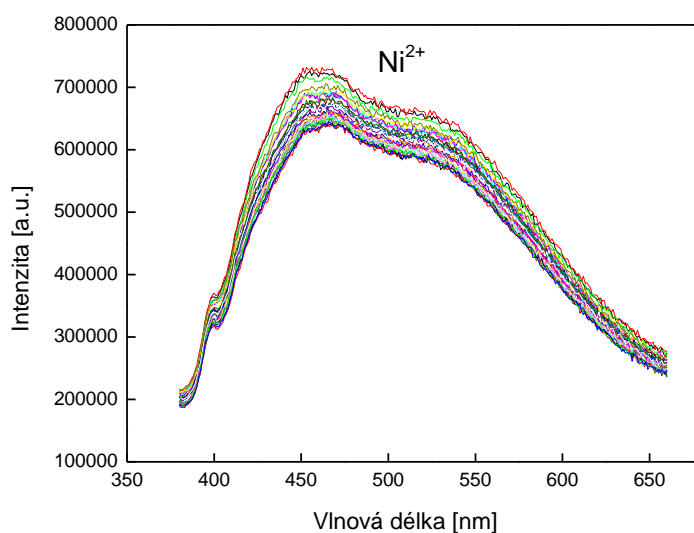
Obr. 35 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μl 5 M NaOH) s přidávkami železitých iontů, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.

Po těchto prvních pokusech byly provedeny další pokusy, kde byla koncentrace kovů snížena o řád, takže nejnižší koncentrace kovu v kyvetě byla $1 \cdot 10^{-4}$ M.

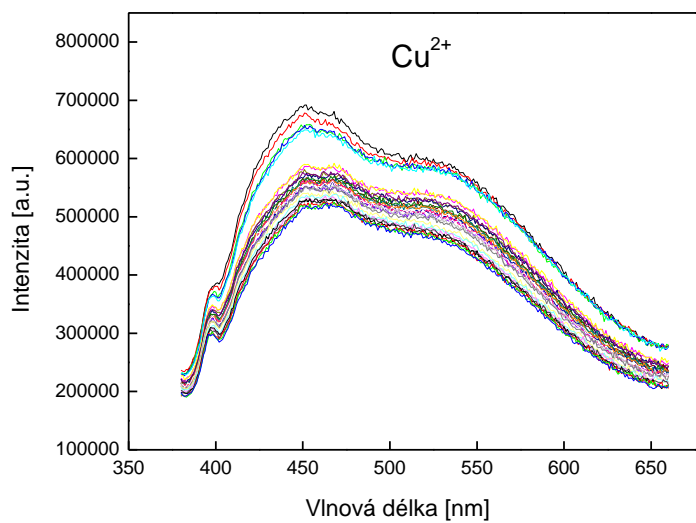
Na obrázcích 36-41 jsou jednotlivé grafy kationtů kovů. První křivky jsou roztoky samostatných uhlíkových teček (ředěné 1:1 s destilovanou vodou) a další křivky jsou jednotlivé přídavky daných kationtů, tj. 10, 25, 50, 75 a 100 μl dané soli (vždy chlorid daného kovu) a tedy o koncentracích v květetě $1 \cdot 10^{-4}$, $2,5 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $7,5 \cdot 10^{-4}$ a $1 \cdot 10^{-3}$ M. Každé měření (každý přídavek) bylo změřeno 5x.



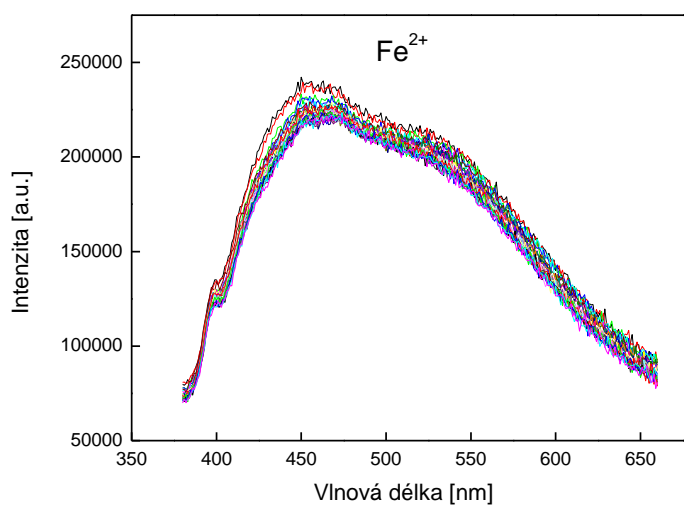
Obr. 36 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μl 5 M NaOH) s přídavky Cd^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.



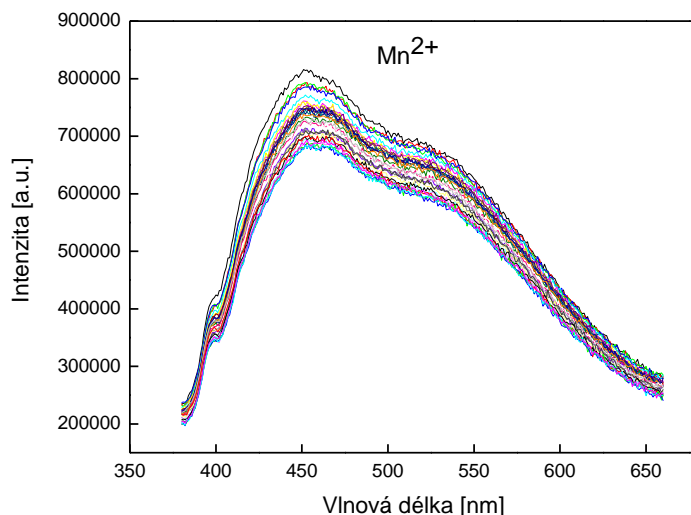
Obr. 37 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μl 5 M NaOH) s přídavky Ni^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.



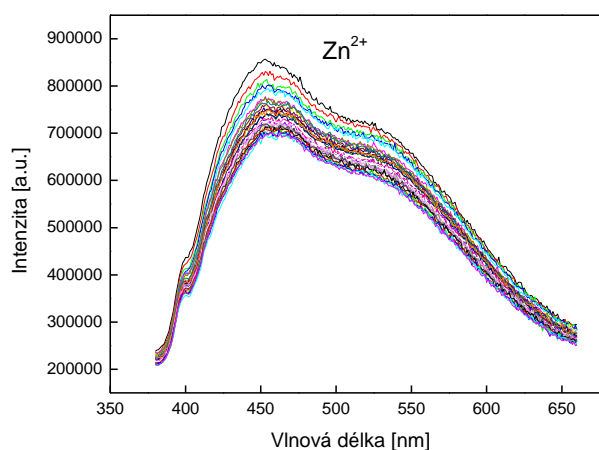
Obr. 38 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) s přidavky Cu^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.



Obr. 39 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) s přidavky Fe^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm.



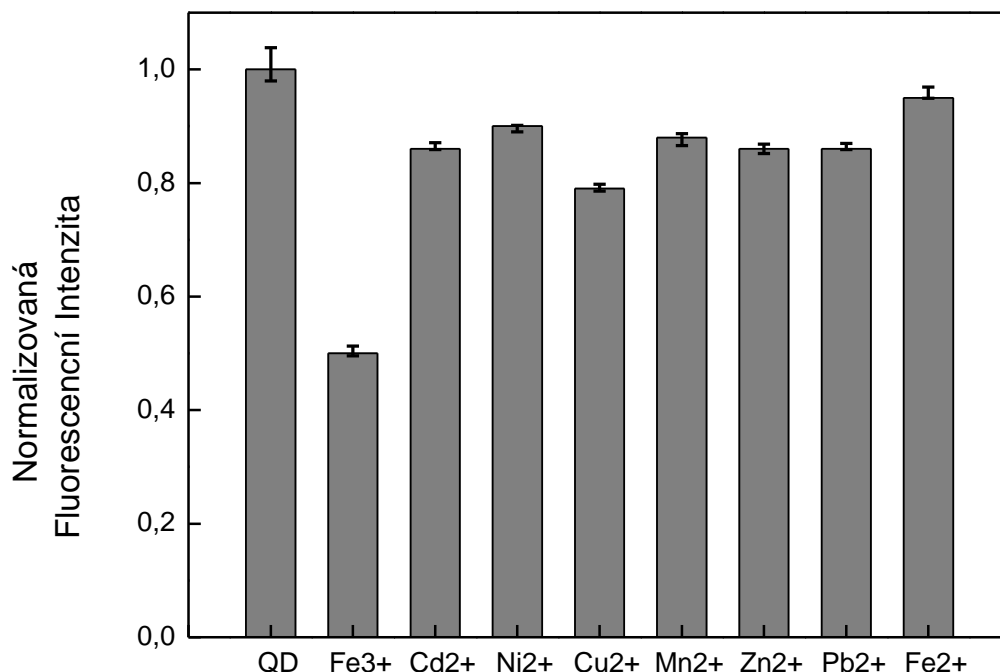
Obr. 40 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) s přidavky Mn^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{ex} = 350$ nm.



Obr. 41 Emisní spektrum CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) s přidavky Zn^{2+} , ředění 1:1 s dest. vodou, $\lambda_{ex} = 350$ nm.

Obr. 42 srovnává fluorescenční intenzity uhlíkových teček CPC-QD 40 mM v přítomnosti kovů o nejvyšší testované koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ M. První sloupec je roztok samostatných uhlíkových teček CPC-QD 40 mM a další sloupce jsou kationty kovů o nejvyšší zkoušené koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ M (tj. s největším přidavkem 100 μ l). K největšímu poklesu fluorescence došlo přidavkem železitých iontů, u dalších iontů

nedošlo k výraznému snížení intenzity (tedy ostatní kovy nezháší fluorescenci uhlíkových teček CPC-QD). Roztok uhlíkových teček je tedy selektivně zhasen právě železitými ionty, které lze takto stanovovat. Dobrým výsledkem byla i necitlivost fluorescence uhlíkových teček na přídavek železnatých iontů, jelikož právě železnaté ionty jsou v roztoku často doprovázeny ionty železitými. Nicméně právě u železnatých iontů došlo k nejmenšímu poklesu intenzity.

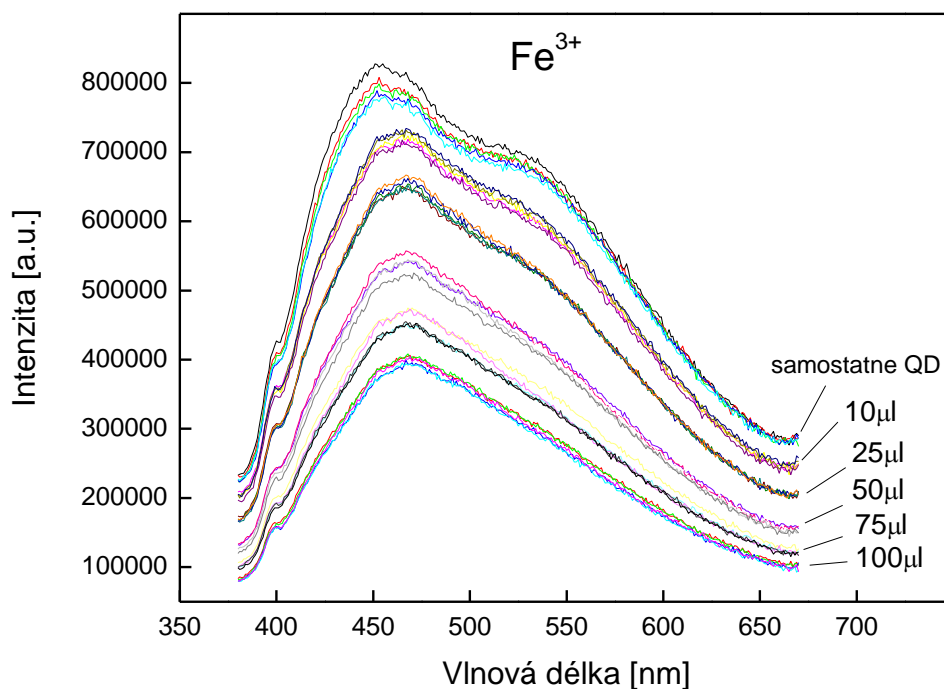


Obr. 42 Vliv vybraných kationtů kovů na fluorescenci uhlíkových teček, CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH), ředění 1:1 s dest. vodou, koncentrace kovů $1 \cdot 10^{-3}$ M.

Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku měření.

Na Obr. 43 je emisní spektrum uhlíkových teček ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm) v přítomnosti železité soli (FeCl_3). První křivka je roztok samostatných uhlíkových teček (QD - ředěno 1:1 s destilovanou vodou), další křivky jsou již přídavky železité soli, které byly přidávány do roztoku QD. Každé měření (každý přídavek) byl změřen 5x. Koncentrace železitých iontů v kyvetě byly následující: $1 \cdot 10^{-4}$, $2,5 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $7,5 \cdot 10^{-4}$

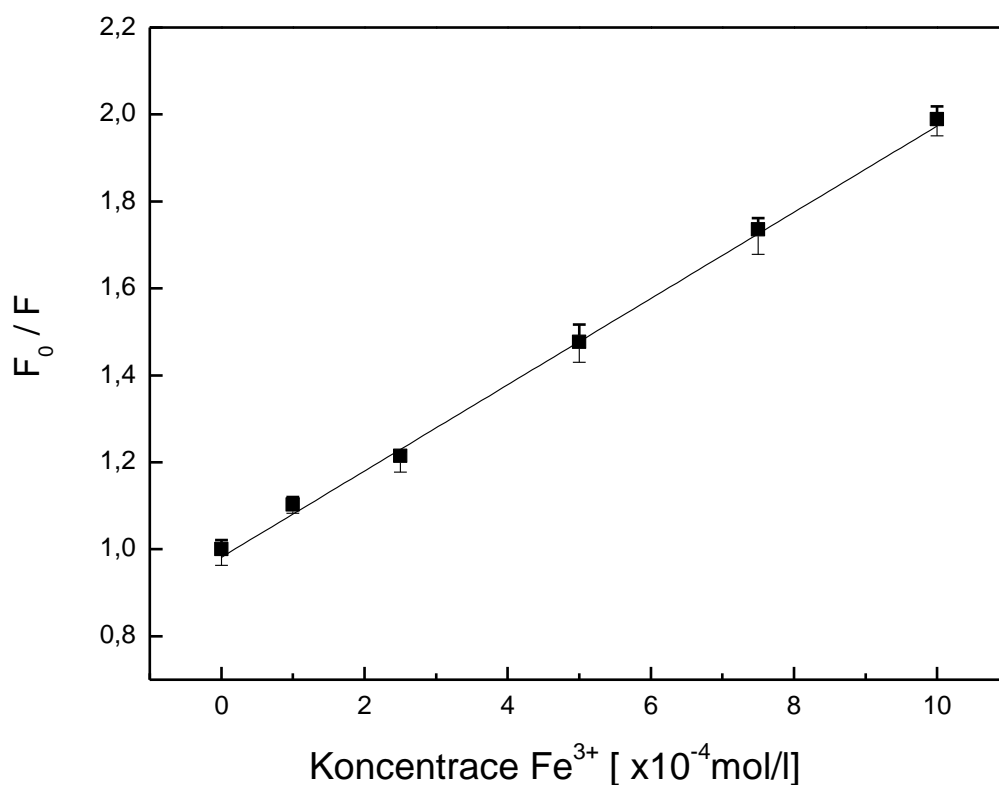
a $1 \cdot 10^{-3}$ M. Z grafu je patrné, že s přidavkem železité soli dochází ke zhášení luminiscence roztoku uhlíkových teček (tedy ke snižování intenzity fluorescence).



Obr. 43 Vliv přidavků železité soli na roztok uhlíkových teček, přidavky viz graf, CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH), ředění 1:1 s dest. vodou, každý přidavek měřen 5x, $\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm

Na dalším Obr. 44 je graf, který zachycuje závislost podílu fluorescenčních intenzit (přesněji podíl fluorescenční intenzity bez přítomnosti zhášedla – F_0 a daných intenzit s rostoucí koncentrací zhášedla – F) na koncentraci Fe^{3+} iontů (zhášedla). Z grafu je patrné, že podíl těchto intenzit lineárně roste s koncentrací Fe^{3+} iontů, z čehož vyplývá možnost kvantitativně stanovovat Fe^{3+} ionty pomocí zhášení fluorescence uhlíkových teček. Z grafu byla získána hodnota $K_{\text{sv}} = 0,99 \cdot 10^3$ l/mol, což je Stern-Volmerova zhášecí konstanta, která vystupuje ve Stern-Volmerově rovnici a vyjadřuje zhášecí účinnost, neboli citlivost senzoru (viz kapitola 2.6.7).

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{\text{SV}}[Q] \quad (2.10)$$



Obr. 44 Stern-Volmerův graf závislosti fluorescenční intenzity CPC-QD 40 mM (50 μ l 5 M NaOH) na koncentraci Fe³⁺ iontů, každý přídavek měřen 5x.

Důvodem, proč právě ionty Fe³⁺ jsou schopny zhášet fluorescenci uhlíkových teček, může být fakt, že při přidání Fe³⁺ iontů do roztoku uhlíkových teček dochází ke vzniku stabilních komplexů mezi kationty Fe³⁺ a atomy dusíku. Nicméně atomy dusíku jsou pravděpodobně pro Fe³⁺ ionty špatně dostupné. Další možností je vazba a tvorba komplexů mezi kationty Fe³⁺ a hydroxylovými skupinami, které pocházejí od zásady NaOH, přidávané do roztoku, ale koncentrace NaOH v roztoku je relativně nízká a to 5.10⁻³ M. K mechanismu zhášení by v těchto případech docházelo tvorbou charge-transfer komplexů, které by potlačily rekombinaci excitonu, což vede ke zhášení [72]. Poslední a nejvíce pravděpodobnou teorií proč Fe³⁺ ionty zhášejí fluorescenci kvantových teček je pomocí mechanismu, který se nazývá přenos elektronu indukovaný světlem (fotoindukovaný elektronový přenos, PET) [71]. Uhlíkové tečky jsou totiž dobrými dárči i příjemci elektronů, proto je možné, že při přidání Fe³⁺ iontů do roztoku uhlíkových teček dochází k fotoredukci železitých iontů a oxidaci uhlíkových teček,

které se stanou ne fluorescenční [42], [73], [74]. Většina stanovení železitých iontů je založena na zhášení, tzv. „turn-OFF“ (spíše než na zvýšení fluorescence, tzv. „turn-ON“), což vychází z paramagnetického efektu železa, za nějž jsou zodpovědné nespárované d-elektrony. Právě tento efekt způsobí zvýšení pravděpodobnosti disipace energie nezářivým procesem [71].

Stanovení železitých iontů má velký význam, jelikož železo je důležitým prvkem, nacházejícím se jak v životním prostředí, tak v živých organismech. Je to prvek pro řadu organismů nezbytný, účastní se řady metabolických procesů a jeho nedostatek, ale i přebytek mohou způsobovat problémy [73]. Pro stanovení železitých iontů se používají analytické techniky jako je spektrofotometrie, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-MS), voltametrie a atomová absorpční spektrometrie (AAS). Avšak u těchto metod často dochází k interferenci ostatních iontů kovů, některé vyžadují náročnou předpřípravu vzorku a v neposlední řadě i sofistikovaná zařízení. Pokud se jedná o stanovení obsahu železitých iontů uvnitř buněk, většina technik při stanovení obsahu Fe^{3+} buňky zničí, či jim chybí nezbytná citlivost pro stanovení [71]. Proto je použití uhlíkových teček při stanovení Fe^{3+} tak slibnou záležitostí, jelikož jde o metodu která je jednoduchá, selektivní a citlivá.

5 Závěr

V této diplomové práci jsem se zabývala hydrotermální přípravou kvantových uhlíkových teček z kationového surfaktantu CPC, jejichž příprava je snadná a použití surfaktantu je výhodné v tom, že není nutná následná funkcionalizace povrchu uhlíkových teček. Další dobrou vlastností CPC je fakt, že je to látka bohatá na uhlík, který je biogenním prvkem, a takto vyrobené kvantové tečky jsou šetrné k životnímu prostředí. Surfaktant zde rovněž hraje roli stabilizační a také přispívá k emisi záření. Po syntéze uhlíkových teček jsem se dále zabývala studiem jejich vlastností pomocí různých technik, především studiem jejich fotoluminiscenčních spekter pomocí spektrofluorimetrických měření. Uhlíkové tečky vyrobené ze surfaktantu mají skvělé fotoluminiscenční vlastnosti a jejich emisní spektrum a intenzita závisí na excitační vlnové délce. Dále jsem studovala vliv různé koncentrace surfaktantu, což se ukázalo mít spojitost s výslednou velikostí uhlíkových teček, a to přímou úměrou, větší koncentrace – větší průměry uhlíkových teček. Jako další byl studován vliv NaOH, který je důležitý pro správnou karbonizaci, za optimum jeho přídavku bylo zvoleno 50 μ l 5 M NaOH. Čas karbonizace neboli trvání hydrotermální reakce byl třetím sledovaným parametrem. Jako optimum jsem zvolila čas karbonizace 2 hodin, při kterém dostaneme směs uhlíkových teček a nezreagovaného surfaktantu, což je vhodné pro senzorické aplikace. V neposlední řadě jsem se zabývala právě senzorickými aplikacemi, a to zhasením fluorescence uhlíkových teček pomocí kovů. Kvantové tečky, vyrobené hydrotermálně ze surfaktantu CPC, se ukázaly jako vhodné fluorescenční senzory pro železité ionty, ty totiž selektivně zhasí fluorescenci CPC-QD uhlíkových teček.

6 Summary

In this thesis I have dealt with hydrothermal preparation of surfactant-based quantum carbon dots, whose synthesis is easy and the use of surfactant CPC is advantageous in that it is not necessary to further functionalize the surface of the carbon dots. Another good feature of CPC is the fact that it is a substance rich in carbon, which is a biogenic element, and thus the synthesized quantum dots are environmentally friendly. Surfactant plays also a stabilizing role and contributes to the emission of radiation. After the synthesis I have dealt with the study of properties of carbon dots using various techniques, especially by studying their photoluminescent spectra using spectrofluorometric measurements. As prepared carbon dots have an excellent photoluminescence properties, and their emission spectrum and intensity is dependent on the excitation wavelength. Next I studied the effect of the different concentration of surfactant, which turned out to be related to the size of the resulting carbon dots. There was a direct proportion, the greater concentration, the larger the diameter of carbon dots. Next I looked at the influence of NaOH, which is important for a proper carbonization process. As an optimum, 50 μ l of 5 M NaOH was chosen. The third studied factor was the time of the reaction or by other words the duration of the hydrothermal reaction. As an optimum, two hour-carbonization was chosen. During this time we get a mixture of carbon dots and unreacted surfactant, which is suitable for sensoric applications. Last but not least, I have dealt with sensoric applications, particularly quenching of a fluorescence of carbon dots by metal ions. Quantum dots, synthesized hydrothermally from surfactant CPC, proved to be suitable fluorescent sensors for iron (III) ions as a selective quenching of carbon dots caused by iron (III) ions was observed.

7 Literatura

- [1] P. C. Hiemenz, R. Rajagopalan, *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, 3rd ed. 1997.
- [2] L. Kvítek, A. Panáček, *Základy Koloidní Chemie*. Olomouc, 2007.
- [3] D. Myers, *Surfactant Science and Technology*. Wiley, 2005.
- [4] V. K. Aswal, P. S. Goyal, "Role of different counterions and size of micelle in concentration dependence micellar structure of ionic surfactants," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 368, no. 1–2, pp. 59–65, Jan. 2003.
- [5] N. C. Das, H. Cao, H. Kaiser, G. T. Warren, J. R. Gladden, P. E. Sokol, "Shape and size of highly concentrated micelles in CTAB/NaSal solutions by Small Angle Neutron Scattering (SANS).," *Langmuir*, vol. 28, no. 33, pp. 11962–8, Aug. 2012.
- [6] M. J. Rosen, J. T. Kunjappu, *Surfactants and Interfacial Phenomena*. Wiley, 2012.
- [7] D. W. Connell, *Basic Concepts of Environmental Chemistry, Second Edition*. Taylor & Francis, 2005.
- [8] T. M. Schmitt, *Analysis of Surfactants, Second Edition*. Taylor & Francis, 2001.
- [9] D. Rubingh, *Cationic Surfactants: Physical Chemistry*. Taylor & Francis, 1990.
- [10] J. Russell and R. Cohn, *Cetylpyridinium Chloride*. Book on Demand, 2012.
- [11] M. R. Wiesner, G. V Lowry, E. Casman, P. M. Bertsch, C. W. Matson, R. T. Di Giulio, J. Liu, M. F. Hochella, "Meditations on the ubiquity and mutability of nano-sized materials in the environment.," *ACS Nano*, vol. 5, no. 11, pp. 8466–70, Nov. 2011.
- [12] C. Toumey, "Probing the history of nanotechnology.," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 4, pp. 205–6, Apr. 2012.
- [13] M. Vůjtek, R. Kubínek, M. Miroslav, *Nanoskopie*. Olomouc: UPOL, 2012.
- [14] C. Toumey, "35 Atoms That Changed the Nanoworld.," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 5, no. 4, pp. 239–41, Apr. 2010.
- [15] M. D. Eigler, E. K. Schweizer, "Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope," *Nature*, vol. 344, pp. 524–526, 1990.
- [16] J. A. Schwarz, C. I. Contescu, K. Putyera, *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, no. sv. 3. M. Dekker, 2004.

- [17] R. Vajtai, *Springer Handbook of Nanomaterials*. Springer, 2013.
- [18] H. Fulekar, *Nanotechnology: Importance and Applications*. I.K. International Publishing House, 2010.
- [19] T. Vo-Dinh, *Nanotechnology in Biology and Medicine: Methods, Devices, and Applications*. Taylor & Francis, 2007.
- [20] A. D. Maynard, R. J. Aitken, T. Butz, V. Colvin, K. Donaldson, G. Oberdörster, M. a Philbert, J. Ryan, A. Seaton, V. Stone, S. S. Tinkle, L. Tran, N. J. Walker, D. B. Warheit, "Safe handling of nanotechnology.," *Nature*, vol. 444, no. 7117, pp. 267–9, Nov. 2006.
- [21] J. S. Tsuji, A. D. Maynard, P. C. Howard, J. T. James, C.-W. Lam, D. B. Warheit, A. B. Santamaria, "Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: risk assessment of nanoparticles.," *Toxicol. Sci.*, vol. 89, no. 1, pp. 42–50, Jan. 2006.
- [22] K. J. Koudelka, M. Manchester, "Chemically modified viruses: principles and applications.," *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 14, no. 6, pp. 810–7, Dec. 2010.
- [23] M. C. Linder, G. M. Nagel, M. Roboz, D. M. Hungerford, "The size and shape of heart and muscle ferritins analyzed by sedimentation, gel filtration, and electrophoresis.," *J. Biol. Chem.*, vol. 256, no. 17, pp. 9104–10, Sep. 1981.
- [24] J. Xie, K. Chen, X. Chen, "Production , Modifi cation and Bio-Applications of Magnetic Nanoparticles Gestated by Magnetotactic Bacteria," 2009.
- [25] D. Faivre, D. Schüler, "Magnetotactic bacteria and magnetosomes.," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 11, pp. 4875–98, Nov. 2008.
- [26] A. Lin, M. A. Meyers, "Growth and structure in abalone shell," *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 390, no. 1–2, pp. 27–41, Jan. 2005.
- [27] S. Uibel, M. Takemura, D. Mueller, D. Quarcoo, D. Klingelhofer, D. A. Groneberg, "Nanoparticles and cars - analysis of potential sources.," *J. Occup. Med. Toxicol.*, vol. 7, no. 1, p. 13, Jan. 2012.
- [28] H. Li, Z. Kang, Y. Liu, S.-T. Lee, "Carbon nanodots: synthesis, properties and applications," *J. Mater. Chem.*, vol. 22, no. 46, p. 24230, 2012.
- [29] A. B. Bourlinos, R. Zbořil, J. Petr, A. Bakandritsos, M. Krysmann, E. P. Giannelis, "Luminescent Surface Quaternized Carbon Dots," *Chem. Mater.*, vol. 24, pp. 2011–2013, 2012.
- [30] Z.-C. Yang, M. Wang, A. M. Yong, S. Y. Wong, X.-H. Zhang, H. Tan, A. Y. Chang, X. Li, J. Wang, "Intrinsically fluorescent carbon dots with tunable emission derived from hydrothermal treatment of glucose in the presence of

- monopotassium phosphate.” *Chem. Commun. (Camb)*., vol. 47, no. 42, pp. 11615–7, Nov. 2011.
- [31] A. B. Bourlinos, A. Stassinopoulos, D. Anglos, R. Zboril, V. Georgakilas, E. P. Giannelis, “Photoluminescent Carbogenic Dots,” *Chem. Mater.*, vol. 20, no. 14, pp. 4539–4541, Jul. 2008.
- [32] A. Kitai, *Luminescent Materials and Applications*. Wiley, 2008.
- [33] M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, P. Alivisatos, “Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels,” *Science*, vol. 281, no. 5385, pp. 2013–6, Sep. 1998.
- [34] Q. Liang, W. Ma, Y. Shi, Z. Li, X. Yang, “Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications,” *Carbon N. Y.*, vol. 60, pp. 421–428, Aug. 2013.
- [35] A. B. Bourlinos, A. Stassinopoulos, D. Anglos, R. Zboril, M. Karakassides, E. P. Giannelis, “Surface Functionalized Carbogenic Quantum Dots,” *Small*, vol. 4, no. 4, pp. 455–458, 2008.
- [36] X.-J. Mao, H.-Z. Zheng, Y.-J. Long, J. Du, J.-Y. Hao, L.-L. Wang, D.-B. Zhou, “Study on the fluorescence characteristics of carbon dots,” *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 75, no. 2, pp. 553–7, Feb. 2010.
- [37] Y. Yang, J. Cui, M. Zheng, C. Hu, S. Tan, Y. Xiao, Q. Yang, Y. Liu, “One-step synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon nanoparticles by hydrothermal carbonization of chitosan,” *Chem. Commun. (Camb)*., vol. 48, no. 3, pp. 380–2, Jan. 2012.
- [38] Y.-P. Sun, B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, K. a S. Fernando, P. Pathak, M. J. Meziani, B. a Harruff, X. Wang, H. Wang, P. G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. Chen, L. M. Veca, S.-Y. Xie, “Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no. 24, pp. 7756–7, Jun. 2006.
- [39] Y. P. Kudryavtsev, S. E. Evsyukov, M. B. Guseva, V. G. Babaev, V. V. Khvostov, “Carbyne - the third allotropic form of carbon,” *Russ. Chem. Bull.*, vol. 42, no. 3, pp. 399 – 413, 1993.
- [40] O. Kozák, K. Kumara, R. Datta, V. Ranc, J. Kaslik, R. Zbořil, “Surfactant-Derived Amphiphilic Carbon Dots with Tunable Photoluminescence,” 2013.
- [41] W. Wang, L. Cheng, W. Liu, “Biological applications of carbon dots,” *Sci. China Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 522–539, Mar. 2014.
- [42] S. N. Baker, G. A. Baker, “Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights,” *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 49, no. 38, pp. 6726–44, Sep. 2010.

- [43] J. C. G. Esteves da Silva, H. M. R. Gonçalves, “Analytical and bioanalytical applications of carbon dots,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 8, pp. 1327–1336, 2011.
- [44] W. Sun, Y. Du, Y. Wang, “Study on fluorescence properties of carbogenic nanoparticles and their application for the determination of ferrous succinate,” *J. Lumin.*, vol. 130, no. 8, pp. 1463–1469, Aug. 2010.
- [45] J. Prášek, “Instrukční a studijní materiály: Uhlíkové nanočástice,” 2011. [Online]. Available: <http://www.umel.feec.vutbr.cz/nanoteam/data/soubory/CTN, grafen, fullerenCNTs+grafen+fullereny.pdf> [22.2.2014].
- [46] C. Lee, X. Wei, J. W. Kysar, J. Hone, “Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene,” *Science*, vol. 321, no. 5887, pp. 385–8, Jul. 2008.
- [47] A. J. Stone, D. J. Wales, “Theoretical studies of icosahedral C₆₀ and some related species,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 128, no. 5, pp. 501–503, 1986.
- [48] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O’Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, “C₆₀: Buckminsterfullerene,” *Nature*, vol. 318, pp. 162–163, 1985.
- [49] D. E. Manolopoulos, C. May, S. E. Down, “Theoretical studies of the fullerenes : C₇₄ to C₇₀,” vol. 18, no. 2, pp. 105–111, 1991.
- [50] N. Yahya, *Carbon and Oxide Nanostructures: Synthesis, Characterisation and Applications*. Springer, 2011.
- [51] Y. Dong, R. Wang, H. Li, J. Shao, Y. Chi, X. Lin, G. Chen, “Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing,” *Carbon N. Y.*, vol. 50, no. 8, pp. 2810–2815, Jul. 2012.
- [52] S. Rondeau-Gagné, J.-F. Morin, “Preparation of carbon nanomaterials from molecular precursors,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, no. 1, pp. 85–98, Jan. 2014.
- [53] T. W. Chou, C. T. Sun, *Nanocomposites*. DEStech Publications, 2012.
- [54] http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/lennard-jonesuv_potencial.html [2.3.2014].
- [55] L. Bergman, J. L. Mc Hale, *Handbook of Luminescent Semiconductor*. Taylor & Francis, 2012.
- [56] B. Valeur, M. N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Wiley, 2013.
- [57] I. Němcová, L. Čermáková, P. Rychlovský, *Spektrometrické Analytické metody I*. Praha: Vydavatelství Karolinum, 1997.

- [58] I. Pelant, J. Valenta, *Luminiscenční Spektroskopie I*. Praha: Nakladatelství Academia, 2006.
- [59] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, 2006.
- [60] F. W. D. Rost, *Fluorescence Microscopy*, no. sv. 2. Cambridge University Press, 1995.
- [61] J. R. Lakowicz, *Topics in Fluorescence Spectroscopy, Volume 2, Principles*. Kluwer Academic Publishers, 2002.
- [62] J. R. Lakowicz, *Topics in Fluorescence Spectroscopy, Volume 1, Techniques*. Kluwer Academic Publishers, 2002.
- [63] K. Cammann, "Sensors and analytical chemistry," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 5, no. 23, p. 5159, 2003.
- [64] H. C. Fischer, W. C. W. Chan, "Nanotoxicity: the growing need for in vivo study.," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 18, no. 6, pp. 565–71, Dec. 2007.
- [65] J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere, N. Monteiro-Riviere, "Variables influencing interactions of untargeted quantum dot nanoparticles with skin cells and identification of biochemical modulators.," *Nano Lett.*, vol. 7, no. 5, pp. 1344–8, May 2007.
- [66] K. Donaldson, P. J. Borm, V. Castranova, M. Gulumian, "The limits of testing particle-mediated oxidative stress in vitro in predicting diverse pathologies; relevance for testing of nanoparticles.," *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 6, p. 13, Jan. 2009.
- [67] M. Mašlaň, H. Bartoňková, K. Kluchová, I. Medřík, R. Zbořil, J. Oborný, "CZ Pat 300445: Negativní kontrastní činidlo," .
- [68] J. Filip, R. Zboril, O. Schneeweiss, J. Zeman, M. Cernik, P. Kvapil, M. Otyepka, "Environmental applications of chemically pure natural ferrihydrite.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 41, no. 12, pp. 4367–74, Jun. 2007.
- [69] R. Zbořil, J. Soukupová, "CZ Pat 303502: Způsob imobilizace nanočástic stříbra na pevné substráty," .
- [70] C. X. Guo, J. Xie, B. Wang, X. Zheng, H. Bin Yang, C. M. Li, "A new class of fluorescent-dots: long luminescent lifetime bio-dots self-assembled from DNA at low temperatures.," *Sci. Rep.*, vol. 3, p. 2957, Jan. 2013.
- [71] S. K. Sahoo, D. Sharma, R. K. Bera, G. Crisponi, J. F. Callan, "Iron(III) selective molecular and supramolecular fluorescent probes.," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 21, pp. 7195–227, Nov. 2012.

- [72] Y.-L. Zhang, L. Wang, H.-C. Zhang, Y. Liu, H.-Y. Wang, Z.-H. Kang, S.-T. Lee, “Graphitic carbon quantum dots as a fluorescent sensing platform for highly efficient detection of Fe³⁺ ions,” *RSC Adv.*, vol. 3, no. 11, p. 3733, 2013.
- [73] A. Zhao, C. Zhao, M. Li, J. Ren, X. Qu, “Ionic liquids as precursors for highly luminescent, surface-different nitrogen-doped carbon dots used for label-free detection of Cu²⁺/Fe³⁺ and cell imaging,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 809, pp. 128–33, Jan. 2014.
- [74] L. Lin, X.-X. Wang, S.-Q. Lin, L.-H. Zhang, C.-Q. Lin, Z.-M. Li, J.-M. Liu, “Research on the spectral properties of luminescent carbon dots,” *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 95, pp. 555–61, Sep. 2012.

8 Seznam obrázků

- Obr. 5:
<http://mrwhite.net/wp-content/uploads/2013/02/6a00d8341bf67c53ef013480a5bd0b970c-800wi.jpg>
[28.3.2014]
- Obr. 6: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/41/C60a.png>
[21.3.2014]
- Obr. 7: <http://www.gaia3d.co.uk/3d-models/3d-chemistry/carbon-nanotube/>
[3.4.2014]
- Obr. 10 převzatý a upravený z:
Vajtai, R. *sprinter Handbook of Nanomaterials*, 2013: Springer
- Obr. 14 převzatý a upravený z:
<http://www.jh-inst.cas.cz/~fluorescence/lectures.html> [2.2.2013]
- Obr. 15 převzatý z:
C. X. Guo, J. Xie, B. Wang, X. Zheng, H. Bin Yang, and C. M. Li, “A new class of fluorescent-dots: long luminescent lifetime bio-dots self-assembled from DNA at low temperatures,” *Sci. Rep.*, vol. 3, p. 2957, Jan. 2013.