

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



**STUDIUM MODIFIKACE NANOČÁSTIC STRÍBRA
FLUORESCENČNÍMI BARVIVY**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor práce:

David Trúsik

Studijní obor:

Chemie

Vedoucí práce:

doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. a veškeré literární prameny a zdroje, které jsem použil při zpracování, jsou uvedeny v seznamu literatury.

V Olomouci dne

.....

David Trúsik

Poděkování

Chtěl bych poděkovat hlavně doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za jeho odborné vedení při vypracování mé bakalářské práce, za cenné rady a poznatky, které mi po celou dobu s velkou obětavostí předával. Rovněž chci poděkovat doc. RNDr. Janu Hrbáčovi, Ph.D. za pomoc při práci s fluorescenčním spektrometrem. Můj dík patří samozřejmě i ostatním pracovníkům Katedry fyzikální chemie PřF v Olomouci.

Také děkuji svým rodičům a své přítelkyni za podporu a toleranci, kterou mi poskytli během mého vysokoškolského studia.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení: David Trúsik

Název práce: Studium modifikace nanočástic stříbra fluorescenčními barvivy

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra fyzikální chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Rok obhajoby práce: 2012

Abstrakt:

Byl studován vliv nanočástic stříbra, připravených modifikovanou Tollensovou metodou, na fluorescenci fluorescenčních barviv Rhodamin B, Akridinová oranž a Fluorescein. Za účelem srovnání byl proveden experiment studující i vliv nanočástic zlata na Rhodamin B. U vzorků obsahující Fluorescein byl rovněž sledován vliv povrchově aktivních látek Tween 20, SDS a Saponin, přičemž tyto sady vzorků byly excitovány zářením o vlnové délce 485 nm. Pro směsi obsahující Rhodamin B nebo Akridinovou oranž byly jako zdroje excitačního záření zvoleny lasery o vlnových délkách 405 nm a 532 nm. Sledováno bylo procentuální zesílení fluorescence při emisních maximech použitých barviv v závislosti na koncentracích barviva a nanočástic ve směsi. Procentuální změna fluorescence byla stanovena ve srovnání s čistým roztokem barviva stejné koncentrace jako vybraný vzorek. Směsi nanočástic stříbra a fluorescenčních barviv vykazovaly zeslabení fluorescence. Zesílení bylo pozorováno pouze v případě směsi nanočástic zlata a Rhodaminu B o koncentraci barviva $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. V tomto případě se projevilo mírné zesílení fluorescence o přibližně 5 % hodnoty čistého fluorescenčního barviva.

Klíčová slova: nanočástice stříbra, nanočástice zlata, Rhodamin B, Akridinová oranž, Fluorescein, zesílení fluorescence, zhášení fluorescence

Počet stran: 60

Počet příloh: 0

Jazyk: čeština

Bibliographical identification

Name and surname: David Trúsik

Thesis title: Study of Silver Nanoparticle Modification using Fluorescence Dyes

Thesis type: Bachelor thesis

Department: Department of Physical Chemistry

Thesis supervisor: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Thesis defense year: 2012

Abstract:

The focus of the present thesis is the influence of silver nanoparticles, prepared using a modified Tollens' method, on the fluorescence of the fluorescent dyes Rhodamine B, Acridine orange and Fluorescein. For comparison purposes, an experiment examining the influence of gold nanoparticles on Rhodamine B was also conducted. In samples containing Fluorescein, the influence of the surfactants Tween 20, SDS and Saponin was also tracked. These sample sets were excited using 485 nm wavelength radiation. For compounds containing Rhodamine B or Acridine orange, the excitation radiation sources were 405 nm and 532 nm wavelength lasers. The author then tracked the increase in fluorescence at emission maximums of the studied dyes in relation to the dye and nanoparticle concentrations in the compound. The change in fluorescence in percent was based on a pure dye solution with the same dye concentration as the studied sample. The compounds containing silver nanoparticles all showed a decrease in fluorescence. In the case of gold nanoparticles and Rhodamine B with a dye concentration of $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³, however, a slight increase in fluorescence was observed, with a value approximately 5 % higher than the pure dye.

Keywords: silver nanoparticles, gold nanoparticles, Rhodamine B, Acridine orange, Fluorescein, fluorescence increase, fluorescence quenching

Page count: 60

Appendix count: 0

Language: Czech

Obsah

1. Úvod	9
2. Teoretická část	10
2.1 Koloidní soustavy	10
2.1.1 Klasifikace koloidních soustav	11
2.1.2 Optické vlastnosti koloidních soustav	12
2.1.2.1 Klasická teorie rozptylu světla	12
2.1.2.2 Flukтуаční teorie rozptylu světla	13
2.1.2.3 Celková intenzita rozptýleného světla	14
2.1.2.4 Tyndallův jev	15
2.1.3 SERS	16
2.1 Luminiscence	17
2.2.1 Luminiscenční látky	17
2.2.2 Druhy luminiscence	18
2.2.3 Vybraná luminiscenční barviva	20
2.2.3.1 Fluorescein sodný	20
2.2.3.2 Rhodamin B	21
2.2.3.3 Fluorexon	21
2.2.3.4 Eosin Y	22
2.2.3.2 Akridinová oranž	22
2.2.4 Fluorescenční spektrometrie	23
2.3 Adsorpce	24
2.3.1 Teorie adsorpčních sil	24
2.3.1.1 Fyzikální adsorpce	24
2.3.1.2 Chemisorpce	25
2.3.2 Adsorpční izotermy	26
2.3.2.1 Freundlichova izoterma	27
2.3.2.2 Langmuirova izoterma	27
2.3.2.3 Izoterma BET	28
2.3.3 Adsorpční vlastnosti nanočástic stříbra	29

3.	Experimentální část	31
3.1	Chemikálie	31
3.2	Přístrojové vybavení.....	31
3.2.1	UV-VIS Spektrofotometr Specord S600 (Analytik Jena).....	31
3.2.2	90Plus Particle Size / Zeta Analyzer (Brookhaven Instruments).....	32
3.2.3	Luminoscan Ascent (Thermolabsystem)	32
3.2.4	Fluorescenční spektrometr (doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph, D.).....	33
3.3	Příprava nanočástic stříbra	34
3.4	Postup při studiu interakce nanočástic stříbra s barvivy	36
3.4.1	Interakce nanočástic stříbra s Fluoresceinem v přítomnosti PAL.....	36
3.4.2	Interakce s Rhodaminem B a Akridinovou oranží	37
3.4.3	Interakce s agregujícími nanočásticemi stříbra	38
3.4.4	Srovnávací měření s použitím nanočástic zlata	39
4.	Výsledky a diskuze	40
4.1	Fluorescence koloidní disperze nanočástic stříbra	40
4.2	Interakce s Fluoresceinem v přítomnosti PAL.....	43
4.2.1	Výsledky měření	43
4.2.2	Diskuze k výsledkům	48
4.3	Interakce nanočástic stříbra s Rhodaminem B	48
4.3.1	Výsledky měření	48
4.3.2	Diskuze k výsledkům	50
4.4	Interakce nanočástic stříbra s Akridinovou oranží.....	50
4.4.1	Výsledky měření	50
4.4.2	Diskuze k výsledkům	52
4.5	Interakce agregujících nanočástic stříbra s Rhodaminem B	52
4.5.1	Výsledky měření	52
4.5.2	Diskuze k výsledkům	54
4.6	Interakce nanočástic zlata s Rhodaminem B.....	54
4.6.1	Výsledky měření	54
4.6.2	Diskuze k výsledkům	56

5. Závěr	57
6. Conclusion	58
7. Literatura	59

1 Úvod

Nanotechnologie je v současnosti prudce se rozvíjející vědní obor, jehož poznatky umožňují výrazné pokroky zejména na poli elektrotechniky, biochemie a mnoha odvětví materiálové chemie. Rostoucí nabídka materiálů s rozměry na úrovni nanometrů umožňuje využít jejich vysoký aplikační potenciál, který zahrnuje nejčastěji optické, katalytické nebo biologické vlastnosti. Jedním z objektů studia nanotechnologie jsou nanočástice stříbra. Jejich pravděpodobně nejznámější vlastností je antibakteriální působení, které jim dává využití v medicínských aplikacích, ale již také v běžné praxi, zejména v oblasti funkčních textilních materiálů.

Významnou vlastností nanočástic stříbra je jejich specifická interakce s elektromagnetickým zářením, která je dána jejich rozměry a také morfologií. Nezářivé přenosy energie absorbovaného elektromagnetického záření mezi nanočásticemi stříbra a na jejich povrchu adsorbovanými látkami jsou využívány v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii, přičemž tato technika umožňuje detekci a studium i jednotlivých molekul. [8] Na základě zkušeností s povrchem zesílenou Ramanovou spektroskopií je studován vliv nanočástic stříbra i na fluorescenční látky. V literatuře publikované experimenty prokázaly, že nanočástice vzácných kovů mohou mít na fluorescenci látek nejen zesilující efekt, ale mohou také vyvolávat jev nazývaný zhášení fluorescence. [35,36,37] Vysvětlení původu jevu povrchem zesílené Ramanovy spektrometrie, stejně jako vysvětlení vlivu nanočástic na fluorescenci fluorescenčních látek je stále předmětem studia, ale jako pravděpodobný se jeví vzájemný vliv povrchového plasmonu a molekuly fluorescenční látky v blízkosti povrchu nanočástice.

Cílem této bakalářské práce je studium vlivu nanočástic stříbra připravených modifikovanou Tollensovou metodou na fluorescenci fluorescenčních barviv. Získané poznatky mohou jednak přispět k objasnění jevu vzájemného působení nanočástic stříbra a fluorescenčních barviv, ale také k rozvoji praktických aplikací jakými mohou být například senzory využívající zesílení fluorescence nanočásticemi stříbra.

2 Teoretická část

2.1 Koloidní soustavy

Označení „koloid“ je již do českého jazyka transformovaná verze slova, které má původ v řeckém „kolla,“ neboli lepidlo. Původně tak byly pojmenovány koloidy polymerů želatinové povahy, s kterými v roce 1860 experimentoval Thomas Graham při studiu osmózy a difuze.

Jako koloidní disperze je obecně nazýván systém submikroskopických částic disperzní fáze rozptýlených v disperzním prostředí (homogenní kontinuum), přičemž mezi těmito existuje fázové rozhraní a poloměr rozptýlených částic je v intervalu 1 nm až 1 μm . Může se tedy jednat například o krev, kouř, mléko apod. Koloidní disperze se od „pravých roztoků“ analytických disperzí, ale také od hrubých disperzí, svými vlastnostmi značně liší. Hlavními faktory určujícími vlastnosti koloidních disperzí je velká plocha povrchu disperzní fáze, zastoupení povrchových molekul nebo atomů v poměru k celkovému počtu molekul nebo atomů a chemické vlastnosti povrchu disperzní fáze.

Na disperzní fázi v systému koloidní disperze působí následující síly: gravitační (snížená o sílu vztlakovou), síla odporu prostředí (daná viskozitou disperzního prostředí a tvarem částic) a kinetická energie tepelného pohybu částic (způsobující Brownův pohyb). Z rovnosti prvních dvou sil lze určit rychlost pohybu částice vlivem gravitačního pole (za předpokladu kulového tvaru částic) [1]:

$$v_s = \frac{2r^2(\rho - \rho_0)g}{9\eta} \quad (1)$$

kde r je poloměr částic disperzní fáze, ρ hustota částic disperzní fáze, ρ_0 hustota disperzního prostředí a η viskozita disperzního prostředí. Průměrnou rychlost při tepelném pohybu částic určuje rovnice [1]:

$$v_t = \sqrt{\frac{2kT}{m}} \quad (2)$$

kde k je Boltzmannova konstanta, T teplota systému a m hmotnost částice. Pokud bude rychlost sedimentace částic nižší než průměrná rychlost jejich tepelného pohybu, potom

se soustava dostane do stavu sedimentační rovnováhy. Vztah pro sedimentační rovnováhu vyjádřený z rovnosti rychlosti difuze a rychlosti sedimentace částic v gravitačním poli [2]:

$$\ln \frac{c_2}{c_1} = \frac{v_i g}{kT} (\rho - \rho_0)(h_1 - h_2) \quad (3)$$

kde v_i je objem sedimentující částice, c_1 a c_2 jsou koncentrace částic ve výškách h_1 a h_2 .

2.1.1 Klasifikace koloidních soustav

V závislosti na zvolených kriteriích je možno koloidní soustavy dělit podle vlastností fázového rozhraní nebo podle toho, v jakých fázích se nachází disperzní fáze a disperzní prostředí.

Jako lyofobní jsou označovány soustavy s ostře vymezeným fázovým rozhráním, které výrazně ovlivňuje jejich vlastnosti. Označení těchto soustav bylo zavedeno Freundlichem a pochází z řeckého lyos (kapalina) a fobo (nenávidím). Nevznikají samovolně, a pokud nejsou dodatečně stabilizovány, tak zanikají. Převážně bývají tvořeny anorganickými látkami.

V případě, kdy je fázové rozhraní nevýrazné nebo rozprostřené do větší šířky, označujeme takové soustavy jako lyofilní. Většinou se jedná o soustavy vysokomolekulárních látek vznikajících samovolným rozpouštěním. Vzhledem k jejich termodynamické stabilitě se označují jako koloidní roztoky. I toto označení bylo zavedeno Freundlichem, přičemž vychází řeckého filo (miluji). Nejčastěji se jedná o hydrofilní koloidní roztoky, tedy soustavy s vodným disperzním prostředím.

Spojováním povrchově aktivních molekul do útvarů koloidních rozměrů v disperzním prostředí vznikají asociativní koloidní soustavy. Částice tvořící v těchto soustavách disperzní fázi se nazývají micely. Neustálá výměna molekul mezi micelami a disperzním prostředím v nich zamezuje vzniku stabilního fázového rozhraní.

Gely jsou zvláštním případem koloidních soustav. Vznikají z lyofilních a některých lyofobních koloidů, ve kterých se částice mohou spojovat, a tak formovat pevné síťové trojrozměrné struktury [2].

Tabulka 1: Klasifikace koloidních soustav dle fázového složení

disperzní prostředí	disperzní fáze	koloidní disperze
plyn	plyn	netvoří
	kapalina	aerosol
	pevná látka	aerosol
kapalina	plyn	pěna
	kapalina	emulze
	pevná látka	lyosol
pevná látka	plyn	tuhá pěna
	kapalina	tuhá emulze
	pevná látka	tuhý sol

2.1.2 Optické vlastnosti koloidních soustav

Jedním z charakteristických rysů koloidních soustav jsou právě jejich optické vlastnosti. Mohou se projevovat jednak absorpcí, při které dochází ke zvýšení vnitřní energie absorbujících částic o energii pohlceného záření, nebo rozptylem, který může být dvojího druhu: elastický (Rayleighův rozptyl) nebo neelastický (Ramanův jev).

V závislosti na vlnové délce a charakteru disperzního systému se v různé míře budou vyskytovat všechny tyto jevy, ale v systémech obsahujících částice koloidních rozměrů bude možné pozorovat především Rayleighův rozptyl [3].

2.1.2.1 Klasická teorie rozptylu světla

Na základě elektromagnetické teorie světla byl roku 1871 Rayleighem popsán rozptyl souborem malých nezávislých molekul. V přítomnosti kmitajícího elektrického pole se molekuly polarizují za vzniku indukovaných oscilujících elektrických dipólů, a tak vzniká periodické elektrické pole šířící se jako vlnění všemi směry. Tímto způsobem vyvolá světelný paprsek v molekule emisi záření o stejné vlnové délce jakou má záření dopadající. Dle Huygensova principu se v homogenním prostředí účinkem interference sekundárních vln šíří světlo pouze ve směru dopadající světelné vlny.

V heterogenním prostředí, obsahujícím disperzní fázi s polarizovatelností odlišnou od částic disperzního prostředí, dochází v jednotlivých složkách soustavy k indukcí různých

dipólových momentů. Emitované záření již není kompenzováno dle Huygensova principu a jeví se jako rozptýlené světlo, jehož intenzita je v různých směrech různá.

Intenzitu světla rozptýleného jednotkou objemu velmi zředěného disperzního prostředí pod úhlem θ udává Rayleighova rovnice [3]:

$$I_{\theta} = I_0 \frac{\pi^2 \alpha^2 v (1 + \cos^2 \theta)}{\varepsilon_0^2 \lambda^4 r^2} \quad (4)$$

kde I_0 je celková intenzita nepolarizovaného dopadajícího záření, v počet částic v jednotce objemu, ε_0 permitivita vakua, λ vlnová délka záření v daném disperzním prostředí, r vzdálenost detektoru od zdroje rozptýleného světla, θ úhel sevřený paprskem dopadajícího a rozptýleného světla a α polarizovatelnost částice.

Moment dipólu indukovaného v částici elektrickým polem o jednotkové intenzitě, tedy polarizovatelnost částice, vyjádřil Rayleigh z Clausiovy-Mossottiovy rovnice ve vztahu [3]:

$$\alpha = 3\varepsilon_0 v \frac{n_1^2 - n_0^2}{n_1^2 + 2n_0^2} \quad (5)$$

kde n_1 je index lomu disperzní fáze, n_0 index lomu disperzního prostředí a v objem částice disperzní fáze.

Tuto teorii lze s přesností aplikovat pouze na velmi zředěné disperzní systémy s malými disperzními částicemi, které jsou přibližně kulovitého tvaru, elektricky nevodivé a s polarizovatelností stejnou ve všech směrech (izotropní) [3].

2.1.2.2 Flukтуаční teorie rozptylu světla

V praxi byl pozorován rozptyl světla i v opticky homogenním prostředí, například u čirých kapalin. Tento jev klasická teorie nedovede vysvětlit. Rozdílné hodnoty indexu lomu v některých místech disperzního prostředí nemusí být způsobeny pouze přítomností disperzních částic. Podle teorie kapalin počet molekul v malém objemovém elementu podléhá v čase fluktuacím, a to má za následek fluktuace v hustotě spojené s fluktuacemi v indexu lomu. Ve velmi zředěných koloidních systémech nedochází k překládání rozptylu jednotlivých částic, ale stačí uvažovat jen rozdíl indexu lomu disperzního podílu a prostředí. V koncentrovanějších systémech dochází k fluktuacím koncentrace disperzních částic v objemových jednotkách, jejichž vlnová délka je menší než vlnová

délka dopadajícího světla. V takovýchto případech je již vliv fluktuací nezanedbatelný a je vyjádřen Einstein-Debyeho rovnicí [3]:

$$I_{\theta} = I_0 \frac{2\pi^2 n_0^2 (1 + \cos^2 \theta) w}{N_A \lambda^4 r^2 \left(\frac{1}{M} + 2Bw + \dots \right)} \left(\frac{dn}{dw} \right)^2 \quad (6)$$

kde n je index lomu disperzní soustavy, n_0 index lomu čistého disperzního prostředí, M molární hmotnost disperzního podílu, w hmotnostní koncentrace a B druhý viriální koeficient (stejný jako u viriálního rozvoje pro vyjádření koncentrační závislosti osmotického tlaku).

Polarizovatelnost byla v Einstein-Debyeho rovnici vyjádřena pomocí změny indexu lomu při změně hmotnostní koncentrace [3]:

$$\alpha = \varepsilon_0 \frac{M}{N_A} \left(\frac{dn}{dw} \right) 2n_0 \quad (7)$$

Systémy, v nichž převládají přitažlivé síly mezi částicemi, jsou charakterizovány zápornými hodnotami druhého viriálního koeficientu. To značí tendenci částic ke shlukování a vytváření vyšších koncentrací v některých objemových elementech, než v jiných. Soustavy se zápornou hodnotou B mají vysoké celkové intenzity rozptýleného světla.

Při převažujícím vlivu odpudivých sil je hodnota B kladná a disperzní částice mají tendenci k rovnoměrnějšímu rozložení v prostoru, což vede ke snížení fluktuací a tím i nižší hodnotě I_{θ} . Velmi zředěné roztoky s malou hodnotou w umožňují zanedbat část viriálního rozvoje Einstein-Debyeho rovnice, který tyto členy obsahuje [3].

2.1.2.3 Celková intenzita rozptýleného světla

Integrací Rayleighovy rovnice vznikne vztah pro intenzitu světla vyzářeného všemi směry objemovou jednotkou malých nezávislých částic (velmi zředěným disperzním systémem) [3]:

$$I_r = I_0 \frac{24\pi^3 v v^2}{\lambda^4} \left(\frac{n_1^2 - n_0^2}{n_1^2 + 2n_0^2} \right)^2 \quad (8)$$

kde I_r je celková energie vyzářená všemi směry, v objem jedné disperzní částice a v počet částic v jednotce objemu.

Vztah pro celkovou intenzitu světla rozptýleného zředěnou (nikoliv velmi zředěnou) disperzní soustavou vznikne integrací Einstein-Debyeho rovnice [3]:

$$I_r = I_0 \frac{32\pi^3}{3N_A\lambda^4} n_0^2 \left(\frac{dn}{dw}\right)^2 \frac{w}{\left(\frac{1}{M} + 2Bw + \dots\right)} \quad (9)$$

V uvedených vztazích je celková intenzita rozptýleného světla nepřímo úměrná čtvrté mocnině jeho vlnové délky. Tím lze vysvětlit některé přírodní jevy, jako je modré zabarvení oblohy nebo vodních ploch, které jsou zapříčiněny právě vyšším rozptylem záření kratších vlnových délek. Ke stejnému jevu dochází při východu nebo západu Slunce, kdy světlo prochází tak tlustou vrstvou atmosféry, že jsou z něj krátké vlnové délky úplně rozptýleny a výsledné světlo je oranžové až červené [3].

2.1.2.4 Tyndallův jev

Rozptyl světla částicemi disperzního prostředí bývá označován jako Tyndallův rozptyl nebo Tyndallův jev. Je pojmenován podle svého objevitele, jímž byl John Tyndall, britský fyzik a chemik devatenáctého století. Tento jev je podobný Rayleighovu rozptylu tím, že intenzita rozptýleného záření je zde rovněž nepřímo úměrná čtvrté mocnině vlnové délky. Běžným příkladem tohoto jevu je viditelnost sloupců světla v atmosféře nebo modravé zabarvení zplodin spalovacích motorů [4].

Základním rozdílem mezi Rayleighovým a Tyndallovým rozptylem je velikost dispergovaných částic, na kterých k rozptylu dochází. Při Rayleighovu rozptylu se předpokládá, že k němu dochází na částicích mnohem menších, než je vlnová délka rozptylovaného světla. Naopak při Tyndallovu rozptylu k tomuto dochází na částicích s rozměry srovnatelnými nebo i většími, než je vlnová délka rozptylovaného světla. Intenzita světla rozptýleného Tyndallovým jevem je mnohem vyšší než u Rayleighova rozptylu, ale na rozdíl od něj nemá Tyndallův jev jednoznačné matematické vyjádření. Jedině za předpokladu kulového tvaru částic disperzní fáze lze Tyndallův jev vyjádřit vztahy Lorentz-Mieho teorie.

Klasická Lorentz-Mieho teorie, která je rovněž označována jako Lorentz-Mieho řešení Maxwellových rovnic, se omezuje na neabsorbující prostředí, ve kterém jsou dispergovány částice kulovitého tvaru. To je jedním z důvodů, proč je tato teorie použita pouze pro popis chování bezbarvých materiálů nebo atmosférických úkazů jako jsou

mračky tvořené kulovými kapičkami vody. Index lomu absorbujícího prostředí je komplexním číslem a v klasické teorii nebylo možné s těmito hodnotami dosáhnout jednoznačných výsledků (V zobecněné formě této teorie řešení možné je) [5].

2.1.3 SERS

Surface enhanced Raman spectroscopy a nebo jinak Surface enhanced Raman scattering, tedy v překladu povrchem zesílená Ramanova spektroskopie či povrchem zesílený Ramanův rozptyl.

Efekt zesílení Ramanova spektra vlivem adsorpce na povrch specifických materiálů byl prvně pozorován při adsorpci pyridinu na chemicky zdrsňený povrch stříbrné elektrody. I přes značné množství nashromážděných experimentálních dat není tento efekt jednoznačně vysvětlen. Jako nejpravděpodobnější jsou v současnosti přijímány dvě teorie, a to teorie plazmonové resonance (elektromagnetická teorie) a teorie aktivních míst kovového povrchu (chemická teorie) [6].

Jako plazmon je označována kvazičástice podélných oscilací elektronového plynu v pevných látkách. V kovech je možné vybudit oscilace plazmonu jako kolektivní excitace plynu vodivostních elektronů na pozadí kationtů krystalové mříže. Interakcí s plazmony vykazují odražené nebo prošlé elektrony a fotony ztráty energie rovné celistvým násobkům energie plazmonu. Vznikem plazmonů dochází k energetickým ztrátám, které se projevují ve formě Ferrelova záření v ultrafialovém nebo vizuálním spektru [7].

Teorie plazmonové resonance souvisí s optickým chováním materiálů obsahujících volné elektrony. Při vystavení elektromagnetickému záření dochází na kovovém povrchu s mikroskopickými nerovnostmi ke vzniku lokalizovaných plazmonů. Pokud je energie dopadajícího fotonu v rezonanci se základním stavem elektronů ve vodivostním pásu kovu, dochází v těchto místech ke vzniku elektrických polí s vysokou intenzitou. Molekuly neadsorbované na kovový povrch v těchto místech pak vykazují zesílený Ramanův efekt.

Teorie aktivních míst je založena na předpokladu specifické interakce mezi kovem a adsorbovanou molekulou. Podstata této interakce je doposud sporná. Jedním z možných vysvětlení jsou procesy přenosu náboje mezi kovem a adsorbovanou molekulou. Tento model předpokládá zesílení Ramanova efektu pouze pro molekuly v těsné blízkosti povrchu kovu, zatímco elektromagnetická teorie předpokládá zesílení efektu i pro molekuly ve vzdálenostech vyšších než 10^{-10} metru [6].

Využití koloidních částic stříbra nebo jeho solů pro tuto metodu závisí na jejich rozměrech a morfologii. Maximální zesílení signálu v SERS bylo dosaženo s částicemi o rozměrech 110 až 120 nm při použití laseru s vlnovou délkou 514,5 nm. Pro vlnové délky laseru v rozmezí 647 až 488 nm je optimální velikost částic mezi 70 a 200 nm [8].

2.2 Luminiscence

Při přechodu elektronů v atomových nebo molekulových orbitalech z excitovaného stavu do stavu s nižší energií může dojít k emisi fotonů. Tento jev nazýváme luminiscence. V závislosti na charakteru základního a excitovaného stavu dělíme luminiscenci na fosforescenci a fluorescenci. Ve stavu elektronového singletu, tzn. že multiplicita je rovna jedné, má elektron nacházející se na energeticky vyšším orbitalu opačný spin vůči elektronu v orbitalu nižším. Ve stavu elektronového tripletu, tzn. že multiplicita je rovna třem, mají tyto elektrony stejný spin. Nedojde-li při návratu elektronu z excitovaného stavu do základního ke změně multiplicity, nazýváme následnou emisi záření fluorescencí. Energetické přechody, kdy nedochází ke změně multiplicity, jsou kvantově „povolené“ a proto je doba trvání fluorescence přibližně 10^{-8} sekund. Naopak fosforescence je emise záření, při níž elektron při návratu do základního stavu mění svůj spin. Takovéto typy přechodů jsou kvantově „zakázané“, tudíž i málo pravděpodobné, což se projevuje dlouhým trváním fosforescence ve srovnání s fluorescencí, a to v měřítku milisekund nebo celých sekund [9].

2.2.1 Luminiscenční látky

Luminofory neboli luminiscenční látky jsou nositeli luminiscenčních procesů, při kterých je excitační energie přeměněna v energii záření. Tyto látky obsahují luminiscenční centra schopná absorbovat excitační energii a následně ji uvolnit ve formě záření. Podle struktury luminiscenčních center dělíme luminofory na krystalofosfory a látky s diskretními centry.

Krystalofosfory jsou schopny luminiscence vlivem poruch ve své krystalické struktuře nebo díky příměsím jiných látek. Většinou se jedná o anorganické sloučeniny v krystalickém stavu. Doznívání luminiscence krystalofosforů bývá nejčastěji hyperbolického typu [10]:

$$B = B_0 \frac{1}{(1 + \alpha t)^a} \quad (10)$$

kde B je okamžitá intenzita luminiscence v čase t , B_0 luminiscence v čase $t = 0$, a a α jsou konstanty charakterizující doznívání fluorescence.

Luminiscenční látky s diskrétními centry jsou většinou látky organické, u nichž je luminiscence spojena se strukturou elektronových orbitalů určité molekuly nebo její části. Luminofory tohoto typu mohou projevovat luminiscenci i v roztoku. Na rozdíl od krystalofosforů je jejich doznívání nejčastěji exponenciálního charakteru [10]:

$$B = B_0 \exp\left\{-\frac{t}{\tau}\right\} \quad (11)$$

kde τ je časová konstanta, která zde stanovuje dobu nutnou k poklesu jasů na $\frac{1}{e}$, tj. na 36%.

2.2.2 Druhy luminiscence

Podle toho, jaký typ energie je využit k excitaci elektronů, je následná luminiscence rozdělována na několik typů.

Tabulka 2: Rozdělení luminiscence podle typu excitační energie

Druh luminiscence	Excitační energie
fotoluminiscence	UV nebo krátkovlnné viditelné záření
radioluminiscence	vysokoenergetické částice Roentgenova záření
katodoluminiscence	rychlé elektrony
sonoluminiscence	akustické kmity
chemiluminiscence	exotermní chemická reakce
bioluminiscence	biochemická reakce v živých organismech
triboluminiscence	plastické deformace pevných látek
elektroluminiscence	elektrické pole krystalu
termoluminiscence	tepelná energie (po ozáření)
galvanoluminiscence	elektrický proud nebo elektrochemické reakce
kandoluminiscence	tepelná energie (vysoká teplota)

Termoluminiscence vzniká, je-li luminofor excitován za tak nízké teploty, že elektrony zachycené v záchytných centrech z nich nemohou uniknout. Následovným zvyšováním teploty se „zamrzlé“ elektrony začnou ze záchytných center uvolňovat a při rekombinaci s ionizovanými aktivátory dochází k emisi světla. Tento jev je využíván k určení stáří archeologických nálezů keramiky, jelikož energii zachycenou krystalickou mřížkou materiálu ve formě ionizujícího záření lze touto metodou uvolnit a z jejího množství určit stáří nálezu. Stejný princip je využíván při určování doby, která uplynula od posledního ohřátí geologických materiálů [10, 11].

Triboluminiscence je definována jako emise světla vlivem deformace materiálu. Samotný princip triboluminiscence je předmětem výzkumu, který je ale komplikován nereprodukovatelností změn vznikajících v krystalech při mechanickém působení. Podle posledních poznatků nemá tento druh luminiscence jednotný základ, ale jedná se o několik různých mechanismů jako například: luminiscence volných radikálů, luminiscence komplexních sloučenin, krystalová fluorescence a fosforescence, luminiscence dusíku a dalších plynů [10, 12].

Sonoluminiscence je dalším intenzivně studovaným jevem, jehož princip ještě nebyl zcela objasněn. Současné teorie popisující tuto formu luminiscence se dělí do dvou základních skupin, kterými jsou tepelné a elektrické teorie. Elektrické teorie vysvětlují sonoluminiscenci pomocí jevů vznikajících vlivem růstu kavitačních bublin, ztrátou jejich kulového tvaru, rostoucími deformacemi a dělením těchto bublin na elektrickou dvojvrstvu rozhraní vnitřní části bublin a okolní kapaliny [13]. Existuje několik tepelných teorií sonoluminiscence. Teorie „horkých bodů“ předpokládá adiabatický kolaps kavitačních bublin, při kterém teplota uvnitř bublin dosahuje až 10^4 K. Luminiscence při těchto teplotách by podle teorie měla mít charakter záření absolutně černého tělesa, ale ve spektru sonoluminiscence se objevují čárové složky, které tomuto neodpovídají [14].

Chemiluminiscence je podle reakčního mechanismu rozdělována na tzv. přímou a nepřímou. V případě přímé chemiluminiscence dochází k reakci dvou reaktantů, které jsou nejčastěji tvořeny oxidačním činidlem a oxidovaným substrátem. Produkt je tvořen molekulami, jejichž část nebo chemická skupina vzniká v excitovaném stavu. Tento produkt následně přechází do stavu základního, což je doprovázeno emisí záření. Nepřímá chemiluminiscence je založena na přenosu energie z excitovaných částic na luminofor, který se následně stává zdrojem luminiscence. V obou případech je pro emisi světla nutné splnit následující požadavky: reakce musí být exotermická, reakční mechanismus musí

vést ke vzniku excitovaného stavu, přechod z excitovaného do základního stavu musí být uskutečněn emisí fotonů (vyloučení nezářivých přechodů). Nejznámější přímou chemiluminiscenční reakcí je oxidace luminolu v zásaditém prostředí za vzniku excitovaného 3-aminofthalátu. Tato reakce je katalizována ionty některých kovů, komplexy železa a ferrokyanidy. To umožnilo využití luminolu např. v kriminalistice k detekci nepostřehnutelných stop krve [15].

Fotoluminiscence vzniká, je-li excitační energie předána elektronu prostřednictvím kvanta elektromagnetického záření. Jednotlivé luminiscenční látky se liší energetickým uspořádáním svých molekulových orbitalů, a proto i elektrony umožňující vznik luminiscence budou ke své excitaci potřebovat různé energie. Energie elektromagnetického záření je dána součinem jeho frekvence a Planckovy konstanty, takže frekvence umožňující maximální excitaci elektronů dané látky bude pro každý luminofor charakteristická. Charakteristickým jevem fotoluminiscence je Stokesův posuv, tzn. posun emisního maxima od absorpčního směrem k delším vlnovým délkám. Za určitých okolností může docházet i k anti-Stokesovu posuvu, kdy jsou emisní vlnové délky kratší než absorpční, a to např. vlivem zvýšení energie excitovaných elektronů o část tepelné energie krystalické mřížky luminoforu.

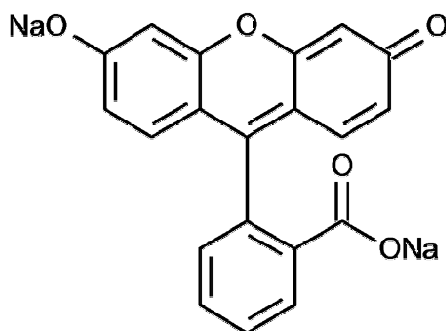
2.2.3 Vybraná luminiscenční barviva

Luminiscenčních barviv existuje celá řada. Na základě předpokladu interakce volných elektronových párů chemických skupin obsahujících dusík a kyslík s koloidními částicemi stříbra byla vybrána čtyři fluorescenční barviva, z nichž jsou všechna dobře teoreticky popsána a rozsáhle využívána jak k vědeckým, tak i praktickým účelům.

2.2.3.1 Fluorescein sodný

Jedním z nejznámějších fluorescenčních barviv je právě Fluorescein sodný. Projevuje velice silnou fluorescenci, díky čemuž byl jedním z prvních barviv tohoto typu, na kterém byly luminiscenční vlastnosti pozorovány. Jeho absorpční i emisní spektrum je relativně stabilní v širokém intervalu pH (3-13), přičemž hodnoty vlnových délek absorpčních a emisních maxim vodných roztoků jsou přibližně 490 a 520 nm. V závislosti na pH je fluorescein sodný v roztoku přítomen jako kation (pH<0), neutrální molekula (pH ~3,3), anion (pH ~5,5) a dianion (pH>10) [16]. Jeho vodné roztoky mají výraznou zelenou barvu

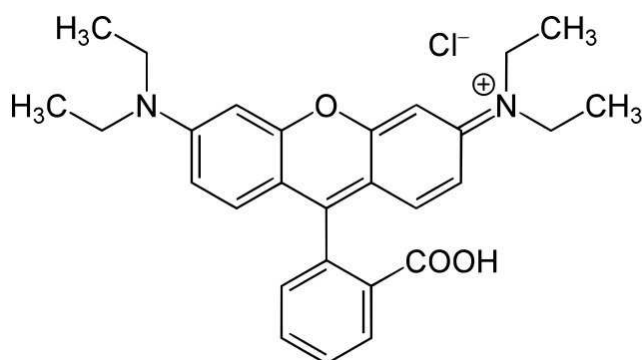
(oranžovou v průsvitu), a proto je využíván jako značkovací barvivo např. do nemrznoucích směsí. Nevýhodou je rychlý rozklad působením slunečního záření, které je schopno po třech hodinách rozložit až 50 % přítomného Fluoresceinu sodného [17].



Obrázek 1: Fluorescein sodný

2.2.3.2 Rhodamin B

Stejně jako Fluorescein sodný, je i Rhodamin B díky výrazné fluorescenci rozsáhle používaným značkovacím barvivem. Tvoří krystalický prášek s výrazným zeleným leskem, v roztoku modře fluoreskuje (roztoky jsou v průsvitu červené). Vodné roztoky mají absorpční maximum 550 nm a emisní maximum 610 nm. Zajímavostí tohoto barviva je odklon od Lambert-Beerova zákona a to i při velmi nízkých koncentracích roztoku [18].

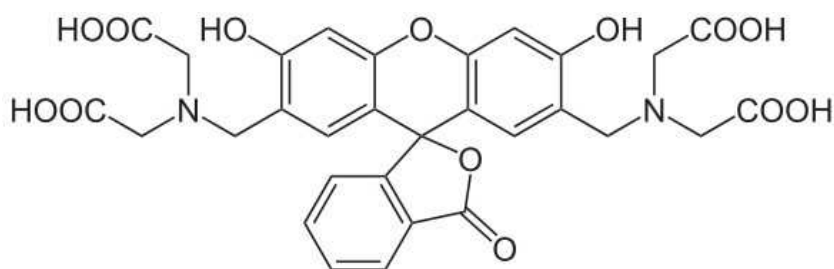


Obrázek 2: Rhodamin B

2.2.3.3 Fluorexon

Fluorexon lze použít jako indikátor při komplexometrických titracích vápenatých a hořečnatých iontů, což pravděpodobně souvisí s jeho dalším užívaným názvem Calcein.

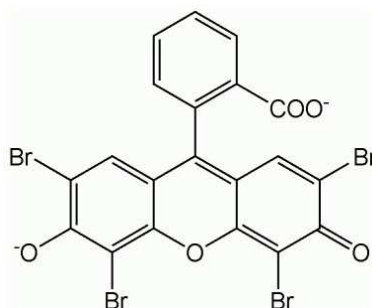
Existuje několik derivátů s biochemickým využitím, mezi nimi například Calcein AM (acetoxymethyl ester), který bývá používán k určení schopnosti buněk přežít v daném pokusném prostředí nebo k jednoduchému značkování buněk [19]. Díky nízké toxicitě a nižší rozpustnosti v tucích ve srovnání s Fluoresceinem, může být Fluorexon využit při pokusném značkování krve živočichů. Jeho absorpční a emisní maxima jsou 495 nm a 515 nm [20].



Obrázek 3: Fluorexon

2.2.3.4 Eosin Y

Působením bromu na fluorescein vzniká Eosin, přičemž v případě Eosinu Y se jedná o tetrabromo derivát. Absorpční a emisní maxima vodných roztoků jsou 525 nm a 543 nm [21].

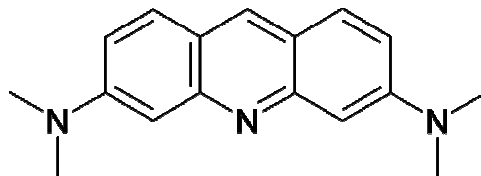


Obrázek 4: Eosin Y

2.2.3.5 Akridinová oranž

Využívanou vlastností tohoto barviva je schopnost vázat se na nukleové kyseliny bakterií. Při nízkých hodnotách pH (3,5) Akridinová oranž zbarvuje lidské buňky zeleně, ale bakteriální organismy jasně oranžově, což umožňuje rychlejší skenování vzorků při nižších hodnotách zvětšení, než při použití techniky Gramova barvení. Jasně oranžové

organismy jsou proti černému nebo bledě zelenému pozadí snadno rozpoznatelné [22]. Absorbční a emisní maxima vodných roztoků jsou 502 a 526 nm [21].



Obrázek 5: Akridinová oranž

2.2.4 Fluorescenční spektrometrie

Tato analytická disciplína nachází uplatnění v rozsáhlých oblastech chemického a biologického výzkumu. Naměřené údaje mohou poskytovat informace o širokém spektru molekulárních procesů, například o interakci rozpouštědla s molekulami luminiscenční látky, buněčných procesech, charakteru aktivních míst biomolekul, změnách konformace, vazebných interakcích, apod. Pokrok této technologie snižuje náklady i náročnost dříve velice komplexních metod.

K měření fluorescenčních spekter jsou využívány fluorescenční fotometry nebo spektrofotometry. Podstata funkce obou přístrojů je totožná: excitace vzorku a odečet emisního spektra, přičemž je různými metodami zamezeno ovlivnění emisního spektra excitačním zářením. Fluorescenční fotometry používají k vymezení vlnové délky filtrů a ve fluorescenčních spektrofotometrech jsou k tomuto účelu použity mřížkové monochromátory.

Zdrojem excitačního záření mohou být výbojky (nejčastěji xenonová nebo rtuťová) nebo lasery. Záření laseru obsahuje pouze velice úzký interval vlnových délek, což umožňuje konstrukční uspořádání bez excitačního filtru nebo monochromátoru. Nevýhodou je neměnitelnost vlnové délky laseru. Naproti tomu xenonová výbojka poskytuje spojité spektrum, ze kterého lze selektovat vlnové délky, ale v současnosti žádný systém excitačních filtrů nebo monochromátoru není schopen vymezit tak úzký interval vlnových délek, který by byl srovnatelný s lasery. Jako na jistý mezistupeň mezi zmíněnými zdroji záření lze pohlížet na rtuťovou výbojku s čárovým spektrem.

Paprsek emisního záření je většinou zaznamenáván z 90° úhlu vzhledem k paprsku excitačního záření. Toto uspořádání zabraňuje přístupu excitačnímu záření k detektoru emisního záření. V případě použití „hranových“ filtrů je možné i uspořádání lineární.

Lépe vybavené fluorescenční spektrometry umožňují záznam jak excitačního, tak i emisního spektra. Emisní spektrum je závislost intenzity záření na jeho vlnové délce při excitaci vzorku zářením zvolené vlnové délky. Excitační spektrum ukazuje závislost intenzity emisního záření jediné vlnové délky na vlnové délce excitačního záření [9, 23].

2.3 Adsorpce

Jako adsorpce je označován jev, při kterém dochází k přenosu látky z objemové fáze do povrchové fáze adsorbentu nebo naopak. Při tomto ději povrchová fáze adsorbentu leží na rozhraní dvou chemicky, fyzikálně nebo strukturně odlišných fází a většinou má omezenou tloušťku s minimem jediné vrstvy atomů nebo molekul tvořících adsorbent, ale může se také rozkládat stovky nanometrů od fázového rozhraní v závislosti na molekulárních a elektrostatických interakcích [24]. Nejznámější modely fázových rozhraní byly navrženy Gibbsem a Guggenheimem.

Podle Gibbse jsou objemové fáze oddělené matematickou plochou, rovnoběžnou s fázovým rozhraním, jejíž poloha je uvnitř nehomogenní přechodové oblasti libovolná. Obě objemové fáze mají až k této dělící ploše své složení konstantní. Nejčastěji se tato plocha umísťuje tak, aby přebytek nejméně se adsorbující složky ve fázovém rozhraní byl nulový.

Guggenheim považuje fázové rozhraní za samostatnou fázi ohraničenou dvěma rovnoběžnými plochami umístěnými tak, aby objemové fáze byly homogenní až k těmto plochám. Nehomogenity ve složení jsou takto omezeny pouze na tuto mezifázovou vrstvu [3].

2.3.1 Teorie adsorpčních sil

Podle charakteru vazby mezi adsorbentem a adsorbovanou látkou, rozlišujeme adsorpci fyzikální, která je slabá a probíhá vratně; a adsorpci chemickou, která je silná a může být vratná i nevratná.

2.3.1.1 Fyzikální adsorpce

Tytěž síly, které jsou příčinou neideálního chování plynu a soudržnosti molekul v kapalinách, umožňují vznik fyzikální adsorpce. Souhrnně jsou nazývány Van der Waalsovými silami a mají původ v okamžitých odchylnkách elektronového oblaku

molekul a atomů od své symetrie. Když se těžiště kladného a záporného náboje v molekule nekryje, dochází ke vzniku dipólu. Tento časově proměnný dipól lze popsat jako harmonický oscilátor. Energie dvou takovýchto oscilátorů je nejnižší, když je časová změna jejich dipólového momentu ve fázi. Vznikají tak na krátkou vzdálenost působící přitažlivé síly, které nazýváme silami disperzními nebo Londonovými.

Mezi atomy nebo molekulami v této oblasti působí i síly odpudivé. Jejich vysvětlení a závislost na vzdálenosti vychází z kvantově mechanické poruchové teorie. Předpokladem praktických výpočtů je nezávislé působení odpudivých i přitažlivých sil, takže celková potenciální energie je jejich součtem. Výsledkem tohoto součtu je typický průběh s minimem v rovnovážné vzdálenosti, prudce rostoucí hodnotou potenciální energie směrem k menším vzdálenostem a plynule rostoucí směrem ke vzdálenostem vyšším.

Představa o vzniku časově proměnných dipólů se zdá být nevyhovující pro adsorpci nepolární molekuly na kovový nepolární adsorbent. V kovech se volně pohybují vodivostní elektrony, které nepříslušejí konkrétním jádrům. Pro potenciální energii přitažlivých sil mezi kovem a adsorbující se molekulou vypracoval John Lennard-Jones teorii předpokládající, že elektronový plyn bude formovat zrcadlové dipóly fluktuujícího dipólu adsorbované molekuly. Interakcí dipólu a jeho obrazu v rovnovážné vzdálenosti dochází ke snížení celkové potenciální energie. Při dalším zdokonalování této teorie bylo poukázáno například na nedostatečnou rychlost ve formování zrcadlového obrazu.

Při adsorpci klesá potenciální energie molekuly na hodnotu rovnovážného minima a tato energie je uvolněna ve formě adsorpčního tepla. Hodnota adsorpčního tepla se od poklesu potenciální energie liší o příspěvek způsobený změnou v počtu stupňů volnosti, která provází přechod z volného do adsorbovaného stavu. Mezi fyzikálně adsorbovanými molekulami se mohou projevit vzájemné přitažlivé síly nebo orientační efekt, při kterém vzniká dvojvrstva paralelně orientovaných dipólů. Tyto efekty vysvětlují existenci maxim na křivkách závislosti adsorpčních tepel na rozsahu adsorpce [25].

2.3.1.2 Chemisorpce

Na rozdíl od fyzikální adsorpce zde dochází ke vzniku chemických vazeb, které jsou mnohem silnější než Van der Waalsovy interakce a působí na kratší vzdálenost od povrchu adsorbentu. Chemisorpční interakce jsou specifitější než slabé Van der Waalsovy interakce. Záleží zde na chemické povaze adsorbentu a adsorbované látky, charakteru povrchu i vazebných místech.

2.3.2.1 Freundlichova izoterma

Byla odvozena z experimentálních dat, jejichž průběh tvarem často připomíná parabolu a ze znalosti chování v mezních podmínkách, kdy při nízkých tlacích je adsorpce tlaku přímo úměrná, ale při vysokých tlacích je na tlaku nezávislá. Freundlichova izoterma je nejstarším a nejjednodušším vyjádřením závislosti adsorbovaného množství na rovnovážném tlaku za konstantní teploty [3]:

$$a = kp^{1/n} \quad (13)$$

kde k je konstanta úměrnosti (její hodnota klesá s teplotou) a n proměnná s hodnotou vždy větší než jedna, ale s rostoucí teplotou se jedné blíží.

2.3.2.2 Langmuirova izoterma

Zakládá se na následujících předpokladech: pravděpodobnost adsorpce je stejná na všech místech povrchu, adsorbované částice se navzájem neovlivňují a tvoří na adsorbentu pouze jednu vrstvu.

Z předpokladu vzniku jediné vrstvy vychází představa o rychlosti, kterou se molekuly zachycují na povrchu adsorbentu. Ta je v tomto případě úměrná podílu volného povrchu a počtu nárazů molekul z plynné fáze na jednotku povrchu, který je podle kinetické teorie ideálního plynu úměrný jeho tlaku. Vedle adsorpce dochází rovněž k desorpci molekul zachycených na povrchu a její rychlost je úměrná obsazení povrchu a podílu molekul, jejichž kinetická energie je větší než adsorpční teplo. Po ustanovení adsorpční rovnováhy je rychlost adsorpce rovna rychlosti desorpce podle vztahu [3]:

$$k_{ads}(1 - \theta)p = k_{des}\theta \quad (14)$$

kde θ je podíl obsazeného povrchu, $(1-\theta)$ podíl volného povrchu, p tlak adsorbujícího se plynu, k_{ads} a k_{des} jsou konstanty úměrnosti adsorpce a desorpce.

Ze vztahu pro adsorpční rovnováhu lze Langmuirovu izotermu vyjádřit následovně [3]:

$$a = a_m \frac{bp}{1 + bp} \quad (15)$$

kde b je poměr konstant adsorpce a desorpce, a množství adsorbovaného plynu, a_m maximální množství adsorbovaného plynu ($a/a_m = \theta$). a_m definuje limitu odvoditelnou ze

vztahu pro Langmuirovu izotermu, kde se při velmi vysokých tlacích hodnota zlomku blíží jedné.

Protože se při chemisorpci vytváří na povrchu adsorbentu rovněž pouze jedna vrstva molekul, je Langmuirův vztah vhodný pro její popis. Odchytky mohou být způsobeny vzájemným ovlivňováním adsorbovaných molekul a nestejnorodostmi na povrchu adsorbentu. Pokud se při fyzikální adsorpci nepředpokládá vznik více vrstev molekul, lze Langmuirův vztah využít i k popisu tohoto děje [3].

2.3.2.3 Izoterma BET

Při adsorpci plynu za teploty nižší, než je jeho kritická teplota, může tento na adsorbentu tvořit více adsorbovaných vrstev. Prvně vzniklá monomolekulární vrstva vytváří vlivem adsorbentu silnější pole mezimolekulárních sil, než je mezi molekulami v plynné fázi, a to umožňuje vznik vyšších adsorbovaných vrstev za nižších tlaků než je tlak nasycené páry. Brunauer, Emmet a Teller odvodili vztah známý jako izoterma BET pro popis vícevrstvé adsorpce na rovinných površích podobným způsobem jako Langmuir. Maximální množství adsorbovaného plynu zde ztrácí význam limity izotermy, ale označuje pouze maximální adsorbované množství v jedné vrstvě pro jednotkovou hmotnost adsorbentu. Vztah pro izotermu BET je vyjádřen následovně [3]:

$$a = a_m \frac{C p_{rel}}{(1 - p_{rel})[1 + (C - 1)p_{rel}]}$$
(16)

kde p_{rel} označuje relativní tlak, který je poměrem rovnovážného tlaku a tlaku nasycené páry adsorbátu při dané teplotě. Konstanta C je dána vztahem [3]:

$$C = \exp\left(-\frac{Q_{ads} - Q_{kond}}{RT}\right)$$
(17)

kde Q_{ads} je adsorpční teplo a Q_{kond} kondenzační teplo.

Vypočtené hodnoty se od experimentálních liší při vyšších relativních tlacích, kdy se na povrch adsorbentu podle teorie váže již příliš mnoho molekul. V případě porézních adsorbentů může vznikat pouze omezený počet vrstev daný velikostí pórů. Původní předpoklad neomezeného počtu vrstev je upraven v rovnici BET izotermy pro omezený počet vrstev [3]:

$$a = a_m \frac{C p_{rel}}{(1 - p_{rel})} \frac{1 - (x + 1)p_{rel}^x + x p_{rel}^{x+1}}{1 + (C - 1)p_{rel} - C p_{rel}^{x+1}} \quad (18)$$

kde x udává celkový počet vrstev. Pro případ jediné vrstvy přechází tato rovnice na Langmuirovu izotermu a v případě teoreticky nekonečného počtu vrstev se stává rovnicí pro klasickou BET izotermu.

Vícevrstvou bývá v praxi adsorpce fyzikální, a proto se izoterma BET používá k jejímu popisu. Zpracování experimentálních dat pomocí izotermy BET je standardní metodou pro výpočet plochy povrchů pevných adsorbentů [3].

2.3.3 Adsorpční vlastnosti nanočástic stříbra

Vysoké hodnoty povrchové energie spolu s koordinační nenasyceností atomů povrchové vrstvy jsou důležitými faktory v chemisorpci na povrch nanočástic. K negativně nabitému povrchu nanočástic stříbra budou elektrostaticky přitahovány kationty přítomné v roztoku. V případě anorganických kationtů přechodných kovů se dá předpokládat náchylnost k tvorbě komplexů a spolu s podobností struktury elektronových orbitalů s ionty stříbra budou tyto faktory přispívat ke vzniku chemisorpční vazby s nanočásticemi stříbra. Přechodné kovy s malými atomovými poloměry mohou dokonce vytěšňovat atomy stříbra z povrchu krystalové mřížky nanočástic.

Při experimentálních měřeních bylo zjištěno, že nanočástice stříbra s původním absorpčním maximem 395 nm vykazují modrý posuv v absorpčním spektru při adsorpci kationtů přechodných kovů jako je olovo nebo indium. Na základě Mieho teorie se předpokládá přenos elektronů adsorbovaného přechodného kovu na částice stříbra, přičemž dochází ke zvýšení elektronové hustoty na povrchu nanočástic, a tím i k modrému posuvu absorpčního spektra.

Adsorpcí nukleofilních aniontů, jako například thiolových skupin, docházelo v absorpčním spektru k červenému posuvu a v případě aniontů uhličitánových, jodidových, hydroxylových a thiokyanatových se dokonce objevuje druhé absorpční maximum vlnové délky 510 nm. V tomto případě se předpokládá, že odpudivé síly mezi nukleofilními anionty a záporně nabitým povrchem nanočástic způsobily snížení povrchové elektronové hustoty, a tím i červený posuv absorpčního spektra spolu se vznikem druhého absorpčního maxima. Největší zaznamenaný pokles elektronové hustoty

činil 10% a tomu odpovídal červený posuv původního absorpčního maxima na 420 nm [27].

Vlnovou délku absorpčního maxima lze vyjádřit z upravené Mieho rovnice [27]:

$$\lambda_{max}^2 = (\varepsilon^\infty + 2n_0^2) \frac{4\pi^2 c^2 m \varepsilon_0}{N e^2} \quad (19)$$

kde ε^∞ je vysokofrekvenční dielektrická konstanta stříbra, n_0 index lomu rozpouštědla, ε_0 permitivita vakua, e náboj elektronu a N elektronová hustota. Z tohoto vztahu je zřejmé prodlužování vlnové délky absorpčního maxima s poklesem elektronové hustoty, přičemž tento pokles je limitován redoxním potenciálem stříbra.

Kovy alkalických zemin mají na rozdíl od přechodných kovů nižší náchylnost k tvorbě komplexních sloučenin a také nižší polarizovatelnost. Při interakci zůstávají pouze v difuzní vrstvě a mají slabý účinek na povrchové vlastnosti nanočástic. Při přidavku vodného roztoku kationtů kovů alkalických zemin dochází pouze ke snížení hodnot absorpce v maximu, ale nedochází k modrému ani červenému posuvu [27].

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

K přípravě nanočástic stříbra a studiu jejich interakce s fluorescenčními barvivy byly použity chemikálie uvedené v následující tabulce. Zásobní roztoky byly na stanovené koncentrace ředěny demineralizovanou vodou (demineralizátor Aqual29) a kvjeta použitá při fluorescenční spektrometrii byla mezi jednotlivými měřeními čištěna toluenem.

Tabulka 3: Přehled použitých chemikálií

Název	M.r.	Výrobce	Čistota
amoniak (26% vodný roztok)	-	mikroCHEM	p.a.
D (+) maltóza monohydrát	360,31	Sigma-Aldrich	p.a.
hydroxid sodný	40,00	Lach-Ner	p.a.
dusičnan stříbrný	167,87	TAMDA	p.a.
Fluorescein sodný	376,27	Merck	p.a.
Rhodamin B	479,02	Merck	p.a.
Fluorexon	622,55	Merck	p.a.
Eosin Y	691,86	Merck	p.a.
Akridinová oranž hydrochlorid	301,82	Lachema	p.a.
Tween 20	1227,54	Merck	p.a.
SDS (sodium dodecyl sulfate)	288,40	Merck	p.a.
Saponin white pure	-	Merck	p.a.
chlorid sodný	58,44	Sigma-Aldrich	p.a.

3.2 Přístrojové vybavení

3.2.1 UV-VIS Spektrofotometr Specord S600 (Analytik Jena)

K ověření charakteristického absorpčního spektra nanočástic stříbra byl používán spektrofotometr Specord S600 společnosti Analytik Jena. Jedná se o jednopaprskový spektrofotometr s mřížkovým monochromátorem, který k detekci využívá diodové pole, přičemž rozsah detekovaných vlnových délek je 190 nm až 1100 nm [28].



Obrázek 6: UV-VIS Spektrofotometr Specord S600 [28]

3.2.2 90Plus Particle Size / Zeta Analyzer (Brookhaven Instruments)

Na tomto přístroji byla měřena velikost a polydisperzita nanočástic stříbra metodou dynamického rozptylu světla. Velikostní rozsah detekovaných částic je pro tento přístroj uváděn v rozmezí 2 nm až 2 μm . Jak je patrné z názvu, lze na tomto přístroji měřit i zeta potenciál [29].



Obrázek 7: 90Plus Particle Size / Zeta Analyzer [29]

3.2.3 Luminoscan Ascent (Thermolabsystem)

Fluorescenční spektrometr společnosti Thermolabsystem byl použit k měření vzorků obsahujících Fluorescein a povrchově aktivní látky. Jedná se o přístroj používající vzorkové desky s maximálním počtem 384 vzorkových dutinek. Monochromátor analyzuje záření vlnových délek v rozsahu 270 nm až 670 nm. K dodatečným funkcím

patří vibrační promíchávání a možnost použití trojice dávkovacích systémů k přidávání reagentů nebo složek do směsi přímo během měření [30].

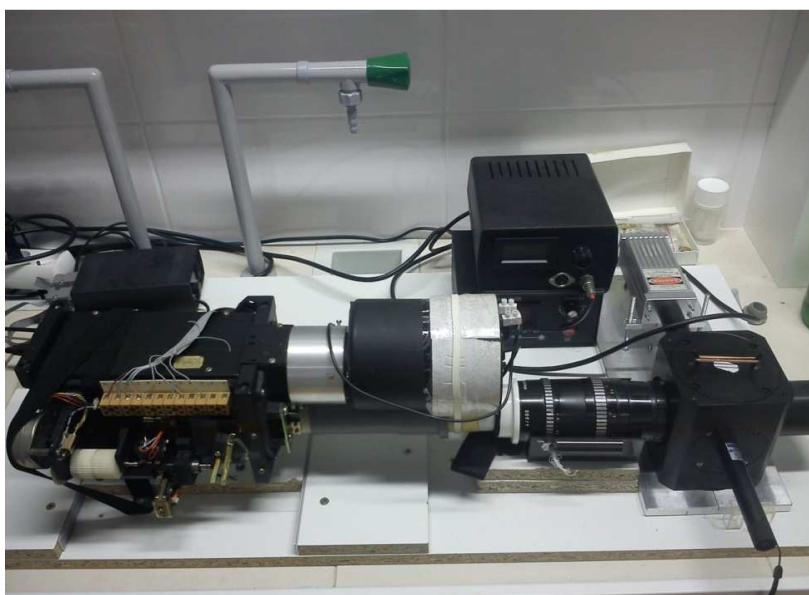


Obrázek 8: Luminoskan Ascent [30]

3.2.4 Fluorescenční spektrometr (doc. RNDr. Jan Hrbáč, Ph. D.)

Nejvyšší počet měření byl uskutečněn na fluorescenčním spektrometru, který sestavil docent Jan Hrbáč. Fotonásobič a monochromátor pochází ze spektrometru SP 8-100 společnosti Philips, přičemž monochromátor do požadovaného úhlu nastavuje krokový motor ovládaný přes sériový port pomocí obvodu ULN2803. Ovládací program je napsán v systému Labview 7.0 a autorem je rovněž docent Hrbáč. Jako zdroj excitačního záření byl použit laser RLTMGL-532-100 společnosti Roithner LaserTechnik o vlnové délce 532 nm a výkonu 100 mW. Dalším použitým zdrojem excitačního záření bylo laserové ukazovátko s optikou umožňující ostření společnosti Hit-Electronic o vlnové délce 405 nm a výkonu 200 mW.

Na obrázku 9 jsou vidět jednotlivé komponenty spektrometru. Vpravo dole je kyvetový prostor, do kterého je z přední strany zavedeno 405nm laserové ukazovátko a z opačné strany 532 nm laser. Vlevo od 532 nm laseru je jeho 100 mW regulovatelný zdroj a na něm je umístěn zdroj fotonásobiče. V levé dolní části obrázku se nachází monochromátor, na kterém je vidět krokový motor ovládající mřížku. Za monochromátorem je ovládací prvek krokového motoru s obvodem ULN2803. Přibližně uprostřed obrázku, nad dráhou paprsku emitovaného záření, je umístěn fotonásobič.



Obrázek 9: Sestava fluorescenčního spektrometru

3.3 Příprava nanočástic stříbra

Nanočástice stříbra byly připraveny Tollensovou metodou, tedy redukcí komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ maltózou v zásaditém prostředí [31].

Před přípravou jednoho litru zásobního roztoku disperze nanočástic stříbra byla provedena zkušební reakce se stejnými koncentracemi složek v reakčním systému. Do 50 ml vysoké kádinky bylo za intenzivního míchání přidáno v tomto pořadí 5 ml dusičnanu stříbrného o koncentraci 5 mmol/dm^3 , dále 1,25 ml roztoku amoniaku o koncentraci 100 mmol/dm^3 , 12,75 ml destilované vody, 1 ml hydroxidu sodného o koncentraci 240 mmol/dm^3 a reakce byla zahájena přidávkem 5 ml roztoku maltózy o koncentraci 50 mmol/dm^3 . Celkový objem této reakční směsi byl 25 ml a výsledné koncentrace jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Koncentrace výchozích látek v reakční směsi

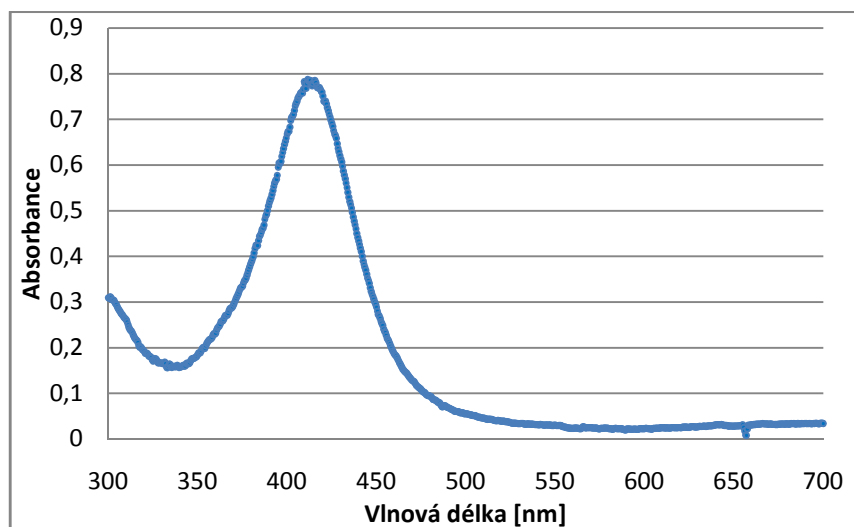
reaktant	koncentrace [mmol/dm ³]
AgNO ₃	1
NH ₃	5
NaOH	9,6
maltóza	10

Přibližně během jedné minuty původně čirý reakční systém získal měděné zbarvení. Po deseti minutách byl z reakční směsi odebrán vzorek, u kterého bylo při desetinásobném zředění měřeno absorpční spektrum, velikost částic a polydisperzita systému. Zkušební koloid stříbra odpovídal svými vlastnostmi požadavkům, a proto bylo přistoupeno k přípravě jednoho litru zásobního roztoku.



Obrázek 10: Vodná disperze nanočástic stříbra o velikosti 32 nm připravená modifikovanou Tollensovou metodou

Zásobní koloidní disperze nanočástic stříbra byla připravena v kádince o objemu 1,2 litru za míchání velkým vrtulovým míchadlem. Reakční složky, jejich poměr a pořadí, ve kterém byly přidávány, odpovídají zkušební přípravě, ale všechny použité objemy jsou čtyřicetkrát větší. Průběh reakce byl totožný se zkouškou a produktem byla rovněž koloidní disperze měděného zbarvení (viz obrázek 10). Velikost nanočástic stříbra byla 32,2 nm a systém měl polydisperzitu 0,053. Absorpční spektrum mělo pro nanočástice stříbra charakteristické maximum při vlnové délce 400 nm (viz obrázek 11).



Obrázek 11: Absorpční spektrum vzniklého koloidu stříbra

3.4 Postup při studiu interakce nanočástic stříbra s barvivy

V následujících měřeních byla používána fluorescenční barviva, jejichž zásobní roztoky byly připraveny v koncentraci 1 mmol/dm^3 . Na obrázku 12 jsou zdokumentovány roztoky barviv v tomto pořadí zleva doprava: Fluorexon, Fluorescein sodný, Rhodamin B, Eosin Y, Akridinová oranž.

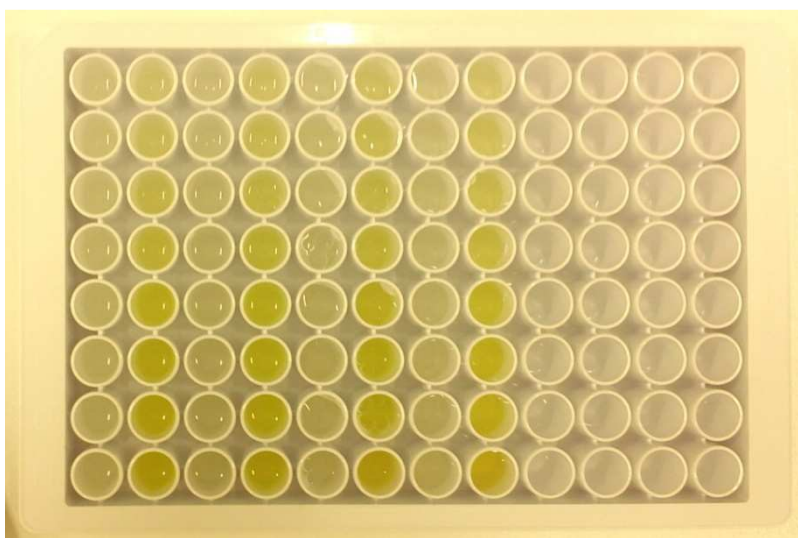


Obrázek 12: Zásobní roztoky fluorescenčních barviv

3.4.1 Interakce nanočástic stříbra s Fluoresceinem v přítomnosti PAL

Na přístroji Luminoscan Ascent byl studován vliv nanočástic stříbra spolu s povrchově aktivní látkou v roztoku fluorescenčního barviva na intenzitu fluorescence.

Koncentrace Fluoresceinu u měřených vzorků byla měněna v intervalu $2 \cdot 10^{-6}$ až $4 \cdot 10^{-10}$ mol/dm³, koncentrace nanočástic stříbra byla udržována na konstantní hodnotě 50 μmol/dm³ a koncentrace povrchově aktivní látky na hodnotě 1 μmol/dm³. Vzorky byly excitovány zářením o vlnové délce 485 nm. Sledováno bylo procentuální zesílení nebo zeslabení intenzity fluorescence při vlnové délce 538 nm, které bylo zjišťováno na základě srovnání intenzit vzorku obsahujících nanočástice stříbra a vzorku bez obsahu těchto nanočástic. Srovnávané vzorky měly stejnou koncentraci barviva a byla v nich přítomna stejná povrchová látka. Měřeny byly čtyři sady vzorků lišících se použitou povrchově aktivní látkou: Tween 20, SDS, Saponin a sada bez použití povrchově aktivní látky. Vzorky byly měřeny na vzorkových destičkách s 96 dutinkami, do kterých bylo dávkováno po 200 μl směsi. Na obrázku 13 je vidět částečně naplněná destička a při bližším pohledu jsou patrné koncentrační řady podle rostoucí sytosti barvy ve sloupcích (vždy dva sloupce, přičemž vlevo nahoře je koncentrace nejnižší a vpravo dole nejvyšší).



Obrázek 13: Vzorková destička s koncentračními řadami Fluoresceinu

3.4.2 Interakce s Rhodaminem B a Akridinovou oranží

Na fluorescenčním spektrometru sestaveném docentem Janem Hrbáčem byly měřeny vzorky v sadách, kdy vždy v jedné sadě byla stabilní koncentrace fluorescenčního barviva, ale jednotlivé vzorky se lišily koncentrací nanočástic stříbra. Vzhledem k použitému bariérovému filtru, který propouštěl pouze vlnové délky vyšší než 540 nm, bylo možné použít barviva s emisním maximem za touto hranicí nebo v takové blízkosti,

aby změny intenzity fluorescence byly dostatečně výrazné. Zvolenými barvivy byl Rhodamin B (excitováno 532 nm laserem) a Akridinová oranž (excitováno 405 nm laserem). Intenzita emise u směsí obsahujících Rhodamin B byla měřena při vlnové délce 585 nm a u směsí obsahujících Akridinovou oranž při 553 nm. Za účelem dosažení vyšší přesnosti bylo měření standardizováno podle změn intenzity fluorescence hranolu o rozměrech měřící kyvety, ve kterém byl obsažen Fluorescein sodný. Intenzita fluorescence tohoto hranolu byla považována za konstantní a byla měřena mezi každými dvěma vzorky. I když emisní maximum Fluoresceinu nepřekračuje hodnotu bariérového filtru, byla v hranolu zřejmě velmi vysoká koncentrace tohoto barviva a naměřené intenzity fluorescence byly dostatečné pro standardizaci. Na obrázku 14 jsou vidět směsi barviva a nanočástic stříbra v odměrných baňkách při přípravě před měřením. Tři řady baněk odpovídají třem koncentracím barviva vždy s desetinásobným zředěním ($1 \cdot 10^{-5}$ až $1 \cdot 10^{-7}$ mol/dm³) a šest sloupců obsahuje šest různých koncentrací nanočástic rovněž vždy s desetinásobným zředěním ($1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-9}$ mol/dm³).



Obrázek 14: Příprava směsí nanočástic stříbra a Rhodaminu B různých koncentrací

3.4.3 Interakce s agregujícími nanočásticemi stříbra

Agregace nanočástic byla zahájena přidáním roztoku chloridu sodného, přičemž koncentrace chloridových iontů v reakční směsi byla 0,1 mol/dm³. Za účelem dosažení stejných časů agregace byl roztok přidáván do směsí nanočástic stříbra a Rhodaminu B v intervalu dvou minut na jednu směs, aby při postupném měření jednotlivých směsí byly

agregační časy všech vzorků přesně 15 minut [8]. Postup měření změn intenzity fluorescence byl totožný jako při měření směsí neagregovaných nanočástic stříbra s Rhodaminem B a Akridinovou oranží v části 3.5.2. Použitá koncentrace Rhodaminu B byla $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³ a koncentrace nanočástic stříbra v jednotlivých vzorcích byly $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-7}$ mol/dm³ (desetinásobné ředění mezi vzorky, tedy celkem 4 koncentrace nanočástic). Vzorky byly excitovány laserem o vlnové délce 532 nm.

3.4.4 Srovnávací měření s použitím nanočástic zlata

Koloidní disperzi nanočástic zlata pro toto měření připravila Mgr. Ariana Fargašová redukcí chloridu zlatitého kyselinou askorbovou v roztoku, jehož pH bylo upraveno přidavkem hydroxidu sodného. Výsledné koncentrace látek v reakční směsi jsou uvedeny v tabulce 5. Velikost nanočástic zlata byla 26,5 nm a systém měl polydisperzitu 0,197. Rovněž v tomto případě byl postup měření fluorescence totožný s částí 3.5.2, ale byly měřeny pouze směsi s Rhodaminem B.

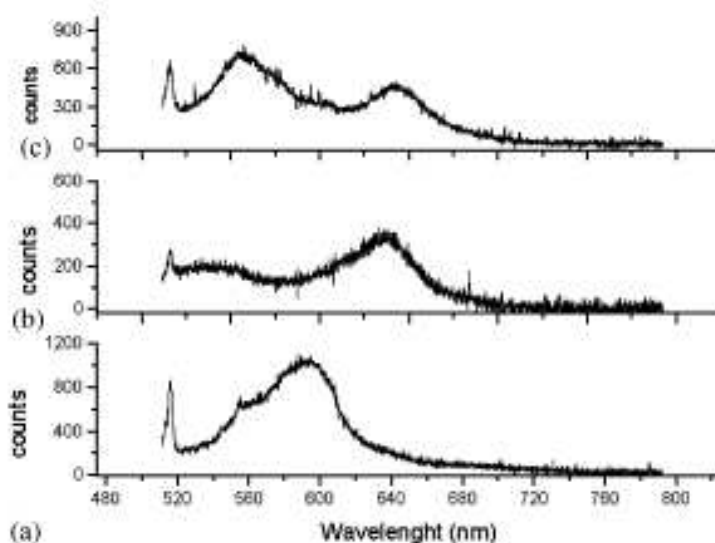
Tabulka 5: Koncentrace výchozích látek v reakční směsi

reaktant	koncentrace [mmol/dm ³]
AuCl ₃	1
NaOH	7,68
kyselina askorbová	10

4 Výsledky a diskuze

4.1 Fluorescence koloidní disperze nanočástic stříbra

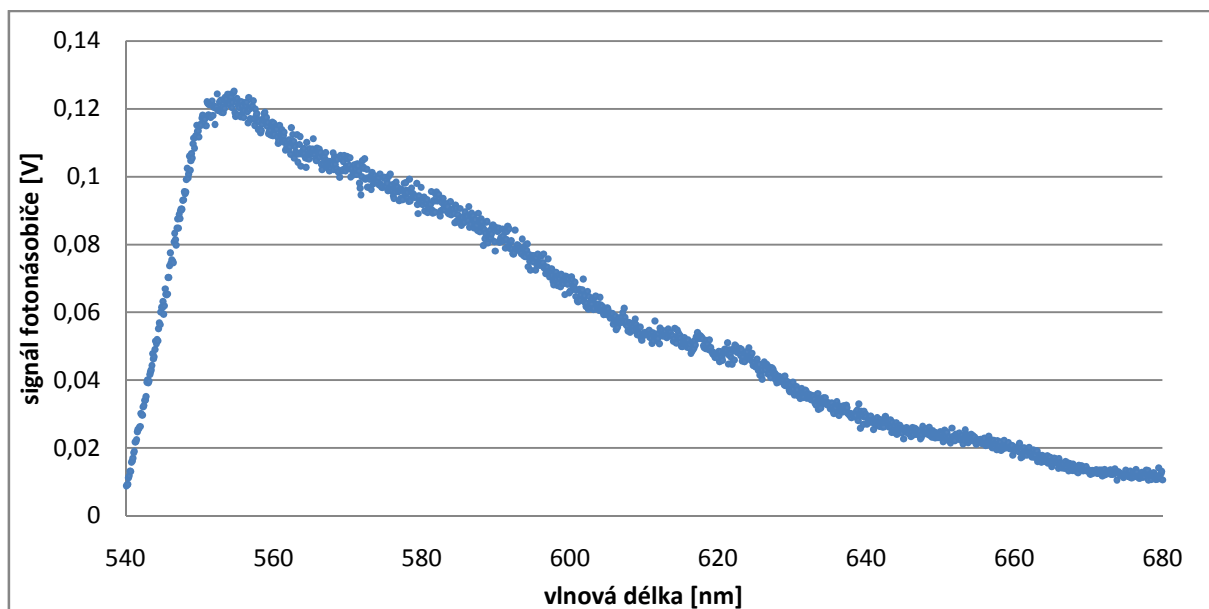
Měřením disperzí nanočástic stříbra různých koncentrací bylo zjištěno, že tyto koloidní disperze projevují vlastní fluorescenci, jejíž existence byla potvrzena v článku [1]. Tato fluorescence je přisuzována přítomnosti oxidu stříbrného, protože koloidní disperze stříbra připravená v inertní atmosféře ji nevykazovala. Při kontinuální excitaci není emise záření stabilní, přičemž je tento jev popisován jako „blikání.“ Na obrázku 15 jsou zobrazena fluorescenční spektra tří samostatných nanočástic stříbra při excitaci 476 nm laserem o intenzitě 10 kW/cm^2 . Rozdílné průběhy těchto spekter jsou údajně způsobeny rozdílnými charakterystikami vazby oxidu stříbra k nanočásticím. Intenzivní emise při 515 nm je uváděna jako Ramanovský signál nanokrystalků uhlíku [32].



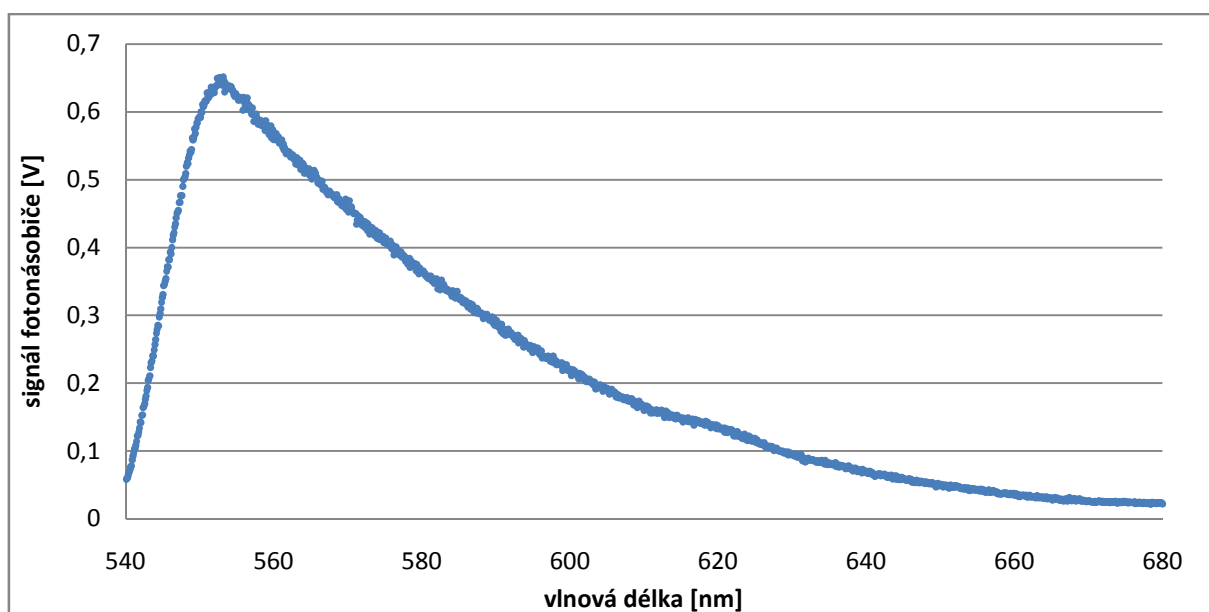
Obrázek 15: Fluorescenční spektra tří samostatných nanočástic stříbra [32]

Na obrázcích 16 a 17 jsou zobrazena fluorescenční spektra koloidní disperze nanočástic stříbra o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ při excitaci 532 nm a 405 nm laserem. Pro hodnoty vlnové délky pod 540 nm je spektrum ohraničeno bariérovým filtrem spektrometru. Excitace 532 nm laserem byla prováděna při 50 % jeho výkonu (50 mW), a proto je toto spektrum vykresleno při nižší intenzitě emitovaného záření a také s nižší přesností ve srovnání se spektrem vzorku excitovaného 405 nm laserem o výkonu 200 mW.

Spektra samostatných nanočástic stříbra na obrázku 15 v systému koloidní disperze pravděpodobně splývají v souvislé spektrum (obrázky 16 a 17), jak lze usuzovat z poklesu intenzity emitovaného záření směrem k vyšším hodnotám vlnových délek, který je společný pro koloidní disperzi i samostatné částice.



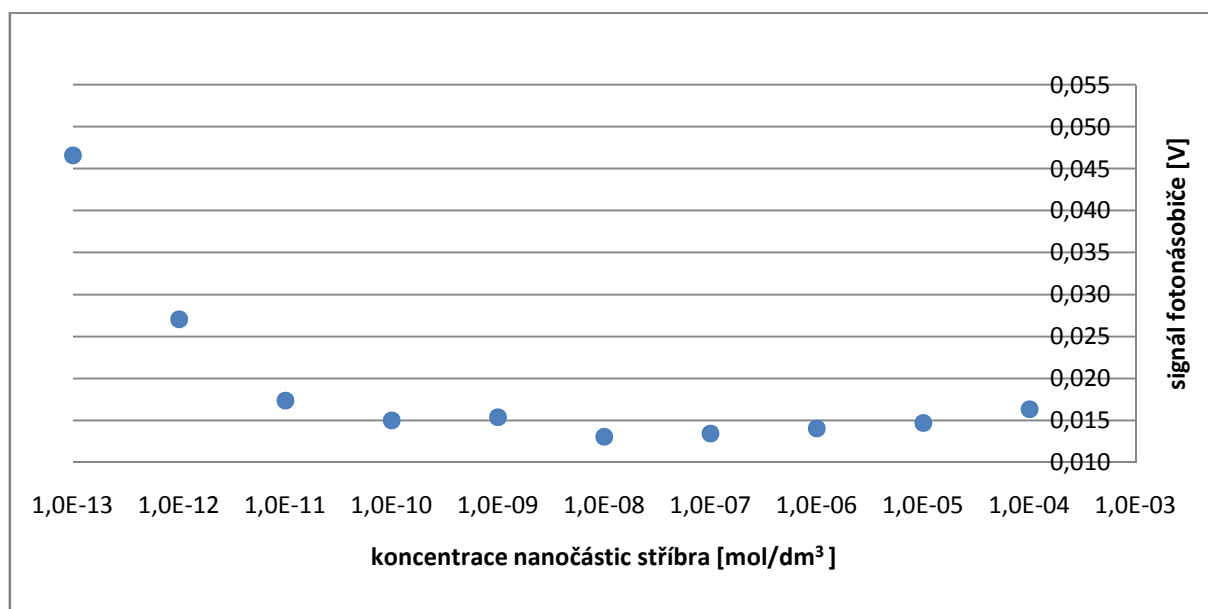
Obrázek 16: Fluorescenční spektrum koloidní disperze nanočástic stříbra o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ při excitaci 532 nm laserem o výkonu 50 mW



Obrázek 17: Fluorescenční spektrum koloidní disperze nanočástic stříbra o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ při excitaci 405 nm laserem o výkonu 200 mW

Dalším významným zjištěním bylo, že intenzita fluorescence nanočástic roste s jejich klesající koncentrací v disperzi. Tento nárůst lze pozorovat na obrázku 18, kde je vykreslen graf zobrazující závislost intenzity fluorescence o vlnové délce emitovaného záření 585 nm na koncentraci nanočástic při excitaci 532 nm laserem. Nárůst není vždy takto „ideální,“ ale projevují se na něm odchylky, které jsou pravděpodobně způsobeny „blikáním“ při kontinuální excitaci zmíněném v článku [32], avšak ve výsledku byl vždy patrný nárůst intenzity fluorescence s klesající koncentrací nanočástic stříbra. Růst intenzity fluorescence je pravděpodobně umožněn snižujícím se počtem nanočástic v cestě emitovaného paprsku záření s klesající koncentrací koloidní disperze. U emitovaného záření se tak snižuje pravděpodobnost absorpce nanočásticemi a naopak se zvyšuje pravděpodobnost opuštění systému.

Ve výsledcích všech měření směsí nanočástic a barviv jsou uváděny pouze intenzity fluorescence, od kterých jsou již odečteny hodnoty intenzit fluorescence roztoků nanočástic odpovídajících koncentrací. Toto opatření umožňuje studium vlivu nanočástic pouze na intenzitu fluorescence barviva samotného.



Obrázek 18: Intenzita fluorescence nanočástic stříbra v závislosti na jejich koncentraci při excitaci 532 nm laserem a odečtu emitovaného záření při 585 nm

4.2 Interakce s Fluoresceinem v přítomnosti PAL

4.2.1 Výsledky měření

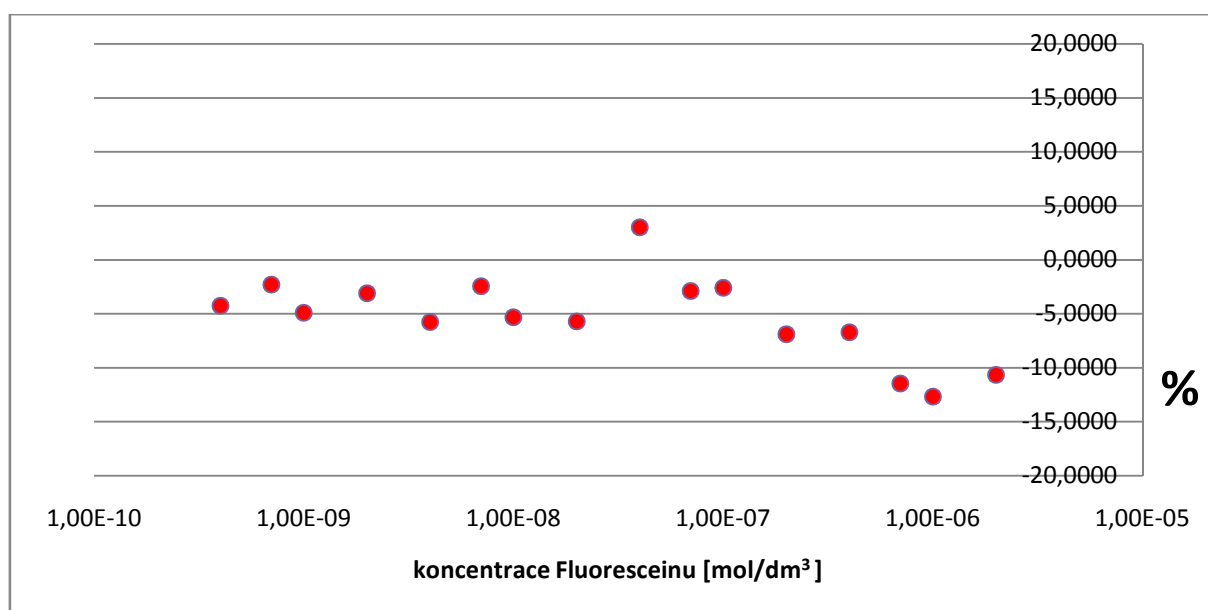
Na obrázcích 19 až 22 a v tabulkách 6 až 9 jsou uvedeny procentuální změny intenzity fluorescence vzorků obsahujících nanočástice stříbra o koncentraci $50 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ve srovnání se vzorky o stejné koncentraci Fluoresceinu sodného, ale bez obsahu nanočástic stříbra. Jednotlivé sady se liší použitou povrchově aktivní látkou, jejíž koncentrace je u všech sad $1 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Všechny sady byly excitovány zářením o vlnové délce 485 nm a emise byla odečítána při vlnové délce 538 nm.

V tabulkách 6 až 9 jsou vedle procentuálního zesílení uvedeny i naměřené hodnoty intenzit fluorescence v jednotkách RFU, což znamená relative fluorescence units, tedy v překladu relativní jednotky fluorescence. Tyto jednotky jsou vyjádřením relativní intenzity fluorescence ve srovnání se vzorkem o nejvyšší hodnotě intenzity fluorescence v měřené sadě.

Tabulka 6: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Fluoresceinu a nanočástic stříbra při použití povrchově aktivní látky Tween 20

($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

koncentrace Fluoresceinu [mol/dm ³]	intenzita fl. BEZ nanoAg [RFU]	intenzita fl. S nanoAg [RFU]	procentuální změna intenzity fl.
4,00E-10	0,3936	0,3769	-4,2481
7,00E-10	0,4229	0,4131	-2,2996
1,00E-09	0,4333	0,4120	-4,9016
2,00E-09	0,5352	0,5187	-3,0938
4,00E-09	0,6408	0,6038	-5,7627
7,00E-09	0,8453	0,8246	-2,4462
1,00E-08	1,0714	1,0145	-5,3064
2,00E-08	1,9101	1,8013	-5,6965
4,00E-08	2,8985	2,9853	2,9930
7,00E-08	4,8141	4,6753	-2,8829
1,00E-07	7,2382	7,0512	-2,5847
2,00E-07	15,6506	14,5734	-6,8832
4,00E-07	26,1756	24,4173	-6,7173
7,00E-07	46,3820	41,0735	-11,4452
1,00E-06	70,6757	61,7243	-12,6655
2,00E-06	148,0960	132,2958	-10,6689

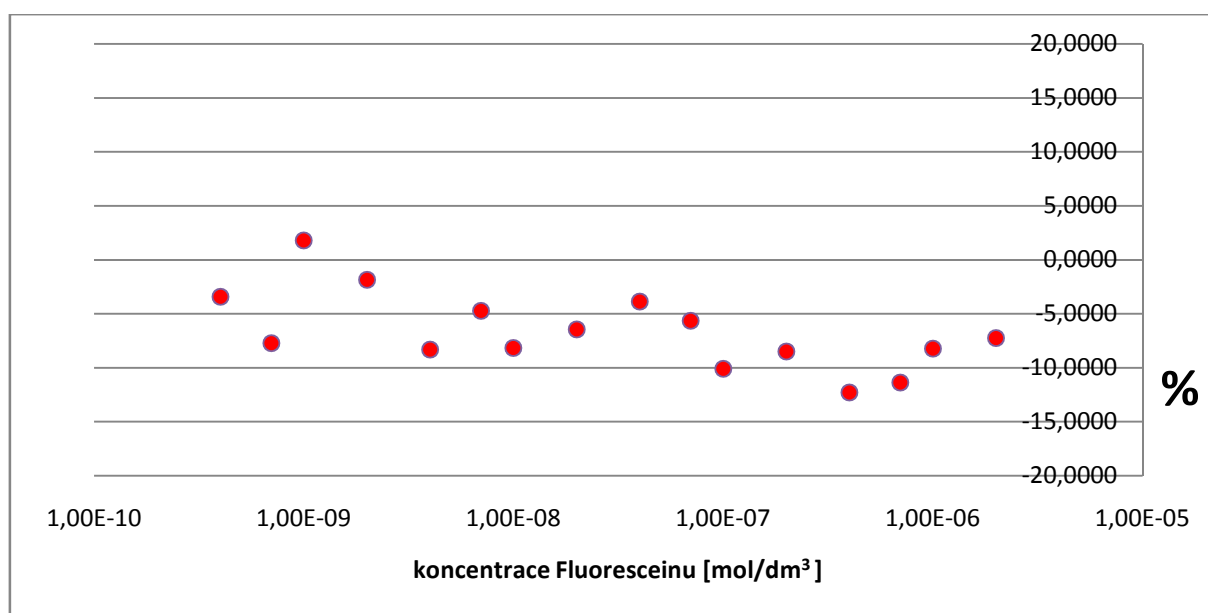


Obrázek 19: Závislost změn intenzit fluorescence na koncentraci Fluoresceinu při použití povrchově aktivní látky Tween 20 ($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

Tabulka 7: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Fluoresceinu a nanočástic stříbra při použití povrchově aktivní látky SDS

($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

koncentrace Fluoresceinu [mol/dm ³]	intenzita flr. BEZ nanoAg [RFU]	intenzita flr. S nanoAg [RFU]	procentuální změna intenzity flr.
4,00E-10	0,4332	0,4183	-3,4309
7,00E-10	0,5117	0,4722	-7,7208
1,00E-09	0,5589	0,5690	1,8058
2,00E-09	0,7939	0,7791	-1,8642
4,00E-09	1,2099	1,1094	-8,3042
7,00E-09	1,8657	1,7776	-4,7204
1,00E-08	2,5210	2,3150	-8,1733
2,00E-08	4,6177	4,3198	-6,4498
4,00E-08	9,3133	8,9529	-3,8691
7,00E-08	14,9743	14,1285	-5,6481
1,00E-07	20,6970	18,6088	-10,0894
2,00E-07	41,0125	37,5343	-8,4809
4,00E-07	84,7114	74,3000	-12,2904
7,00E-07	154,5170	136,9460	-11,3715
1,00E-06	198,1800	181,8974	-8,2161
2,00E-06	383,9451	356,1466	-7,2402

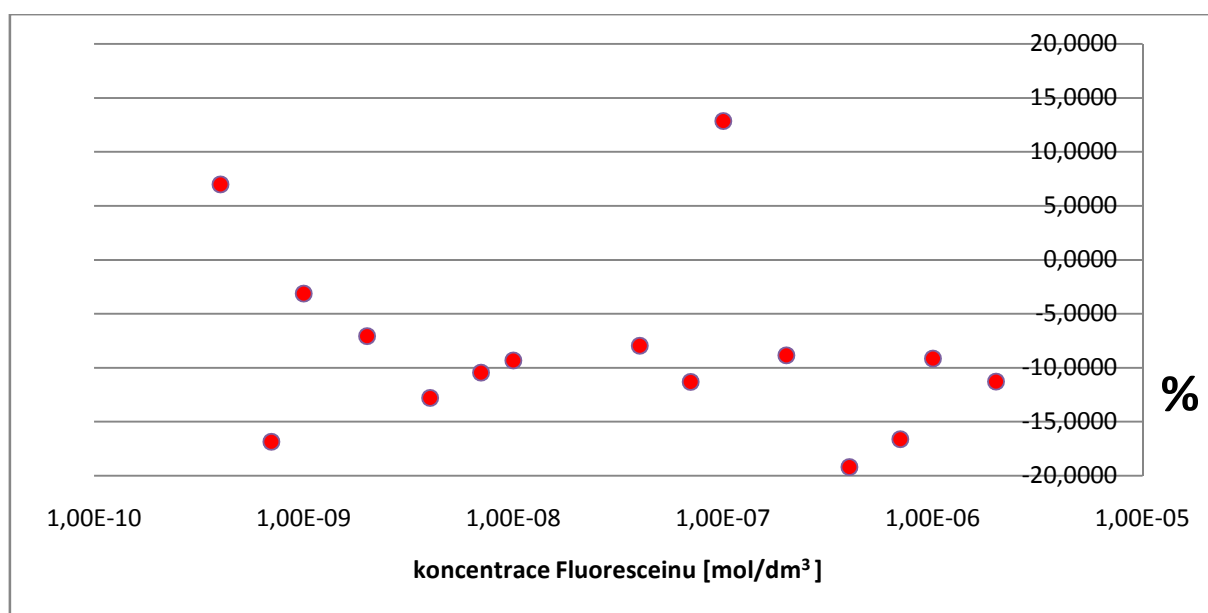


Obrázek 20: Závislost změn intenzit fluorescence na koncentraci Fluoresceinu při použití povrchově aktivní látky SDS ($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

Tabulka 8: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Fluoresceinu a nanočástic stříbra při použití povrchově aktivní látky Saponin

($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

koncentrace Fluoresceinu [mol/dm ³]	intenzita fl. BEZ nanoAg [RFU]	intenzita fl. S nanoAg [RFU]	procentuální změna intenzity fl.
4,00E-10	0,7791	0,8336	6,9838
7,00E-10	0,9434	0,7843	-16,8605
1,00E-09	0,9054	0,8771	-3,1226
2,00E-09	1,1246	1,0450	-7,0820
4,00E-09	1,7893	1,5607	-12,7803
7,00E-09	2,4701	2,2121	-10,4431
1,00E-08	3,2277	2,9272	-9,3104
2,00E-08	6,5932	5,2689	-20,0858
4,00E-08	11,5434	10,6244	-7,9612
7,00E-08	18,3762	16,3007	-11,2945
1,00E-07	25,1418	28,3747	12,8586
2,00E-07	49,5606	45,1734	-8,8523
4,00E-07	108,6480	87,8118	-19,1777
7,00E-07	172,6062	143,9174	-16,6209
1,00E-06	242,8160	220,6493	-9,1290
2,00E-06	643,5294	570,9561	-11,2774

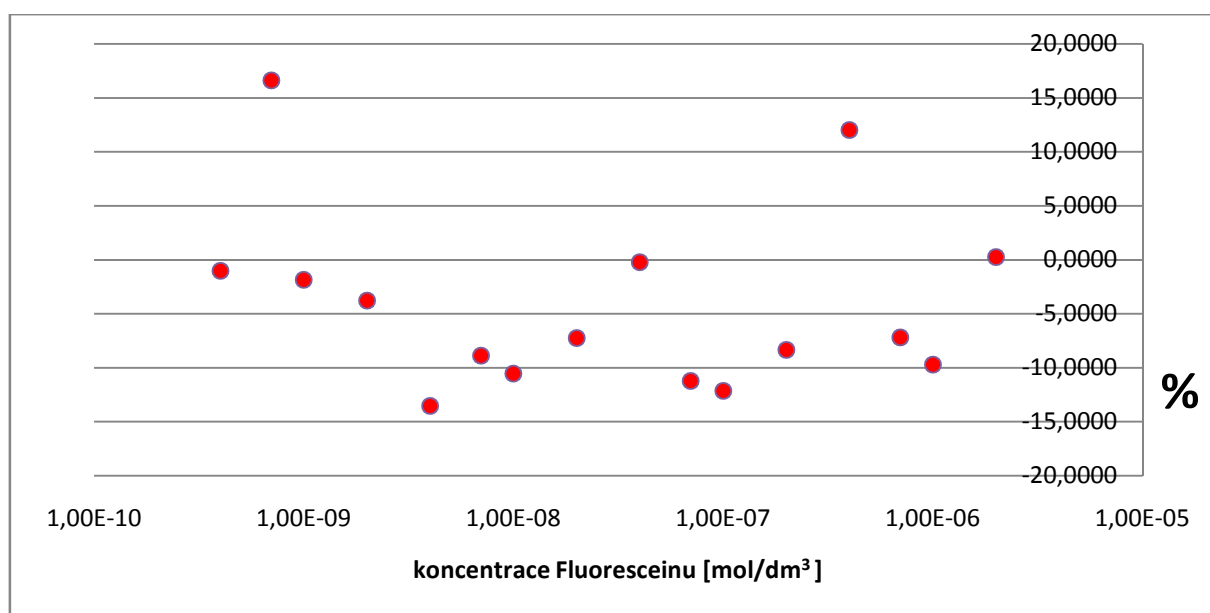


Obrázek 21: Závislost změn intenzit fluorescence na koncentraci Fluoresceinu při použití povrchově aktivní látky Saponin ($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

Tabulka 9: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Fluoresceinu a nanočástic stříbra bez použití povrchově aktivní látky

($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

koncentrace Fluoresceinu [mol/dm ³]	intenzita flr. BEZ nanoAg [RFU]	intenzita flr. S nanoAg [RFU]	procentuální změna intenzity flr.
4,00E-10	0,4451	0,4405	-1,0358
7,00E-10	0,5010	0,5843	16,6200
1,00E-09	0,6160	0,6046	-1,8484
2,00E-09	0,8689	0,8359	-3,7903
4,00E-09	1,5401	1,3317	-13,5333
7,00E-09	2,3403	2,1323	-8,8891
1,00E-08	3,1322	2,8026	-10,5238
2,00E-08	5,5565	5,1540	-7,2447
4,00E-08	12,0321	12,0057	-0,2191
7,00E-08	18,3788	16,3148	-11,2305
1,00E-07	26,2015	23,0249	-12,1240
2,00E-07	53,2518	48,8142	-8,3333
4,00E-07	103,4091	115,8192	12,0010
7,00E-07	174,2530	161,7528	-7,1736
1,00E-06	251,1774	226,8186	-9,6979
2,00E-06	483,5650	484,7132	0,2374



Obrázek 22: Závislost změn intenzit fluorescence na koncentraci Fluoresceinu bez použití povrchově aktivní látky ($\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$)

4.2.2 Diskuze k výsledkům

U každé sady vzorků byl pozorován pokles fluorescence směsí Fluoresceinu a nanočástic stříbra oproti vzorkům čistého barviva stejné koncentrace. Průměrná hodnota poklesu byla pro jednotlivé sady následující: 5,3 % při použití PAL Tween 20; 6,6 % při použití PAL SDS; 11,7 % při použití PAL Saponin (z průměru vyloučeny dvě hodnoty s kladnou procentuální změnou jako chyby měření) a 6,8 % ve směsi bez PAL (i v tomto případě z průměru vyloučeny dvě hodnoty s kladnou procentuální změnou jako chyby měření).

Pokles intenzity fluorescence je pravděpodobně způsoben rozptylem a adsorpcí světla na přítomných nanočásticích stříbra. Tento závěr podporuje i skutečnost, že velmi nízké koncentrace nanočástic prakticky neovlivňují fluorescenci. Rozptyl experimentálních hodnot je velmi pravděpodobně způsoben metodou přípravy vzorků k měření, kdy byly všechny komponenty měřeného systému pipetovány přímo do dutinek měřicí destičky a výsledný objem byl pouze 200 μl , takže i malé nepřesnosti při pipetování malých objemů mohly způsobit odchylky měřené intenzity fluorescence v řádu jednotek procent.

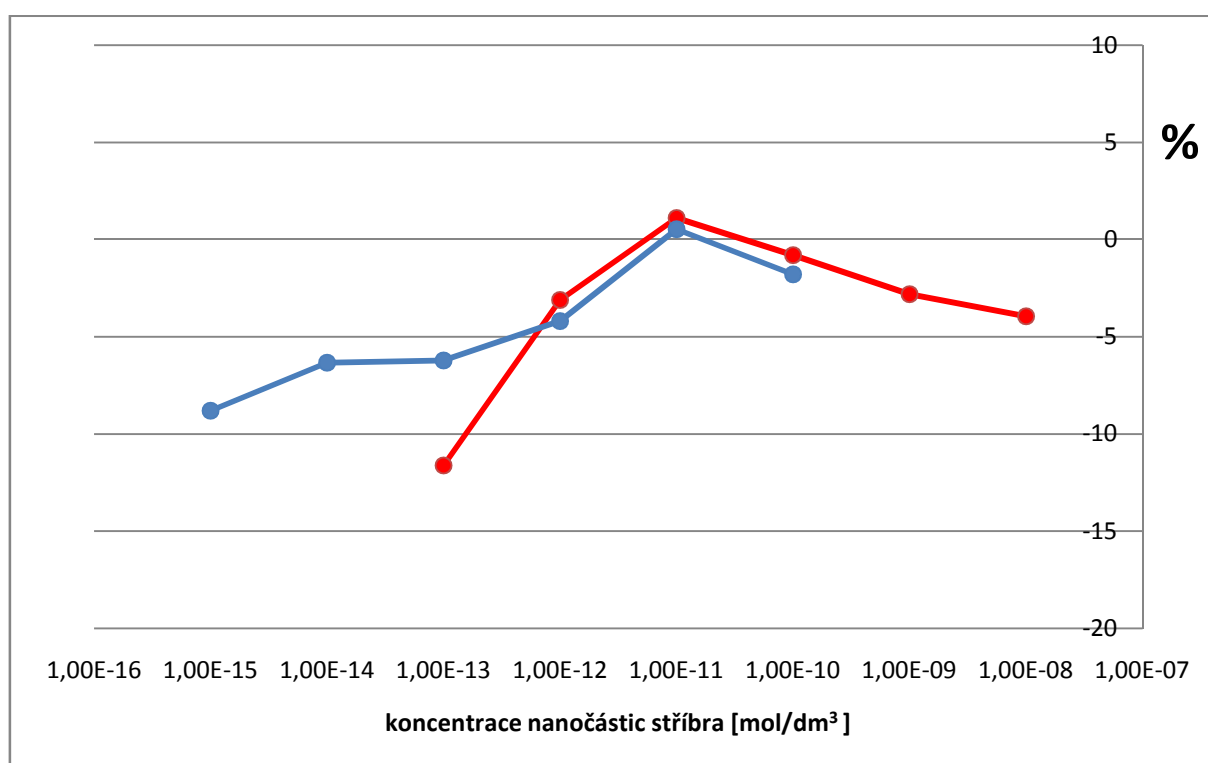
4.3 Interakce nanočástic stříbra s Rhodaminem B

4.3.1 Výsledky měření

Oproti předchozímu měření zde byla v jednotlivých sadách konstantní koncentrace barviva a byl sledován vliv různých koncentrací nanočástic stříbra na fluorescenci barviva dané koncentrace. Na obrázku 23 a v tabulce 10 jsou uvedeny procentuální změny intenzity fluorescence vzorků obsahujících nanočástice stříbra o koncentraci $1 \cdot 10^{-15}$ až $1 \cdot 10^{-8}$ mol/dm^3 a Rhodamin B o koncentracích $1 \cdot 10^{-9}$ a $1 \cdot 10^{-8}$ mol/dm^3 ve srovnání se vzorky o stejné koncentraci Rhodaminu B, ale bez obsahu nanočástic stříbra. V tabulce 10 jsou vedle procentuálního zesílení uvedeny i naměřené hodnoty intenzit fluorescence v jednotkách elektrického napětí, které bylo uváděno jako signál fotonásobiče. Všechny vzorky byly excitovány laserem o vlnové délce 532 nm a emise byla odečítána při vlnové délce 585 nm.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Rhodaminu B a nanočástic stříbra ($\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 585 \text{ nm}$)

	koncentrace Rhodaminu B [mol/dm ³]			
	1,00E-09		1,00E-08	
koncentrace nanoAg [mol/dm ³]	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.
0	0,1263	-	0,8491	-
1,00E-15			0,7743	-8,8022
1,00E-14			0,7952	-6,3415
1,00E-13	0,1116	-11,6203	0,7962	-6,2243
1,00E-12	0,1223	-3,1172	0,8135	-4,1953
1,00E-11	0,1277	1,1071	0,8535	0,5262
1,00E-10	0,1253	-0,8061	0,8339	-1,7909
1,00E-09	0,1227	-2,8178		
1,00E-08	0,1213	-3,9579		



Obrázek 23: Závislost změn intenzit fluorescence směsí Rhodaminu B na koncentraci nanočástic stříbra ($\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 585 \text{ nm}$)

Červeně – vzorky s koncentrací Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-9} \text{ mol/dm}^3$

Modře – vzorky s koncentrací Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol/dm}^3$

4.3.2 Diskuze k výsledkům

U obou sad vzorků byl pozorován pokles fluorescence směsí Rhodaminu B a nanočástic stříbra oproti vzorkům čistého barviva stejné koncentrace. Průměrná hodnota poklesu byla pro jednotlivé sady následující: 3,5 % při koncentraci Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-9}$ mol/dm³ a 4,5 % při koncentraci Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-8}$ mol/dm³.

V případě směsí Rhodaminu B a nanočástic stříbra byl použit k excitaci laser o vlnové délce 532 nm, což odpovídá velmi dobře excitačnímu maximu tohoto barviva (550 nm). Přesto nebyl prakticky pozorován vliv přítomnosti nanočástic stříbra na fluorescenci tohoto barviva, která byla jen velmi mírně snížena o jednotky procent. To může být spojeno s vlivem rozptylu a absorpce světla na částicích, který je ale u této vlnové délky ne příliš výrazný na rozdíl od studie provedené s fluoresceinem, kde použitý přístroj využívá nižší vlnovou délku excitačního záření 485 nm.

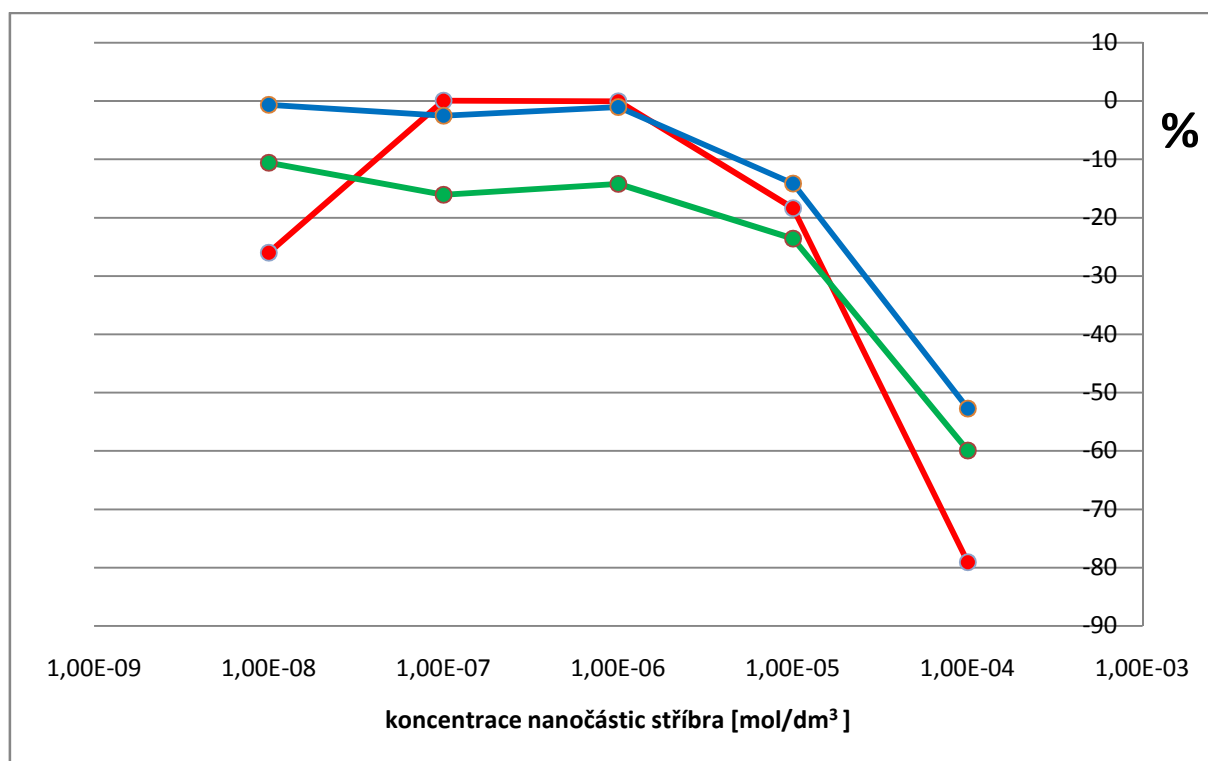
4.4 Interakce nanočástic stříbra s Akridinovou oranží

4.4.1 Výsledky měření

Na obrázku 24 a v tabulce 11 jsou uvedeny procentuální změny intenzity fluorescence vzorků obsahujících nanočástice stříbra o koncentracích $1 \cdot 10^{-8}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ a Akridinovou oranž o koncentracích $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ ve srovnání se vzorky o stejné koncentraci Akridinové oranže, ale bez obsahu nanočástic stříbra. Všechny vzorky byly excitovány laserem o vlnové délce 405 nm a emise byla odečítána při vlnové délce 553 nm.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Akridinové oranže a nanočástic stříbra ($\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 553 \text{ nm}$)

koncentrace nanoAg [mol/dm ³]	koncentrace Akridinové oranže [mol/dm ³]					
	1,00E-06		1,00E-05		1,00E-04	
	napětí na fotonásobiči [V]	procentuální změna intenzity flr.	napětí na fotonásobiči [V]	procentuální změna intenzity flr.	napětí na fotonásobiči [V]	procentuální změna intenzity flr.
0	0,3109	-	5,0056	-	6,1756	-
1,00E-08	0,2301	-26,0015	4,4754	-10,5915	6,1326	-0,6954
1,00E-07	0,3111	0,0527	4,2006	-16,0826	6,0175	-2,5586
1,00E-06	0,3107	-0,0874	4,2928	-14,2398	6,1091	-1,0754
1,00E-05	0,2537	-18,3941	3,8230	-23,6259	5,3017	-14,1501
1,00E-04	0,0650	-79,1019	2,0048	-59,9498	2,9192	-52,7299



Obrázek 24: Závislost změn intenzit fluorescence směsí Akridinové oranže na koncentraci nanočástic stříbra ($\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 553 \text{ nm}$)

Červeně – vzorky s koncentrací Akridinové oranže $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$

Zeleně – vzorky s koncentrací Akridinové oranže $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$

Modře – vzorky s koncentrací Akridinové oranže $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$

4.4.2 Diskuze k výsledkům

Obdobně jako v předchozím případě studia vlivu přítomnosti kovových nanočástic na intenzitu fluorescence barviva byl proveden další experiment s nanočásticemi stříbra, ale jako fluorescenční barvivo byla vybrána Akridinová oranž s excitačním maximem při 502 nm, což je blíže maximu absorpce povrchového plasmonu nanočástic stříbra (přibližně 410 nm) ve srovnání s Rhodaminem B (excitační maximum 550 nm). Jako excitační laser byl použit modrý diodový laser s vlnovou délkou 405 nm.

Namísto očekávaného zesílení došlo v tomto případě k výraznému poklesu intenzity fluorescence, který dosahuje až 80 % vůči původní intenzitě fluorescence systému bez obsahu nanočástic. Tak velké změny již nelze vysvětlit ztrátami intenzity díky rozptylu a absorpci světla na přítomných nanočásticích, jako tomu bylo v předchozích případech. Velkou roli zde velmi pravděpodobně hraje již dříve popsany efekt zhášení fluorescence díky nezářivým přenosům energie mezi molekulami barviva [33,34,35] a stříbrnou nanočásticí, na jejímž povrchu je barvivo pravděpodobně velmi silně adsorbováno přes atomy dusíku, přítomné v jeho molekule. Ty jsou zde blokovány pouze methylovými skupinami na rozdíl od Rhodaminu B, kde je na atomech dusíku navázána rozměrnější ethylová skupina, takže adsorpce této molekuly na povrchu nanočástic stříbra je výrazně slabší díky sterickému bránění těmito skupinami. Evidentně se tak v případě fluorescence neuplatňuje efekt zesílení elektromagnetického pole světelné vlny v blízkosti povrchu kovové nanočástice, který je odpovědný za existenci povrchem zesíleného Ramanova jevu.

4.5 Interakce agregujících nanočástic stříbra s Rhodaminem B

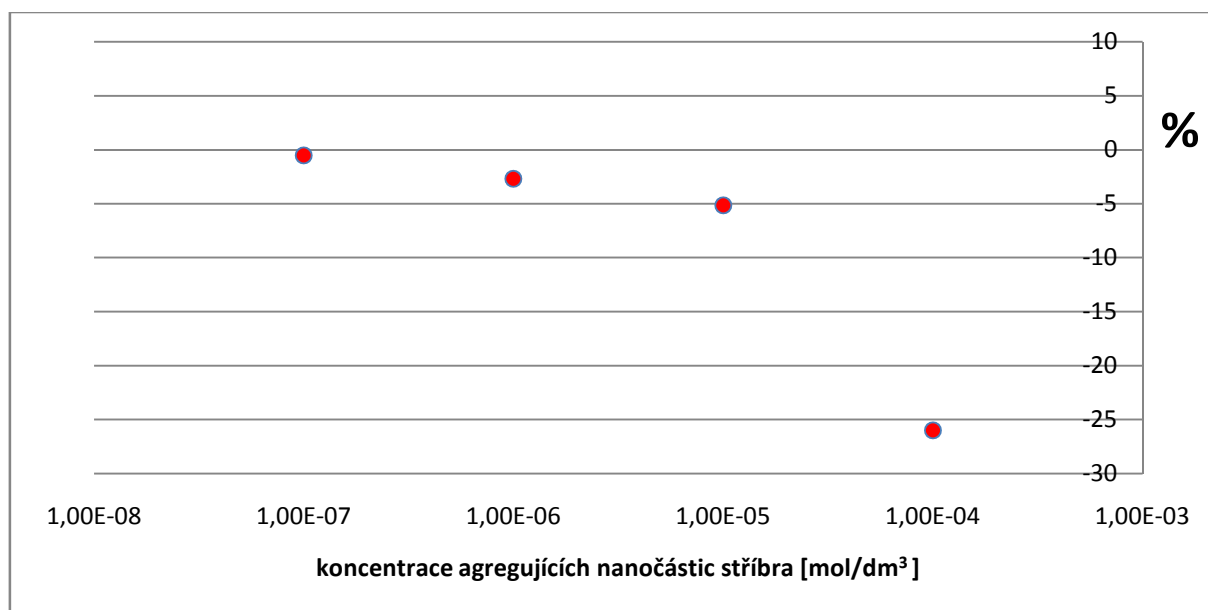
4.5.1 Výsledky měření

Na obrázku 25 a v tabulce 12 jsou uvedeny procentuální změny intenzity fluorescence vzorků obsahujících agregující nanočástice stříbra o koncentracích $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ aktivované roztokem chloridu sodného o koncentraci 0,1 mol/dm³ (v reakční směsi) a Rhodamin B o koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Intenzita fluorescence byla u všech vzorků měřena přesně 15 minut po aktivaci roztokem chloridu sodného. Procentuální změna intenzity fluorescence je uváděna ve srovnání se vzorkem o stejné koncentraci Rhodaminu B, ale bez obsahu nanočástic stříbra. Všechny vzorky byly

excitovány laserem o vlnové délce 532 nm a emise byla odečítána při vlnové délce 585 nm.

Tabulka 12: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí agregujících nanočástic stříbra a Rhodaminu B ($\lambda_{exc} = 532$ nm, $\lambda_{em} = 585$ nm)

koncentrace nanoAg [mol/dm ³]	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.
0	2,7336	-
1,00E-07	2,7193	-0,5263
1,00E-06	2,6600	-2,6944
1,00E-05	2,5931	-5,1418
1,00E-04	2,0233	-25,9850



Obrázek 25: Závislost změn intenzit fluorescence směsí Rhodaminu B na koncentraci agregujících nanočástic stříbra ($\lambda_{exc} = 532$ nm, $\lambda_{em} = 585$ nm)

4.5.2 Diskuze k výsledkům

Tato fáze experimentů vycházela z osvědčeného postupu aktivace nanočástic stříbra pro použití v povrchem zesílené Ramanově spektroskopii, kdy je do systému přidáván elektrolyt (obvykle NaCl), který vyvolá agregaci nanočástic stříbra [8]. Vzniklé agregáty jsou v povrchovém zesílení výrazně efektivnější než samotné nanočástice. Ovšem ani v tomto případě nebylo dosaženo zesílení, ale naopak byl fluorescenční signál opět zeslaben, a to dokonce až o 25 % u nejvyšší použité koncentrace nanočástic $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³. To je sice vyšší hodnota zeslabení než u směsí neagregujících nanočástic stříbra a Rhodaminu B, ale v tomto případě to lze vysvětlit spíše velmi silným rozptylem excitačního i emitovaného záření agregáty nanočástic stříbra [35] společně s jejich rostoucí schopností absorbovat širší interval vlnových délek při větších rozměrech částic. Vliv rozptylu a absorpce záření by měl narůstat spolu s rostoucí koncentrací agregujících nanočástic, a to lze také pozorovat ve výsledcích měření. Z výše uvedených důvodů se tedy pravděpodobně nejedná o zhášení fluorescence molekul Rhodaminu B při adsorpci na nanočástice.

4.6 Interakce nanočástic zlata s Rhodaminem B

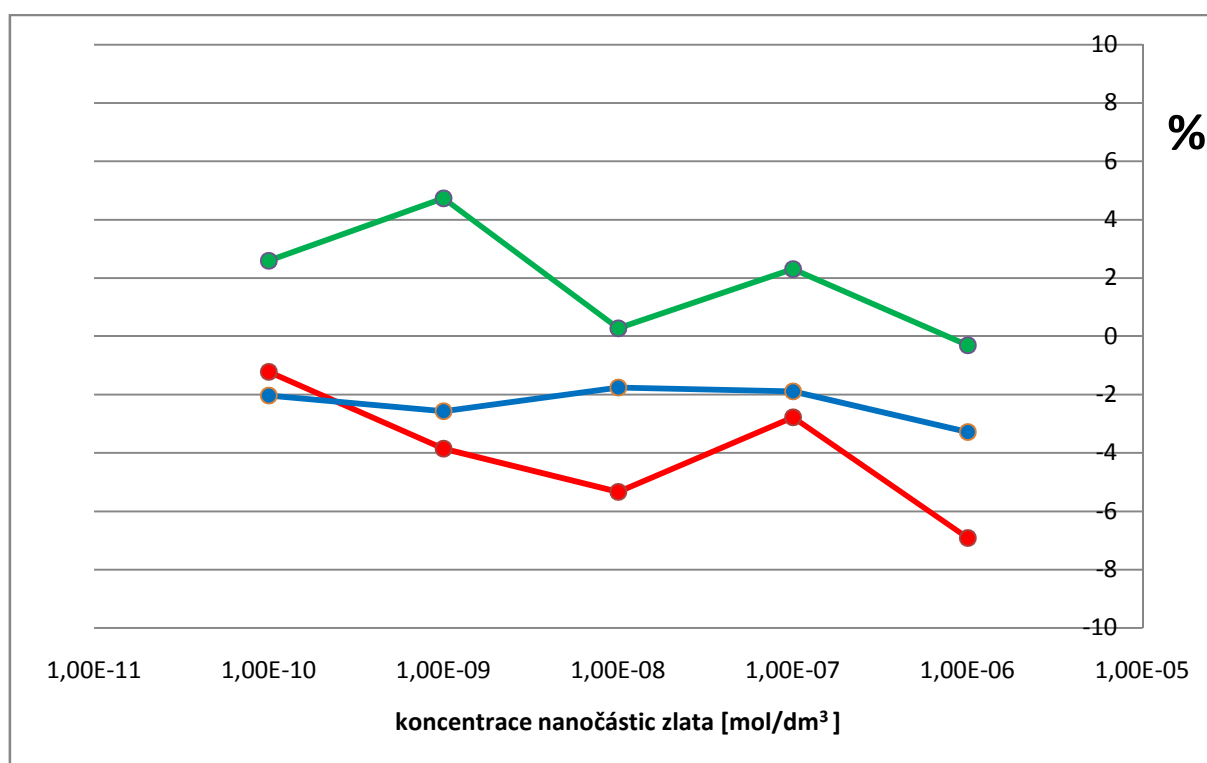
4.6.1 Výsledky měření

Nanočástice zlata jsou vedle nanočástic stříbra rovněž používány při povrchem zesílené ramanově spektroskopii a byl prokázán i jejich zesilující účinek na fluorescenci některých fluorescenčních barviv [36]. Z těchto důvodů bylo provedeno následující měření, které má mimo jiné sloužit i ke srovnání vlivu nanočástic zlata a stříbra na Rhodamin B.

Na obrázku 26 a v tabulce 13 jsou uvedeny procentuální změny intenzity fluorescence vzorků obsahujících nanočástice zlata o koncentracích $1 \cdot 10^{-10}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³ a Rhodamin B o koncentracích $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ ve srovnání se vzorky o stejné koncentraci Rhodaminu B, ale bez obsahu nanočástic zlata. Všechny vzorky byly excitovány laserem o vlnové délce 532 nm a emise byla odečítána při vlnové délce 585 nm.

Tabulka 13: Naměřené hodnoty změn intenzit fluorescence směsí Rhodaminu B a nanočástic zlata ($\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 585 \text{ nm}$)

koncentrace nanoAg [mol/dm ³]	koncentrace Rhodaminu B [mol/dm ³]					
	1,00E-07		1,00E-06		1,00E-05	
	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.	signál fotonásobiče [V]	procentuální změna intenzity flr.
0	1,0488	-	7,6057	-	4,8165	-
1,00E-10	1,0360	-1,2189	7,8026	2,5883	4,7183	-2,0381
1,00E-09	1,0084	-3,8535	7,9652	4,7264	4,6925	-2,5747
1,00E-08	0,9928	-5,3415	7,6263	0,2703	4,7317	-1,7601
1,00E-07	1,0196	-2,7798	7,7805	2,2981	4,7252	-1,8955
1,00E-06	0,9762	-6,9208	7,5818	-0,3144	4,6584	-3,2814



Obrázek 26: Závislost změn intenzit fluorescence směsí Rhodaminu B na koncentraci nanočástic zlata ($\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 585 \text{ nm}$)

Červeně – vzorky s koncentrací Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/dm}^3$

Zeleně – vzorky s koncentrací Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$

Modře – vzorky s koncentrací Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$

4.6.2 Diskuze k výsledkům

Na základě předpokladu, že k zesílení fluorescence bude docházet v případě překrývání oblasti excitačního maxima fluorescenčního barviva a maxima absorpce povrchového plazmonu kovových nanočástic, byla provedena experimentální studie s barvivem Rhodamin B a nanočásticemi zlata, jejichž absorpce povrchového plazmonu leží právě v oblasti vlnové délky použitého excitačního laseru 532 nm. Tento předpoklad se pro koncentrace barviva $1 \cdot 10^{-7}$ a $1 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ nenaplnil, avšak mírné zesílení se projevilo ve směsích o koncentraci Rhodaminu B $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³. Maximální hodnota zesílení fluorescence byla 4,7 % při koncentraci nanočástic zlata $1 \cdot 10^{-9}$ mol/dm³. Stejně jako v případě směsí nanočástic stříbra a fluorescenčních barviv, byla i zde odečítána fluorescence disperze nanočástic zlata odpovídající koncentrace od fluorescence směsi nanočástic zlata s Rhodaminem B. Případný vznik zesílení rozptylem záření na nanočásticích nebo jejich vlastní fluorescencí by měl být tímto způsobem ve výsledcích potlačen a naměřené hodnoty s největší pravděpodobností indikují skutečné zesílení fluorescence Rhodaminu B nanočásticemi zlata.

5 Závěr

V této práci byl studován vliv nanočástic stříbra a zlata na fluorescenci vybraných fluorescenčních barviv Rhodamin B, Akridinová oranž a Fluorescein. Disperze nanočástic stříbra použitá při fluorescenčních měřeních byla připravena Tollensovou metodou, tedy redukcí komplexního kationtu $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ maltózou v alkalickém prostředí. Použité nanočástice zlata byly připraveny redukcí komplexního aniontu $[\text{AuCl}_4]^-$ kyselinou askorbovou v alkalickém prostředí.

Cílem této práce bylo studovat podmínky pro vznik zesílení či zeslabení fluorescence fluorescenčních barviv nanočásticemi vzácných kovů, které bylo pozorované a v literatuře popsáno pro některé specifické případy [35,36]. Za tímto účelem byly srovnávány hodnoty intenzit fluorescence směsí nanočástic a fluorescenčních barviv s fluorescencí roztoků čistých barviv stejné koncentrace.

V rámci studovaných kombinací fluorescenčních barviv, kovových nanočástic a vlnových délek excitačních laserů nebylo ve směsích nanočástic stříbra a fluorescenčních barviv dosaženo zesílení fluorescence. Naopak bylo pozorováno zeslabení fluorescence ve všech případech kombinací nanočástic stříbra s fluorescenčními barvivy. V případě interakce nanočástic stříbra s Akridinovou oranží byla fluorescence zeslabena až o 80 %. K zeslabení intenzity fluorescence dochází v těchto případech pravděpodobně z více důvodů. Hlavní roli hraje rozptyl a absorpce světla na přítomných nanočásticích a nezářivé přenosy energie mezi adsorbovanou molekulou fluorescenčního barviva a stříbrnou nanočásticí. Mírné zesílení bylo pozorováno ve směsi nanočástic zlata a Rhodaminu B o koncentraci barviva $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$, přičemž maximální hodnota zesílení byla okolo 5 % ve srovnání s fluorescencí čistého roztoku Rhodaminu B stejné koncentrace.

Na základě dosažených výsledků tedy lze konstatovat, že jev zesílení fluorescence povrchem kovových nanočástic není tak univerzální jako jev zesílení Ramanova rozptylu. Pro dosažení efektu zesílení je tak třeba vybrat vhodnou dvojici fluorescenčního barviva a kovových nanočástic s vhodnými rozměry a morfologií a rovněž důležitý je výběr vlnové délky zdroje excitačního záření i koncentrace barviva. Podle literárních údajů je rovněž pravděpodobné, že k dosažení významného zesílení fluorescence je třeba zamezit přímé adsorpci molekuly fluorescenčního barviva na povrchu kovové nanočástice [37].

6 Conclusion

The present thesis studied the influence of silver and gold nanoparticles on fluorescence of the chosen dyes Rhodamine B, acridine orange and fluorescein. The silver nanoparticle dispersion used in the fluorescence measuring was prepared using the Tollens' method, that is, by reducing the complex cation $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ using maltose in an alkaline environment. The gold nanoparticles were prepared by reducing the complex anion $[\text{AuCl}_4]^-$ using ascorbic acid in an alkaline environment.

The aim of this work was to study the conditions for the occurrence of an increase or a decrease in fluorescence of fluorescent dyes caused by rare metal nanoparticles, which was observed and described in literature for some specific cases [35,36]. For this purpose, the values of fluorescence intensity of nanoparticle and dye compounds were compared to the values of pure dye solutions of the same concentration.

In the scope of the studied combinations of fluorescent dyes, metal nanoparticles and excitation laser wavelengths, no increase in fluorescence was achieved in silver nanoparticle and fluorescent dye compounds. On the contrary, all cases of the silver nanoparticle and fluorescent dye combinations showed a decrease in fluorescence. In the case of silver nanoparticles interacting with acridine orange, fluorescence decreased by up to 80 %. The fluorescence decrease in these cases has probably more than one cause. The main reasons are light absorption and diffusion on the present nanoparticles and nonradiative transfers of energy between the adsorbed molecule of fluorescent dye and a silver nanoparticle. A slight increase was observed in the compound of gold nanoparticles and Rhodamine B with a dye concentration of $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$. The maximum value of the increase was around 5 %, relative to the fluorescence of a pure Rhodamine B solution of the same concentration.

Based on the observed results, it can be stated that the effect of fluorescence increase caused by the surface of metal nanoparticles is not as universal as the increase of Raman scattering. To achieve the increase effect, it is necessary to choose a suitable pair of a fluorescent dye and metal nanoparticles with the right size and morphology. The selection of the excitation source's wavelength and the dye concentration is also important. According to literary sources, it is also probable that in order to achieve a substantial increase in fluorescence, the direct adsorption of the dye molecule on the surface of the metal nanoparticle needs to be prevented [37].

7 Literatura

1. Pashley R. M., Karaman M. E.: *Applied Colloid and Surface Chemistry*. Wiley, New York 2004.
2. Kvítek L., Panáček A.: *Základy koloidní chemie*. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2007.
3. Bartovská L., Šišková M.: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vydavatelství VŠCHT Praha, Praha 2005.
4. <http://www.webexhibits.org/causesofcolor/14B.html>, staženo 3. prosince 2011.
5. http://graphics.ucsd.edu/~henrik/papers/lorenz_mie_theory/, staženo 3. prosince 2011.
6. Hildebrandt P., Stockburger M.: *Journal of Physical Chemistry* 88, 5935 (1984).
7. <http://www.aldebaran.cz/glossary/print.php?id=581>, staženo 3. prosince 2011.
8. Kvítek L., Pucek R., Panáček A., *Journal of Materials Chemistry* 15, 1099 (2005).
9. Lakowicz J. R.: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, New York 1983.
10. Pátek K.: *Luminiscence. Fyzikální poznatky a technické aplikace*. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1962.
11. Wang W. D.: *Science In China Series E-Technological Sciences* 52, 1613 (2009).
12. Tekalur S. A.: *Journal Of Luminescence* 130, 2201 (2010).
13. Margulis, M. A.: *Russian Journal Of Physical Chemistry A* 81, 129 (2007).
14. Margulis, M. A.: *Russian Journal Of Physical Chemistry A* 80, 1698 (2006).
15. García-Campaña A. M., Baeyens W. R. G.: *Analisis* 28, 686 (2000).
16. Pant S., Tripathi H. B., Pant D. D.: *Journal Of Photochemistry And Photobiology A: Chemistry* 81, 7 (1994).
17. http://www.turnerdesigns.com/t2/doc/appnotes/998_5103.pdf, staženo 6. listopadu 2010.
18. Mchedlov-Petrosyan N. O., Kholin Yu. V.: *Russian Journal Of Applied Chemistry* 77, 414 (2003).
19. <http://www.howstuffworks.com/light-microscope4.htm>, staženo 6. listopadu 2010.
20. Golshani M. R., Khoobehi B., Peyman G. A.: *International Ophthalmology* 17, 349 (1993).

21. <http://www.fluorophores.tugraz.at/>, staženo 6. listopadu 2010.
22. Mirrett S.: *Topics in Clinical Microbiology* 3, 250 (1982).
23. Klouda P.: *Moderní analytické metody*. Nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003.
24. <http://adsorption.org/glossary/index.htm>, staženo 3. prosince 2011.
25. Ponec V., Knor Z., Černý S.: *Adsorpce na tuhých látkách*. Nakladatelství technické literatury, Praha 1968.
26. Hudson J. B.: *Surface Science. An Introduction*. Wiley, New York 1998.
27. Liu Y., Liu C.-Y.: *Journal of Colloid and Interface Science* 257, 188 (2003).
28. <http://www.analytikjenauk.co.uk/specord600.html>, staženo 5. dubna 2012.
29. <http://www.ar.ge.boun.edu.tr/psa.html>, staženo 5. dubna 2012.
30. <http://www.tslabor.hu/depo/Fotometer-ELIZA/Luminoskan.pdf>, staženo 5. dubna 2012.
31. Panáček A., Kvítek L., Pucek R., *Journal of Physical Chemistry B*, 110, 16248 (2006).
32. Maali A., Cardinal T., Treguer-Delapierre M.: *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* 17, 559 (2003).
33. Pal T., Jana N. R., Sau T.: *Radiation Physics and Chemistry* 49, 127 (1997).
34. Lee I.-Y.S., Suzuki H.: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 195, 254 (2008).
35. Lakowicz J.R.: *Analytical Biochemistry* 337, 171 (2005).
36. Horimoto N.N., Imura K., Okamoto H.: *Chemical Physics Letters* 467, 105 (2008).
37. Malicka J., Gryczynski I., Lakowicz J. R.: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 306, 213 (2003).