

U n i v e r z i t a P a l a c k é h o v O l o m o u c i

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální chemie



Příprava a modifikace uhlíkových kvantových teček

Bakalářská práce

Autor:
Školitel:

Veronika Šedajová
Mgr. Kateřina Holá

Studijní program:
Studijní obor:
Forma studia:

B 1407 Chemie
Nanomateriálová chemie
Prezenční

Olomouc 2016

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

Práce byla vypracována na Katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v Regionálním centru pokročilých technologií a materiálů v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Veronika Šedajová

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí bakalářské práce, paní Mgr. Kateřině Holé, za cenné rady, připomínky a hlavně za přátelský a ochotný přístup při vedení mé bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat paní Mgr. Arianě Fargašové za změření Ramanových spekter, panu Ing. Ondřeji Tomancovi za snímky z HR-TEM, panu Mgr. Martinovi Petrovi za změření XPS spekter a panu Sergiiovi Kalytchukovi, Ph.D., za změření fluorescenčních spekter.

Také bych chtěla poděkovat mé rodině za podporu a trpělivost.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora:	Veronika Šedajová
Název práce:	Příprava a modifikace uhlíkových kvantových teček
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra fyzikální chemie
Vedoucí práce:	Mgr. Kateřina Holá
Rok obhajoby práce:	2016
Abstrakt:	Cílem bakalářské práce bylo seznámení se s různými druhy příprav uhlíkových kvantových teček, jejich purifikace a charakterizace různými metodami. Hlavním zaměřením práce byly syntézy uhlíkových teček s červenou fluorescencí, které mají velký potenciál v mnoha aplikacích.
Klíčová slova:	uhlíkové tečky, syntéza, fluorescence
Počet stran:	47
Počet příloh:	0
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname:	Veronika Šedajová
Title:	Synthesis and modification of carbon quantum dots
Type of thesis:	Bachelor
Department:	Department of Physical Chemistry
Supervisor:	Mgr. Kateřina Holá
Defence year:	2016
Abstract:	The aim of this bachelor thesis was to learn different synthetic procedures of carbon quantum dots, their purification and characterization. Main focus was on syntheses of red fluorescent carbon dots, which have big potential in many applications.
Key words:	carbon dots, synthesis, fluorescence
Number of pages:	47
Number of appendices:	0
Language:	Czech

Obsah:

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÝ ÚVOD.....	9
2.1	Kvantové tečky.....	9
2.1.1	Druhy kvantových teček.....	9
2.1.2	Metody přípravy.....	11
2.2	Fluorescence uhlíkových kvantových teček.....	13
2.3	Modifikace uhlíkových kvantových teček.....	14
2.4	Metody studia uhlíkových kvantových teček.....	14
2.4.1	Transmisní elektronová mikroskopie.....	15
2.4.2	Transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením.....	17
2.4.3	Fotoelektronová spektroskopie.....	17
2.4.4	Fluorescenční měření.....	18
2.4.5	Infračervená spektroskopie.....	19
2.4.6	Ramanova spektroskopie.....	19
2.5	Aplikace uhlíkových kvantových teček.....	20
2.5.1	Analytické aplikace.....	20
2.5.2	Technické aplikace.....	21
2.5.3	Biologické aplikace.....	22
3	CÍL PRÁCE.....	23
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	24
4.1	Chemikálie.....	24
4.2	Purifikace připravených částic.....	24
4.3	Metody charakterizace.....	25
4.4	Použité syntetické postupy přípravy CDs.....	25
4.4.1	Příprava CDs z glukózy a kyseliny glutamové.....	25
4.4.2	Příprava CDs z betainu.....	27
4.4.3	Příprava CDs oxidací sazí.....	28
4.4.4	Příprava CDs solvotermální pyrolýzou fenyldiaminu a modifikace.....	28
4.4.5	Příprava v mikrovlnné troubě z o-fenyldiaminu, p-/o-fenyldiaminu.....	29
4.4.6	Příprava z močoviny a p-fenyldiaminu.....	30
4.4.7	Příprava z močoviny a kyseliny citronové.....	30
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	32
5.1	CDs z glukózy a kyseliny glutamové.....	32
5.2	CDs z betainu.....	32
5.3	CDs z oxidovaných sazí.....	32
5.4	CDs ze solvotermální přípravy z fenyldiaminu a následné modifikace.....	33

5.5	CDs z mikrovlnné syntézy z izomerů fenylidiaminu	33
5.6	CDs z p-fenylidiaminu a močoviny	34
5.7	CDs z kyseliny citronové a močoviny	36
6	ZÁVĚR	43
7	SUMMARY	44
8	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	45

1 ÚVOD

Nanomateriály zažívají v posledních letech obrovský rozvoj. Je to díky jejich malému rozměru (1 – 100 nm) a unikátním chemickým a fyzikálním vlastnostem. Jejich vlastnosti jsou mnohdy naprosto odlišné od materiálů, které mají stejné složení, avšak větší rozměr. Hlavní výhodou nanomateriálů je jejich velký povrch a s tím spojená možnost povrchové modifikace a chemické funkcionalizace. Nalezly tak možnost nepřeberného uplatnění v technických a medicínálních oborech. Problémem některých však zůstává jejich potencionální toxicita a případný dopad na životní prostředí.

K jedné z nejvíce zkoumaných skupin nanomateriálů patří v dnešní době uhlíkové nanostruktury. Jednou podskupinou v nich jsou právě uhlíkové kvantové tečky, kterými se zabývá tato práce.

Jedná se o nanočástice o velikosti pod 10 nm, které mají fluorescenční vlastnosti. Jejich struktura sestává z uhlíku ve směsné hybridizaci sp^2 a sp^3 a z funkčních skupin na povrchu částic.

Fluorescenční vlastnosti uhlíkových teček závisí na jejich velikosti, velikosti konjugace jejich sp^2 -domén, chemickém složení povrchu i jádra a často i na vlnové délce excitačního záření. Uhlíkové tečky jsou materiálem, který se vyznačuje svojí chemickou stabilitou, možností modifikace či funkcionalizace jejich povrchu, malou toxicitou a dobrou biokompatibilitou.

Současné a budoucí možné použití uhlíkových teček je v zobrazování biologických objektů, při transportu léčivých látek na místa postižení v těle, při fotokatalýze či při výrobě optoelektronických zařízení.

Cílem této práce je seznámit se se syntetickými metodami přípravy, purifikace a charakterizace uhlíkových kvantových teček a pokusit se o přípravu teček s fluorescencí v červené oblasti optického spektra, která je nejvhodnější pro jejich bioaplikace, tedy v oblasti, kde má tento materiál největší potenciál nahradit toxické kvantové tečky připravené z těžkých kovů.

2 TEORETICKÝ ÚVOD

2.1 Kvantové tečky

Uhlíkové kvantové tečky (Carbon Dots – CDs) jsou uhlíkové částice s rozměrem okolo 10 nm, které jsou intenzivně studovány kvůli předpokládané nízké toxicitě, laditelné fluorescenci a velkému potenciálu pro různé aplikace.^{1,2} CDs byly objeveny v roce 2004 při purifikaci a elektrochemické analýze směsi jednotěnných uhlíkových fluorescenčních nanotrubiček, které byly připraveny obloukovým výbojem.³ Roztok s nanotrubičkami a dalšími nečistotami byl poté analyzován gelovou elektroforézou, při které se rozdělil na 3 části, z nichž jedna vykazovala fluorescenční vlastnosti. Následnou analýzou bylo zjištěno, že tento nový materiál se skládá hlavně z uhlíku a kyslíku, dále z dusíku a vodíku, částice jsou velké v průměru 18 nm a kvantový výtěžek je 0,016. Následně se tomuto novému materiálu začalo říkat uhlíkové tečky.⁴

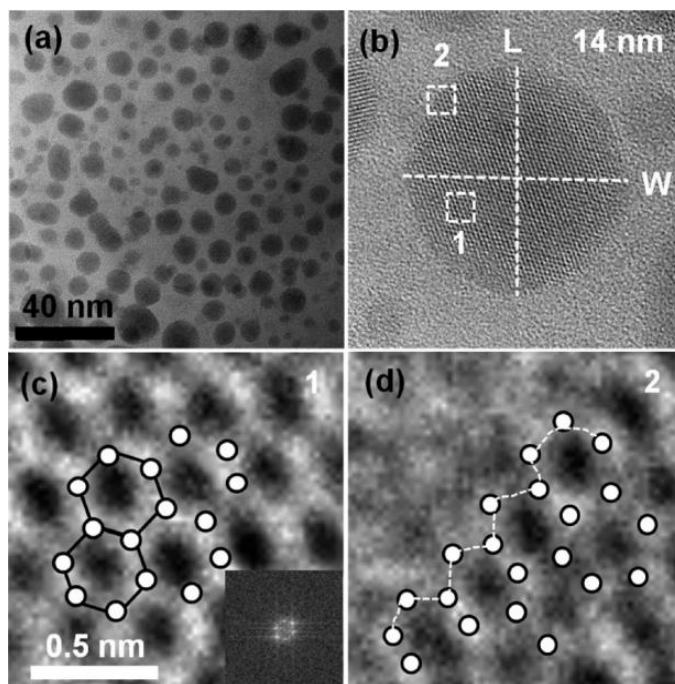
2.1.1 Druhy kvantových teček

Pojem uhlíkové tečky (anglicky carbon dots) zahrnuje více druhů kvantových teček. Patří sem grafenové tečky (1), uhlíkové tečky (2) a polymerní tečky (3).

Tyto skupiny se mezi sebou liší především svojí krystalinitou a morfologií. Velmi často bývají odlišné i metody jejich přípravy.¹

Grafenové tečky

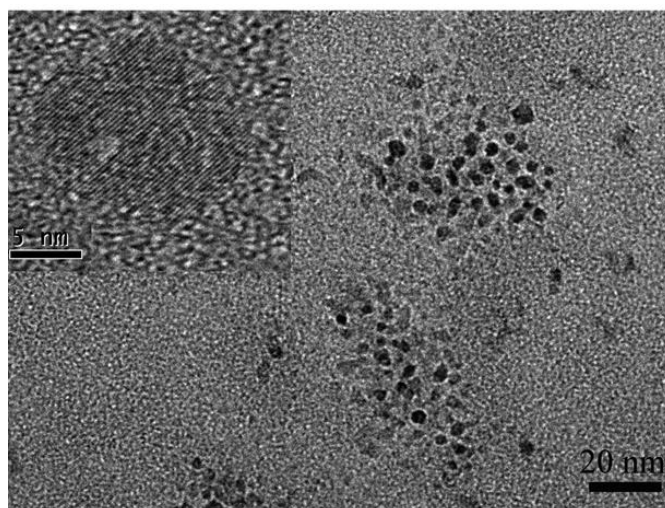
Grafenové tečky (GDs) jsou fragmenty grafenu o průměru nepřevyšující 100 nm. Nemají sférický tvar a jsou složeny z jednoho či více (do 10) malých fragmentů listů grafenu vrstvených nad sebou (viz obrázek 1). Typicky se při jejich přípravě používá grafit jako prekurzor či jiné materiály, které mají sp^2 strukturu (grafen, nanotrubičky, fulleren, uhlíková vlákna a jiné).^{5,6}



Obrázek 1. Snímky grafenových teček z transmisního elektronového mikroskopu s vizualizací jejich velikosti a hexagonální grafenové struktury. Obrázek je převzat z reference 7.

Uhlíkové tečky

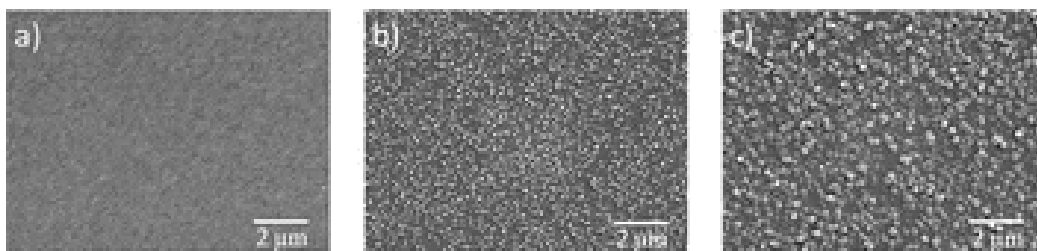
Uhlíkové tečky jsou sférické (kulovité) nanočástice uhlíku s rozměrem pod 10 nm (obrázek 2). Mají uhlíkové jádro s uhlíkem v hybridizaci sp^2 a na jejich povrchu jsou různé funkční skupiny (typicky karboxylové, karbonylové, aminické aj.), které také ovlivňují jejich fluorescenci, hydrofilitu a reaktivitu.^{8,9}



Obrázek 2. Snímek sférických uhlíkových teček z transmisního elektronového mikroskopu s vizualizací jejich velikosti. Obrázek převzat z reference 10.

Polymerové tečky

Polymerové tečky (obrázek 3) jsou agregovaná nebo zesíťovaná soustava prekurzoru, při jejichž přípravě se vychází buď z lineárního polymeru, nebo z monomeru. Vyznačují se nižším stupněm sp^2 konjugace uhlíku v jádře a tedy i nižší krystalinitou.¹¹



Obrázek 3. Snímky polymerových teček z transmisního elektronového mikroskopu, které nejeví známky krystalinity jako předchozí uvedené příklady. Obrázek je převzat z reference 12.

2.1.2 Metody přípravy

Kvůli rozmanitosti CDs jsou i různé způsoby jejich příprav, které lze rozdělit do dvou hlavních skupin:

Top-down metody

Metody přípravy, kdy se CDs získávají z většího zdroje narušováním povrchu či struktury tohoto většího celku.¹ Také se někdy nazývají metodami disperzními.

Bottom-up metody

Metody přípravy CDs, při kterých je výsledný produkt syntetizován z nízkomolekulárních látek.¹ Někdy jsou nazývány metodami kondenzačními nebo se označují v případě uhlíkových teček jako molekulární syntézy.

Top-down metody přípravy

Rozrušování struktury grafitických materiálů na malé částice je několik typů. Patří sem například laserová ablace, obloukový výboj, elektrochemické či oxidické rozrušování grafitické struktury. Jako nejčastější prekurzor je zde používán grafit (např. tzv. HOPG – highly oriented pyrolytic graphite), lze však také využít uhlíkových nanotrubiček, fullerenů či uhlíkových sazí.

Laserová ablace je metoda, při se využívá působení pulzního laseru na uhlíkatý materiál v roztoku, kde se začnou tvořit malé uhlíkaté částice. Pohyb vzniklých částic se může urychlovat ultrazvukem. Vzniklé částice se zcentrifugují a dále se zpracovávají. Tímto způsobem byly například připraveny jedny z prvních uhlíkových teček v roce 2006, které byly následně zoxidovány a funkcionalizovaný pomocí polyethylenglykolu. Jejich nejintenzivnější fluorescence byla v modré oblasti a kvantový výtěžek byl 4 %.¹³

Obloukový výboj je další z top-down metod, využívající vysokého proudu mezi dvěma vysoce čistými grafitovými elektrodami. Ty se zapojí právě do vysokého proudu v podtlaku a heliové atmosféře, což způsobí jejich sublimaci. Na katodě se po určitém časovém období objeví uhlíkové struktury, stejně jako na stěnách použité nádoby. Tímto způsobem byly připraveny úplně první uhlíkové tečky v roce 2004, nedopatřením při přípravě uhlíkových nanotrubiček.³

Elektrochemickou oxidací lze připravit CDs v různých elektrolytech, např. může být použit roztok hydroxidu sodného v etanolu či dokonce čistá voda. Metoda funguje na principu elektrochemického článku, při níž se použijí grafitické tyče jako elektrody (katoda i anoda), vhodný elektrolyt a správně zvolená intenzita protékajícího proudu.¹⁴

Bottom-up metody přípravy

Dehydratační metody pro přípravu CDs lze definovat jako způsob přípravy z organických prekurzorů v roztoku působením dehydratačního činidla. Po skončení reakce se odstraní rozpouštědlo i dehydratační činidlo a částice se rozdispergují do vhodného prostředí (i vodné). Jako prekurzor se často používají uhlovodíky (např. glukóza) či aminokyseliny, jako dehydrogenační činidlo se používají různé anorganické kyseliny (např. kyselina fosforečná nebo sírová).^{1,9}

Pyrolytické metody jsou metody přípravy CDs, při kterých se prekurzory vystaví vysoké teplotě, která způsobí napřed dehydrogenaci organických prekurzorů (kyselina citrónová, aminokyselin), posléze formaci nízkomolekulárních aromatických sloučenin a následně tvorbu CDs.^{1,9} Tato metoda se nejčastěji provádí v peci v tavícím kelímku při teplotě vyšší než 200 °C.

Mikrovlnné metody jsou další možností pyrolytické přípravy CDs, teplota zde však není definovaná, ale je způsobena až druhotně působením mikrovlnného záření. V tomto případě je směřodátný výkon mikrovln a doba působení.^{1,9}

Solvotermální metody přípravy CDs se nejčastěji provádějí v autoklávu za teploty vyšší než je teplota varu rozpouštědla. Roztok s prekurzory se vystaví vysoké teplotě

a tlaku, které způsobí vznik nanočástic. Pokud jsou prekuzory rozpuštěny v destilované/deionizované vodě, hovoří se o hydrotermální přípravě.^{1,9}

Metody přípravy CDs fluorescenčních v červené oblasti spektra

Jedna z nevýhod CDs oproti tradičním kvantovým tečkám je dosud málo publikovaných prací přípravy CDs s červenou fluorescencí. Chybějící emise v červené oblasti spektra je však důležitá z hlediska aplikace jak v biomedicíně, tak i v technických oborech. Tento nedostatek byl v posledním roce však překonán publikováním několika prací zabývajících se přípravou těchto CDs.

Například čínská skupina profesora Wanga připravila v roce 2015 vodnou disperzi červených CDs s hlavní emisí při 671 nm a kvantovým výtěžkem 39 %.¹⁵ Tyto CDs byly připraveny hydrotermální metodou z prekuzoru polythiofen polypropionové kyseliny, která byla připravena oxidační polymerizací. Za poznamenání však stojí fakt, že i prekuzor vykazuje fluorescenci v červené oblasti. O rok později publikovali obdobnou práci v časopise *Nanoscale*.¹⁶

V roce 2015 byla také publikována příprava červených CDs připravených solvotermální metodou z para-fenyldiaminu, přičemž CDs s červenou emisí (pík 604 nm) v ethanolu vykazovaly kvantový výtěžek 20 %.¹⁷ Syntéza byla v rámci této práce reprodukována (viz Experimentální část).

Problematiku červených CDs také řeší čínský patent CN104263366 zveřejněný v lednu 2016. Velmi stručně zde popisují přípravu CDs s emisí v rozmezí 600 – 670 nm z kyseliny citronové solvotermálně v organických rozpouštědlech. Další čínský patent CN104030269 zase připravuje CDs z cukrové třtiny působením kyseliny sírové a fosforečné.

2.2 Fluorescence uhlíkových kvantových teček

Fluorescence je přeskok elektronu z excitovaného stavu do základního za současného vyzáření elektromagnetického záření většinou o větší vlnové délce než má záření excitační. U CDs má na barvu jejich fluorescence vliv mnoho faktorů, např. funkční skupiny na povrchu, jejich vnitřní struktura, míra sp^2 -konjugace, rozpouštědlo nebo velikost. Při přípravách je nejnázší odhadnout velikost CDs právě pomocí barvy fluorescence, protože se zmenšujícím se rozměrem uhlíkové tečky se zvětšuje její zakázaný pás, proto je nutná větší energie pro excitaci elektronu ze základního stavu.

Větší energii má záření o menší vlnové délce, což je v modré oblasti spektra. Malé CDs (3 nm) mají proto fluorescenci v modré oblasti, u větších CDs (10 nm) se posouvá do červené oblasti. Toto pravidlo však většinou platí u systémů připravených top-down metodou. U bottom-up metod barvu fluorescence dramaticky mění povrchové skupiny.

2.3 Modifikace uhlíkových kvantových teček

Modifikace částic znamená změnu určité vlastnosti částice jako je povrchový náboj, povrchová skupina, hydrodynamický poloměr, hydrofilicita/hydrofobicita, toxicita aj. Částice při modifikaci nezískává novou unikátní vlastnost, zachovává si své stávající, které jsou nějak pozměněny – modifikovány. V některých případech je post-preparační modifikace u CDs nutná vzhledem k jejich cílené aplikaci (např. neutralizace či změna povrchového náboje vhodným polymerem pro biologické aplikace, oxidace pro zvýšení hydrofilicity aj.). U CDs se však velmi často používá pro modifikaci jejich fotoluminiscence (např. zvýšení kvantového výtěžku konjugací s polymerem).

2.4 Metody studia uhlíkových kvantových teček

Důležité parametry CDs, které dále ovlivňují možnosti jejich dalšího použití, jsou především jejich fluorescenční vlastnosti (především barva jejich nejintenzivnější fluorescence a kvantový výtěžek). Oba dva parametry jsou u materiálů přibližně zjištělné hned po přípravě a to na základě pozorování barvy a intenzity barvy vzorku po přiložení UV světla. Pro přesné určení těchto hodnot se dále používá fluorescenční spektroskopie. Dalším důležitým parametrem CDs je také jejich chemické složení. U CDs a u uhlíkových materiálů obecně nám např. Ramanova spektroskopie může poskytnout informaci o poměru sp^2 a sp^3 uhlíků, infračervená spektroskopie o typech vazeb přítomných ve vzorcích, ale nejpřesnější pro určení chemického složení CDs bývá metoda XPS (fotoelektronová spektroskopie). Tato metoda poskytne přesný poměr zastoupených prvků (kromě obsahu protonů, zjištělným pouze elementární analýzou), ale také konkrétní poměr typů vazeb (např. poměr vazeb C–C, C–O, C=O, O–C=O aj.).

Charakterizace velikosti CDs: pro určení velikosti CDs se využívá metoda transmisní elektronové mikroskopie, popř. transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením. Nevýhodou CDs oproti nanočásticím kovů a oxidů kovů je však

fakt, že jejich velikost je obtížně určitelná pomocí rozptylu světla (metody DLS) kvůli nepravidelnému tvaru uhlíkové tečky, intenzivní fluorescenci a také kvůli tomu, že CDs nemají pevnou krystalickou strukturu. Problém také nastává při transmisní elektronové mikroskopii v případě, že jsou CDs moc malé. Poté není dostatečný kontrast mezi samotnou uhlíkovou tečkou a uhlíkem, kterým je potažená měděná síťka, na kterou se vzorek po velkém naředění pro měření na TEM nanáší.

2.4.1 Transmisní elektronová mikroskopie

Transmisní elektronová mikroskopie je metoda používaná v materiálových vědách pro zobrazení nanočástic, jejich tvaru a velikosti. Poskytuje informace o struktuře a fyzikálních vlastnostech vzorků.

TEM pracuje na principu, který je obdobný jako u světelných mikroskopů, namísto světla se ale používá svazek elektronů, které jsou urychleny elektrickým polem, má elektromagnetické čočky a jako okulár se používá fluorescenční stínítko. Elektrony mají výhodnější vlastnosti než světlo, protože jsou nositeli záporného náboje, což je umožňuje v elektrickém poli urychlit na požadovanou rychlost a energii, a mají zanedbatelnou hmotnost v porovnání s protony či neutrony.¹⁸

Koherentní svazek elektronů, které jsou urychleny elektrickým polem na vysokou energii (stovky keV), dopadá na vzorek materiálu, který je ve formě tenké folie. Elektrony jsou na vzorku rozptylovány, hlavně do směru rovnoběžného s dopadajícím směrem, a mohou interagovat se vzorkem dvěma způsoby: pružná srážka (elektron předá část své energie atomu) a nepružná (energie je spotřebována např. na excitaci vnitřních elektronů ve vzorku).¹⁸

Obraz vzniká difrakcí elektronů o částice ve vzorku, elektrony, které projdou vzorkem, se poté detekují. Výsledný obraz je zvětšen elektronovou optikou, převeden na stínítko na viditelné záření a poté detekován kamerou (CCD).¹⁹

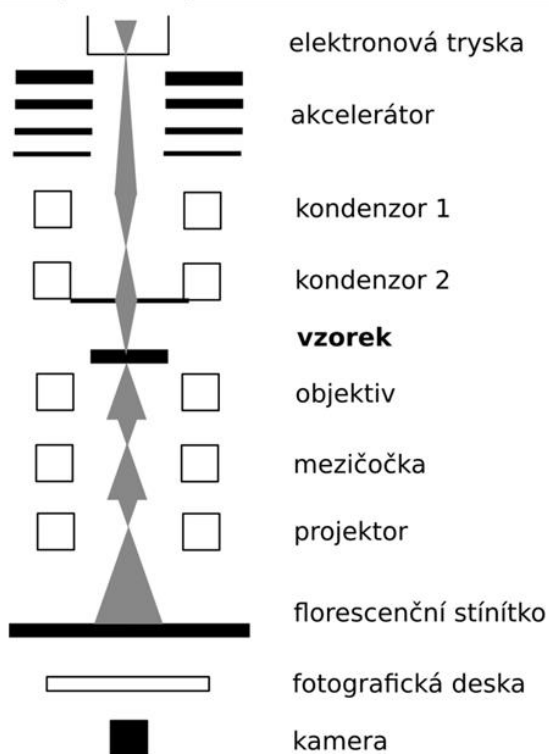
Základní částí TEM je optická soustava, která se dělí na osvětlovací a zobrazovací:

Osvětlovací se skládá z elektronové trysky, odkud vychází elektronový paprsek, a kondenzoru, kam paprsek dopadá. Kondenzor také promítá tento paprsek na vzorek a zajišťuje ozáření elektrony.¹⁸

Zobrazovací soustava se skládá z držátka vzorku, objektivu, projektivu, čoček a pozorovacím stínítkem. Vzorek se umístí do držáku, který je poté vložen do mikroskopu. Objektiv je nejvýkonnější čočka mikroskopu, zajišťuje největší možné zvětšení. Projektiv vytváří konečný obraz a je umístěn blízko fluorescenčního stínítka. Právě na stínítko je poté promítnut tento obraz a vzniká konečný černobílý obrázek vzorku.

Zdroje elektronů musí vykazovat dobrou proudovou hustotu elektronů, aby mikroskop správně pracoval. Nejvíce používané jsou termoemisioní zdroje, kdy dojde k zahřátí vlákna a unikání elektronů na základě průchodu elektrického proudu, např. wolframové vlákno nebo krystal hexaboritanu lanthanu (LaB_6). Wolframové vlákno má menší životnost, nižší výstupní energii a pro usnadnění úniku elektronů se ohýbá do tvaru V. Krystal LaB_6 emituje více elektronů, potřebuje vyšší vakuum a má vyšší životnost (1 rok).¹⁹

Vnitřní prostor, kde se pohybují elektrony, musí být celý vakuovaný. Je to kvůli snaze zabránit možným srážkám urychlených elektronů s molekulami vzduchu. Srážky by způsobily změnu energie elektronů a změnily by jejich směr pohybu (vychýlily by je z paprsku). Minimální vakuum je 10^{-5} Pa. Dalším důvodem pro pracování ve vakuu je eliminace kontaminace vzorku nebo vnitřku mikroskopu. Vakuový systém zajišťují vakuové vývěvy.¹⁸



Obrázek 4. Schéma transmisního elektronového mikroskopu s popisem jednotlivých částí.

Při použití transmisní elektronové mikroskopie lze využít dva režimy měření:

- Režim na světlé pole – paprsky přímo procházející preparátem tvoří obraz a ostatní paprsky jsou odcloněny clonou.
- Režim na tmavé pole – clona je nastavená tak, aby propustila pouze paprsky, které procházejí difrakčními maximy a zobrazují tedy jednotlivé částice materiálu ve vzorku.

Příprava vzorku na TEM – analyzovat se dají pouze částice v roztoku a velice výjimečně práškové materiály. Při analýze částic v roztoku je požadováno velmi vysoké naředění. Poté se kapka naředěného roztoku nanese na měděnou mřížku potaženou uhlíkem a nechá se dokonale uschnout.

Informace, které se získají z obrazu transmisního elektronového mikroskopu, vypovídají o rozměrech, morfologii, identifikaci obalení částic, určení, zda je látka krystalická či amorfni.

2.4.2 Transmisní elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením

Transmisní elektronový mikroskop s vysokým rozlišením (High Resolution Transmission Electron Microscope = HRTEM) pracuje na stejném principu jak transmisní elektronový mikroskop, ale jeho strukturní rozlišení je vyšší – až méně než 0,2 nm. Toto rozlišení je dosaženo díky interferenci, která probíhá zároveň s difrakcí elektronu na vzorku. Interference je mezi difraktovaným a přímým paprskem elektronů a zajišťuje atomární rozlišení.

2.4.3 Fotoelektronová spektroskopie

Fotoelektronová spektroskopie (anglicky X-ray photoelectron spectroscopy), někdy také označována jako ESCA (Electron spectroscopy for chemical analysis) je spektroskopická metoda využívající interakci rentgenového záření s látkou. Rentgenové záření je vysokoenergetické elektromagnetické záření o vlnové délce 0,1 – 10 nm, je velmi pronikavé, má excitační, luminiscenční, fotochemické a biologické účinky.

Zdrojem může být rentgenka (používaná v laboratořích) nebo synchrotron. V rentgence RTG záření vzniká dopadem elektronů na anodu. Tento dopad je způsoben

velkým napětím mezi elektrodami. Většina energie z dopadajících elektronů (90%) se mění na teplo, pouze malé množství se uvolňuje ve formě RTG záření.

Princip XPS je založen na využití fotoelektronového jevu, což je proces, při kterém jsou elektrony emitovány z látky díky absorpci elektromagnetického záření, které má vhodnou energii a vlnovou délku, nejčastěji RTG záření. Tyto emitované elektrony jsou nazývány jako fotoelektrony.

Pokud se elektrony uvolňují a vylétují z látky do okolí – vnější fotoelektrický jev, pokud se elektrony uvolňují dovnitř látky a nevylétují – vnitřní fotoelektrický jev. Elektrony z atomů mají specifické energie, záchytem elektronů detektorem se tyto energie změří a dle nich se určí povrchové složení vzorku.

XPS slouží jako metoda pro kvalitativní i kvantitativní analýzu vzorku.

2.4.4 Fluorescenční měření

Pro zhruba charakterizaci fluorescence uhlíkových kvantových teček velmi často postačí kontrola připraveného vzorku pod UV lampou. Pokud připravený vzorek jeví fluorescenční vlastnosti a to již při kvantovém výtěžku 0,5 %, je zrakem patrná i přibližná vlnová délka pod excitací na 365 nm. Vzorek bude vykazovat modrou barvu, pokud emituje ve vlnových délkách 400 – 480 nm, zelenou při emisi na 480-550 nm, žlutou při 550 – 590 nm, oranžovou 590 – 630 nm a červenou při vlnové délce vyšší než 630 nm. Důležité však je, aby vzorek byl dostatečně naředěný a nevykazoval autoabsorbci, což je pro uhlíkové tečky dost častý jev.

Lepší informace však poskytne fluorescenční spektrometr – tento přístroj využívá fotoluminiscenčního jevu, kdy je látka excitována monochromatickým zářením, které excituje elektrony na vyšší energetické hladiny. Při návratu na základní hladinu elektron vyzáří foton o větší vlnové délce než je excitační záření, nebudeme-li uvažovat dvoufotonové excitace. Tento vyzářený foton je detekován v kolmém směru od původního záření, jeho signál je zvětšen fotonásobičem a detekován. Pomocí fluorimetru lze určit i kvantový výtěžek vzorku, což je poměr emitovaných světelných kvant (N_e) a absorbovaných světelných kvant (N_a) za sekundu.

2.4.5 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie je spektroskopická metoda, která může poskytnout kvalitativní (funkční skupiny, identifikace látky) i kvantitativní (Lambert-Beerův zákon) informace o zkoumané látce. Je založena na interakci elektromagnetického záření s molekulou při průchodu záření vzorkem. Podmínkou je změna dipólového momentu při absorpci (dipólový moment může být permanentní nebo indukovaný právě vibrací). Při asymetrické vibraci např. molekuly CO_2 se mění právě dipólový moment molekuly, proto je pozorovatelná v infračerveném spektru.

Spektrální čáry v oblasti $500 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ reprezentují skeletální vibrace molekul, tato oblast se nazývá jako oblast otisku prstu – dle těchto spekter lze identifikovat neznámou látku porovnáním s knihovny. Vibrace na vyšších hodnotách recipročných centimetrů lze poté přiřadit k charakteristickým vazbám typu: $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$ (aromatické), $\text{C}-\text{H}$, $\text{O}-\text{H}$, $\text{N}-\text{H}$ a jiné.

2.4.6 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je metoda, pomocí které se zjistí informace o funkčních skupinách a hybridizaci uhlíku (struktura látky). V případě uhlíkových teček jde především o poměr tzv. D-pásu a G-pásu, které vypovídá o množství sp^3 uhlíku (nebo také množství poruch) a sp^2 uhlíku (aromaticitě vzorku).

Tato metoda je založená na Ramanově rozptylu dopadajícího záření – tento rozptyl je neelastický (odlišná energie záření, které dopadne na vzorek, a záření, které se odrazí). Podstatou je zářivý dvoufotonový přechod mezi dvěma stacionárními vibračními stavy molekuly. Vzorek je ozářen silným monochromatickým zářením, většina záření se rozptýlí elasticky (Rayleighův rozptyl), malá část záření se rozptýlí neelasticky (1 foton z milionu). To způsobí posun vlnové délky (Stokesovy a antiStokesovy linie okolo hlavní Rayleighovy linie ve výsledném spektru).

Pro interpretaci spekter se musí použít filtr, který odfiltruje Rayleighovy srážky (velmi intenzivní) a antiStokesovy linie.

Podmínka pro aktivitu látky v Ramanově spektroskopii je změna polarizovatelnosti molekuly při vibraci. Polarizovatelnost je míra rozložení náboje molekuly, či deformace jejího elektronového oblaku. Při symetrické vibraci molekuly

se polarizovatelnost mění, proto je symetrická vibrace molekuly viditelná a detekovatelná.

Při Ramanově spektroskopii se nejedná o absorpci záření, detekuje se intenzita záření rozptýleného ve směru kolmém na směr paprsku excitačního, hodnotí se rozdíly energie, excitačních linií a jednotlivých Stokesových linií.

2.5 Aplikace uhlíkových kvantových teček

Chalkogenitové kadmium-selenidové kvantové tečky (CdSe), které se nyní používají v celé řadě aplikací, mají řadu nevýhod, které se u CDs nevyskytují, proto CDs mají potenciál je nahradit. Hlavní nevýhodou u CdSe teček je jejich vysoká toxicita. Kadmium i selen jsou vysoce toxické prvky pro živé organismy i pro životní prostředí, kadmium je potvrzený karcinogen.²⁰ CDs se na rozdíl od kovových teček vyznačují dobrou biokompatibilitou díky svému prvkovému složení. Jejich velký potenciál je tedy v biologických aplikacích. Také většina jejich příprav je šetrná k životnímu prostředí.⁹

2.5.1 Analytické aplikace

Silná fluorescence CDs, ať již původní nebo vytvořená funkcionalizací, je citlivá na určité chemické parametry, čímž dělá z CDs výborné nanosenzory použitelné v analytických aplikacích. Citlivost je dána druhem teček a také závisí na jejich přípravě.

Fluorescence některých typů CDs se mění při změně pH. V jedné ze studií měly CDs při pH = 7 fluorescenci nejvyšší a s nárůstem i poklesem pH se měnila, proto bylo možné je použít pro senzory na měření pH (pouze v určitém rozmezí) a následně výpočet disociační konstanty (respektive její logaritmické formy pK).²¹

Další analytickou aplikací CDs (získaných ze sazí) je detekce určitých iontů kovů. Přídavkem Mn, Ni, Co, Cu do vodného roztoku s CDs se fluorescence snížila, ale přídavkem Mg, Pb, Cd o stejné koncentraci se nezměnila.²² Na stejném principu změny fluorescence je založená tvorba nanosenzorů s CDs získaných laserovou ablací, které mají na povrchu funkční skupiny. Dané CDs vytváří komplexy Hg za optimálního pH a přitom se mění i jejich fluorescence. Citlivost těchto nanosenzorů je relativně vysoká, zachytí již mikromolární koncentraci kovů.²³

Změna fluorescence je klíčová také při detekci fosfátů (tzn. fosfátová off-on sonda). CDs připravené z organických kyselin mají hodně karboxylových skupin,

na které se následně naváže ion europia, což způsobí pokles fluorescence. Po přidání fosfátových iontů do roztoku se europium odtrhne od CDs a vytvoří komplex s fosfátem. Na povrchu CDs již nebude navázáno, což vyústí v nárůst fluorescence. Detekční limit je v řádech 10 nanomolárního roztoku.²⁴

2.5.2 Technické aplikace

Technické aplikace CDs jsou velice rozmanité a slouží v různých odvětvích, ať v elektronice či v nových způsobech získávání energie.

V elektronice mají CDs potenciál při výrobě LED-diod. V jedné z prvních studií aplikující CDs jako elektroluminiscenční vrstvu (Zhang, 2013) byly použity CDs o velikosti 3,3 nm jako 20 nm emitující vrstva. Díky specifickým vlastnostem CDs bylo poté možné volit barvu diody změnou napětí, kdy zvýšení vedlo k posunu z modré do fialové barvy.²⁵

Správně modifikované CDs se dají využít také jako katalyzátory organických reakcí. V jedné z nedávných studií byly připraveny CDs z grafitové tyče a následně vystaveny kyselině sírové, aby získaly na povrchu -HSO_3 skupiny. Takto modifikované produkovaly pod vlivem viditelného světla a změny pH vodíkové kationty, které katalyzovaly organické reakce s otevřením kruhu, např. u epoxidů s methanolem a ostatními primárními alkoholy.²⁶

Stále populárnější jsou alternativní způsoby získávání energie, které jsou šetrné k životnímu prostředí. Příkladem jsou solární články kombinující TiO_2 (anatasy) a CDs, které byly připravovány z kyseliny citronové a amoniaku. Připravený systém po excitaci simulovaným slunečním světlem generoval excitované elektrony s účinností 0,79 %. CDs zde tak byly využity jako látky zvyšující citlivost na sluneční záření v solárních článcích.²⁷

Jedna z dalších progresivních aplikací je štěpení vody na vodík za působení slunečního světla. V jedné z nedávných studií byly připraveny CDs z kyseliny citrónové, které po ozáření produkovali fotoelektrony, které následně putovali ke komplexu niklu s bis(difosfinem), který byl taktéž přítomen ve vodném roztoku. Tento komplex již má katalytickou aktivitu, která štěpí vodu na vodík. Jako donor elektronů v roztoku sloužila EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina). Za jednu hodinu byl tento systém schopen vyprodukovat téměř 400 μmol vodíku na gram CDs.²⁸

2.5.3 Biologické aplikace

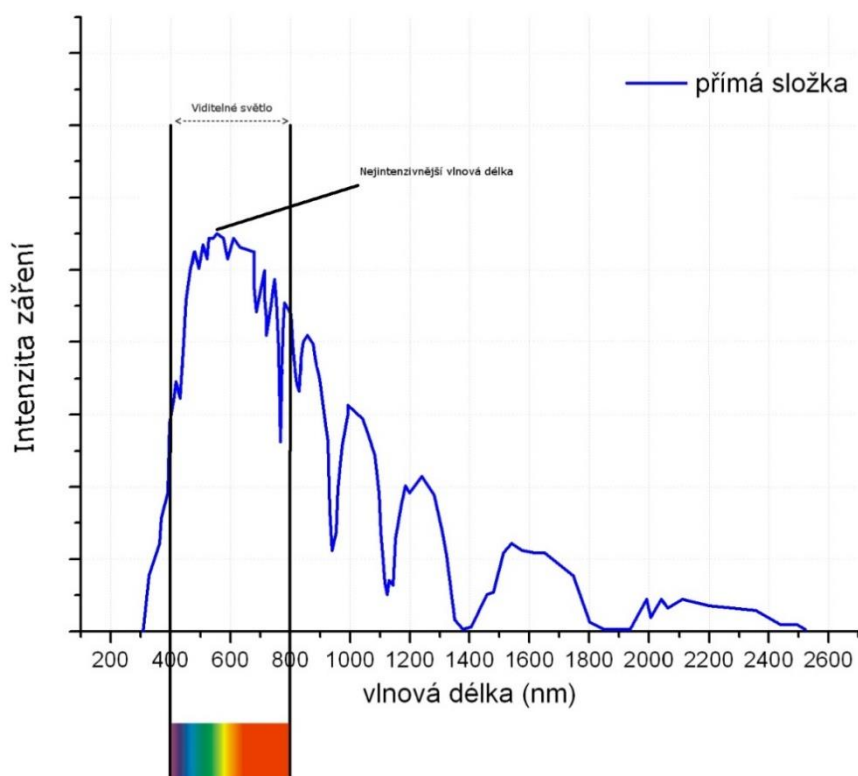
Použití CDs v biologických aplikacích je výhodné majoritně kvůli jejich nízké toxicitě a biokompatibilitě. Oproti organickým fluorescenčním značkám však také mají výhodu v tom, že u nich nedochází k tzv. fotovybělování. Díky jejich fosforescenci se dají použít při zobrazování tkání v živých organismech, a také při značení buněk. Při přípravě CDs pro biologické aplikace, se však musí velice důsledně postupovat při jejich finální purifikaci. Tedy aby vodný roztok CDs pro biomedicínské použití neobsahoval prekuzory ze syntézy, zbytková rozpouštědla, zbytkové kyseliny či zásady a je také důležité se vyhnout bakteriální kontaminaci.

Většina dosud připravených CDs našla své uplatnění především pro značení buněk. Pro *in vivo* použití (pro zobrazování tkání v myších) však uhlíkové tečky ještě mnohokrát použity nebyly a to zejména proto, že CDs vykazují nejčastěji modrou či zelenou fluorescenci, která pro zobrazování v organismu není moc vhodná kvůli penetraci skrz tkáň. Jejich výhodou však zůstává výborná biodistribuce (tedy jejich cesta organismem po žilním podání). Velmi rychle se totiž vylučují močí díky své malé velikosti.²⁹ Neakumulují se tedy v játrech, kde končí většina nanočástic a kde je možnost vyvinutí se chronické toxicity. Na druhou stranu se velmi dobře mohou akumulovat v nádorové tkáni, jak bylo pozorováno v jedné z mála studiích, která byla dosud publikována na *in vivo* zobrazování pomocí CDs. Díky tomuto faktu mají CDs velký potenciál nejen pro zobrazování nádorových tkání, ale také pro dopravu léčiv do těchto oblastí. Jsou dva způsoby pro navázání léčiva na CDs, jedním je kovalentní či nekovalentní navázání na jejich povrch a druhým je uchycení léčiva uvnitř jejich struktury, např. při dutých CDs.³⁰ Takto upravené se vpraví do organismu, pronikají do buněk a následně v buňce se spustí uvolňovací mechanismy (drug-release), například při změně pH (v lysozomech – organely v buňce) se léčivo uvolní do buněčného cytosolu.³¹ Dalším způsobem léčby pomocí CDs je fototermální léčba, která je založena na fototermální excitaci. Vzorek se ozáří elektromagnetickým zářením a uvolní teplo. Tuto vlastnost lze uplatnit při cílené léčbě např. nádorů, protože nádorové buňky jsou citlivější na teplo.¹⁵

3 CÍL PRÁCE

Náplní práce byla reprodukce různých způsobů přípravy uhlíkových teček a modifikace některých z nich. Jedním z cílů práce bylo také seznámit se s různými způsoby příprav CD, s jejich charakterizací a také s metodami purifikace CD jako ultrafiltrace, precipitace různými rozpouštědly, dialýza či chromatografická purifikace na koloně. Hlavním cílem práce však byla jednoduchá a reprodukovatelná příprava uhlíkových teček s červenou fluorescencí nebo alespoň se žlutou fluorescencí, které jsou vhodné pro bioaplikace, popř. i technické aplikace.

Hlavní motivací pro přípravu těchto uhlíkových teček je fakt, že červené světlo má největší pronikavost tkání, což je velmi důležitý parametr pro možné budoucí bioaplikace CD. Zároveň tečky emitující při vlnových délkách 600 nm a výše mají excitační oblast 480 - 570 nm (obrázek 5), tedy v oblasti nejvyšší intenzity slunečního světla. Tento parametr je pro změnu důležitý pro technické aplikace jako solární články či solární štěpení vody.



Obrázek 5. Spektrum slunečního záření, s vyznačením viditelné oblasti spektra s barevným intervalem a nejintenzivnějšího píku, který je přibližně u 550 nm.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Chemikálie

Veškeré chemikálie a rozpouštědla, které byly použity v rámci příprav CDs, které jsou uvedeny níže, byly pořízeny od společností Sigma Aldrich, Lach:ner či PENTA a byly použity bez předchozího čištění.

4.2 Purifikace připravených částic

Purifikace, které byly prováděny v rámci čištění připravených CDs od prekurzorů či nežádoucích nízkomolekulárních látek, byly prováděny následujícím způsobem.

Centrifugace byla prováděna v centrifuze Centrifuge Benchtop 4-16K od firmy Sartorius v plastových zkumavkách s objemem 50 ml se šroubovacím uzávěrem. Zkumavky se vzorkem byly umístěny do centrifugy tak, aby byly vyvážené, a otáčky byly nastaveny nad 6000 rpm. V případě použití ultracentrifugace byl použit filtr Millipore o hodnotě cut-off 3 000 Da.

Dialýza byla prováděna v pětilitrové kádince ve střevěch se šířkou 32 nm od firmy Sigma Aldrich (pro separaci složek s molekulovou hmotností pod 1200 od složek s molekulovou hmotností nad 2000 – 2 kDa). Vhodně dlouhé střevo bylo na jednom konci uzavřeno klipsou, poté byl do něj vlit vzorek a střevo bylo zavřeno i z druhé strany klipsou. Takto připravené bylo vloženo do kádinky s destilovanou vodou a za stálého míchání bylo ponecháno potřebný čas s pravidelnými výměnami vody.

Chromatografické přečištění na koloně bylo prováděno na úzké koloně se silica gelem (Sigma Aldrich, velikost pórů 60 Å, velikost částic v rozmezí 200-400 nm). Silica gel byl smíchán s ethanolem v kádince a poté byl po částech opatrně nalit do kolony, přičemž se vždy čekalo, než ethanol z kolony vytekl, ale ne tak dlouho, aby silica gel zaschl. Po naplnění celé kolony byly nanесeny 2 ml vzorku kapátkem, nechaly se zasáknout a následně byly promývány různými rozpouštědly za současného odebrání frakcí. Při dělení fluorescenčních CDs byla používána přenosná UV lampa pro detekci CDs v koloně.

Precipitace vzorku acetonem byla provedena tak, že ke vzorku bylo přidáno čtyřnásobné množství acetonu, vzorek byl protřepán a zcentrifugován. Supernatant

(kapalina nad sraženinou) byla slita a dále zpracovávána, precipitát (sraženina) byl zpracováván obdobně.

4.3 Metody charakterizace

Snímky CDs z HRTEM byly pořízeny FEI Titan elektronovým mikroskopem při 80 kV. XPS spektra byly měřeny PHI VersaProbe II (Physical Electronics) spektrometrem (Al – K α , 15 kV, 50 W) ve vakuu za pokojové teploty. Spektra byla vyhodnocena programem MultiPak. Spektra z infračervené spektroskopie byla pořízena IR spektrometrem s Fourierovou transformací iS5 Thermo Nicolet s ZnSe krystalem. Fluorescenční spektra byla měřena FLS980 fluorescence spectrometer (Edinburgh Instruments) s 450 W xenonovou výbojovou lampou. Zeta-potenciál byl měřen přístrojem Zetasizer Nano ZS (Malvern).

4.4 Použité syntetické postupy přípravy CDs

V rámci experimentální práce byly reprodukovány a také modifikovány dosud známé syntetické postupy příprav CDs, které emitují nad 550 nm. Připravené CDs byly poté testovány, zda vykazují fluorescenční vlastnosti (tj. kontrola barvy a intenzity fluorescence pod UV-lampou). Nejzdařilejší syntetické postupy byly posléze materiálově plně charakterizovány.

4.4.1 Příprava CDs z glukózy a kyseliny glutamové

V roce 2014 byla publikována příprava CDs s hlavní emisí na 550 nm a kvantovým výtěžkem přes třicet procent. Tyto částice byly připraveny pyrolýzou glukózy a kyseliny glutamové.³² Postup byl kvůli nejednoznačnosti experimentální sekce článku reprodukován několika způsoby.

Vždy se pracovalo se stejným množstvím chemikálií (0,3 g kyseliny glutamové a 0,04 g glukózy) a deionizovanou vodou.

1) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se minutu zkapalňovat, poté byla vhozena do baňky glukóza a baňka vyjmuta z topného hnízda. Následně se čekalo, než baňka vychladne na 50 °C.

Po vychladnutí na požadovanou teplotu bylo vlito do baňky 5 ml deionizované vody a hnědá sraženina se rozpustila.

2) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se dvě minuty zkapalňovat, poté se přidala glukóza za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout a byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

3) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se v ní minutu, poté byla baňka vyjmuta z hnízda a následně byla přidána glukóza. Baňka se nechala zchladnout na požadovanou teplotu a byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

4) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se rozpustit a okamžitě po rozpuštění byla přidána glukóza a baňka se vyjmula z topného hnízda. Nechala se zchladnout a poté byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

5) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, dvě minuty se nechala v baňce, následně k ní byla přidána glukóza a zároveň se baňka se vyjmula z hnízda. Po dosažení požadované teploty byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

6) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se jednu minutu zahřívát, než se roztavila, poté byla přidána glukóza za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout a byla vlita se deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

7) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se zahřívát dvě minuty, poté se přidala glukóza za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout na 70 °C a byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

8) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se jednu minutu zahřívát, než se roztavila, poté byla přidána glukóza za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout na 80 °C a byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

9) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se rozpustit a okamžitě po rozpuštění byla přidána glukóza a baňka se vyjmula z topného hnízda. Nechala se zchladnout na 70 °C a poté byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

10) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová společně s glukózou, látky se nechaly rozpustit a okamžitě po rozpuštění se baňka vyjmula z topného hnízda. Nechala se zchladnout a poté byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

11) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se jednu minutu zahřívát, než se roztavila, poté se přidal dvojnásobek původního množství glukózy za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout na 70 °C a přidala se deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

12) Baňka byla vyhřívána v topném hnízdě na 200 °C, byla do ní vhozena kyselina glutamová, nechala se 3 minuty zahřívát, než se roztavila, poté byl přidán dvojnásobek původního množství glukózy za současného vyjmutí baňky z hnízda. Následně se baňka nechala zchladnout na 70 °C a byla vlita deionizovaná voda, která sraženinu rozpustila.

4.4.2 Příprava CDs z betainu

V roce 2012 se podařilo připravit CDs s kvarterní amoniou skupinou na povrchu vykazují modrou fluorescenci. Tyto CDs se připravují z betainu a TRIS báze. V rámci této práce byla hledána optimální teplota přípravy (3 různé teploty, při kterých probíhala pyrolýza).³³

Do kádinky se navázilo 4,5 g betainu a materiál byl rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Poté bylo naváženo 3,6 g TRIS báze a opět byl materiál rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Tyto dva roztoky byly následně smíchány, převedeny do velké kádinky a zality 200 ml isopropanolu. Roztok se nechal 5 minut sedimentovat a poté byla svrchní fáze slita. Následně byl vznikající „sirup“ promyt 3x isopropanolem bez sedimentace a přenesen do keramického kelímku, který vydrží vysoké teploty. Sirup byl 20 hodin sušen při 70 °C, důkladně promíchán a poté pyrolyzován 2 hodiny při vysoké teplotě (připravovaly se 3 vzorky při jiných teplotách – Vzorek č. 1 při teplotě 240 °C, Vzorek č. 2 při teplotě 250 °C a Vzorek č. 3 při teplotě 260 °C, teplota byla kontrolována termometrem se záznamem připojeným k počítači). Po uplynutí 2 hodin byl vyjmut z trouby černý „muffin“. Horní část byla uříznuta a vyhozena, do zbytku se vlilo 25 ml destilované vody a veškerý materiál z kelímku se v ní rozpustil. Roztok byl poté zfiltrován přes filtrační papír, převeden do velké kádinky a přelit 200 ml acetonu. Vzniklá sraženina se nechala sedimentovat a poté byla 3x promyta acetonem. Vzniklý roztok byl zcentrifugován a ponechán v digestoři, aby se zbylý aceton odpařil.

4.4.3 Příprava CDs oxidací sazí

V rámci naučení se syntetických postupů byla testována i metoda přípravy CDs technikou top-down. Byly reprodukovány CDs s žlutou fluorescencí připravených oxidací sazí vzniklých při pálení svíčky.³⁴

Keramická miska byla opalována voskovými svíčkami a sbíraly se saze, které se na ní uchytily, než byla jejich hmotnost 400 mg. Saze byly vloženy do 200 ml 5 M HNO₃, roztok byl zahříván na 110 °C pod zpětným chladičem po dobu 36 hodin. Tato směs byla poté zcentrifugována pro odstranění velkých uhlíkových agregátů (13 500 rpm) a roztok nad peletem byl odpařen na rotační vakuové odparce, aby se vzorek zkoncentroval a zároveň pro odstranění přebytečné kyseliny. Koncentrovaný roztok byl zneutralizován roztokem NaOH a dán na dialýzu na 5 dní (membrána s póry o velikosti 2 kDa). Poté byl zakoncentrován na objem 20 ml, zneutralizován roztokem NaOH a přefiltrován přes 200 nm filtr.

4.4.4 Příprava CDs solvotermální pyrolýzou fenyldiaminu a modifikace

V roce 2015 byla publikována práce popisující přípravu modře, zeleně a červeně fluorescenčních CDs z meta-, ortho- a para-fenyldiaminu solvotermálním přístupem.¹⁷

Připravený systém však byl připraven a charakterizován pouze v ethanolovém roztoku. Postup byl reprodukován a následně byly testovány metody převedení do vodného prostředí pro možné bioaplikace.

Bylo naváženo 0,1 g fenyldiaminu, materiál byl rozpuštěn v 10 ml ethanolu. Získaný roztok byl vlit do autoklávu. Ten byl vložen do sušárny nastavené na 180 °C na dobu 12 hodin. Následně byl roztok s CDs z p-fenyldiaminu separován na chromatografické koloně na 5 frakcí, aby došlo k oddělení prekurzorů a fluorescenčních CDs. Kolona byla připravena ze silica gelu s velikostí póru 60 Å, který byl smíchán s methanolem a nalit do kolony. Následně byly nanесeny 2 ml CDs, nechaly se zasáknout a byly promývány nejprve chloroformem (žlutá a oranžová frakce), následně ethanolem (světle a tmavě červená frakce) a nakonec směsí čpavku a ethanolu (1% čpavek a ethanol v poměru 1:1) pro získání poslední tmavé frakce.

Modifikace CDs z p-fenyldiaminu pro rozpustnost a stabilitu ve vodě:

Fluorescenční frakce z kolony (červené barvy a vykazující červenou fluorescenci) byla posléze odpařena dosucha na rotační vakuové odparce. Odparek byl následně zalit deionizovanou vodou a byl rozdispergován v ultrazvuku. Následně byl vzorek ponechán stát při pokojové teplotě.

Pro použití v bioaplikacích byly CDs dále modifikovány: Vzorek byl naředěn na koncentraci 1 mg/ml CDs, k 5 ml tohoto roztoku bylo přidáno 2 mg PEG (Polyethylenglykol; MW 2000 Da s koncovou amino skupinou) a roztok byl refluxován po dobu 24 hodin, čímž dochází ke vzniku peptidické vazby.

Obdobně byl vodný roztok CDs smíchan s 2 mg PEG-NH₂, bylo však přidáno 1,1 molárního ekvivalentu 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidu hydrochloridu (EDC) a stejné molární množství N-hydroxosukcinimidu (NHS) (molární ekvivalent je vztažen na množství NH₂- skupin PEGu). Roztok byl ponechán míchat po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě.

Dále byl ethanolový roztok převeden do vodné disperze pomocí Pluronicu F-127 (neionický kopolymer; polaxymer). Ethanol byl odpařen na vakuové odparce a vysušené CDs byly následně rozdispergovány v chloroformu (1 mg/ml). K 5 ml této disperze bylo přidáno 5 ml vodného roztoku Pluronicu o koncentraci 0,2 mg.ml⁻¹. Nemísitelné frakce byly vzájemně protřepávány po dobu 20 minut. Vodná frakce poté byla odebrána a ponechána pro následné testování.

4.4.5 Příprava v mikrovlnné troubě z o-fenyldiaminu, p-/o-fenyldiaminu

Izomery fenyldiaminu jsou studovanými a vzájemně porovnávanými látkami kvůli snadné přípravě různých CDs. Příprava CDs pomocí mikrovlnné trouby z ortho- a para- izomeru byla reprodukována i v této práci.³⁵

Byly připraveny 3 vzorky: vzorek č. 1 – roztok byl vystaven mikrovlnnému záření 16 minut, vzorek č. 2 – roztok byl vystaven mikrovlnnému záření 14 minut, vzorek č. 3 – pracovalo se s oběma izomery (ortho i para) a roztok byl vystaven mikrovlnnému záření 13 minut.

Do tlustostěnné baňky bylo naváženo 0,4 g o-fenyldiaminu (ve vzorku č. 3 0,2 g o-fenyldiaminu a 0,2 g p-fenyldiaminu), přidáno 20 ml deionizované vody a roztok byl zamíchán. Poté se baňka zahřívala v mikrovlnné troubě na maximální výkon daný čas.

Poté se počkalo, až baňka zchladne, a hnědá sraženina (v případě vzorku č.3 červená) byla rozpuštěná ve 20 ml deionizované vody.

4.4.6 Příprava z močoviny a p-fenyldiaminu

Stejná skupina, která publikovala přípravu CDs z různých typů fenyldiaminů, publikovala i přípravu CDs z močoviny a p-fenyldiaminu hydrotermálním přístupem (tedy ve vodném roztoku).³⁶ Připravené CDs byly posléze separovány na chromatografické (silika) koloně ethylacetátem a ethanolem. CDs podle stupně hydrofilicity/hydrofobicity (stupně oxidace) vykazovaly modrou až červenou fluorescenci, nejintenzivnější však byla červená fluorescence.

Dle navážek z tabulky 2 bylo vždy dané množství chemikálií rozpuštěno ve 20 ml deionizované vody, roztok byl přelit do autoklávu a ten byl vložen do sušárny na danou teplotu a daný čas. Následně byla změřena fluorescenční spektra a kvantový výtěžek.

	p-fenyldiamin			
Močovina	0,2 : 1	0,5 : 1	0,8 : 1	1 : 1
Reálná navážka [g]	0,016 : 0,08	0,04 : 0,08	0,064 : 0,08	0,08 : 0,08
Označení vzorku	A	B	C	D

Tabulka 1. Tabulka shrnující přípravu 4 vzorků dle uvedené syntézy při 150 °C a 5 hodinách. V prvním řádku dat jsou uvedeny poměry, ve kterých se míchají dvě hlavní chemikálie, ve druhém řádku jsou již vypočtené navážky chemikálií.

4.4.7 Příprava z močoviny a kyseliny citronové

V rámci práce byla také testována solvotermální syntéza CDs z kyseliny citronové a močoviny. Obvykle se tato syntetická procedura provádí ve vodných roztocích a poskytuje velmi intenzivní zelenou či modrou fluorescenci.³⁷ V následujících krocích jsme použily stejné syntetické podmínky, pouze místo vody jsme testovaly jiná organická rozpouštědla jako dimethylformamid, formamid a N-methylpyrrolidon.

Syntéza byla prováděna následujícím způsobem: Byly naváženy 2 g močoviny a 1 g kyseliny citronové, rozpustily se v 10 ml organického rozpouštědla a roztok byl převeden do autoklávu, který byl následně umístěn do sušárny na 6 hodin na 160 °C.

Po charakterizaci fluorescence (viz výsledková část) byl roztok dále přečištěn. Získaná reakční směs byla po přípravě převrstvena acetonem v objemovém poměru 1 díl

ku 4 dílům acetonu. Během přidávání acetonu se roztok zakalil, tj. došlo k precipitaci části vzorku. Směs byla posléze zcentrifugována na 5000 xg. Roztok nad precipitátem byl slit, aceton byl odpařen ponecháním v digestoři. Získané částice byly poté dispergovány ve vodě v ultrazvukové lázni a dále charakterizovány.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 CDs z glukózy a kyseliny glutamové

Reprodukce přípravy CDs pomocí rychlé pyrolýzy organických prekurzorů (glukózy a kyseliny glutamové) na skle reakční baňky vyhřáté na vysokou teplotu byla testována mnoha způsoby. Veškeré postupy však nevedly ke kýženému výtěžku, tedy k CDs s hlavní emisí v žluté oblasti (550 nm) a kvantovému výtěžku 37,5%.³² Ani jedna z příprav uvedených v experimentální sekci neposkytla CDs, které by vykazovaly fluorescenci pod UV lampou, některé z experimentů dokonce nebyly ani rozpustné ve vodě. Tento typ syntézy (okamžitá pyrolýza organických prekurzorů) se tedy nejeví jako jednoduše reprodukovatelná.

5.2 CDs z betainu

Reprodukování syntetického postupu přípravy CDs s kvarterní amoniou skupinou na povrchu solid-state pyrolýzou v keramickém kelímku v peci bylo úspěšně zvládnuto. Výsledné CDs (při pyrolýze na 250 °C) vykazovaly fluorescenci v modré oblasti při pozorování pod UV lampou i hodnoty zeta-potenciálu (+32 mV, při pH 7). Ostatní testované teploty nevykazovaly při přípravě důležité vlastnosti, např. při syntéze za vysoké teploty roztok vůbec neprecipitoval při vysrážení acetonem. U CDs připravených při teplotě 240 °C nebylo zase možné změřit zeta-potenciál.

5.3 CDs z oxidovaných sazí

Reprodukce přípravy CDs oxidací sazí kyselinou dusičnou byla úspěšná, výsledné CDs byly rozpustné ve vodě, vykazovaly časovou stabilitu v roztoku (viditelně neagregovaly po několika měsících) a vykazovaly poměrně silnou fluorescenci v žluté oblasti při pozorování pod UV lampou. Velkou nevýhodou této syntézy je dlouhá doba nutná k získání potřebného množství sazí ze svíček, což dělá tuto syntézu nevýhodnou z hlediska přípravy většího množství potřebného pro aplikace. Za povšimnutí také stojí fakt, že před přečištěním vzorku dialýzou vykazoval roztok zelenou fluorescenci, po několikadenní dialýze žlutou. Tento fakt je nejspíše způsoben velikostí pórů dialyzační membrány, které propouští menší CDs se zelenou fluorescencí.

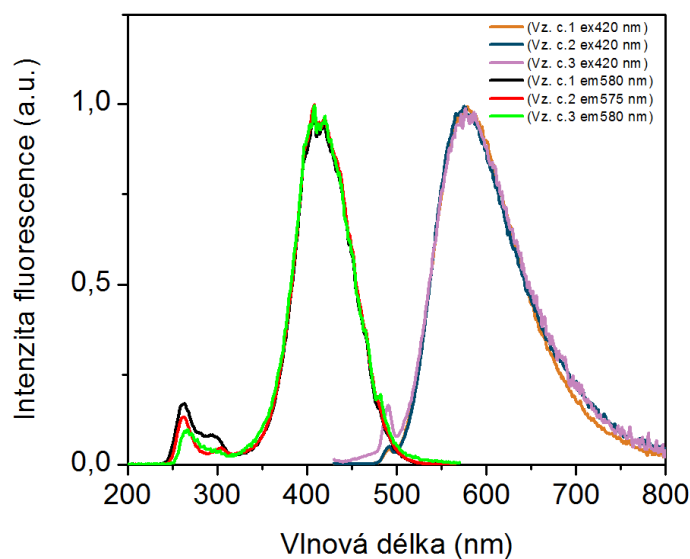
5.4 CDs ze solvotermální přípravy z fenyldiaminu a následné modifikace

Poměrně úspěšnou syntézou byla příprava CDs z p-fenyldiaminu v ethanolu za vysoké teploty. Poprvé byly připraveny CDs vykazující dobře znatelnou červenou fluorescenci pod UV zářením. Jejich modifikace (odpařením ethanolu na vakuové odparce a následná dispergace v ultračisté vodě) pro rozpustnost a stabilitu ve vodě byla úspěšná, roztok CDs stále vykazoval červenou fluorescenci. Nicméně CDs byly stabilní ve vodném prostředí pouze omezenou dobu, po 2 týdnech se již v roztoku začaly objevovat sraženiny. Proto byly pro omezení agregace CDs ve vodném roztoku modifikovány nejprve polyethylglykolem a poté polyethylenglykol-aminem, čímž vznikla peptidická vazba, ale ani tyto modifikace výrazně nepomohly pro lepší stabilitu. Nakonec byly CDs modifikovány Pluronicem F-127, což výrazně pomohlo k stabilitě systému a nebyly znatelné stopy agregace. Po této modifikaci však částice ztratily své fluorescenční chování.

5.5 CDs z mikrovlnné syntézy z izomerů fenyldiaminu

Reprodukce syntézy CDs z o-fenyldiaminu byla prováděna při dvou různých časech působení mikrovlnného záření, protože doba uvedená v článku vedla k spálení vzorku při použití dostupné mikrovlnné trouby a následně nebylo možné vzorek rozdispergovat ve vodě. Vzorek č. 1 (16 minut) vykazoval lepší kvantový výtěžek (2,5 %), vzorek č. 2 (14 minut) měl kvantový výtěžek menší (2 %). Následně byl ještě postup modifikován (vzorek č. 3) a byla použita směs ortho- a para- izomeru v poměru 1:1, ale tento vzorek nevykazoval poté žádaný kvantový výtěžek. Tuto syntézu je možné označit za úspěšnou, nicméně CDs neměly referovaný kvantový výtěžek, což je pravděpodobně způsobeno dobou vystavení vzorku mikrovlnnému záření a také tomu, že vzorek před měřením fluorescenčních spekter nebyl vyčištěn. Vzorky byly měřeny fluorimetrem a vykazovaly emisi v žluté oblasti spektra, viz graf 1.

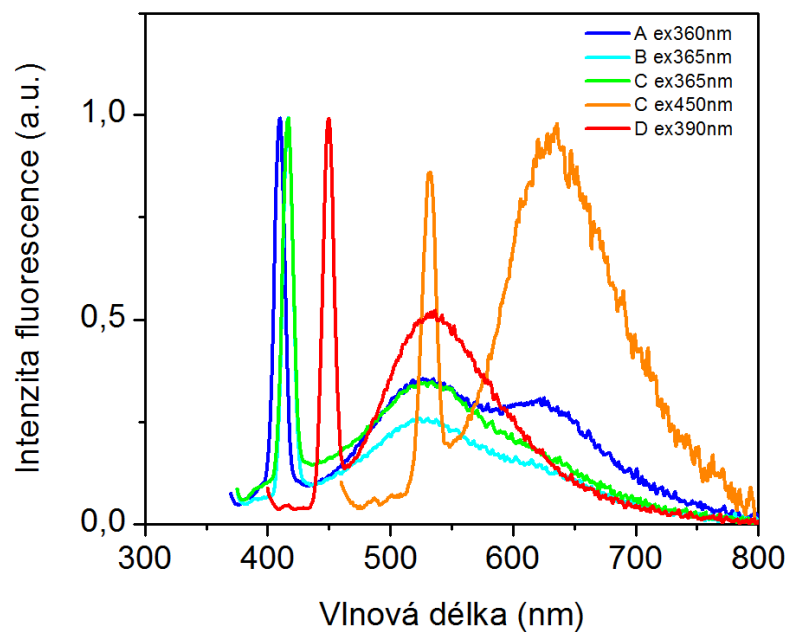
Pro přečištění vzorku bylo přistoupeno k ultrafiltraci přes membránu o hodnotě cut-off 3 kDa. Veškeré částice prošly. Obdobně byly vzniklé CDs kompletně odstraněny při dialýze před 0,5 kDa. Jedná se tak pravděpodobně o nízkomolekulární fluorescenční látku. Tento fakt připouští i autoři článku, podle kterého byl postup reprodukován.



Graf 1. Fluorescenční spektrum 3 vzorků roztoků CDs, které byly připraveny syntézou v mikrovlnné troubě. Křivka s označením Vz. č. 1 je graf vzorku č. 1 (o-fenyldiamin, 16 min v mikrovlnné troubě, nejvyšší kvantový výtěžek), křivka s označením Vz. č. 2 je graf vzorku č. 2 (o-fenyldiamin, 14 min v mikrovlnné troubě) a křivka Vz. č. 3 je graf vzorku č. 3 (směs p- a o-fenyldiaminu, 13 min v mikrovlnné troubě). V levé části grafu jsou excitační spektra, v pravé emisní.

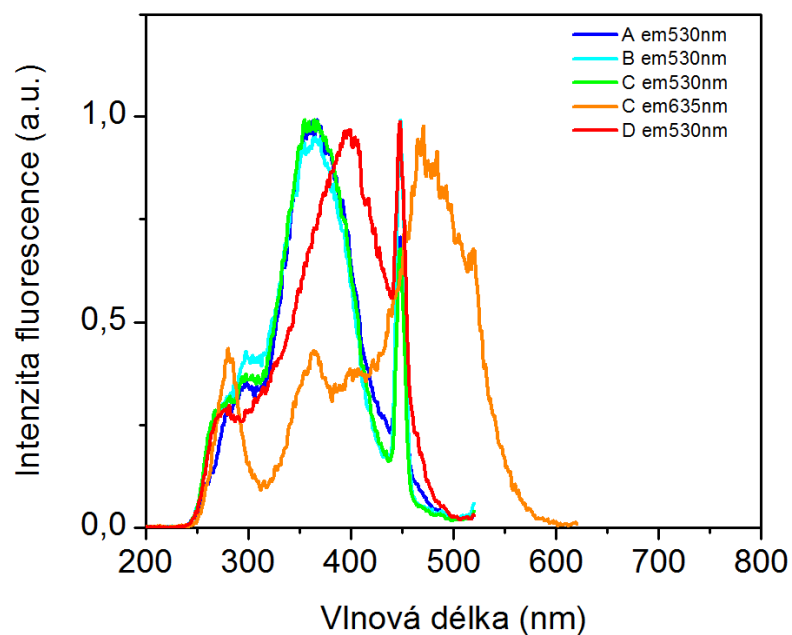
5.6 CDs z p-fenyldiaminu a močoviny

Při reprodukci přípravy CDs z p-fenyldiaminu a močoviny byly měněny poměry dvou výchozích látek. Po přípravě celé série se vzorky měřily na fluorimetru pro získání excitačních a emisních spekter, nejlepší výsledek měl vzorek s označením C (poměr 0,8:1 močovina:p-fenyldiamin), protože jeho fluorescence byla na 635 nm při excitaci 450 nm, viz grafy 2 a 3. Fluorescence byla sice v požadované oblasti, ale kvantový výtěžek byl skoro nulový, což bylo znatelné již z pozorování pod UV lampou, kdy vzorek nevykazoval okem pozorovatelnou fluorescenci. Proto nebyly vzorky dále charakterizovány. Příčinou nízkého kvantového výtěžku může být měření nepřečištěných vzorků. Připravené CDs nebyly v roztoku časově stabilní (docházelo k viditelnému vysrážení). Tyto skutečnosti dělají tuto syntézu nevhodnou pro přípravu CDs s červenou fluorescencí, které by byly stabilní v roztoku.



Graf 2. Emisní spektra vzorků CDs připravených dle Tabulky č. 1. Pouze vzorek C emitoval v červené oblasti. Hodnoty vlnových délek excitace pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v legendě.

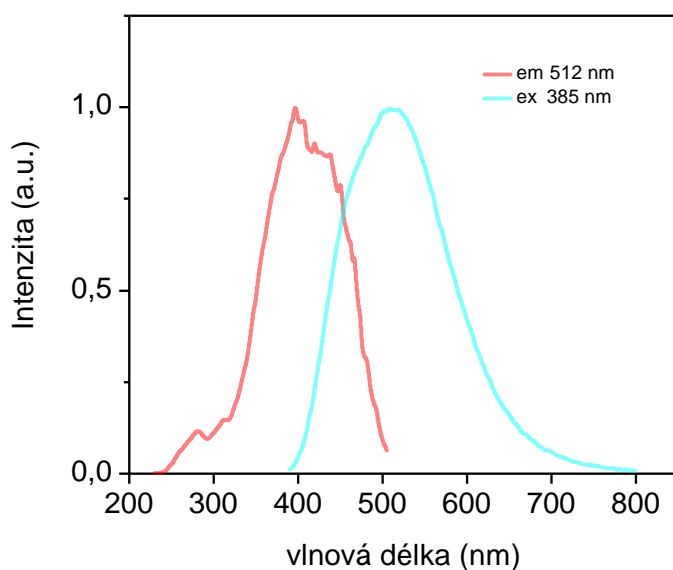
Na následujícím grafu jsou excitační spektra jednotlivých vzorků:



Graf 3. Excitační spektra vzorků CDs připravených dle Tabulky č. 1

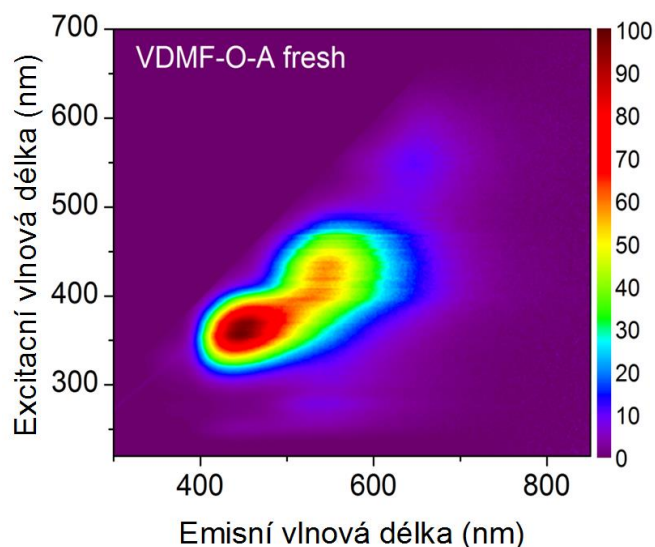
5.7 CDs z kyseliny citronové a močoviny

Nejúspěšnější syntézou byla solvotermální syntéza CDs z kyseliny citronové a močoviny, kdy byl modifikován i postup - použití jiného rozpouštědla (DMFA, formamid a N-methylpyrollidon). CDs připravené v N-methylpyrollidonu po přípravě vykazovaly po UV-lampou žlutou fluorescenci, po naředění měly zelenou fluorescenci s emisí na 512 nm a kvantovým výtěžkem 13,5 % (Graf 4.). Odlišná barva fluorescence koncentrovaného vzorku a naředěného vzorku je způsobena autoabsorbci.



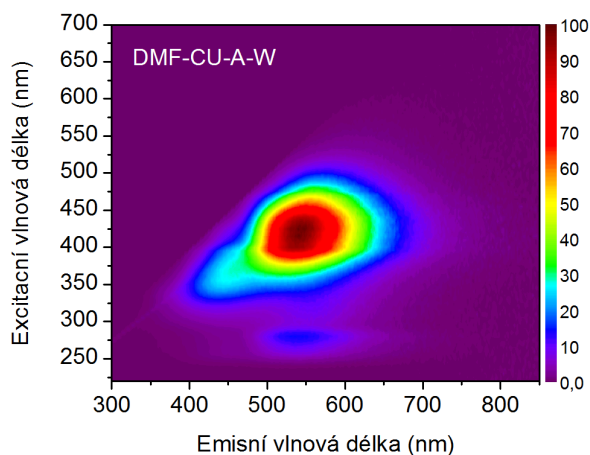
Graf 4. Emisní a excitační spektrum

Nejlepší výsledek měly CDs připravené v dimethylformamidu, vykazovaly silnou červenou fluorescenci v koncentrovaném stavu, po naředění byly však modré, proto byly dále analyzovány. Jejich fluorescenční spektrum je zobrazeno v topologické excitačně-emisní mapě v grafu 5. Nejintenzivnější emise byla v oblasti emise 450 nm (kvantový výtěžek 8,75 %), druhá nejintenzivnější v oblasti 550 nm (7 %) a 20 % intenzity modré fluorescence bylo v oblasti emise 650 nm s kvantovým výtěžkem 3,72 % (nevýrazné, modrá oblast).



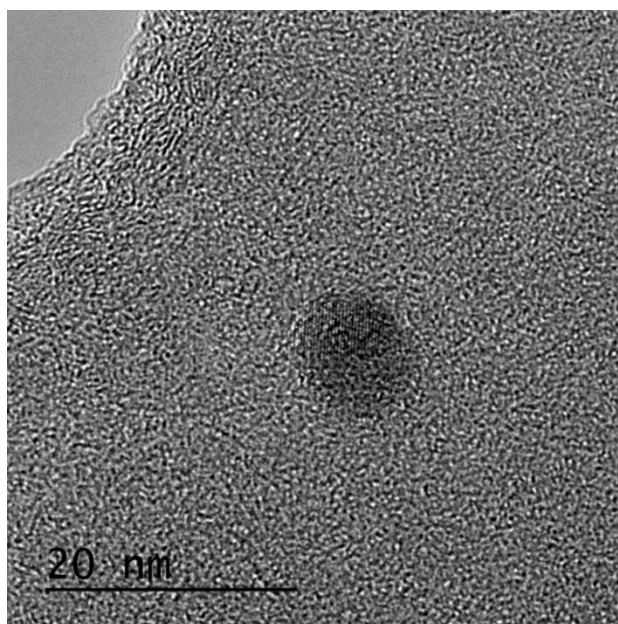
Graf 5. 2D topologická excitačně-emisní mapa roztoku CDs připraveném v DMF naředěno vodou přímo po syntéze.

Dále bylo přistoupeno k purifikačním procesům k získání frakce CDs s červenou fluorescencí. Vzhledem k faktu, že je známo, že kyselina citronová s aminickými sloučeninami tvoří nízkomolekulární látky, které emitují v oblasti 450 nm³⁸, byl vzorek dialyzován v membráně o hodnotě cut-off 2 kDa pro odstranění této nízkomolekulárního fluorescenční látky. I po týdenní dialýze však vzorek stále vykazoval modrou fluorescenci, tedy tato nízkomolekulární látka je vázána k povrchu CDs. Proto byl vzorek smíchán s nadbytkem acetonu (aceton má v tendenci vysrážet nabitě látky v roztoku, kladné i záporné, tedy i látku s modrou fluorescencí). Po centrifugaci precipitátu zbyly v roztoku CDs vykazující žlutou fluorescenci (viz Graf 6.). Aceton byl odpařen a získané CDs byly posléze rozpuštěny ve vodě a charakterizovány metodami HR-TEM, XPS, RAMAN a IR. Ve vodě vykazovaly kvantový výtěžek 7,5 %.

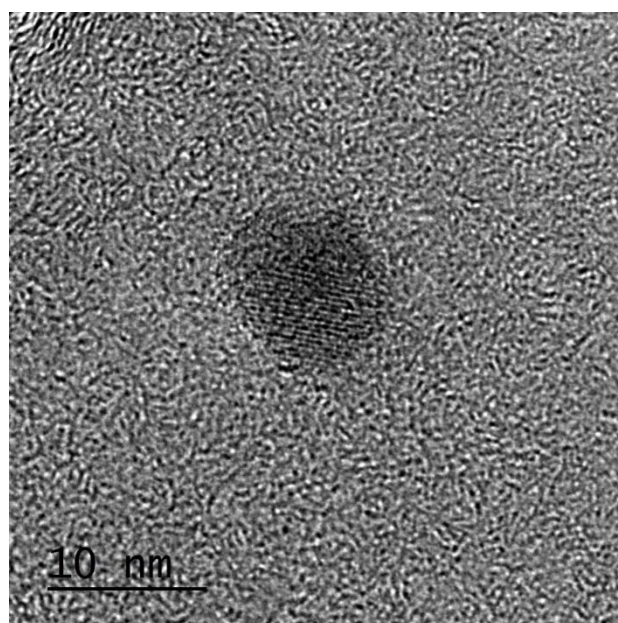


Graf 6. 2D topologická excitačně-emisní mapa roztoku CDs ve vodě po odstranění acetonu z precipitace.

Následující snímky (obrázek 6 a 7) ukazují přibližnou velikost uhlíkové tečky (asi 8 nm), její dobře znatelnou grafitickou strukturu (krystalinitu) a také to, že CDs nebyly v roztoku agregované:



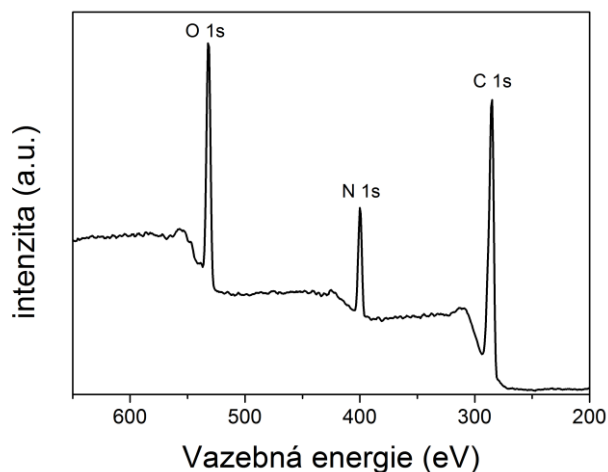
Obrázek 6. Snímek uhlíkové tečky z HRTEM s dobře viditelnou strukturou a měřítkem 20 nm



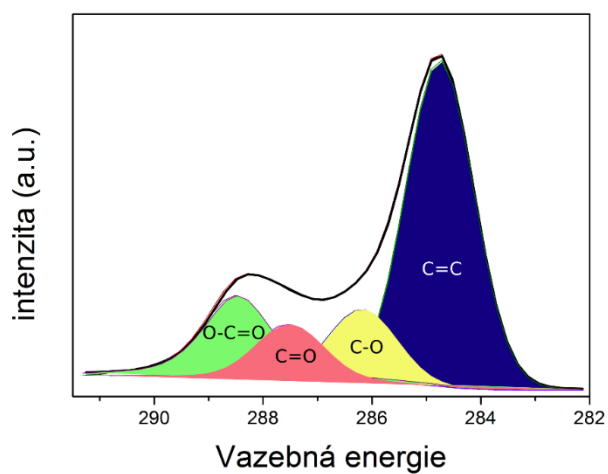
Obrázek 7. Snímek uhlíkové tečky z HRTEM s dobře viditelnou strukturou a měřítkem 10 nm

Následující grafy z XPS spektroskopie nám podávají informace o složení CDs a jaké funkční skupiny se na jejich povrchu nacházejí, jaké jsou jejich vazebné energie a jaké je prvkové zastoupení. Prvkové zastoupení bylo 66,7 % uhlíku, 20,6 % kyslíku a 12,7 % dusíku (Graf 7.). XPS C 1s spektra s vysokým rozlišením (Graf 8.) ukazuje, že

nejvyšší podíl je dvojných vazeb mezi atomy uhlíku, což naznačuje konjugovaný systém vazeb v CDs. Následně je z grafu zřejmé, že na povrchu jsou také karboxylové skupiny (O–C=O), karbonylové (C=O) a zbytkové skupiny (C–O).

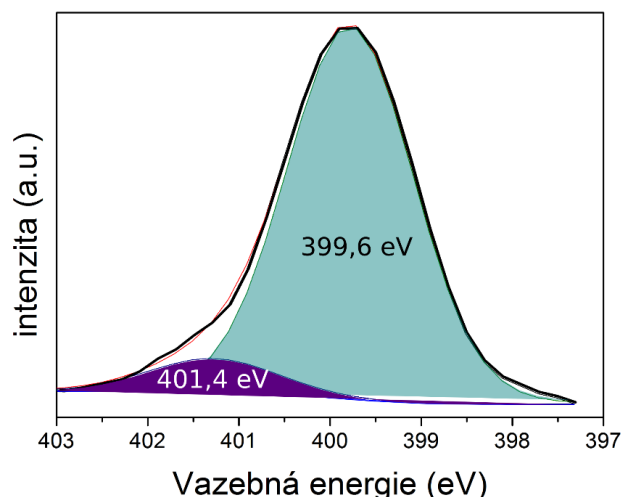


Graf 7. Plný sken (survey) se zastoupením jednotlivých prvků daných CDs.



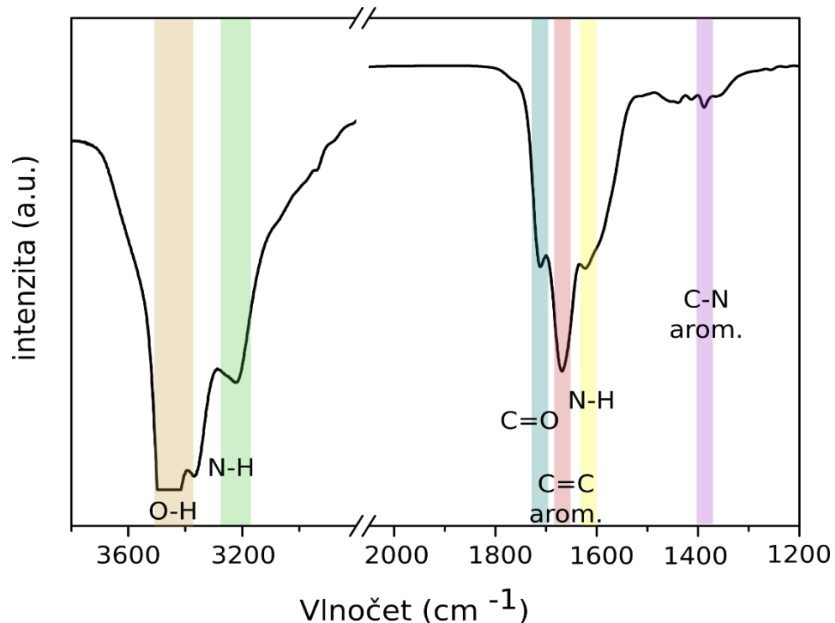
Graf 8. Spektrum C1s s vyznačenými vazebnými energiemi jednotlivých vazeb uhlíku z povrchu CDs.

Další graf (Graf 9.) ukazuje, že nejčastější vazbou dusíku na povrchu CDs je vazba se dvěma atomy uhlíku o energii 399,6 eV a méně zastoupená je amidická vazba (C–NH₂) s energií 401,4 eV. Tato data značí zabudování N do povrchu a struktury CDs.



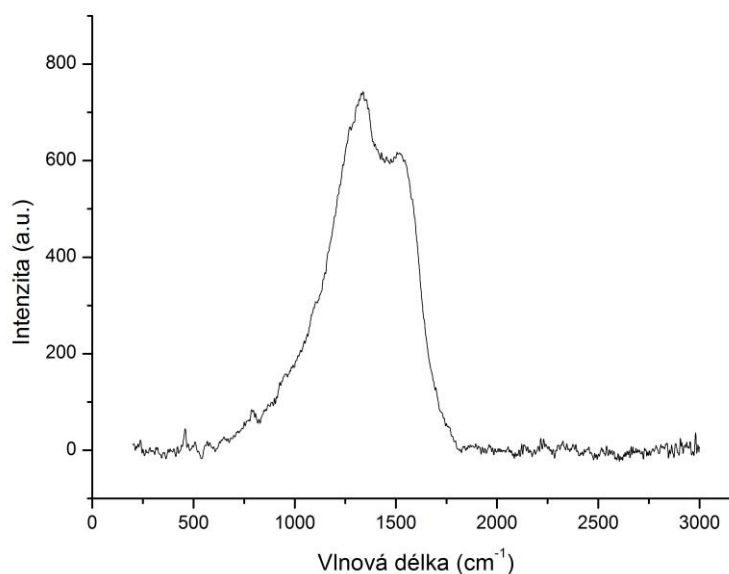
Graf 9. Spektrum N1s se dvěma typy vazeb dusíku na povrchu CDs.

Spektrum CDs z infračervené spektroskopie nám také poskytlo informace o jednotlivých typech vazeb. Dle zastoupení jednotlivých píků a jejich vlnočtů je možné určit přesné vazby a z těchto dat lze odhadnout strukturu analyzovaného vzorku a prvkové zastoupení. Nejdůležitější je vibrace C=C, která potvrzuje aromaticitu vzorku a konjugovaný systém vazeb v CDs (Graf 10.). Dále je důležitá vibrace karbonylové skupiny (C=O), která znamená vysoký podíl kyslíku ve vzorku a také vibrace C–N potvrzuje přítomnost dusíku přímo ve struktuře. Tato vibrace však není intenzivní, což ale není vypovídající informace o množství dusíku ve vzorku.



Graf 10. Spektrum z infračervené spektroskopie s vyznačenými nejdůležitějšími vibracemi jednotlivých vazeb v připravených CDs.

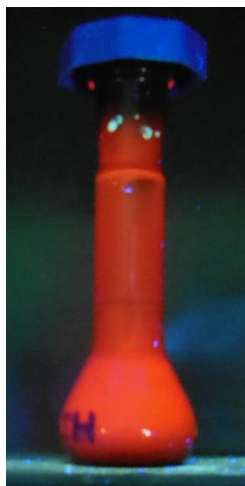
Ramanova spektroskopie (Graf 11.) poskytla užitečné informace o poměru sp^2 a sp^3 uhlíku (tzn. D-pás a G-pás) v struktuře CDs. D-pás má charakteristický pík okolo 1300 cm^{-1} a G-pás okolo 1600 cm^{-1} . Z následujícího grafu charakterizujícího CDs, které zbyly v roztoku acetonu po precipitaci, je viditelné, že připravené CDs měly vyšší zastoupení sp^2 uhlíku v jejich struktuře, což naznačuje dobře konjugovaný systém.



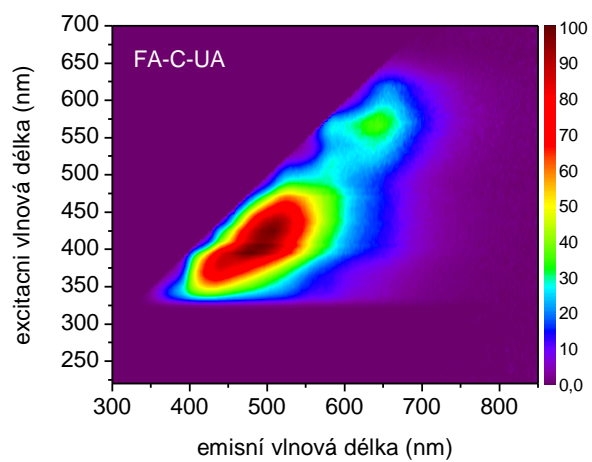
Graf 11. Spektrum z Ramanovy spektroskopie s charakteristickými píky pro sp^2 a sp^3 uhlík.

CDs připravené v dimethylformamidu a přečištěné tak nakonec vykazovaly ve vodném roztoku jen žlutou fluorescenci o kvantovém výtěžku 7,5 %. Červenou složku se ze systému extrahovat nepodařilo ani kolonovou chromatografií.

Posléze byly připraveny i CDs z močoviny a kyseliny citrónové ve formamidu (amidu kyseliny mravenčí). Tyto CDs měly obdobné fluorescenční vlastnosti jako CDs připravené v dimethylformamidu. Červená fluorescence (Obrázek 8., Graf 12.) však měla mnohem větší intenzitu (v oblasti emise 640 nm při excitaci 560 nm byl kvantový výtěžek 12 %). Přečištění vzorku však nebylo možné dosáhnout ultracentrifugací, ultrafiltrací, dialýzou ani kolonovou chromatografií. Purifikační metody těchto CDs budou tak předmětem dalšího zkoumání.



Obrázek 8. CDs v koncentrovaném stavu připravené ve formamidu pod UV-lampou. Vzorek vykazuje autoabsorpci.



Graf 12. 2D topologická excitačně-emisní mapa roztoku CDs připravených ve formamidu naředěném po reakci vodou.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce řeší problematiku příprav uhlíkových kvantových teček (CDs), modifikacemi jich samotných či jejich příprav. CDs jsou hojně studovaným materiálem ze skupiny uhlíkových nanomateriálů kvůli unikátním vlastnostem, které vyplývají z jejich malého rozměru, jejich nízké toxicitě a velkému spektru aplikací.

Hlavní zaměření práce byla příprava CDs s červenou fluorescencí, protože červená emise má nejlepší pronikavost tkání, což dělá CDs právě s touto fluorescencí skvěle aplikovatelné hlavně v bioaplikacích. Další náplní práce byla purifikace jednotlivých připravených CDs a modifikace některých z nich, např. změna funkčních skupin na povrchu, navázání vhodných látek na povrch či změna rozpustnosti ve vodě (hydrofilicita/hydrofobicita).

V rámci této práce byla zvládnuta technika přípravy CDs metodou top-down i metodami bottom-up jako pyrolyzační, solvotermální či mikrovlnná příprava.

Výsledkem práce jsou úspěšně reprodukováné přípravy CDs s různou barvou fluorescence. Nejúspěšnější syntéza byla solvotermální syntéza CDs z močoviny a kyseliny citrónové v různých organických rozpouštědlech. Podařilo se tak připravit CDs se zelenou fluorescencí s kvantovým výtěžkem 13 %, se žlutou fluorescencí s kvantovým výtěžkem 7,5 % a také s červenou fluorescencí a kvantovým výtěžkem 12 %. Poslední zmíněné však vykazovaly i jiné barvy fluorescence, které pochází z heterogenity připravené směsi CDs. Proto budou nutné tyto CDs pro jejich další aplikace přečistit. Pokud se tak podaří, budou nově připravené CDs testovány pro bioaplikace jako in vivo zobrazování či pro solární štěpení vody.

7 SUMMARY

This bachelor thesis is focused on synthesis of carbon quantum dots (CDs) and their modifications. CDs are widely studied group of carbonaceous nanomaterials because of their unique properties, which is result of their small size, their low toxicity and huge spectrum of applications.

Main aim of this thesis is synthesis of CDs with red fluorescence because red emission penetrates best into the tissue, which makes CDs with exactly this fluorescence very applicable mainly in bio-applications. Another part of this thesis was purifying individual CDs, modifying some of them e.g. change the functional groups on the surface, binding of suitable substances on the surface or change the water solubility (hydrophilicity/hydrophobicity).

As part of this thesis were made CDs by top-down method and also by bottom-up methods, e.g. pyrolysis, solvothermal synthesis or microwave synthesis.

Results of this work are successfully reproduced syntheses of CDs with different colour of fluorescence. The most successful synthesis was solvothermal synthesis from citric acid and urea in different solvents. We managed to prepare CDs with green fluorescence (quantum yield 13 %), yellow fluorescence (quantum yield 7,5 %) and red fluorescence (quantum yield 12 %). Last mentioned CDs showed also another colours of fluorescence, which have origin in heterogeneity of the mixture. For further applications it is necessary to purify them. If succeeded, those new prepared CDs will be tested in bio applications, e.g. in vivo imaging or solar fission of water.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) Baker, S. N.; Baker, G. A. Luminescent Carbon Nanodots: Emergent Nanolights. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2010**, *49*, 6726–6744.
- (2) Hola, K.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Giannelis, E. P.; Zboril, R.; Rogach, A. L. Carbon dots—Emerging Light Emitters for Bioimaging, Cancer Therapy and Optoelectronics. *Nano Today* **2014**, *9*, 590–603.
- (3) X. Xu, R. Ray, Y. Gu, H.J. Ploehn, L. Gearheart, K. Raker, W. A. Scrivens. Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12736–12737.
- (4) Cao, L.; Wang, X.; Meziani, M. J.; Lu, F.; Wang, H.; Luo, P. G.; Lin, Y.; Harruff, B. a; Veca, L. M.; Murray, D.; *et al.* Carbon Dots for Multiphoton Bioimaging. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11318–11319.
- (5) Pan, D.; Zhang, J.; Li, Z.; Wu, M. Hydrothermal Route for Cutting Graphene Sheets into Blue-Luminescent Graphene Quantum Dots. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 734–738.
- (6) Zhu, S.; Tang, S.; Zhang, J.; Yang, B. Control the Size and Surface Chemistry of Graphene for the Rising Fluorescent Materials. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4527–4539.
- (7) Kim, S.; Hwang, S. W.; Kim, M.-K.; Shin, D. Y.; Shin, D. H.; Kim, C. O.; Yang, S. B.; Park, J. H.; Hwang, E.; Choi, S.-H.; *et al.* Anomalous Behaviors of Visible Luminescence from Graphene Quantum Dots: Interplay between Size and Shape. *ACS Nano* **2012**, *6*, 8203–8208.
- (8) Wang, Y.; Hu, A. Carbon Quantum Dots: Synthesis, Properties and Applications. *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2*, 6921–6939.
- (9) Zuo, J.; Jiang, T.; Zhao, X.; Xiong, X.; Xiao, S.; Zhu, Z. Preparation and Application of Fluorescent Carbon Dots. *Appl. Mech. Mater.* **2015**, *2015*, 492–501.
- (10) Shen, C.; Sun, Y.; Wang, J.; Lu, Y. Facile Route to Highly Photoluminescent Carbon Nanodots for Ion Detection, pH Sensors and Bioimaging. *Nanoscale* **2014**, *6*, 9139–9147.
- (11) Zhu, S.; Song, Y.; Zhao, X.; Shao, J.; Zhang, J.; Yang, B. The Photoluminescence Mechanism in Carbon Dots (Graphene Quantum Dots, Carbon Nanodots, and Polymer Dots): Current State and Future Perspective. *Nano Res.* **2015**, *8*, 355–381.
- (12) Sekine, J.; Luo, S. C.; Wang, S.; Zhu, B.; Tseng, H. R.; Yu, H. H. Functionalized Conducting Polymer Nanodots for Enhanced Cell Capturing: The Synergistic Effect of Capture Agents and Nanostructures. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 4788–4792.
- (13) Sun, Y. P.; Zhou, B.; Lin, Y.; Wang, W.; Fernando, K. A. S.; Pathak, P.; Meziani, M. J.; Harruff, B. A.; Wang, X.; Wang, H.; *et al.* Quantum-Sized Carbon Dots for Bright and Colorful Photoluminescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7756–7757.
- (14) Tan, X.; Li, Y.; Li, X.; Zhou, S.; Fan, L.; Yang, S. Electrochemical Synthesis of Small-Sized Red Fluorescent Graphene Quantum Dots as a Bioimaging Platform. *Chem. Commun. (Camb)*. **2015**, *51*, 2544–2546.
- (15) Ge, J.; Jia, Q.; Liu, W.; Guo, L.; Liu, Q.; Lan, M.; Zhang, H.; Meng, X.; Wang, P. Red-Emissive Carbon Dots for Fluorescent, Photoacoustic, and Thermal

- Theranostics in Living Mice. *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 4169–4177.
- (16) Guo, L.; Ge, J.; Liu, W.; Niu, G.; Jia, Q.; Wang, H.; Wang, P. Tunable Multicolor Carbon Dots Prepared from Well-Defined Polythiophene Derivatives and Their Emission Mechanism. *Nanoscale* **2016**, *8*, 729–734.
- (17) Jiang, K.; Sun, S.; Zhang, L.; Lu, Y.; Wu, A.; Cai, C.; Lin, H. Red, Green, and Blue Luminescence by Carbon Dots: Full-Color Emission Tuning and Multicolor Cellular Imaging. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2015**, *54*, 5360–5363.
- (18) Karlický, M. *Úvod Do Transmisní Elektronové Mikroskopie*; CVUT, 2011.
- (19) Ewards, S. A. *The Nanotech Pioneers.*; John Wiley & Sons Ltd, 2008.
- (20) Waalkes, M. Cadmium Carcinogenesis. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* **2003**, *533*, 107–120.
- (21) Esteves da Silva, J. C. G.; Goncalves, H. M. R. Analytical and Bioanalytical Applications of Carbon Dots. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2011**, *30*, 1327–1336.
- (22) Lin, L. P.; Wang, X. X.; Lin, S. Q.; Zhang, L. H.; Lin, C. Q.; Li, Z. M.; Liu, J. M. Research on the Spectral Properties of Luminescent Carbon Dots. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2012**, *95*, 555–561.
- (23) Gonçalves, H.; Jorge, P. A. S.; Fernandes, J. R. A.; Esteves da Silva, J. C. G. Hg(II) Sensing Based on Functionalized Carbon Dots Obtained by Direct Laser Ablation. *Sensors Actuators B Chem.* **2010**, *145*, 702–707.
- (24) Zhao, H. X.; Liu, L. Q.; Liu, Z. De; Wang, Y.; Zhao, X. J.; Huang, C. Z. Highly Selective Detection of Phosphate in Very Complicated Matrixes with an off-on Fluorescent Probe of Europium-Adjusted Carbon Dots. *Chem. Commun. (Camb).* **2011**, *47*, 2604–2606.
- (25) Zhang, X.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Kalytchuk, S.; Kershaw, S. V; Wang, Y.; Wang, P.; Zhang, T.; Zhao, Y.; Zhang, H.; *et al.* Color-Switchable Electroluminescence of Carbon Dot Light-Emitting Diodes. *ACS Nano* **2013**, *7*, 11234–11241.
- (26) Li, H.; Sun, C.; Ali, M.; Zhou, F.; Zhang, X.; MacFarlane, D. R. Sulfated Carbon Quantum Dots as Efficient Visible-Light Switchable Acid Catalysts for Room-Temperature Ring-Opening Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2015**, *54*, 8420–8424.
- (27) Wang, H.; Sun, P.; Cong, S.; Wu, J.; Gao, L.; Wang, Y.; Dai, X.; Yi, Q.; Zou, G. Nitrogen-Doped Carbon Dots for “green” Quantum Dot Solar Cells. *Nanoscale Res. Lett.* **2016**, *11*, 27–33.
- (28) Martindale, B. C. M.; Hutton, G. A. M.; Caputo, C. A.; Reisner, E. Solar Hydrogen Production Using Carbon Quantum Dots and a Molecular Nickel Catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 6018–6025.
- (29) Huang, X.; Zhang, F.; Zhu, L.; Choi, K. Y.; Guo, N.; Guo, J.; Tackett, K.; Anilkumar, P.; Liu, G.; Quan, Q.; *et al.* Effect of Injection Routes on the Biodistribution, Clearance, and Tumor Uptake of Carbon Dots. *ACS Nano* **2013**, *7*, 5684–5693.
- (30) Wang, Q.; Huang, X.; Long, Y.; Wang, X.; Zhang, H.; Zhu, R.; Liang, L.; Teng, P.; Zheng, H. Hollow Luminescent Carbon Dots for Drug Delivery. *Carbon N. Y.* **2013**, *59*, 192–199.
- (31) Yang, S.-T.; Cao, L.; Luo, P. G.; Lu, F.; Wang, X.; Wang, H.; Mezziani, M. J.; Liu,

- Y.; Qi, G.; Sun, Y.-P. Carbon Dots for Optical Imaging in Vivo. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11308–11309.
- (32) Ruan, S.; Qian, J.; Shen, S.; Chen, J.; Zhu, J.; Jiang, X.; He, Q.; Yang, W.; Gao, H. Fluorescent Carbonaceous Nanodots for Noninvasive Glioma Imaging after Angiopep-2 Decoration. *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 2252–2259.
- (33) Bourlinos, A. B.; Zbořil, R.; Petr, J.; Bakandritsos, A.; Krysmann, M.; Giannelis, E. P. Luminescent Surface Quaternized Carbon Dots. *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 6–8.
- (34) Havrdova, M.; Hola, K.; Skopalik, J.; Tomankova, K.; Petr, M.; Cepe, K.; Polakova, K.; Tucek, J.; Bourlinos, A. B.; Zboril, R. Toxicity of Carbon Dots – Effect of Surface Functionalization on the Cell Viability, Reactive Oxygen Species Generation and Cell Cycle. *Carbon N. Y.* **2016**, *99*, 238–248.
- (35) Song Cui, Y., Zhang, C., Hu, Z., Liu, X., L. Microwave-Assisted Facile Synthesis of Yellow Fluorescent Carbon Dots from O-Phenylenediamine for Cell Imaging and Sensitive Detection of Fe³⁺ and H₂O₂. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 17704–17712.
- (36) Ding, H.; Yu, S.-B.; Wei, J.-S.; Xiong, H.-M. Full-Color Light-Emitting Carbon Dots with a Surface-State-Controlled Luminescence Mechanism. *ACS Nano* **2015**, *10*, 484–491.
- (37) Qu, S.; Wang, X.; Lu, Q.; Liu, X.; Wang, L. A Biocompatible Fluorescent Ink Based on Water-Soluble Luminescent Carbon Nanodots. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 12215–12218.
- (38) Krysmann, M. J.; Kelarakis, A.; Dallas, P.; Giannelis, E. P. Formation Mechanism of Carbogenic Nanoparticles with Dual Photoluminescence Emission. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 747–750.