



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

## FLUORESCENČNÍ NANOČÁSTICE NA BÁZI ORGANICKÝCH CHROMOFORŮ

FLUORESCENT NANOPARTICLES BASED ON ORGANIC CHROMOPHORES

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Josef Čekal

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Mgr. Martin Vala, Ph.D.

BRNO 2024

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1895/2023 Akademický rok: 2023/24  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Student: **Josef Čekal**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **prof. Mgr. Martin Vala, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Fluorescenční nanočástice na bázi organických chromoforů

### Zadání bakalářské práce:

- Vypracujte literární rešerši na téma fluorescenčních nanočástic na bázi organických chromoforů se zaměřením na spektrální vlastnosti.
- Prostudujte optické vlastnosti studovaných derivátů v roztoku a v pevné fázi.
- Připravte nanočástice vybraných derivátů a prostudujte jejich vlastnosti.
- Optimalizujte přípravu nanočástic s ohledem na maximalizaci fluorescence.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Josef Čekal  
student

-----  
prof. Mgr. Martin Vala, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## ABSTRAKT

Tato práce si klade za cíl vytvořit za pomoci organických molekul vytvořit Host-Guest nanočásticové systémy vykazující emisi bílého světla (WLE), které je dosaženo pomocí mechanismu Försterova rezonančního přenosu energie (FRET). K přípravě nanočásticových systémů byly použity látky na bázi substituovaných stilbenů, jako donor/matrice byly použity látky CA-DPS-V (H2) a CA-DPS-CHO (H1). Dále jako akceptor/dopant CA-DPS-DCV (G1) a DPA-DXS-IOO (G2). Ze společných roztoků látek v THF byly pomocí nanoprecipitace vytvořeny 3 nanočásticové systémy: systém 1 (H1+G1), u kterého k WLE nedošlo, systém 2 (H2+G1) a systém 3 (H2+G2). Systémy 2 a 3 byly charakterizovány pomocí fluorescenční spektroskopie a výpočtů parametrů FRET. Ukázalo se že v případě systému 2 je Försterova vzdálenost menší než u systému 3. Rozdílná Försterova vzdálenost u těchto systémů potom ovlivňuje složení poměrů schopných WLE. Největší blízkost bílému bodu (0,33 0,33) vykazovaly v systému 2 poměry látkového množství 110:1 (0,32 0,38) a 164:1 (0,29 0,32) a v systému 3 poměry 340:1 (0,34 0,30) a 476:1 (0,31 0,28). Cíl práce byl tedy splněn a bylo ukázáno, že připravit nanočástice schopné WLE takovýmto způsobem lze. Nevýhodou připravených nanočástic však byla jejich nízká fotostabilita. Pokračováním této práce by tedy mohla být příprava takovýchto stabilnějších nanočástic ze strukturně podobných látek. U těchto částic by již mohla být provedena charakterizace struktury a dalších vlastností z pohledu možných aplikací.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Fluorescence, organické chromofory, nanočástice, FON, WLE, FRET, Host-Guest systémy

## **ABSTRACT**

This study aims to create Host-Guest nanoparticle systems exhibiting white light emission (WLE) using organic molecules, achieved through Förster resonance energy transfer (FRET) mechanisms. Substituted stilbene-based compounds were utilized for the preparation of nanoparticle systems, with CA-DPS-V (H2) and CA-DPS-CHO (H1) used as donor/matrix materials, and CA-DPS-DCV (G1) and DPA-DXS-IOO (G2) as acceptor/dopant materials. Three nanoparticle systems were synthesized via nanoprecipitation from common solutions of the compounds in THF: system 1 (H1+G1), which did not achieve WLE, system 2 (H2+G1), and system 3 (H2+G2). Systems 2 and 3 were characterized using fluorescence spectroscopy and FRET parameter calculations. It was found that the Förster distance in system 2 is shorter than in system 3. This variation in Förster distance affects the composition ratios capable of WLE. The closest proximity to the white point (0.33, 0.33) was observed in system 2 at molar ratios of 110:1 (0.32, 0.38) and 164:1 (0.29, 0.32), and in system 3 at ratios of 340:1 (0.34, 0.30) and 476:1 (0.31, 0.28). Thus, the goal of the study was achieved, demonstrating that nanoparticles capable of WLE can be prepared in this manner. However, a drawback of the prepared nanoparticles was their low photostability. Future work could focus on synthesizing more stable nanoparticles from structurally similar compounds. These particles could then be further characterized in terms of structure and other properties for potential applications.

## **KEY WORDS**

Fluorescence, organic chromophores, nanoparticles, FON, WLE, FRET, Host-Guest systems

ČEKAL, Josef. Fluorescenční nanočástice na bázi organických chromoforů [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-18]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156722>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Martin Vala.

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Čestně prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární a elektronické zdroje jsem řádně a správně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům pouze se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat prof. Mgr. Martinu Valovi, Ph.D. za vedení mé práce, za jeho čas, cenné rady a sdílení zkušeností. Dále také Ing. Rastislavu Smolkovi za jeho pomoc při práci v laboratoři a při rozboru získaných výsledků.

## OBSAH

1. ÚVOD .....	8
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1. Fluorescence.....	10
2.1.1. Absorpce světla a excitace organických molekul.....	10
2.1.2. Perrin-Jablonského diagram .....	11
2.1.3. Franc-Condonův princip.....	12
2.1.4. Kashovo pravidlo .....	13
2.1.5. Stoeksův posun.....	14
2.2. Charakterizace fluorescence .....	14
2.2.1. Excitační a emisní spektra.....	14
2.2.1. Kvantový výtěžek fluorescence.....	15
2.2.2. Doba života excitovaného stavu a fluorescence.....	16
2.3. Försterův rezonanční přenos energie .....	17
2.3.1. Výpočet Försterovy vzdálenosti.....	17
2.4. Stavba použitých molekul.....	18
2.5. Fluorescenční organické nanočástice.....	19
2.6. Barva .....	20
2.7. Současné strategie dosažení WLE .....	21
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	23
3.1. Použité látky.....	23
3.2. Příprava nanočástic .....	24
3.3. Fotofyzikální vlastnosti.....	26
3.3.1. Emisní a excitační spektra.....	26
3.3.2. Časově rozlišená fluorescence.....	26
3.3.3. Kvantový výtěžek.....	26
3.3.4. Absorpční spektroskopie .....	26
3.4. Výpočty barevných souřadnic.....	26
3.5. Výpočty spojené s FRET .....	27
4. VÝSLEDKY A DISKUSE.....	30
4.1. Vlastností použitých látek.....	30
4.1.1. Pevná fáze.....	30
4.1.2. Nanočástice .....	32
4.2. Nanočásticové HG systémy .....	37
4.2.1. Fotofyzikální vlastnosti .....	37
4.2.2. Barva emise .....	43

4.3. FRET .....	46
4.4. Určení optimálních poměrů pro dosažení WLE .....	51
5. ZÁVĚR.....	54
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	56
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	59
8. PŘÍLOHY.....	60

## 1. ÚVOD

Organické látky skýtají díky chemické syntéze mnoho možností úprav své struktury. Na prakticky libovolný uhlíkatý skelet, který do syntézy vstupuje, můžeme navázat různé substituenty, vznikají tak látky s rozmanitými vlastnostmi. Oproti anorganickým látkám používaným v současných polovodičových technologiích je jejich toxicita zanedbatelná. Jejich výroba a nakládání s nimi je také levnější a šetrnější k životnímu prostředí. Jednou z oblastí pokroku současné elektroniky jsou displejové technologie. Ty urazily od prvních CRT obrazovek až po dnešní displeje používající kvantové tečky velký kus cesty.

Základem většiny displejů je vrstva emitující světlo bílé barvy. Z pohledu aplikace organických látek se v displejových technologiích ke tvorbě zdrojů bílého světla používá více přístupů. Mezi hlavní jevy využívané ke tvorbě emise bílého světla (WLE) patří intramolekulární přenos protonu v rámci excitovaného stavu (ESIPT), monomer – excimerová emise, přenos náboje (IC), aditivní ladění emise komponentami v rámci jedné molekuly a v neposlední řadě Försterův rezonanční přenos energie (FRET).

WLE pak může být dosaženo za použití molekul jedné látky nebo systému obsahujícími více komponent. Začneme emisí bílého světla dosaženého molekulou jedné látky. V tomto případě lze použít např. ESIPT, v rámci, kterého přejde excitovaná molekula z enol do keto formy. V keto formě už jsou v molekule jiné energetické hladiny a emise má jinou vlnovou délku. „Složením“ spekter se spektry molekul, u kterých ke změně konformace nedošlo potom vzniká světlo bílé barvy.

Dalším popisovaným jevem může být monomer – excimerová emise, zde je část molekul ve formě monomerů majících jiné spektrální vlastnosti než ty ve formě excimerů. Výsledná spektra se opět skládají za vzniku bílé barvy. U delších molekul a polymerů je pak možné vřadit do struktury bloky s vhodným spektrálním zastoupením a celek opět produkuje WLE.

Systémy založené na těchto principech jsou používány a s pomocí molekul vykazující ESIPT jsou dokonce vyráběny komerčně dostupné bílé LED [1]. Nevýhodou ale je že použitá molekula buď musí mít potřebné vlastnosti (ESIPT, IC, tvorba excimerů a jejich vhodná emise), nebo musí být dostatečně velká, aby obsahovala všechny dílčí jednotky (ladění emise aditivními komponentami). Tvorba takto specifických látek je tedy synteticky náročná a tvorba WLE je velmi často silně závislá na okolních podmínkách [1].

Při použití více různých komponent je pak nejvíce používaný přístup pomocí Host-Guest systémů (v češtině možný ekvivalent jako systém hostitel – host), hostitelská látka (donor) zde přenáší energii na molekulu látky hosta (akceptoru). V nich pak mezi donorem a akceptorem dochází k Försterovu rezonančnímu přenosu energie (FRET). Podmnožinou takovýchto systémů jsou fluorescenční organické nanočástice (FON). U nich má na emisi menší vliv prostředí, ve kterém se nacházejí a vlivem struktury připomínající pevnou fázi vykazují větší účinnost přenosu energie. Problémem však je poměrně vzácná existence vhodných, nejlépe izomorfních látek, které vykazují silnou fluorescenci v pevné fázi, a které jsou vhodné pro použití v takovýchto systémech [2], [3], [4].



V této práci se budeme zabývat vybranými deriváty distyrylbenzenů, CA-DPS-CHO, CA-DPS-V, CA-DPS-DCV a DPA-DXS-IOO. U látek tohoto typu je ukázáno že, relativně malá změna molekulové struktury vede k významné změně polohy (tedy i barvy) fluorescence [5]. Struktura látek je však pořád dostatečně podobná, aby došlo v pevné fázi k vhodnému uspořádání molekul, tak aby fluorescence nebyla příliš zhasena.

Experimentálním úkolem této práce je tedy ověřit možnost tvorby Host-Guest systémů, připravit jejich nanočástice, studovat parametry jejich fluorescence a optimalizovat složení nanočástic pro dosažení bílé emise.

V teoretické části této práce (kapitola 2) jsou k tomuto účelu uvedeny poznatky o fluorescenci, barvě, organických nanočásticích a FRET, včetně matematických vztahů týkajících se prezentovaných problémů. Tento teoretický aparát je posléze aplikován v podobě výpočtů požadovaných parametrů a diskusi experimentálních závislostí v kapitole 4.

Co se týká členění experimentální části práce, tak nejdříve byly charakterizovány fluorescenční parametry použitých látek v pevné fázi. Poté byly z těchto látek vytvořeny a opět charakterizovány nanočástice. Jako další krok se přistoupilo k přípravě nanočásticových systémů, u kterých se popis vlastností soustředil zejména na výsledná emisní spektra, ze kterých byly získány barevné souřadnice. Dále byl kladen důraz na měření časově rozlišené fluorescence, jejíž výsledky umožnili podrobnou charakterizaci systémů z pohledu FRET.

Ke konci práce jsou pak získaná data použita k odhadu takového poměru v daném systému, při kterém by se barva jeho emise měla co nejvíce přiblížit ekvienetickému bílému bodu o barevných souřadnicích (0,33 0,33) (kapitola 4.4).

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. Fluorescence

K uvedení do problematiky této práce je nejdříve nutné zavést výchozí pojmy. Začneme u jevu stojícím za vznikem světla, jehož modifikací se bude tato práce zabývat, tedy fluorescencí. S popisem začneme u významově nadřazené luminiscence, což je spontánní vyzařování světla z elektronově excitované látky, která není v tepelné rovnováze se svým okolím. Pokračujme situací, kdy k excitaci dochází absorpcí ultrafialového, infračerveného záření či viditelného světla, potom hovoříme o fotoluminiscenci. O fluorescenci mluvíme tehdy zachovává-li se při fotoluminiscenční emisi multiplicita spinu [6].

Dochází-li v nějaké části molekuly k elektronovému přechodu spojeným s emisí nad 200 nm nazýváme molekulu chromoforem. Je-li molekula, v našem případě organická molekula, schopná fluorescence, nazýváme ji fluoroforem [6].

Mechanismus fluorescence, který bude popisován níže, můžeme pro přehlednost rozdělit do více fází. V první fázi dochází k absorpci elektromagnetického záření (UV/ Vis/IR), molekulou, poté dochází k přechodu na vyšší energetickou hladinu. Molekula na vyšší energetické hladině nějaký čas setrvává. A nakonec následuje zářivý přechod opět do základního stavu. Emitované světlo je pak vyšší vlnové délky (nižší energie) než světlo které bylo absorbováno. Na následujících stranách budou jednotlivé kroky a s nimi spojené jevy více rozvedeny [2].

#### 2.1.1. Absorpce světla a excitace organických molekul

Absorpci světla látkou charakterizuje veličina zvaná absorbance  $A$ , vyjádřená Rovnicí 1 jako logaritmus intenzity záření na látku dopadající ku intenzitě světla která látkou prošla, tento logaritmus je potom roven molárnímu absorpčnímu koeficientu  $\varepsilon$  násobeného optickou dráhou  $l$  a koncentrací  $c$ .

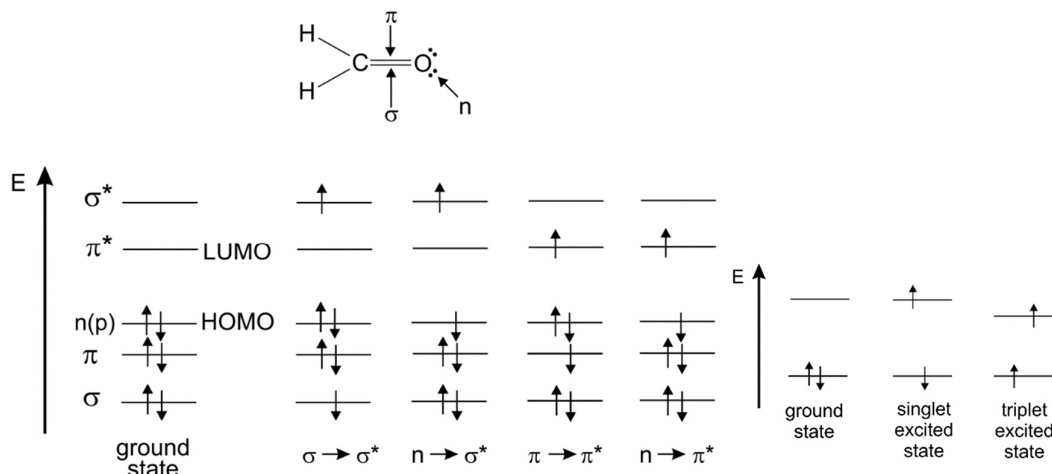
$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot l. \quad (1)$$

Tento vztah se nazývá Bouguer-Lambert-Beerův zákon, využívá se při měření roztoků látek a platí v nízkých hodnotách koncentrací. Je-li absorbance vyjádřena graficky v závislosti na vlnové délce dopadajícího záření, mluvíme o absorpčním spektru.

Za normálních podmínek se molekula nachází v základním energetickém stavu. Podle teorie molekulových orbitalů jsou valenční elektrony atomů molekuly v sigma ( $\sigma$ ), pí ( $\pi$ ), sigma antivazebných ( $\sigma^*$ ), pí antivazebných ( $\pi^*$ ) a nevazebných ( $n$ ) orbitalech. Energeticky nejvyšší obsazený orbital nazýváme HOMO a energeticky nejnižší neobsazený orbital nazýváme LUMO. Při absorpci elektromagnetického záření, v této práci se budeme zabývat ultrafialovým (vlnové délky 100–380nm) nebo viditelným světlem (380–770nm), dojde k předání energie molekule, což způsobuje přechod molekuly na vyšší energetické hladiny – excitaci. Energetické hladiny v molekule jsou od sebe různě vzdálené, chceme-li molekulu excitovat na jistou hladinu musíme jí dodat záření o energii této hladiny. Vztah mezi energií a vlnovou délkou excitačního záření udává Rovnice 2.

$$E_{\text{ex}} = h \cdot f_{\text{ex}} = h \cdot \frac{c}{\lambda_{\text{ex}}}. \quad (2)$$

Hlavními přechody, ke kterým po excitaci dochází jsou:  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ , (Obrázek 1), uvedeny vzestupně podle energetického rozdílu [7]. Při excitaci přechází jeden elektron orbitalu do vyššího energetického stavu druhý zůstává v základním. Singletový excitovaný stav vzniká, když při excitaci dojde k přechodu elektronu s opačným spinem na vyšší energetickou hladinu. U molekul v singletovém excitovaném stavu může dojít ke konverzi kdy elektron změní spin, tento stav nazýváme tripletový. Tripletový stav je podle pravidel kvantové mechaniky posazen energeticky níže než singletový (Obrázek 1).



Obrázek 1: Znázornění molekulových orbitalů, HOMO a LUMO hladin a možných meziorbitalových přechodů z pro molekulu acetonu, dále je znázorněn rozdíl mezi spinem elektronů v singletovém a tripletovém excitovaném stavu. [8]

Molekula se dá popsat jako dipól oscilující vlivem tepelného pohybu. Dipól, tedy to, jak je v molekule rozložen náboj neboli polární charakter molekuly popisuje veličina zvaná elektrický dipólový moment. Ta je součtem vektorů polarit všech vazeb a ostatních příspěvků k polaritě v molekule [9]. Během absorpce záření a následném energetickém přechodu se rozložení náboje v molekule mění, elektrony přestupují do vyšších energetických hladin. A v excitovaném stavu má molekula jiný dipólový moment než v základním [8], [2], [10].

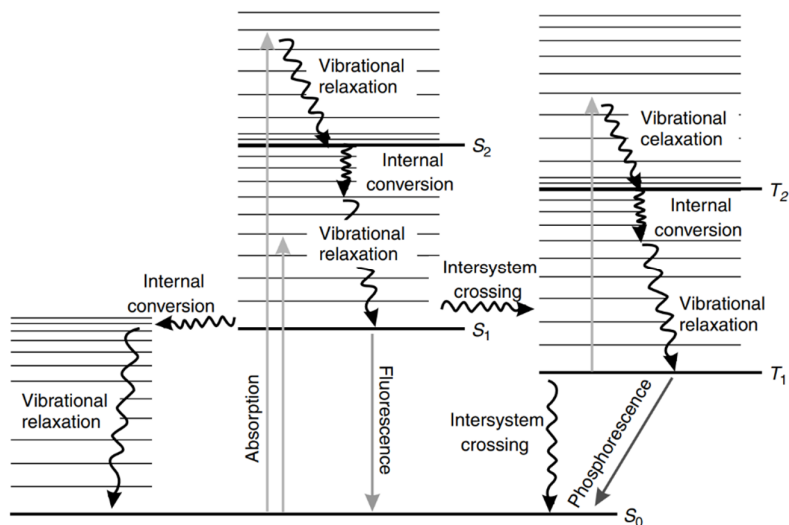
### 2.1.2. Perrin-Jablonského diagram

Pro znázornění energetických stavů a přechody mezi nimi se používá schéma zvané Perrin-Jablonského diagram (Obrázek 2). Toto schéma ukazuje hlavní singletové a tripletové energetické stavy dále dělené ještě vibračními hladinami.

V předchozí části se hovořilo o absorpci světla molekulou, jež měla za následek excitaci a přechod molekuly do vyššího elektronického stavu. Dojde tedy k přechodu ze základní hladiny singletové hladiny  $S_0$  na singletovou hladinu  $S_1$  případně na  $S_n$ . Při pohybu nazpět k hodnotám s nižší energií může mezi jednotlivými singletovými stavy molekula přecházet pomocí nezářivého přechodu – vnitřní konverzí. Ta bývá zejména v roztoku následována vibrační relaxací, což je nezářivý přechod mezi jednotlivými vibračními energetickými hladinami. Další možností deexcitace je fluorescence, to je zářivý přechod z nejnižší vibrační hladiny prvního excitovaného singletového stavu do singletového základního stavu, při tomto ději je uvolňováno elektromagnetické záření, s energií rovnou rozdílu energetické hladiny  $S_1$  a

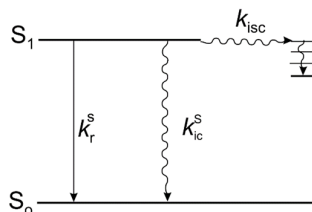
příslušné vibrační  $S_0$  kam molekula přechází, v případě látek používaných v této práci, odpovídá vlnové délce v oblasti viditelného světla.

Také se může uskutečnit mezisystémový přechod na hladinu  $T_1$ , z ní poté dochází k návratu do  $S_0$  buď zářivým přechodem – fosforescencí, nebo také nezářivým mezisystémovým přechodem do stavu  $S_0$  a následnou vibrační relaxací. Fosforescence je přechod kvantově mechanicky zakázaný při běžných podmínkách bývá méně častý a začíná se projevovat například při nízkých teplotách anebo v pevné fázi. Před proběhnutím fosforescence může ještě dojít k návratu na hladinu  $S_1$ , dojde-li poté k fluorescenci nazýváme jí zpožděnou neboli E– typem [2], [8], [7], [10].



Obrázek 2: Perrin-Jablonského diagram – energie roste svisle směrem nahoru, vodorovné čáry představují jednotlivé energetické stavy molekuly. Tlusté čáry jsou elektronické energetické stavy a slabé vibrační energetické stavy [10]

Fluorescenční přechod je spojen se zářivým přechodem molekuly do základního energetického stavu  $S_0$ . Kinetiku fluorescence můžeme popsat pomocí rychlostních konstant,  $k_r^S$  pro zářivé přechody,  $k_{ic}^S$  je konstanta pro nezářivou vnitřní konverzi z  $S_1$  do  $S_0$  a konstantu mezisystémových přechodů  $k_{isc}$  (Obrázek 3). Součtem  $k_{ic}^S$  a  $k_{isc}$  obdržíme výslednou konstantou pro nezářivé děje je  $k_{nr}^S$  [8].



Obrázek 3: Znázornění rychlostních konstant pro přechod mezi energetickými hladinami [8]

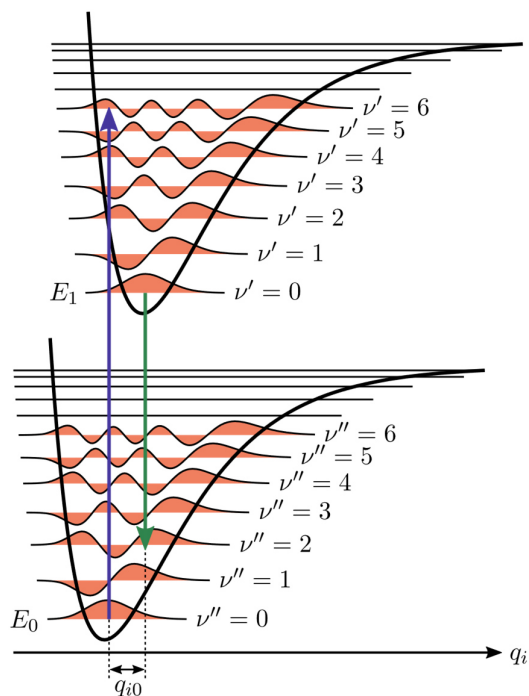
### 2.1.3. Franc-Condonův princip

Elektrony nacházející se v molekulových orbitalech jsou oproti jádrům atomů mnohonásobně lehčí, proto jsou vibrace elektronů mnohem rychlejší než vibrace jader. Absorpce fotonu, je moc krátká na to, aby se projevila v pohybu jader, elektrony stačí reagovat rychleji. Přechod

elektronů na vyšší energetickou hladinu trvá řádově  $10^{-15}$  s. Těžká jádra, ale takto rychle svoji konfiguraci měnit nestačí – jsou tzv. „zmrzlá“. Mluvíme pak o Franck-Condonově stavu, jaderná konfigurace se nemění a přechod elektronu se nazývá vertikální tranzice (modrá šipka Obrázek 4), elektron přestupuje do stavu ležícího vertikálně nad výchozím základním stavem. V excitovaném stavu pak po nějaké době dojde i ke změně jaderné konfigurace (rozdíl oproti základnímu stavu ukazuje na Obrázku 4 vzdálenost  $q_{i0}$ ).

Z hlediska kvantové mechaniky dochází k přechodu tak, aby se vibrační vlnová funkce změnila co možná nejméně. Vertikální energie pak tedy odpovídá přechodu mezi základním stavem a vibrační hladině excitovaným stavem, který odpovídá stejné geometrii jako základní stav. Zjednodušeně řečeno, elektron přestupuje do takové energetické hladiny, kde je vlnová funkce ve stejné fázi jako v základní hladině. Z tohoto důvodu nemusí nejbližší absorpční pás odpovídat rozdílu nejbližších energetických hladin. V absorpčním spektru je potom možné pozorovat přechody na různé vibrační hladiny, s intenzitou úměrnou pravděpodobnosti uskutečnění se tohoto přechodu.

Změna jaderné konfigurace v excitovaném stavu souvisí se stavbou molekuly, kde například pro rigidní molekuly (polycyklické aromatické uhlovodíky) bude změna malá, tudíž bude s větší pravděpodobností docházet k tranzici na nejnižší vibrační hladiny excitovaného stavu. Na změnu jaderné konfigurace v excitovaném stavu má dále vliv prostředí obklopující molekulu [8], [11], [12].



Obrázek 4: Znárodnění Franck-Condonova principu a Kashova pravidla [13]

#### 2.1.4. Kashovo pravidlo

K fluorescenci dochází při zářivém přechodu z nejnižší hladiny excitovaného singletového stavu  $S_1$  (v Obrázku 4 – znázorňuje zelená šipka a k přechodu dochází z hladiny označené jako  $E_1$ ). Vlnová délka emise, potažmo celé emisní spektrum je proto nezávislé na vlnové délce

excitačního záření. Při různých excitačních vlnových délkách bude mít tedy emisní spektrum stejný tvar. Čím se však emisní spektrum při různých vlnových délkách bude lišit je jeho intenzita. Proto měříme excitační spektrum, aby bylo možné zjistit co nejintenzivnější emisi pro následné měření emisních spekter, kvantového výtěžku a doby života fluorescence [10], [12].

### **2.1.5. Stoeksův posun**

Energie emitovaného záření je nižší než záření, které je absorbováno. Ke změně energie dochází při vibrační relaxaci do stavu  $S_1$ . Stoeksův posun pak vyjadřuje rozdíl ve vlnové délce maxim absorpčního a emisního spektra. Podává informace o excitovaném stavu molekuly, hlavně o chování energetických přechodů v prostředí rozpouštědla, kdy je z něj patrné ovlivnění dipólového momentu molekuly v excitovaném a neexcitovaném stavu. Velikost Stoeksova posunu je ovlivněna prostředím, ve kterém se molekula nachází, ovlivňuje ho polarita rozpouštědla a teplota. Stoeksova posunu je možné použít při měření polaritý látek fluorescenční molekuly obklopujících [2]. Stoeksův posun je na ukázkou vyznačen ve spektru jedné z látek použitých v této práci (Obrázek 5).

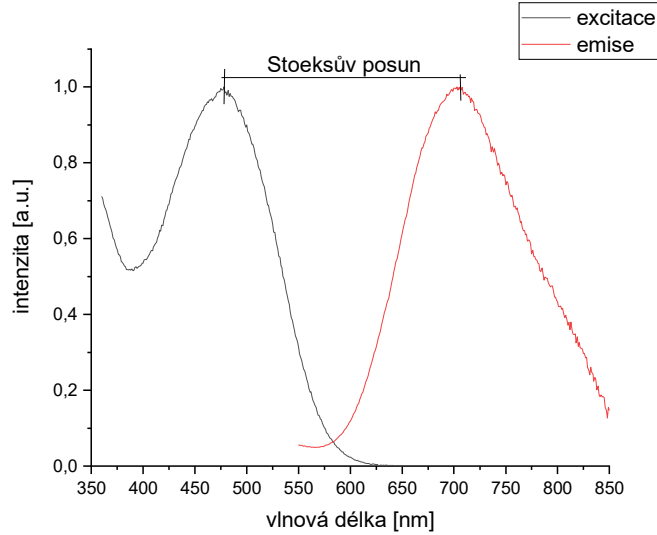
## **2.2. Charakterizace fluorescence**

Fluorescenci charakterizujeme zejména emisními a excitačními spektry, kvantovým výtěžkem, dále pak dobou života fluorescence. Měřené parametry nám umožňují charakterizovat molekuly fluoroforů, jejich energetické přechody a vlastnosti v různých prostředích, nebo pozorovat děje kterým podléhají.

### **2.2.1. Excitační a emisní spektra**

Emisní spektrum je závislost intenzity fluorescence na emisní vlnové délce při určité excitační vlnové délce. Do jeho tvaru se promítají pravděpodobnosti přechodu z nejnižší vibrační úrovně hladiny  $S_1$  do různých vibračních hladin základního stavu  $S_0$ . Každá sloučenina má spektrum pro sebe charakteristické, jeho tvar však lze ovlivnit interakcemi s okolím molekuly, tj. polaritou rozpouštědla, pH atd. Emisní a excitační spektrum roztoku jedné z látek používaných v této práci ukazuje Obrázek 5.

Excitační spektrum je závislost intenzity fluorescence na excitační vlnové délce měřená při fixní emisní vlnové délce. Maximum v excitačním spektru ukazuje, při jaké vlnové délce dopadajícího záření bude fluorescence nejintenzivnější. Teoreticky by se mělo absorpční a excitační spektrum molekuly překrývat, jejich odlišnosti ukazují na přítomnost neradiačních deexcitačních procesů.



Obrázek 5: Excitační (černě) a emisní (červeně) spektrum roztoku látky DPA-DXS-IOO v THF.

Intenzitu fluorescence v závislosti na excitační vlnové délce  $\lambda_{ex}$  popisuje Rovnice 3.

$$I_F(\lambda_{ex}) = 2,3k\Phi_F I_0(\lambda_{ex})[\varepsilon(\lambda_{ex})lc] \quad (3)$$

Závisí tedy na kvantovém výtěžku fluorescence  $\Phi_F$ , intenzitě dopadajícího excitačního záření  $I_0(\lambda_{ex})$ , poslední závorka představuje absorpenci kde  $\varepsilon(\lambda_{ex})$  je absorpční koeficient,  $c$  koncentrace roztoku a  $l$  optická dráha. Pro roztoky různých látek o stejné koncentraci bude tedy intenzita fluorescence záviset, kromě kvantového výtěžku, i na absorpčním koeficientu. Vnímaný jas fluoroforu potom udává součin  $\Phi_F \varepsilon(\lambda_{ex})$ . Vysoké kvantové výtěžky bývají spojeny s vysokými absorpčními koeficienty přechodu  $S_0 \rightarrow S_1$ , pro excitační vlnové délky určitého absorpčního pásu bude tedy jas fluoroforu vysoký. Pro absorpční vlnové délky ležící mimo tento pás však už tak vysoký absorpční koeficient být nemusí a jas bude tedy menší [8].

Absolutní hodnota intenzity fluorescence není vlivem experimentálního nastavení měřících přístrojů vždy stejná. Proto bývají spektra normalizována a intenzita vyjadřována bezrozměrně [2], [8], [14].

### 2.2.1. Kvantový výtěžek fluorescence

Kvantový výtěžek je jakási „účinnost“ fluorescence. Je to podíl počtu fotonů, které jsou vyzářeny  $N_{em}$  ku počtu fotonů, které látka absorbuje  $N_{abs}$ . Jeho další možná vyjádření ukazuje Rovnice 4. Kde  $k_r^S$  je rychlostní konstanta zářivých přechodů ze singletového excitovaného stavu,  $k_{nr}^S$  rychlostní konstanta nezářivých přechodů ze singletového excitovaného stavu a  $\tau_S$  doba života singletového excitovaného stavu.

$$\Phi_F = \frac{N_{em}}{N_{abs}} = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_r^S \tau_S. \quad (4)$$

K absolutnímu stanovení kvantového výtěžku slouží integrační sféra [15] spojená se spektrofotometrem. Do sféry se vkládá střídavě měřený vzorek a blank a výsledné průběhy

intenzit fluorescence se zpracovávají softwarem, takto byly měřeny kvantové výtěžky v této práci.

Kvantový výtěžek je důležitým parametrem při hodnocení schopnosti látky vyzařovat, a díky jeho vyjádření pomocí rychlostních konstant zářivých a nezářivých přechodů umožňuje vhléd do procesů spojených s emisí světla [8], [10].

### 2.2.2. Doba života excitovaného stavu a fluorescence

Doba života excitovaného stavu  $\tau_{ex}$  je čas, který fluorofor stráví na vyšších energetických hladinách. Po tuto dobu může molekula interagovat s okolím či podléhat různým dějům. Doba života excitovaného stavu je obecně ovlivněna jeho okolím a interakcemi s ním, v roztoku tedy rozpouštědlem a jeho fyzikálními vlastnostmi (polaritou, viskozitou atd.). Doba života excitovaného stavu definujeme jako převrácenou hodnotu součtu rychlostních konstant zářivých a nezářivých přechodů, jež byly zavedeny dříve. Toto je vyjádřeno matematicky podle Rovnice 5.

$$\tau_{ex} = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S}. \quad (5)$$

Pomocí doby života excitovaného stavu je možné vyjádřit kvantový výtěžek podle Rovnice 6.

$$\Phi = \frac{\tau_{ex}}{\tau_r} \quad (6)$$

V tomto vztahu vystupuje veličina  $\tau_r$ , která představuje dobu života radiační procesů, je možné nazývat ji dobou života fluorescence. Tato doba je zjišťována experimentálně a při známém kvantovém výtěžku je tedy možné dobu života excitovaného stavu dle Rovnice 6 určit.

Měření doby života fluorescence nám umožňuje pozorovat fotofyzikální děje, kterým fluorofor podléhá, včetně popisu Försterova rezonančního přenosu. Pro experimentální stanovení doby života fluorescence je nutné znát závislost vývoje intenzity fluorescence  $I$  v čase  $t$ , ten uvádí Rovnice 7 respektive Rovnice 8. Samotné měření bude více popsáno v experimentální části.

$$I(t) = B e^{-\frac{t}{\tau_r}} \quad (7)$$

Kde  $B$  je před exponenciální faktor. Důležitou informací, kterou je potřeba na tomto místě zmínit je to, že molekula nemusí mít pouze jednu dobu života fluorescence, v tomto případě má intenzita v čase multiexponenciální závislost a můžeme ji vyjádřit Rovnicí 8.

$$I(t) = \sum_{i=1}^n B_i e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (8)$$

Pomocí před exponenciálních faktorů potom můžeme vypočítat průměrnou dobu života fluorescence pomocí Rovnice 9.

$$\langle \tau_B \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n B_i \tau_i}{\sum_{i=1}^n B_i} \quad (9)$$



Rovnice 9 byla v této práci používána pro výpočet průměrné doby života fluorescence ( $\tau_B$ ), která zase sloužila k výpočtu účinnosti FRET, jelikož použité látky vykazovaly právě multiexponenciální vyhasínání fluorescence [2], [8], [16].

### 2.3. Försterův rezonanční přenos energie

Försterův rezonanční přenos energie je nezářivý přenos při kterém dochází k přenosu energie mezi excitovanou molekulou donoru a molekulou akceptoru, která je v základním stavu. Na rozdíl od zářivých přenosů nedochází k reabsorpci fotonu vyzářeného donorem. K přenosu dochází pomocí dipól-dipól interakce, energie je přenášena pomocí oscilujícího elektrického pole, které indukují elektrony donoru a které excituje elektrony akceptoru [14]. Díky tomu může být uskutečňován na vzdálenosti až do deseti nanometrů. K uskutečnění FRET je nutná energetická blízkost deexcitačního přechodu donoru a excitačního přechodu akceptoru. Z této podmínky tedy vyplývá, že emisní spektrum donoru a absorpční spektrum akceptoru se musí překrývat a čím větší bude překryv, tím účinnější bude přenos.

Další z podmínek, které by měly látky splňovat je dostatečně dlouhá doba života fluorescence donoru a vhodná prostorová orientace molekul, zejména jejich dipólových momentů [10].

Pro zjištění, jestli v systému probíhá FRET lze postupovat následujícími způsoby. Při zvyšování koncentrace akceptoru je v emisních spektrech patrná klesající intenzita fluorescence v oblasti vlnové délky charakteristické pro donor a rostoucí intenzita fluorescence v oblasti akceptoru. Dále platí že při přidávání akceptoru se bude snižovat doba života excitovaného stavu donoru [17].

Účinnost FRET je definována jako podíl excitovaných molekul, u kterých došlo k energetickému přenosu na akceptor. Pomocí doby života excitovaného stavu donoru pak v případě monoexponenciální závislosti této doby, můžeme účinnost vypočítat (Rovnice 10).

$$\eta = 1 - \frac{\tau_{DFRET}}{\tau_{D0}} \quad (10)$$

Kde  $\tau_{DFRET}$  je doba života fluorescence stavu donoru s přidavkem akceptoru a  $\tau_{D0}$  je doba života fluorescence donoru v systému bez akceptoru. Účinnost je v rozsahu mezimolekulárních vzdáleností 2–10 nm nepřímo úměrná šesté mocnině této vzdálenosti, toho se využívá při určování vzdáleností v biomolekulách a supramolekulárních celcích. Nakonec je důležité zmínit že k FRETu může docházet i v rámci jedné molekuly [10], [18], [19].

#### 2.3.1. Výpočet Försterovy vzdálenosti

Od roku 1946 publikoval Theodor Förster práce o energetických přenosech mezi molekulami, zabýval se hlavně rezonančními přenosy, proto byl po něm tento typ pojmenován. Pomocí klasické teorie elektromagnetického pole i kvantové mechaniky odvodil Förster vztah pro výpočet rychlostní konstanty dipól-dipólového přenosu s dalekým dosahem. Dalším odvozováním se poté dostal k vyjádření Försterovy vzdálenosti  $R_0$ , při této vzdálenosti má přenos energie právě padesáti procentní účinnost (to vyplývá z rovnosti rychlostní konstanty přenosu a emisní rychlostní konstanty donoru), vztah pro  $R_0$  potom udává Rovnice 11.

$$R_0^6 = \frac{9(\ln 10)\kappa^2\Phi_D}{128\pi^5N_a n^4} J \quad (11)$$

Kde  $\kappa$  je orientační faktor,  $\Phi_D$  kvantový výtěžek fluorescence donoru,  $N_a$  Avogadrova konstanta,  $n$  index lomu a  $J$  překryvový integrál. Po vyjádření všech konstant a dodržení jednotek [ $J$ ] = mol<sup>-1</sup>dm<sup>3</sup>cm<sup>-1</sup>nm<sup>4</sup>, dostáváme Rovnici 12, pomocí které byla počítána Försterova vzdálenost v této práci.

$$R_0 = 0.02108 \left[ \frac{\kappa^2\Phi_D}{n^4} J \right]^{\frac{1}{6}} \quad (12)$$

Kde [ $R_0$ ] = nm, dále je potřeba vyjádřit překryvový integrál. Pro spektra, jejichž intenzita není normalizována na jednotkovou plochu lze překryvový integrál vypočítat podle Rovnice 13.

$$J = \frac{\int F_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda}{\int F_D(\lambda)d\lambda} \quad (13)$$

Kde  $F_D$  je intenzita emisního spektra,  $\varepsilon_A$  molární absorpční koeficient a  $\lambda$  vlnová délka.

Určí-li se experimentálně účinnost podle Rovnice 10, je potom možné pomocí Rovnice 14 vypočítat vzdálenost donoru a akceptoru  $r$ , případně i podle Rovnice 15 rychlostní konstantu FRET [16], [20].

$$r = \left( \frac{1}{\eta} - 1 \right)^{\frac{1}{6}} R_0 \quad (14)$$

$$k_t = \frac{1}{\tau_{D0}} \left( \frac{R_0^6}{r^6} \right) \quad (15)$$

Spojíme-li Rovnici 12, a 14 a 15 a vztah upravíme dostaneme výsledek ve formě Rovnice 16. Určujeme-li tedy účinnost FRET pomocí měření dob života bude rychlostní konstanta záviset jen na naměřené době života fluorescence samotného donoru  $\tau_{D0}$  a době fluorescence donoru podléhajícího FRET  $\tau_{DFRET}$ , který se v Rovnici 15 ukrývá v účinnosti přenosu  $\eta$ .

$$k_t = \frac{1}{\tau_{D0}} \left( \frac{\eta}{1 - \eta} \right) \quad (15)$$

#### 2.4. Stavba použitých molekul

Změny barvy fluorescence organických fluoroforů je možné dosáhnout substitucí různých funkčních skupin nebo pozměněním stavby molekuly. Vlivem těchto změn se totiž mění rozložení elektronů v molekule v jehož konečném důsledku i energie přechodů, které se v molekule odehrávají. Toto ukazuje například práce [5], kde jsou na stejný molekulární „skelet“ navázány různé funkční skupiny, sledovány a diskutovány změny fluorescenčních vlastností, které tyto substituenty způsobují.

V této bakalářské práci jsou používány molekuly na bázi substituovaných 2,5-difenylstilbenů, ty se vyznačují rozsáhlými konjugovanými  $\pi$  systémy. U nichž dochází k přechodu  $\pi-\pi^*$ , jde o tranzici energeticky nejméně náročnou a v porovnání s ostatními přechody má velký molární absorpčním koeficient a kvantový výtěžek.

U molekul obsahující pouze konjugovaný  $\pi$  systém platí že, čím rozsáhlejší systém bude, tím energeticky nižší je přechod. Substitucí různých funkčních skupin na skelet molekuly dosáhneme změny v absorpčním i emisním spektru. Tento jev nazýváme jako auxochromní efekt a funkční skupiny toto způsobující jako auxochromy [6].

V již zmiňované práci [5] jsou taktéž na molekulu substituovaných 2,5-difenylstilbenů navázány elektron-akceptorní skupiny. Je ukázáno že s jejich rostoucí silou těchto skupin klesá LUMO energetická hladina. Emisní vlnová délka tedy roste a barva emise těchto látek se tedy dle síly elektron-akceptorní skupiny mění od azurové po červenou.

Vycházíme-li tedy z této práce můžeme předběžně odhadnout, jaké látky je možné v našem případě použít pro nanočásticový systém jako donor a akceptor. Seřadíme-li látky podle síly substituované elektron-akceptorní skupiny ve vzestupném pořadí: CA-DPS-V (vinylová skupina), CA-DPS-CHO (formylová skupina), CA-DPS-DCV (kyano skupiny), DPA-DXS-IOO (substituován indan-1,3-dion). Emisní maximum látek v takovémto pořadí by se tedy měla měnit od nižších do vyšších vlnových délek. Tato úvaha byla opravdu potvrzena, konkrétní spektrální informace o použitých látkách jsou uvedeny v kapitole 4.1 [21], [20].

## ***2.5. Fluorescenční organické nanočástice***

Oproti anorganickým luminiscenčním nanočásticím poskytují organické nanočástice výhody jako je ladění pomocí molekulárního designu, stálost optických vlastností, vysoký luminiscenční kvantový výtěžek, nízké výrobní náklady, snadnou velkoobjemovou výrobu, kompatibilitu s jinými organickými substráty a větší šetrnost k životnímu prostředí, tím ukazují potenciál pro využití v optoelektronických zařízeních nové generace jako jsou například ohebné displeje [22].

Pro přípravu organických nanočástic se nejčastěji používá přístup top-down, tedy rozrušováním vyšších celků pro tvorbu rozměrově menších například mletím [23]. Zde se ale zabýváme tvorbou nanočástic z molekul, jdeme tedy od nižších celků k vyšším. Tato metoda se nazývá bottom-up a využíváme metody zvané nanoprecipitace. První příprava organických nanočástic touto metodou byla provedena v roce 1998, tato metoda spočívá v přidávání rozpuštěné látky do kapaliny, ve které látka rozpustná není. Toto přidávání probíhá po malých částech roztoku látky za stálého míchání směsi. Metoda je jednoduchá, levná a množstvím přidávané rozpuštěné látky je pak možné kontrolovat velikost připravených částic [24]. Zároveň je snaha ovlivňovat morfologii, krystalinitu a optické vlastnosti takto tvořených částic.

Optické vlastnosti anorganických polovodičových nanočástic již byly prozkoumány poměrně důkladně a bylo zjištěno že vlastnosti se v závislosti na velikosti výrazně mění. Optické vlastnosti organických nanočástic se s velikostí mění také ale mechanismy fungování oproti anorganickým jsou díky složitější stavbě organických molekul rozdílné. Organické látky jsou v pevném skupenství udržovány van der Waalsovými silami, ty jsou několikanásobně slabší,

než kovalentní interakce díky tomu vykazují organické látky v pevné fázi například nižší body tání, sníženou tepelnou stabilitu a změny v mechanických vlastnostech [22].

U anorganických nanočástic, ovlivňuje jejich velikost hloubku potenciálové jámy, ve které se nachází elektron, který je posléze excitovaný. Velikostí se tedy přímo modifikuje vlnová délka emise [25]. Organické nanočástice se skládají z molekul silově na sebe působících, ovlivňováním velikosti nanočástice pak může docházet ke změně interakcí molekul uvnitř nanočástice či nanočástic mezi sebou, to vede k ovlivnění fluorescence molekul, tedy i barvy výsledné emise.

Například k růstu mezimolekulárních interakcí dochází u nanočástic 1,3-difenylo-5-(2-antrylo)-2-pyrazolinu. Ty vykazují s rostoucí velikostí (do 160 nm) bathochromní posun emisního spektra, to je způsobeno zvýšením interakce pyrazolinového kruhu a antracenové části sousední molekuly k němuž u menších nanočástic (40 nm) dochází minimálně [26]. Dalším příkladem mohou být nanočástice 1-kyano-trans-1,2-bis-(4-methylbifenylo)ethylen (30–40 nm), které oproti roztoku vykazují až sedmsetkrát intenzivnější emisi způsobenou planarizací molekuly [27].

Různou koncentrací látek přítomných v organických nanočásticích je možné měnit barvu emise a je-li mezi látkami přítomný přenos energie zvyšuje se zpravidla ve formě nanočástic jeho účinnost [22].

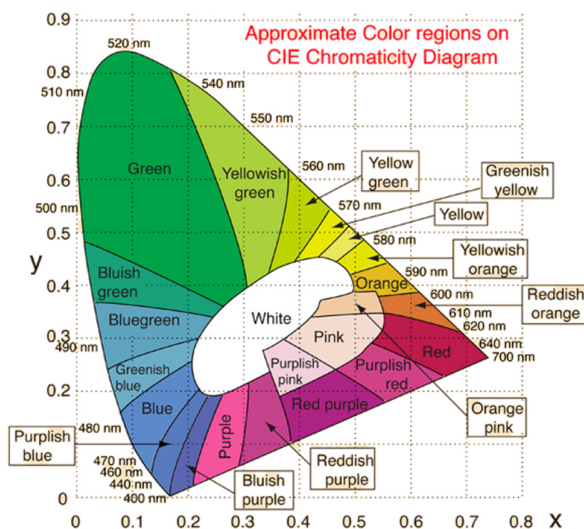
## **2.6. Barva**

Popis barev a jejich vnímání člověkem je velmi komplexní problematika. Vědní obor, který se snaží popsat vnímání barev se nazývá kolorimetrie. Na začátek je možné uvést že na výsledné barvě mají vliv nejen fyzikální vlastnosti světla ale i citlivost oka a zpracování nervových vzruchů v mozku.

Základní teorie popisu barev stojí na směšovacím experimentu. Pomocí něj byl odvozen numerický popis spektrální odezvy pozorovatele tzv. colour matching funkce (CMF). Násobením CMF spektrální hustotou zdroje získáme trichromatické činitele. Ty je posléze možné přepočítat na barevné souřadnice. K znázornění těchto souřadnic potom slouží barevné souřadnicové systémy.

V publikacích, zabývajících se podobným tématem jako tato práce, je nejvyužívanějším diagramem CIE 1931 xyY, zejména pro jeho názornost. Malé x a y jsou barevné souřadnice (s rostoucím x roste zastoupení zelené, s rostoucím y zastoupení červené) a velké Y je jas. Tento diagram s konstantní velikostí jasu a vyznačenými oblastmi odpovídající různým barvám ukazuje Obrázek 6. V této práci se zajímáme zejména o oblast bílé barvy, nacházející se v blízkosti tzv. ekvivalentního bílého bodu ( $x = 0,33$  a  $y = 0,33$ ), v kolorimetrii se pro tento bod používá název Iluminant E.

Jedním z nevýhod spojených s CIE 1931 xyY je jeho neekvidistantnost (nepoměr mezi vnímáním barvy a vzdáleností vynášených bodů). Z tohoto důvodu v něm není možné vynášet barevné odchylky [28].



Obrázek 6: CIE 1931 xyY barevný diagram se znázorněním oblastí odpovídajícím jednotlivým barvám [29].

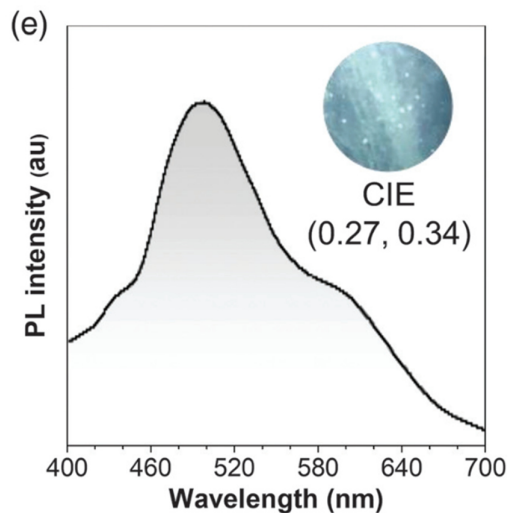
## 2.7. Současně dosažení WLE

V úvodu již byly zmíněny některé strategie používající se k tvorbě emise bílého světla. V případě této práce se tedy používají nanočásticové Host-Guest systémy tvořené dvěma typy organických molekul, mezi kterými dochází k Försterově přenosu energie a tyto systémy jsou připraveny pomocí nanoprecipitační metody. Takováto kombinace použitých metod a přístupů je v literatuře poměrně vzácná.

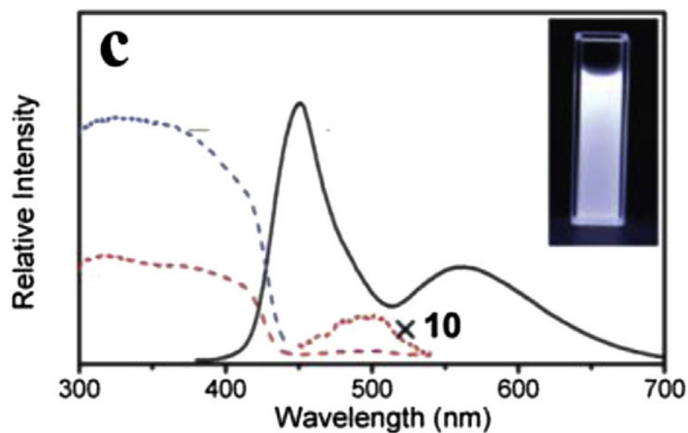
V případě souvislosti FRET mezi dvěma látkami a emisí bílé barvy, bylo zjištěno že k WLE dochází při vysokých účinnostech přenosu energie (kolem padesáti procent). Toto však bylo pozorováno v roztoku látek v chlorbenzenu [17]. Další práce [30] ukazuje tvorbu WLE pomocí FRET v nanočásticích a opět je zde dosaženo vyšší účinnosti FRET mezi donorní a akceptorní látkou (opět kolem padesáti procent). Tyto nanočástice však byly vytvořeny smícháním fluorescenčních látek s monomerem a následnou emulzní polymerací [30].

Dále se nebudeme zabývat typy systémů dle jejich přípravy a mechanismu vzniku WLE ale zaměříme se na rozložení jejich emisních spekter. Pro emisi bílé barvy je potřeba určité spektrální rozložení, tedy výsledné emisní spektrum určitého tvaru. Jak se ukazuje je z literatury možné pozorovat hlavní typy tohoto rozložení. Jedno z nich je ve formě jednoho píku [31], jeho maximum musí být vhodně umístěno (kolem 500 nm) a musí být dostatečně široký a symetrický, aby směrem od jeho středu byly vyšší i nižší vlnové délky dostatečně zastoupeny. Příklad takového spektra uvádí Obrázek 7.

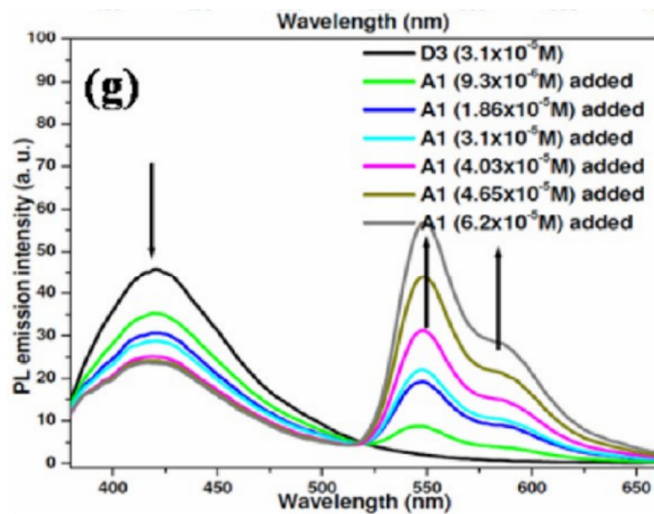
Dalším možným rozložením je různý poměr intenzit jednotlivých částí spektra. To je dobře patrné z Obrázek 8, kde je sice intenzivnější část v kratších vlnových délkách, je však poměrně úzká a je tedy vyvážena spektrálně rozsáhlejší oblastí ve větších vlnových délkách [1]. Poslední, zde popisovanou možností je poté zastoupení dvou stejně, nebo velmi podobně intenzivních oblastí. Jak ukazuje Obrázek 9 z již zmiňované práce [17], kde při množství látky D3 a zastoupení  $4,03 \cdot 10^{-5}$  M látky A1 bylo dosaženo souřadnic (0,30 0,33).



Obrázek 7: WLE dosažená jedním píkem v emisním spektru [31].



Obrázek 8: WLE různým poměrem intenzit fluorescence v oblasti kratších a delších vlnových délek [1].



Obrázek 9: WLE při stejné intenzitě v oblasti donorní a akceptorní části spektra [17].

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro realizaci experimentů byly použity následující prostředky:

- Magnetická míchačka Big Squid IKAMAG – IKA, (BioTech a.s.)
- Analytické váhy EW 620-3NM, (KERN)
- UV-Vis spektrofotometer Cary 50 Probe (Varian)
- Spektrofluorometr Fluorolog (Horiba Jobin Yvon Scientific, Inc.)
- Spektrofluorometr Fluorocube, (Horiba Jobin Yvon Scientific, Inc.)
- Integrační sféra Quanta Phi (Horiba Jobin Yvon Scientific, Inc.)
- Běžné laboratorní sklo a vybavení

Jako rozpouštědlo pro přípravu roztoků byl použit Tetrahydrofuran od společnosti Sigma-Aldrich  $\geq 99,9\%$ . Voda použitá při přípravě nanočástic byla deionizovaná.

#### 3.1. Použité látky

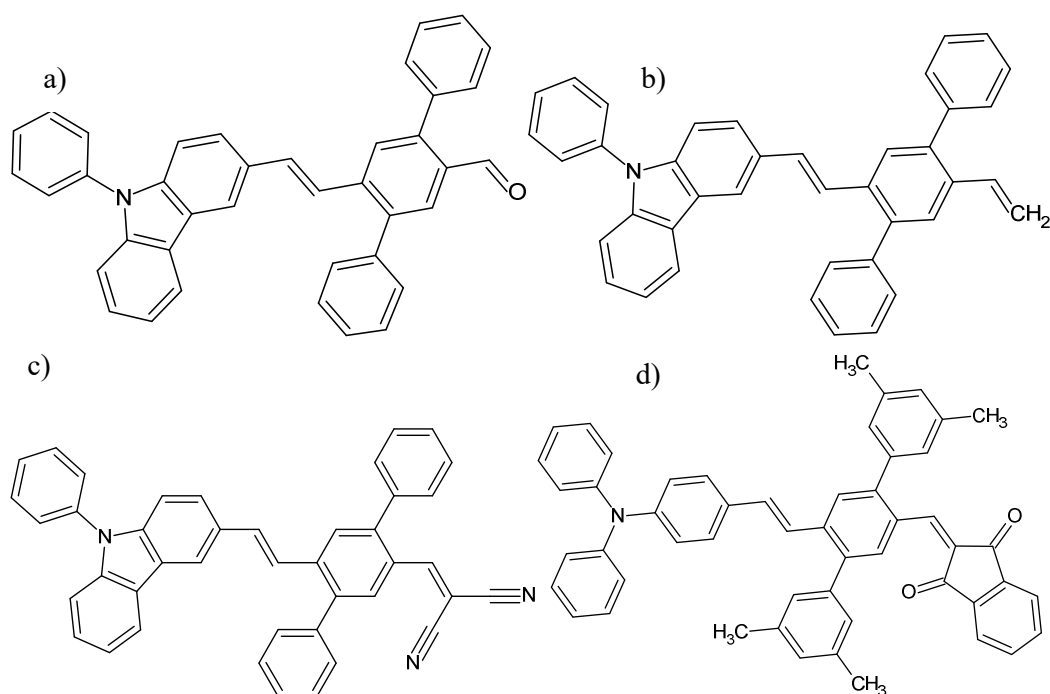
V této práci byly použité celkem čtyři látky na bázi substituovaných stilbenů, jako donor/matrice byly použity látky CA-DPS-V (H2) a CA-DPS-CHO (H1) a jako akceptor/dopant CA-DPS-DCV (G1) a DPA-DXS-IOO (G2) ekvivalentní názvy látek uvádí Tabulka 2. Struktury látek ukazuje Obrázek 10. Použité látky byly syntetizovány na Univerzitě Pardubice skupinou prof. Ing. Aleše Imramovského, Ph.D. Molární hmotnosti použitých látek uvádí Tabulka 1.

Tabulka 1: Molární hmotnosti použitých látek

Látka	Molární hmotnost [g/mol]
CA-DPS-CHO	526
CA-DPS-V	524
CA-DPS-DCV	574
DPA-DXS-IOO	712

Tabulka 2: Ekvivalentní názvy látek

CA-DPS-CHO	DC-19	H1
CA-DPS-V	DC-27	H2
CA-DPS-DCV	DC-20CA	G1
DPA-DXS-IOO	DC-20	G2



Obrázek 10: Molekuly použitých látek. a) H1, b) H2, c) G1, d) G2

### 3.2. Příprava nanočástic

Celkem byly připraveny tři nanočásticové systémy (Tabulka 3): CA-DPS-CHO s CA-DPS-DCV (systém 1), CA-DPS-V s CA-DPS-DCV (systém 2) a CA-DPS-V s DPA-DXS-IOO (systém 3). Nejdříve byly připraveny zásobní roztoky jednotlivých látek rozpuštěním 0,002 g příslušné látky ve 20 ml v THF. Následně byly tyto zásobní roztoky míšeny v objemových poměrech. Objem roztoku donoru pro přípravu nanočástic byl vždy 1 ml k němuž byl podle potřebných poměrů přidáván zásobní roztok akceptoru, v případě většího nadbytku donoru byl přidáván zásobní roztok akceptoru desetkrát zředěný. Například poměr označený 100:1 znamená, že k jednomu 1 ml zásobního roztoku donoru bylo přidáno 10  $\mu$ l zásobního roztoku akceptoru. Objemové poměry přepočtené na látkové množství pro jednotlivé systémy uvádí Tabulka 4, Tabulka 5 a Tabulka 6.

Pro přípravu nanočásticových systémů bylo do vialky o objemu 10 ml pomocí pipety odměřeno 5 ml destilované vody. Poté do ní bylo vloženo míchadélko a byla přenesena na magnetickou míchačku. Po zapnutí míchání bylo do vzniklého víru přikapáváno pomocí mikropipety, 0,1 ml společného roztoku látek v THF o požadovaném složení.

Tabulka 3: Složení studovaných systémů

Systém 1	H1 + G1
Systém 2	H2 + G1
Systém 3	H2 + G2



Tabulka 4: Složení roztoků pro přípravu nanočásticového systému 1

Objemový poměr zásobních roztoků	CA-DPS-CHO [mol]	CA-DPS-DCV [mol]	Poměr látkového množství
5:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$3,49 \cdot 10^{-8}$	6:1
10:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$1,74 \cdot 10^{-8}$	11:1
25:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$6,97 \cdot 10^{-9}$	27:1
50:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$3,49 \cdot 10^{-9}$	55:1
100:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$1,74 \cdot 10^{-9}$	110:1
125:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$1,39 \cdot 10^{-9}$	136:1
200:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$8,72 \cdot 10^{-10}$	218:1
250:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	273:1
1000:1	$1,90 \cdot 10^{-7}$	$1,74 \cdot 10^{-10}$	1091:1

Tabulka 5: Složení roztoků pro přípravu nanočásticového systému 2

Objemový poměr zásobních roztoků	CA-DPS-V [mol]	CA-DPS-DCV [mol]	Poměr látkového množství
10:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,74 \cdot 10^{-8}$	11:1
50:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$3,49 \cdot 10^{-9}$	55:1
100:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,74 \cdot 10^{-9}$	110:1
150:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,16 \cdot 10^{-9}$	164:1
250:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	273:1

Tabulka 6: Složení roztoků pro přípravu nanočásticového systému 3

Objemový poměr zásobních roztoků	CA-DPS-V [mol]	DPA-DXS-IOO [mol]	Poměr látkového množství
100:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,40 \cdot 10^{-9}$	136:1
250:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$5,62 \cdot 10^{-10}$	340:1
350:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$4,01 \cdot 10^{-10}$	476:1
500:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,16 \cdot 10^{-9}$	680:1
750:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$6,97 \cdot 10^{-10}$	1020:1
1000:1	$1,91 \cdot 10^{-7}$	$1,40 \cdot 10^{-10}$	1360:1

### 3.3. Fotofyzikální vlastnosti

#### 3.3.1. Emisní a excitační spektra

Všechna fluorescenční spektra uváděná v této práci byla měřena na přístroji Fluorolog od společnosti Horiba. Zdrojem excitačního záření je zde xenonová oblouková výbojka. Přístroj umožňuje zaznamenávat excitační a emisní spektra v rozsahu 250–850 nm. Měření byla prováděna v rozsahu  $8\text{--}12 \cdot 10^5$  CPS na detektoru T1. Pro záznam byla použita detektorová algebra T1c/R1c. Tato kombinace poskytuje fluorescenční signál korigovaný na spektrální odezvu detektoru a kolísání intenzity.

#### 3.3.2. Časově rozlišená fluorescence

Pro charakterizaci jednotlivých látek a následné výpočty účinnosti FRET a rychlostních konstant bylo nutné zjistit časové závislosti vyhasínání fluorescence. Tato měření byla prováděna na přístroji Horiba FluoroCube metodou časově korelovaného počítání jednotlivých fotonů (TCSPC). K analýze naměřených dat, tedy rekonvoluci excitačního pulzu z naměřené časové závislosti a fitování této závislosti byl použit software DAS6 od společnosti Horiba. V tomto programu byla naměřená data fitována pomocí multiexponenciálního vyhasínání. Výsledkem této operace potom byly časy dob života  $\tau$  a hodnoty před exponenciálních faktorů  $B$  a jejich relativní hodnoty  $B_{rel}$ . Relativní amplitudy  $B_{rel}$  software počítá pomocí časově vážených průměrů předexponenciálních faktorů. V případě multiexponenciální závislosti vyhasínání byla počítána průměrná doba života fluorescence  $\langle \tau_B \rangle$  dle Rovnice 9. Přesnost fitu experimentálních dat se hodnotí pomocí  $\chi^2$  kvadrátového testu, v ideálním případě požadujeme pro  $\chi^2$  hodnoty 1,0–1,2, tohoto rozmezí bylo v této práci prakticky vždy dosaženo.

Jak bylo uvedeno výše, účinnost FRET se určuje metodou zhášení donoru, kdy je nutné znát dobu fluorescence samotného donoru a poté dobu fluorescence donoru v jednotlivých poměrech. V případě měření časově rozlišené fluorescence pro nanočásticové HG systémy proto bylo měření ve všech případech prováděno při excitační vlnové délce 361 nm, emise byla měřena při 457 nm, což odpovídá maximu emisní vlnové délky látky H2 ve formě nanočástic.

#### 3.3.3. Kvantový výtěžek

Kvantové výtěžky byly měřeny pomocí integrační kvantové sféry Quanta-Phi připojené na přístroj Fluorolog, oboje od společnosti Horiba.

#### 3.3.4. Absorpční spektroskopie

Měření absorpčních spekter probíhalo na UV-Vis spektrofotometru Cary 50 probe od společnosti Varian. Spektra byla měřena s krokem 1 nm. Ve všech případech se před začátkem měření prováděla korekce na základní linii pomocí blanku. V případě měření roztoků v THF bylo blankem samotné rozpouštědlo THF, v případě nanočástic byla blankem voda.

### 3.4. Výpočty barevných souřadnic

Barevné souřadnice byly počítány pomocí doplňku Chromacity Diagram v programu Origin. Tento doplněk umožňuje výpočet barevných souřadnic  $x, y$  z importovaných fluorescenčních spekter (importovaná byla opět spektra změřená algebrou T1c/R1c). Výpočty byly prováděny

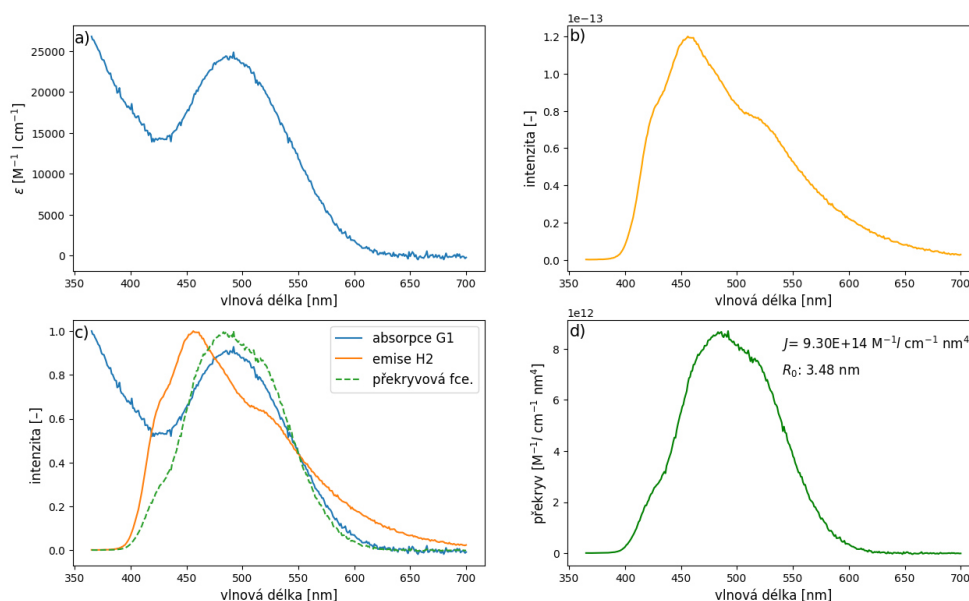
pro 2° pozorovatele. Určení barevných souřadnic nebude tak přesné jako při použití kolorimetru.

### 3.5. Výpočty spojené s FRET

Pro nanočásticové systémy byly provedeny výpočty Försterovy vzdálenosti, ze změřených časů doby života fluorescence potom vypočtena účinnost přenosu a pomocí ní vypočítána vzdálenost donor akceptor. Dále byly pomocí kvantových výtěžků a dob života fluorescence vypočteny rychlostní konstanty zářivých a nezářivých přechodů pro donorní látku ve formě roztoku nanočástic i v pevné fázi.

Vztahy zmíněné v kapitolách 2.2.2 a 2.3.1 byly implementovány do kódu vytvořeného v jazyce Python, který byl vytvořen autorem práce a nachází se v příloze k této práci. Výstupem tohoto programu jsou graficky znázorněné závislosti (Obrázek 11), jako je závislost absorpčních koeficientů na vlnové délce pro akceptor, překryv absorpčních a emisních spekter, znázornění překryvové funkce. Dále program vytváří textový soubor (Tabulka 7) s hodnotou překryvového integrálu, rychlostní konstantou přenosu, účinností přenosu, Försterovou vzdáleností a vzdáleností donor – akceptor.

Jako příklad výstupu z programu je uveden Obrázek 11 znázorňující vlastnosti látek použitých ke tvorbě systému 3. První ze čtyř grafů (a) ukazuje vynesené absorpční koeficienty příslušné akceptorní látky, vpravo nahoře (b)) je poté vyneseno emisní spektrum donorní látky (H2) pro účely výpočtu normalizované na jednotkovou plochu. V levém spodním rohu (c)) jsou pak obě předchozí závislosti vyneseny do grafu společně s překryvovou funkcí, ta udává míru překryvu obou spekter a její hodnoty se projevují do velikosti překryvového integrálu. V případě tohoto zobrazení jsou pro názornost všechny vynášené závislosti normovány. Poslední graf (d)) v pravém dolním rohu ukazuje překryvovou funkci detailněji včetně hodnot, kterých nabývá. Výsledek integrace této funkce je potom překryvový integrál, jehož hodnota a z něj vypočtená Försterova vzdálenost jsou v tomto grafu vepsány.



Obrázek 11: Grafický výstup z vytvořeného programu

Tabulka 7: Ukázka textového výstupu z vytvořeného programu

H2 a G2 476:1
Vysledek integrálu: $9.30E+14 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ nm}^{-4}$
Rychlostní konstanta: $1.01E+00 \text{ ns}^{-1}$
Försterova vzdálenost ( $R_0$ ): 3.48 nm
Vzdálenost donor akceptor: 3.78 nm
Učinnost přenosu: 0.38

Pro ověření výpočtu Försterovy vzdálenosti byl program testován na experimentálních datech dostupných z [32] a vypočtené hodnoty byly porovnávány s hodnotami uvedenými v literatuře [20], výsledky tohoto testu ukazuje následující Tabulka 8.

Tabulka 8: Porovnání hodnot vypočtených programem s hodnotami uvedenými v literatuře.

Látky (donor – akceptor)	$R_0$ literatura [20] [nm]	$R_0$ výpočet [nm]
Rhodamin 101 – Rhodamin 101	5,8	6,1
Perylen – Perylen	3,8	3,9
Pyren – Perylen	3,6	3,6
Antracen-Antracen	2,2	2,3

Z této tabulky je patrné že program počítá Försterovu vzdálenost poměrně precizně s průměrnou odchylkou 0,1 nm a s průměrnou relativní nejistotou 3,1 %.

Pro výpočty týkající se studovaných nanočásticových systémů musely být kvůli nedostupnosti některých parametrů skutečně určité aproximace jako volba indexu lomu či orientačního faktoru, jejich vliv na přesnost je diskutován v kapitole 4.3. Zde jsou uvedeny pouze technické informace s výpočtem spojené.

Pro výpočet absorpčních koeficientů akceptoru byly podle kapitoly 3.2 vytvořeny samotné nanočástice látky akceptoru. Namísto 0,1 ml však bylo přikapáváno 0,2 ml zásobního roztoku v THF, jelikož u původního množství byla absorbance částic dispergovaných ve vodě příliš nízká a naměřené absorpční spektrum již obsahovalo značný šum. Díky známé koncentraci zásobního roztoku bylo možné vypočítat koncentraci látky ve vodě, které bylo ve vialce vždy 5 ml.

Pomocí této koncentrace se potom absorbance Bouguer-Lambert-Beerovým zákonem (Rovnice 1), přečetla na absorpční koeficienty pro každou vlnovou délku. Tato koncentrace pro systém 2 činila  $6,03 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ , v případě systému 3 pak  $5,60 \cdot 10^{-6} \text{ mol/l}$ .

Pro získání emisního spektra donoru byly totožným postupem jako v kapitole 3.2 vytvořeny nanočástice donorní látky a změřeno jejich emisní spektrum na přístroji Fluorolog. Pro výpočet se potom používal signál naměřený detektorovou algebrou T1c/R1c. Emisní spektrum se dále v průběhu výpočtu normalizuje na jednotkovou plochu.

Posledními parametry potřebnými k výpočtu Försterovy vzdálenosti byl index lomu prostředí, který byl zvolen jako 1,25, orientační faktor  $\kappa^2$  jako  $\frac{2}{3}$  a nakonec kvantový výtěžek nanočástic donoru H2 který činil 0,08.

Účinnost přenosu byla vypočtena pomocí Rovnice 9 a Rovnice 10, díky ní potom i vzdálenost donor–akceptor. Pro výpočet průměrné doby života fluorescence byla použita Rovnice 9, ve které byly použity koeficienty B ze softwaru DAS6 Analysis, tyto mají fyzikální význam před exponenciálních faktorů. V souvislosti s tím je třeba zmínit, že relativní před exponenciální faktory  $B_{rel}$  softwarem uváděné v procentech jsou vypočteny na základě časově váženého průměru jednotlivých dob života fluorescence. Rychlostní konstanta přenosu  $k_{FRET}$  byla vypočtena pomocí Rovnice 15.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUSE

V této kapitole jsou prezentovány získané výsledky a jejich přehled je doplněn patřičnou diskusí. Začíná se popisem vlastností použitých látek v pevné fázi ve formě prášku. Dále jsou charakterizované samostatné nanočástice látek H2, G1 a G2. Následují nanočásticové systémy, u kterých jsou v první části diskutována spektra a parametry časově rozlišené fluorescence. Dále je ve větší míře než u pevné fáze a nanočástic věnován prostor barvě jejich emise. Předposlední kapitola se věnuje FRET v systémech 2 a 3 a poslední kapitola řeší možnost, jak určit prokladem experimentálních dat poměr složek v systému, tak aby byly barevné souřadnice co nejbližší ekvivalentnímu bílému bodu.

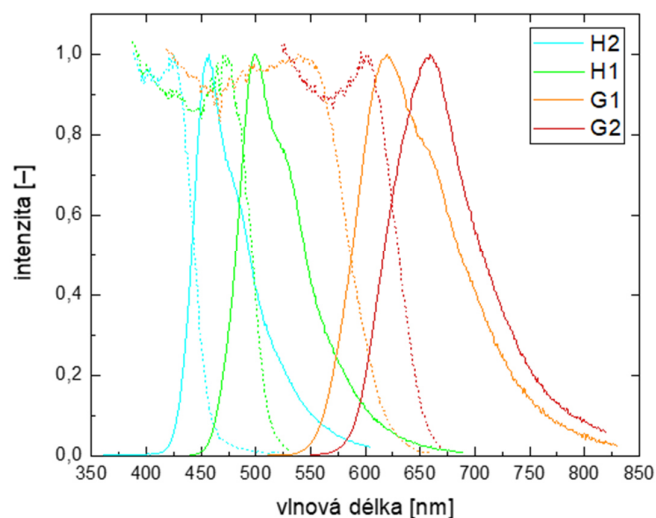
### 4.1. Vlastnosti použitých látek

#### 4.1.1. Pevná fáze

Na počátku byly použité látky v pevné fázi ve formě prášku. Bylo nutné zjistit jejich excitační a emisní spektra. Potřebnými informacemi dostupnými z tohoto měření potom byla poloha a tvar spekter, aby bylo možné určit látky které by mohly vytvořit optimální spektrální pokrytí.

Vycházelo se z úvahy, že v nanočásticích se látka nachází v pevné fázi, tudíž při navrhování kombinací jednotlivých systémů by mělo být možné z měření prášků vycházet. Tato úvaha se ukázala jako správná jen částečně, jelikož při tvorbě nanočástic došlo ke změnám tvarů spekter i poloh emisních maxim.

Bylo také důležité zjistit kvantové výtěžky jednotlivých látek, protože ty zejména v případě donorů ukazují jeho použitelnost pro FRET. Ze stejného důvodu byly zjišťovány parametry časově rozlišené fluorescence.



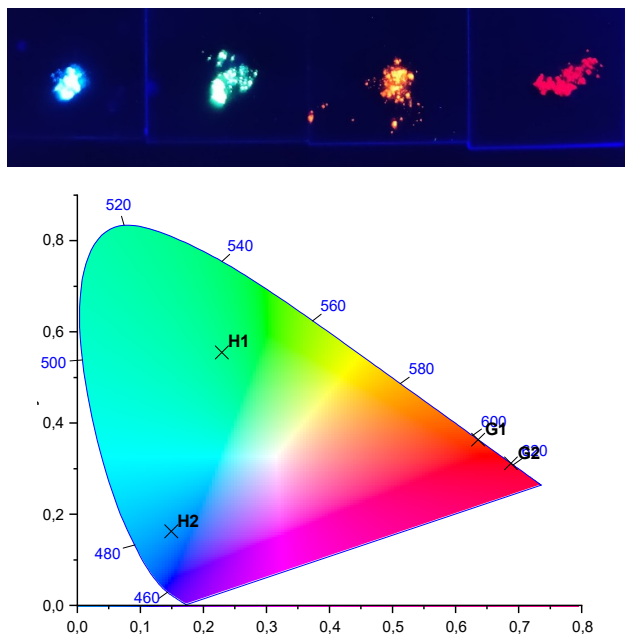
Obrázek 12: Excitační (čárkovaně) a emisní spektra (plná čára) látek použitých v této práci ve formě prášku.

Tabulka 9: Spektrální parametry pro použité látky měřené ve formě prášku.

Látka	$\lambda_{\text{ex MAX}}$ [nm]	$\lambda_{\text{em MAX}}$ [nm]	QY [-]
H2	425	457	$0,44 \pm 0,06$
H1	471	499	$0,29 \pm 0,02$
G1	542	618	$0,17 \pm 0,01$
G2	601	657	$0,025 \pm 0,002$

Spektra použitých látek v pevné fázi jsou vynesena v Obrázek 12. V Tabulka 9 jsou uvedena excitační, emisní maxima těchto látek a jejich kvantové výtěžky. Stokesův posun činí v případě H2 32 nm pro H1 28 nm, G1 76 nm a pro G2 je 56 nm.

Rozložení emisních maxim látek H2 a H1 v nižších vlnových délkách naznačují možnost pozdějšího použití ve FRET systému jako donor. Naopak poloha maxim G1 a G2 naznačuje použitelnost látek jako akceptor. V kapitole 4.1.2 se ukazuje že formováním nanočástic se z důvodu pozměnění spekter barva emise lehce mění. Již v této fázi charakterizace látek je však možné alespoň hrubě odhadnout, jestli barva emise výchozích látek bude ve vzniklém systému umožňovat WLE (viz. Obrázek 13 dole). Ve světle tohoto se ukazuje, že pozdější volba donoru H1 v kombinaci s akceptorem G1 byla chybným krokem. Stejně nepříznivého výsledku by se pravděpodobně dosáhlo i kombinací H1 a G2.



Obrázek 13: Nahoře: fotografie použitých látek ve formě prášku pod UV lampou (z leva: H2, H1, G1, G2). Dole: znázornění barevných souřadnic emise.

Dále následují tabulky s parametry časově rozlišené fluorescence pro použité látky ve formě prášku.

Tabulka 10: Parametry časově rozlišené fluorescence pro použité látky ve formě prášku 1/2

Látka	$\chi^2$	$\tau_1$ [ns]	$\tau_2$ [ns]	$\tau_3$ [ns]	$B_{1\text{ rel}}$ [%]	$B_{2\text{ rel}}$ [%]	$B_{3\text{ rel}}$ [%]
H1	1,1275	9,8	40,1	2,0	41,5	33,3	25,2
H2	1,0964	1,6	2,6	–	82,5	17,5	–
G1	1,3415	4,0	14,8	–	13,8	86,2	–
G2	1,4261	1,4	0,2	4,4	42,8	35,6	21,6

Tabulka 11: Parametry časově rozlišené fluorescence pro použité látky ve formě prášku 2/2

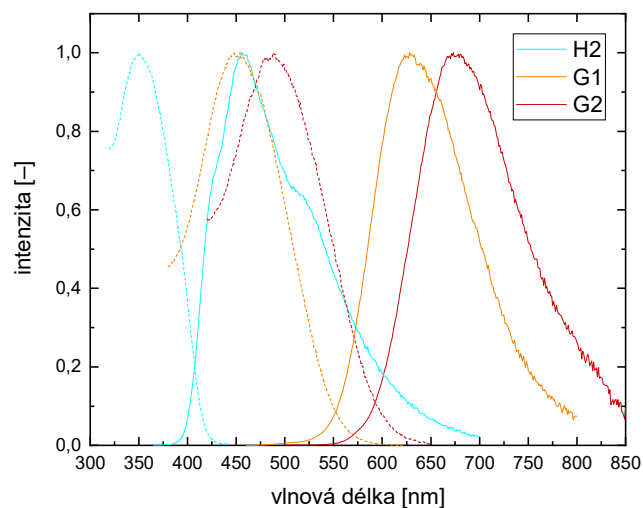
Látka	$B_1$ [-]	$B_2$ [-]	$B_3$ [-]	$\langle\tau_B\rangle$ [ns]
H1	0,04	$7,02 \cdot 10^{-3}$	0,11	5,7
H2	$3,17 \cdot 10^{-2}$	$4,17 \cdot 10^{-3}$	–	1,7
G1	$1,46 \cdot 10^{-2}$	$2,44 \cdot 10^{-2}$	–	10,8
G2	$1,48 \cdot 10^{-2}$	$6,90 \cdot 10^{-2}$	$2,27 \cdot 10^{-3}$	0,5

Ukázalo se že látky H1 a H2 vykazují vysoké kvantové výtěžky (H1: 0,29 a H2 0,44) a relativně vysoké průměrné doby života fluorescence (H1: 5,7 ns a H2: 1,2 ns). V tomto ohledu byla tedy potvrzena vhodnost jejich výběru jako donorní komponenty pro nanočásticové systémy.

#### 4.1.2. Nanočástice

Pro látky ve formě nanočástic dispergovaných ve vodě byla měřena absorpční, excitační a emisní spektra, kvantové výtěžky a časově rozlišená fluorescence pro získání doby života fluorescence. Na následujících stranách jsou prezentovány výsledky pro nanočástice látek H2, G1 a G2. Nanočásticím látky H1 zde není věnována pozornost, jelikož v 4.2.2 v systému s tímto donorem nedochází k WLE.





Obrázek 14: Excitační (čárkovaně) a emisní spektra (plná čára) pro látky H2, G1 a G2 ve formě nanočástic dispergovaných ve vodném prostředí.

Tabulka 12: Spektrální parametry látek ve formě nanočástic dispergovaných ve vodě

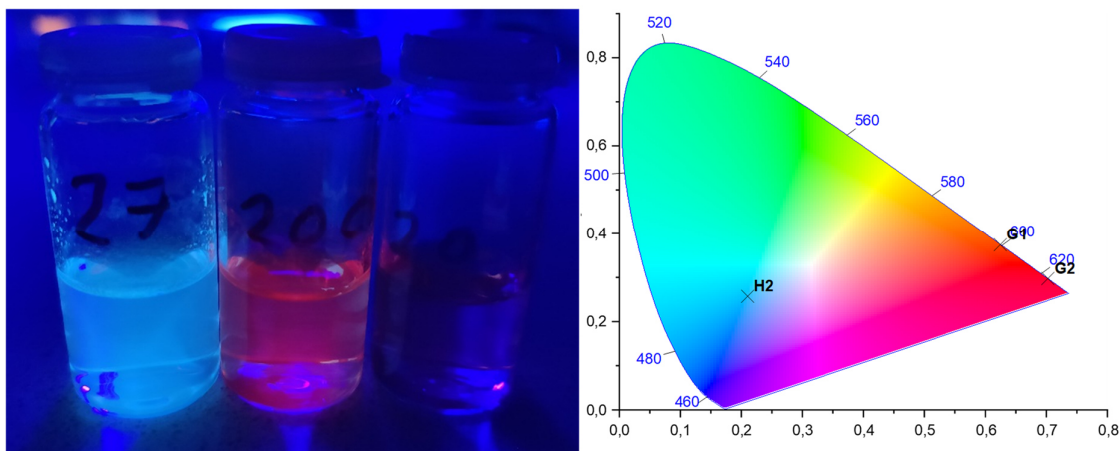
Látka	$\lambda_{\text{abs MAX}}$ [nm]	$\lambda_{\text{ex MAX}}$ [nm]	$\lambda_{\text{em MAX}}$ [nm]	QY [-]
H2	352	351	457	$0,080 \pm 0,006$
G1	452	452	632	$0,13 \pm 0,01$
G2	489	489	676	$0,020 \pm 0,003$

Poloha emisního maxima látky H2 zůstala oproti pevné fázi nezměněna, celý emisní pík se ale rozšířil. Z rozboru Obrázek 12 a Obrázek 14 je patrné že v případě pevné fáze je dlouhovlnný konec emisního spektra okolo 600 nm, zatímco u nanočástic spektrum končí až při 700 nm. Dále došlo ke změně polohy excitačního spektra z 425 nm na 351 nm.

U akceptorních látek ve formě nanočástic došlo oproti pevné fázi i k posunu emisních spekter, pro G1 v pevné fázi 618 nm v nanočásticích 632 a pro G2 657 nm v pevné fázi, v nanočásticích 676 nm. A maximum excitačního spektra bylo pro G1 přesunuto z 542 na 452 nm a u látky G2 z 601 na 489 nm.

Stoeksův posun dosahuje hodnot 106 nm u H2, 180 nm pro G1 a u G2 187 nm, oproti pevné fázi tedy došlo k navýšení u H2 o 74 nm, o 104 nm u G1 a o 131 nm u nanočástic G2.

U všech látek byl oproti pevné fázi zaznamenán pokles kvantového výtěžku. Nejvíce u látky H2 ze 0,44 na 0,08 u látek G1 a G2 již tak velké rozdíly nejsou. G1 z 0,17 na 0,13 a G2 z 0,025 na 0,02.



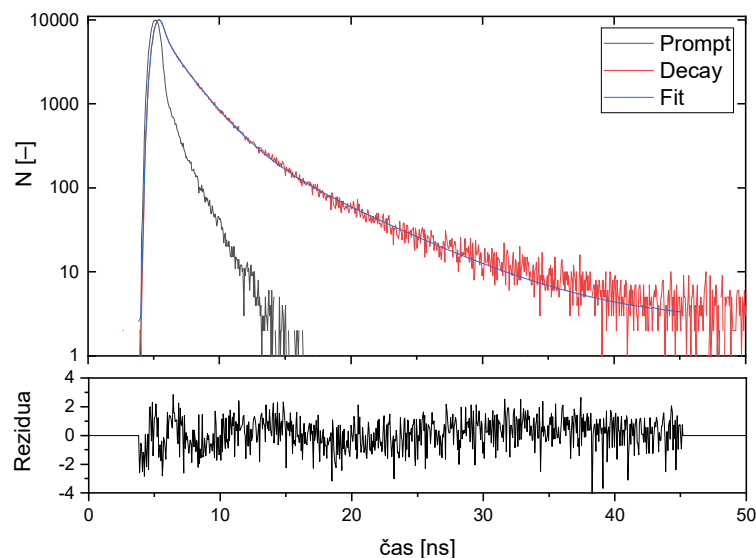
Obrázek 15: Fotografie nanočástic látek H2 (vlevo), G1 (uprostřed) a G2 (vpravo) dispergovaných ve vodě a vynesení jejich barevných souřadnic.

Z Obrázek 15 je patrná nízká intenzita fluorescence nanočástic látky G2, která souvisí s jejím nízkým kvantovým výtěžkem, dále je oproti G1 patrný větší posun do červené oblasti což je znázorněno v barevném diagramu a svědčí o tom i hodnoty barevných souřadnic (Tabulka 13). Z diagramů (Obrázek 13, Obrázek 15) a hodnot souřadnic je také možné pozorovat posun látky H2 v nanočásticích oproti pevné fázi k vyšším hodnotám souřadnice x i y, barva látky je posunuta více do azurové. V případě H2 je maximum emise v pevné fázi i nanočásticích totožné, barevný posun je tedy způsoben rozšířením emisního píku (Obrázek 12 vs. Obrázek 14). Ve výsledné emisi nanočástic je tedy zvětšen podíl vyšších vlnových délek, což způsobuje onen barevný posun.

Tabulka 13: Barevné souřadnice pro látky H1, H2, G1 a G2 v pevné fázi ve formě prášku a nanočástic látek H2, G1 a G2.

Pevná fáze	Barevné souřadnice [x y]
H1	0,23 0,55
H2	0,15 0,16
G1	0,64 0,36
G2	0,69 0,31
Nanočástice	
H2	0,21 0,26
G1	0,62 0,37
G2	0,70 0,29

Přenos energie probíhající v později připravených systémech se projevuje ve změně časových parametrů fluorescence donoru. Dále je tedy detailnější pozornost věnována diskusi parametrů popisujících kinetiku vyzařování donorní látky H2.



Obrázek 16: Časová závislost vyhasínání fluorescence pro látku H2.

Obrázek 16 ukazuje naměřený a naitovaný průběh vyhasínání fluorescence nanočástic H2. Zjištěné parametry byly dále důležité zejména pro výpočty účinnosti FRET. Následující Tabulka 14 shrnuje, jak se mění jednotlivé parametry donorní látky v mikrokrystalické formě (prášek), v roztoku THF a ve formě nanočástic.

Tabulka 14: Hodnoty pro donor H2

Fáze	Kvantový výtěžek [-]	$\langle \tau_B \rangle$ [ns]	$\tau_{ex}$ [ns]	$k_r$ [ns <sup>-1</sup> ]	$k_{nr}$ [ns <sup>-1</sup> ]
Pevná	0,44 ± 0,04	1,69 ± 0,04	0,74 ± 0,07	0,59 ± 0,01	0,8 ± 0,1
Roztok	0,147 ± 0,004	0,581 ± 0,008	0,085 ± 0,002	1,72 ± 0,03	10,0 ± 0,3
Nanočástice	0,080 ± 0,006	0,61 ± 0,01	0,048 ± 0,004	1,65 ± 0,02	19,0 ± 0,2

Je patrné že dochází ke snižování kvantového výtěžku při formování nanočástic (oproti pevné fázi z 0,44 na 0,08) i ke snižování průměrné doby života fluorescence (oproti pevné fázi z 1,69 ns na 0,61 ns u nanočástic). To ukazuje na snížení doby života excitovaného stavu molekuly  $\tau_{ex}$ . Ukazuje se, že tvorbou nanočástic roste zastoupení nežádoucích deexcitačních procesů. To může být zapříčiněno změnou uspořádání molekul v částicích a zvýšení povrchu interagujícího s polárním prostředím (vodou) ve kterém se částice nachází. Toto můžeme pozorovat na  $k_{nr}$ , jejíž hodnota oproti pevné fázi vzrostla více než dvacetinásobně. U výběru vhodné donorní látky tedy musíme dbát na co nejvyšší hodnotu kvantového výtěžku a doby života fluorescence.

Následuje shrnutí parametrů časově rozlišené fluorescence pro nanočástice H2, G1 a G2 (Tabulka 15, Tabulka 16)

Tabulka 15: Parametry časově rozlišené fluorescence pro látky H2, G1 a G2 ve formě nanočástic 1/2

Látka	$\chi^2$	$\tau_1$ [ns]	$\tau_2$ [ns]	$\tau_3$ [ns]	$B_{1\text{ rel}}$ [%]	$B_{2\text{ rel}}$ [%]	$B_{3\text{ rel}}$ [%]
H2	1,2273	1,7	0,3	5,6	50,0	33,6	16,4
G1	1,2205	2,8	0,4	7,4	42,2	7,4	50,4
G2	1,2187	1,2	3,2	0,2	49,8	35,5	15,8

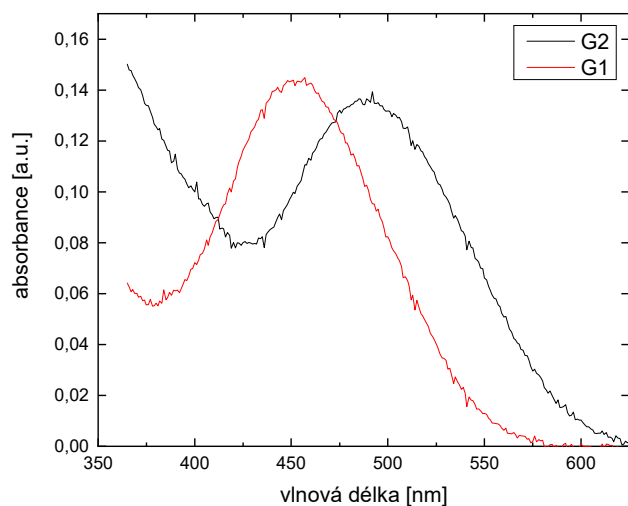
Tabulka 16: Parametry časově rozlišené fluorescence pro látky H2, G1 a G2 ve formě nanočástic 2/2

Látka	$B_1$ [-]	$B_2$ [-]	$B_3$ [-]	$\langle\tau_B\rangle$ [ns]
H2	$3,54 \cdot 10^{-2}$	0,16	$3,41 \cdot 10^{-3}$	0,61
G1	$2,95 \cdot 10^{-2}$	$4,15 \cdot 10^{-2}$	$1,33 \cdot 10^{-2}$	2,3
G2	$6,80 \cdot 10^{-2}$	$1,87 \cdot 10^{-2}$	0,12	0,80

Ukazuje se, že kvantový výtěžek u všech látek ve formě nanočástic oproti pevné fázi klesl (Tabulka 9 a Tabulka 12). Průměrná doba života fluorescence potom u nanočástic látek H2 a G1 klesla, u nanočástic G2 nepatrně stoupla (Tabulka 11, Tabulka 16). Snížení těchto hodnot ukazuje na větší zastoupení neradiačních deexcitačních procesů, které pravděpodobně souvisí s interakcí molekul látky s vodou na povrchu částice.

Důležitým parametrem zjišťovaným pro akceptroni látky G1 a G2 ve formě nanočástic byly jejich absorpční spektra. Při popisu FRET nás totiž zajímá překryv těchto spekter s emisními spektry donoru. Faktory promítajícími se do tohoto překryvu jsou tedy v tomto případě tvar a poloha absorpčního spektra.

Jak můžeme vidět na Obrázek 17 jsou absorpční maxima těchto spekter podobně vysoká (G1: 0,14 a G2: 0,13), tento rozdíl se posléze ještě zmenší při přepočtu na molární absorpční koeficienty (Obrázek 28, Obrázek 29). Spektra se však liší polohou svých maxim (G1: 451 nm a G2: 489 nm). Jak se ukazuje v kapitole 4.3 tak tyto posuny mají vliv na překryv s emisním spektrem donoru H2, a tedy i hodnotu Försterovy vzdálenosti.

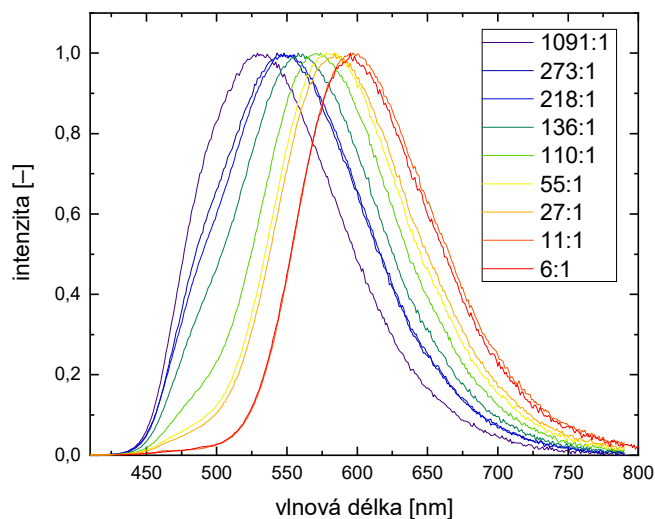


Obrázek 17: Absorpční spektra nanočástic látek G1 a G2 používaných v systémech jako akceptory.

## 4.2. Nanočásticové HG systémy

### 4.2.1. Fotofyzikální vlastnosti

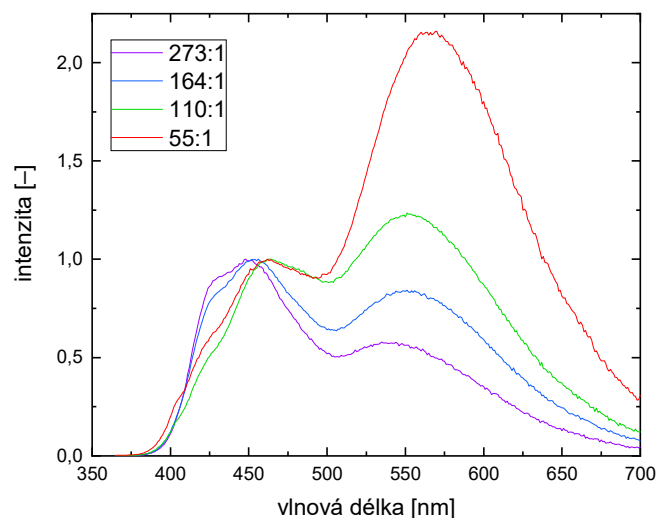
Dále následuje část zabývající se vlastnostmi nanočásticových systémů 1, 2 a 3. Jako poměry udávané v grafech a tabulkách jsou poměry látkového množství donoru a akceptoru (viz. kapitola 3.2). Emisní spektra pro systém 1 byla měřena při excitační vlnové délce 400 nm a pro systémy 2 a 3 při 355 nm.



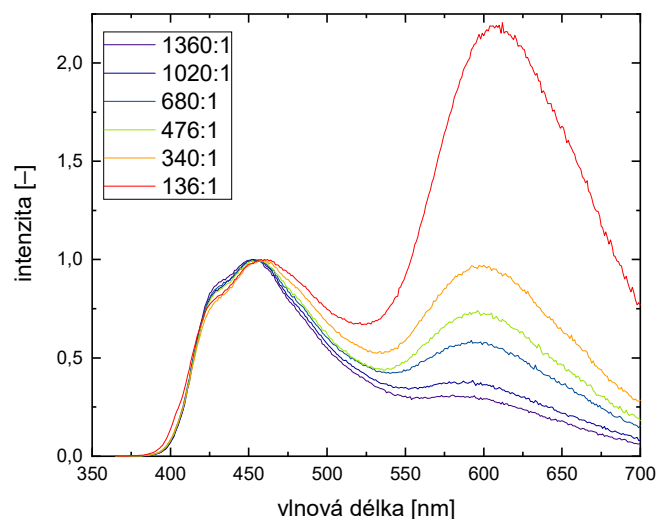
Obrázek 18: Emisní spektra systému 1

Z Obrázek 17 a 18 můžeme pozorovat že v systému 1 došlo ke splynutí spekter obou komponent a výsledkem je jeden širší pík, který při zvyšování zastoupení látky H1 v částici mění polohu svého maxima od 599 do 531 nm.

Následující obrázky ukazují spektra systému 2 a 3.



Obrázek 19: Emisní spektra systému 2



Obrázek 20: Emisní spektra systému 3

Ve spektrech systému 2 (Obrázek 19) a systému 3 (Obrázek 20) se objevují dvě lokální maxima, jedno v krátkovlnné oblasti pohybující se okolo emisní vlnové délky donorní látky H2 (457 nm) a druhé způsobené akceptorní látkou v dlouhovlnné oblasti. S rostoucím zastoupením akceptorní látky je pak patrné, že se u obou systémů zvyšuje intenzita části spektra odpovídající

akceptoru. Vlivem použití dvou spektrálně různých akceptorních látek je u systémů rozdílná poloha sedla mezi dvěma maximy. Budeme-li jeho polohu porovnávat u poměrů s podobnou intenzitou v krátkovlnné i dlouhovlnné oblasti spektra, systému 2 164:1 a v systému 3 340:1. Tak v systému 2 leží na vlnové délce 504 nm, u systému 3 potom na 532 nm.

Při tvorbě nanočásticových systémů se ukazuje, že dlouhovlnná část spektra odpovídající akceptorní látce je oproti nanočásticím tvořených pouze touto látkou výrazně posunuta směrem ke kratším vlnovým délkám. Srovnajme emisi nanočástic G1 (632 nm) s emisí poměru s největším zastoupením G1 (55:1) v systému 2 (566 nm). U systému 3 je potom maximum dlouhovlnné části poměru 136:1 při 608 nm, kdežto látka G2 ve formě nanočástic vykazuje maximum při 676 nm.

*Tabulka 17: Maximum emisních vlnových délek pro donorní a akceptorní komponenty v systému 2 a 3.*

<b>Systém 2</b>	$\lambda_{em\ MAX\ H2}$	$\lambda_{em\ MAX\ G1}$
Poměry	[nm]	[nm]
55:1	462	566
110:1	462	553
164:1	454	551
273:1	448	540
<b>Systém 3</b>	$\lambda_{em\ MAX\ H2}$	$\lambda_{em\ MAX\ G2}$
Poměry	[nm]	[nm]
136:1	460	608
340:1	460	597
476:1	452	596
680:1	452	595
1020:1	452	588
1360:1	452	585

Z Tabulka 17 je dále patrné, že maximum emisní vlnové délky akceptorní látky G1 a G2 se s jejím rostoucím množstvím v systému posouvá k větším vlnovým délkám. V případě systému 2 s látkou G1 od 540 do 566 nm U systému 3 s akceptorem G2 od 585 do 608 nm.

Ve spektrech nanočásticových systémů byly tedy popsány dva efekty. První spočíval v celkovém posunutí emisního maxima akceptorní složky do nižších vlnových délek. Druhý efekt ukazuje, že s rostoucím obsahem akceptoru v systému se jeho emisní maximum, posunuté již předchozím efektem ke kratším vlnovým délkám, posouvá opět do vyšších hodnot vlnové délky.

Co by mohlo hrát roli v prvním případě je zabudování akceptorní látky mezi částice donoru. V případě samostatných nanočástic akceptoru je díky jeho polárnímu charakteru, polarita uvnitř nanočástice vyšší než v případě Host-Guest částic, kde je výsledná polarita určována málo polárním donorem. V polárnějším prostředí v samostatných nanočásticích dochází k bathochromnímu posunu, ten poté v případě Host-Guest systémů, díky snížení polarity donorem, již není tak velký a spektrum akceptoru je tedy oproti jeho nanočásticím posunuto ke kratším vlnovým délkám. K tomu je nutné ještě uvažovat aditivitu spekter. Protože i donorní látka v pozorované oblasti vyzářuje s nezanedbatelnou intenzitou je výsledné emisní spektrum posunuto mírně hypsochromně.

Druhým efektem je posun emise akceptoru do vyšších vlnových délek s jeho rostoucím zastoupením v Host-Guest částicích. Vychází z toho, že při rostoucím množství akceptorní látky se zvyšuje míra přenosu energie (ukázáno v kapitole 4.3 rostoucí účinností přenosu), tím se ve výsledném spektru začíná více projevovat akceptorní látka a emisní maximum této části spektra se tedy přesouvá do vyšších vlnových délek k maximum její samostatné emise. I zde se uplatňuje aditivita spekter. Vzhledem k překryvu emisních spekter donoru i akceptoru je při malé intenzitě fluorescence akceptoru (malém zastoupení akceptoru v částicích) jeho maximum výrazně posunuto směrem k emisi donoru. Při růstu jeho množství se potom jeho spektrum začíná více projevovat.

Následující tabulky uvádí parametry získané z měření časové závislosti vyhasínání fluorescence pro různé poměry v rámci jednotlivých systémů. Ve všech případech bylo měřeno při emisní vlnové délce 457 nm, která odpovídá emisní vlnové délce donoru H2 ve formě nanočástic. Excitováno bylo vlnovou délkou 361 nm.

Následují tabulky s parametry časově rozlišené fluorescence systémů 2 a 3.

*Tabulka 18: Parametry časově rozlišené fluorescence systému 2 a donorní látku H2 1/2*

Poměr	$\chi^2$	$\tau_1$ [ns]	$\tau_2$ [ns]	$\tau_3$ [ns]	$B_{1\text{ rel}}$ [%]	$B_{2\text{ rel}}$ [%]	$B_{3\text{ rel}}$ [%]
11:1	1,1634	0,6	0,4	1,2	11,0	60,6	28,4
55:1	1,2042	0,1	1,0	4,1	53,0	38,6	8,4
110:1	1,2657	1,1	0,2	4,6	44,8	42,3	12,9
164:1	1,1799	1,3	0,2	4,8	39,7	47,6	12,7
273:1	1,2075	0,2	1,0	3,9	55,7	36,1	8,2
H2	1,2273	1,7	0,3	5,6	50,0	33,6	16,4

Z hodnot  $\chi^2$  blízkých hodnotě 1,2 z Tabulka 18 je možné říci, že data byla nafitována dobře.



Tabulka 19: Parametry časově rozlišené fluorescence pro systém 2 a donorní látku H2 2/2

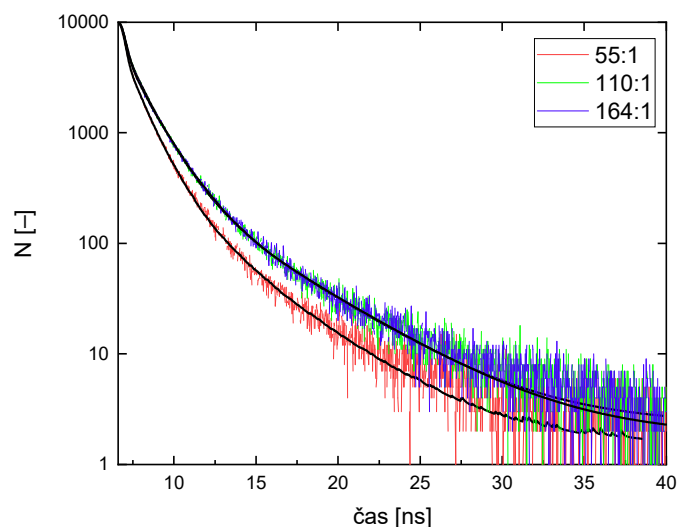
Poměr	$B_1$ [-]	$B_2$ [-]	$B_3$ [-]	$\langle\tau_B\rangle$ [ns]
11:1	$7,69 \cdot 10^{-3}$	0,24	$9,77 \cdot 10^{-3}$	0,16
55:1	0,16	0,02	$8,68 \cdot 10^{-4}$	0,24
110:1	$1,85 \cdot 10^{-2}$	0,11	$1,32 \cdot 10^{-3}$	0,36
164:1	$1,46 \cdot 10^{-2}$	0,11	$1,25 \cdot 10^{-3}$	0,39
273:1	0,10	0,02	$8,82 \cdot 10^{-4}$	0,35
H2	$3,54 \cdot 10^{-2}$	0,16	$3,41 \cdot 10^{-3}$	0,61

Tabulka 20: Parametry časově rozlišené fluorescence pro systém 3 a donorní látku H2 1/2.

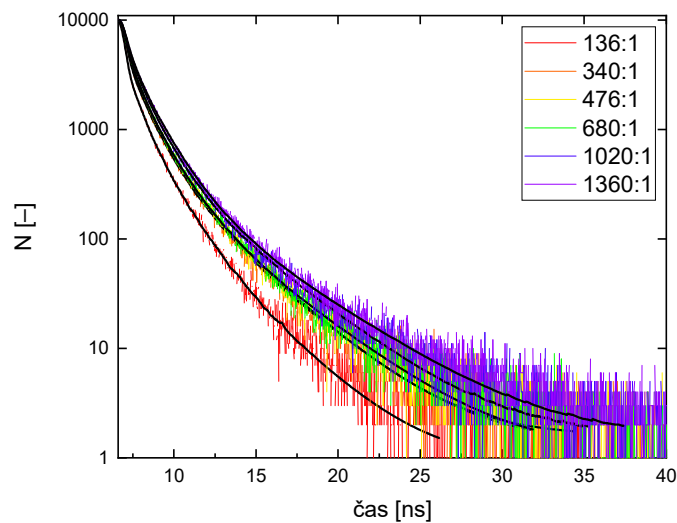
Poměr	$\chi^2$	$\tau_1$ [ns]	$\tau_2$ [ns]	$\tau_3$ [ns]	$B_{1\text{ rel}}$ [%]	$B_{2\text{ rel}}$ [%]	$B_{3\text{ rel}}$ [%]
136:1	1,1431	0,2	0,8	3,0	66,0	26,5	7,5
340:1	1,1489	0,2	1,0	3,5	56,1	32,4	11,6
476:1	1,2235	0,2	0,9	3,3	49,7	37,0	13,3
680:1	1,1095	0,3	1,0	3,8	53,3	36,0	10,7
1020:1	1,2041	0,3	1,0	5,4	45,4	41,9	12,8
1360:1	1,0478	0,3	1,2	4,4	47,5	41,0	11,5
H2	1,2273	1,7	0,3	5,6	50,0	33,6	16,4

Tabulka 21: Parametry časově rozlišené fluorescence pro systém 3 a donorní látku H2 2/2

Poměr	$B_1$ [-]	$B_2$ [-]	$B_3$ [-]	$\langle\tau_B\rangle$ [ns]
136:1	0,17	$1,22 \cdot 10^{-2}$	$9,43 \cdot 10^{-4}$	0,21
340:1	0,11	$1,38 \cdot 10^{-2}$	$1,39 \cdot 10^{-3}$	0,34
476:1	$9,52 \cdot 10^{-2}$	$1,76 \cdot 10^{-2}$	$1,72 \cdot 10^{-3}$	0,38
680:1	$8,27 \cdot 10^{-2}$	$1,53 \cdot 10^{-2}$	$1,24 \cdot 10^{-3}$	0,44
1020:1	$7,58 \cdot 10^{-2}$	0,02	$1,54 \cdot 10^{-3}$	0,48
1360:1	$6,77 \cdot 10^{-2}$	$1,65 \cdot 10^{-2}$	$1,25 \cdot 10^{-3}$	0,56
H2	$3,54 \cdot 10^{-2}$	0,16	$3,41 \cdot 10^{-3}$	0,61



Obrázek 21: Časová závislost vyhasínání fluorescence pro systém 2



Obrázek 22: Časová závislost vyhasínání fluorescence pro systém 3

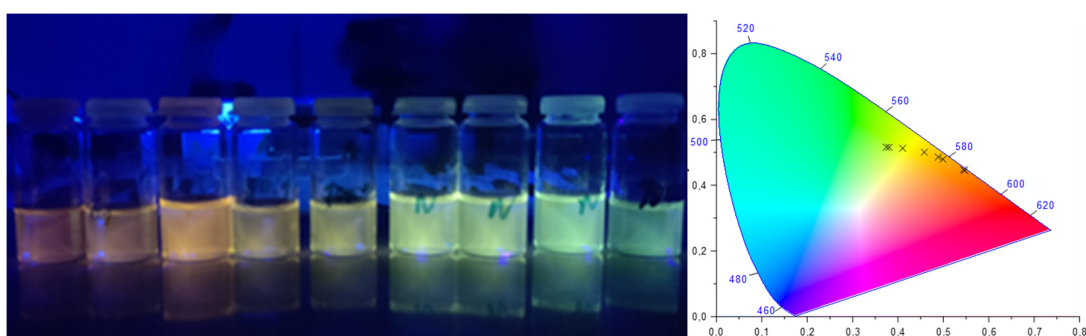
Z Tabulka 19 a Tabulka 21 je patrné že v částicích s větším poměrem H2 (donoru) se zvyšoval průměrný čas doby života fluorescence ( $\langle \tau_B \rangle$ ). Tento jev je způsoben tím, že s větším přebytkem donoru, a tedy menším množstvím akceptoru v systému nedochází k přenosu energie v takové míře, jako při jeho větším zastoupení. Fluorescence donoru je fakticky zhášena akceptorem, kde zhášení probíhá právě formou FRET. Časové závislosti vyhasínání fluorescence jsou vyneseny na Obrázek 21 a Obrázek 22 a je z nich patrné, jak u poměrů s větším množstvím akceptoru (55:1/136:1) multiexponenciální fitovaná křivka strměji klesá, to značí právě ono zkracování doby života fluorescence. Porovnáme-li ještě tyto obrázky s Obrázek 16 kde je

závislost vyhasínání nanočástic H2 bez přidaného akceptoru znázorněna, je jeho zhášení ještě patrnější.

Tabulka 19 a Tabulka 21 dále ukazují že hodnoty  $\langle \tau_B \rangle$  jsou v případě systému 2 nižší, než je tomu u systému 3. Z toho je tedy možné tvrdit že u systému 2 je vyšší zhášení fluorescence donoru než v systému 3. Toto tedy naznačuje vyšší míru přenosu energie v systému 2.

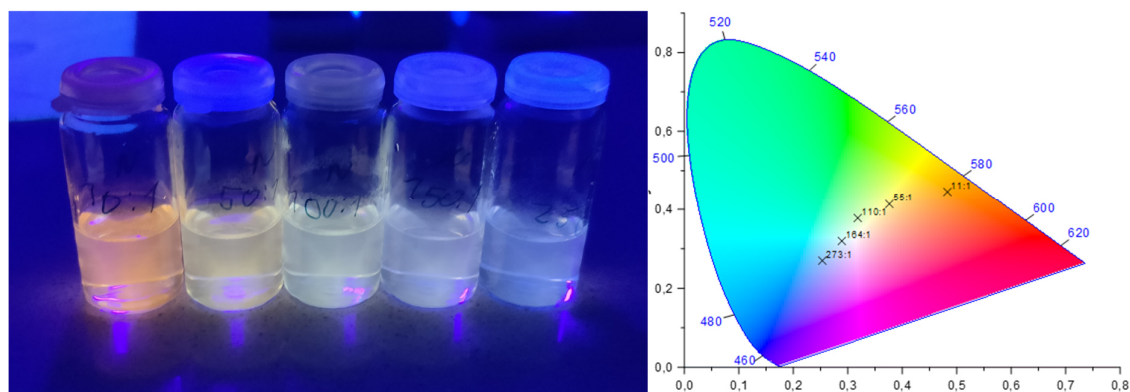
#### 4.2.2. Barva emise

První, čím byla hodnocena barva emise bylo pozorování okem pod laboratorní UV lampou, dále byl každý systém před samotným měřením vyfotografován. Jednotlivé poměry jsou na obrázcích seřazeny tak, že vlevo se nachází poměr s největším obsahem akceptoru a směrem doprava jeho obsah v částicích klesá. Vedle fotografie je potom vždy CIE 1931 diagram se znázorněnými barevnými souřadnicemi.

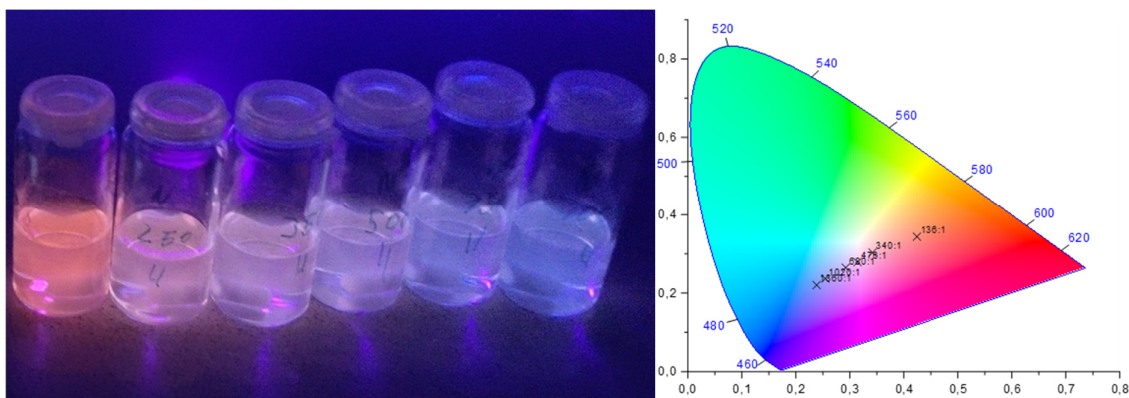


Obrázek 23: Fotografie systému 1 pod UV lampou a vynesení jeho barevných souřadnic.

U systému 1 vzniklo spektrum sestávající se z jednoho poměrně širokého píku. Což by samo o sobě nemuselo WLE vylučovat. Problémem je však poloha jeho maxima, která se pohybuje od 599 do 531 nm. Dle [31] je možné předpokládat, že kdyby bylo maximum blíže k 500 nm a pík byl symetrický, k WLE by docházelo. Pro WLE jedním píkem by tedy byly potřeba donorní i akceptorní látky s emisí co nejbliže 500 nm a co nejširším emisním spektrem, tak aby došlo k co největšímu pokrytí viditelného spektra. V případě úzkých emisních spekter by opět k WLE nedošlo a výsledná emise by byla barevná (pravděpodobně odstíny zelené barvy).



Obrázek 24: Fotografie systému 2 pod UV lampou (zleva od 11:1 do 273:1) a vynesení jeho barevných souřadnic.



Obrázek 25: Fotografie systému 3 pod UV lampou (zleva od 136:1 do 1360:1) a vynesení jeho barevných souřadnic.

Vlivem spektrálního rozložení donoru a akceptoru se v případě systému 2 (Obrázek 24) a systému 3 (Obrázek 25)) ukazuje, že poměr nejbližší bílému bodu je takový, při kterém jsou normalizované intenzity donoru a akceptoru ve výsledném spektru co nejpodobnější.

Spektra (Obrázek 19 a Obrázek 20) jsou normalizována na emisní vlnovou délku donoru, potom tedy jeho relativní intenzita v systému bude  $I_D = 1$ . Hodnota relativní intenzity akceptoru v systému  $I_A$  bude nabývat různých hodnot. Intenzity pak můžeme vyjadřovat poměrem  $\frac{I_D}{I_A}$ , kde pro požadovanou rovnost intenzit  $I_D = I_A = 1$ , platí že  $\frac{I_D}{I_A} = 1$ . Poměry těchto intenzit potom pro různé poměry látek v obou systémech ukazuje Tabulka 22. Zavedení  $\frac{I_D}{I_A}$ , i když se může zdát jako zbytečně komplikované, má svoje opodstatnění, které se naplno projeví v kapitole 4.4 o určování optimálních poměrů.

Tvrzení o nejlepší WLE při stejných intenzitách donorní a akceptorní složky lze opřít o údaje v Tabulka 22 a Obrázek 24 a Obrázek 25. I když to není v souvislosti s použitým barevným prostorem zcela korektní je možné pohledem do vynesených barevných souřadnic pozorovat že v případě systému 3 poměr 340:1 s  $\frac{I_D}{I_A} = 1,03$  je bodu o souřadnicích (0,33 0,33) nejbliže a ideální poměr by měl být o trochu menší.

Při dalším zvyšování množství donoru už souřadnice x a y pro další poměry klesají, což je vidět jednak v barevném diagramu (Obrázek 25) tak i v Tabulka 22. Obdobný jev je možné pozorovat i u systému 2. Tam je z diagramu (Obrázek 24) patrné, že nejbliže bílému bodu by bylo složení někde mezi poměry 110:1 ( $\frac{I_D}{I_A} = 0,81$ ) a 164:1 ( $\frac{I_D}{I_A} = 1,20$ ).

Vyrovnání intenzit obou komponent tedy v systémech 2 a 3 znamená největší blízkost bílému bodu. U ideálního poměru (mezi 110:1 a 164:1) v systému 2 by pravděpodobně bylo dosaženo ještě příznivějších souřadnic. Porovnejme nyní ale barevné rozdíly mezi systémem 2 a 3. Z barevných diagramů je patrné že, u systému 2 vede myšlená spojnice jednotlivých bodů příliš vysoko a pravděpodobně bílý bod neprotíná. U systému 3 je zase spojnice moc dole a poměry pod bílým bodem jsou zbarveny spíše do růžova. Zdůvodnění poskytují spektra akceptorních látek (Obrázek 14), látka G2 má totiž emisní maximum ve větších vlnových délkách. V diagramu v Obrázek 15 je možné pozorovat větší posun G2 do červené barvy. Při tvorbě

systemů se stejným donorem (H2) tedy řídí tento posun spektrum akceptorní látky a všechny poměry v systému 3 tedy budou „červenější“.

Pro dosažení bílého bodu v částicích s donorem H2 by tedy bylo ideální volit akceptorní látku s emisním maximem mezi hodnotami maxim G1 a G2. Tedy mezi 618 a 657 nm pro látku v pevné fázi a mezi 632 a 676 nm pro látku ve formě nanočástic.

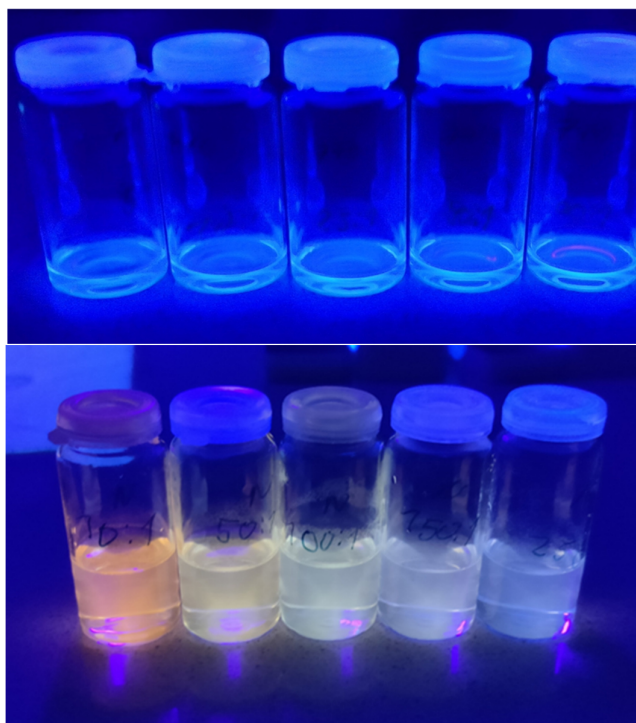
Tabulka 22: Barevné souřadnice x,y pro systém 2 a 3 s vyznačenými poměry vykazujícími WLE a poměry relativních intenzit donoru a akceptoru .

	Poměr	Barevné souřadnice [x y]	$\frac{I_D}{I_A}$ [-]
<b>Systém 2</b>	11:1	0,48 0,45	0,10
	55:1	0,38 0,41	0,46
	<b>110:1</b>	<b>0,32 0,38</b>	<b>0,81</b>
	<b>164:1</b>	<b>0,29 0,32</b>	<b>1,20</b>
	273:1	0,25 0,27	1,74
<b>Systém 3</b>	136:1	0,42 0,34	0,46
	<b>340:1</b>	<b>0,34 0,30</b>	<b>1,03</b>
	<b>476:1</b>	<b>0,31 0,28</b>	<b>1,35</b>
	680:1	0,29 0,26	1,70
	1020:1	0,25 0,24	2,59
	1360:1	0,24 0,22	3,22

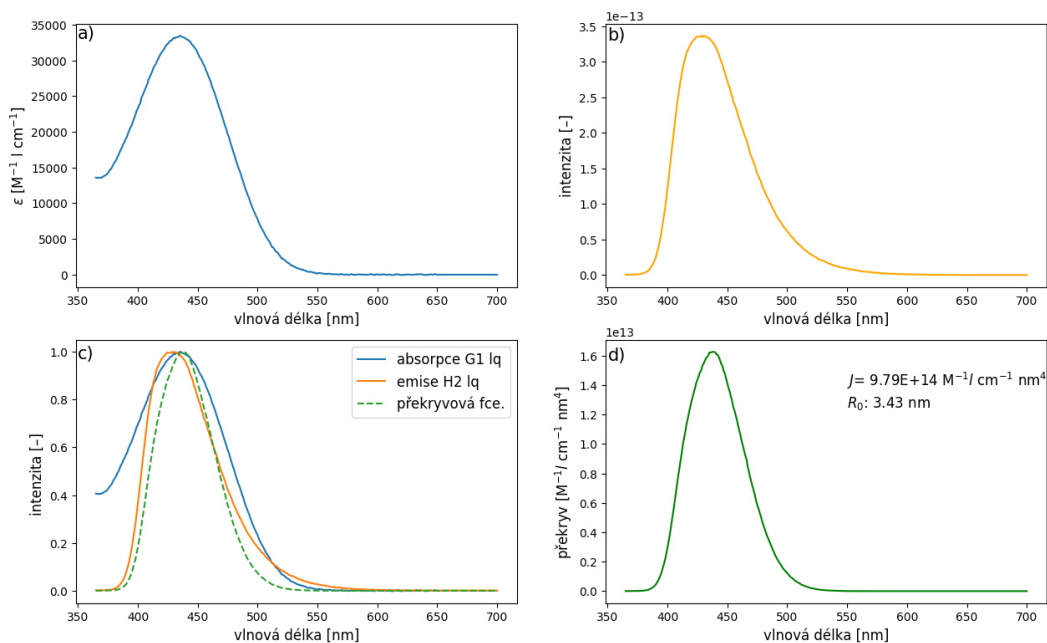
### 4.3. FRET

Tato kapitola na začátku krátce rozebírá systém 2 a roztoky ze kterých byly nanočástice v tomto systému připraveny z pohledu parametrů FRET. Ukazuje, jakou roli hraje mezimolekulární vzdálenost donoru a akceptoru v systémech s podobnou Försterovou vzdáleností na výslednou emisi. Dále jsou prezentovány získané parametry FRET pro nanočásticové systémy 2 a 3 a tyto parametry diskutovány v kontextu dosažení emise bílé barvy. Na konci je pak rozebírána přesnost výpočtů a jakým způsobem by jí šlo eventuálně do budoucna zlepšit.

Jak se ukazuje, má vzdálenost mezi molekulami, v našem případě mezi H2 a G1, na barvu emise velký vliv. V roztoku látek H2 a G1 v THF sloužícím pro přípravu nanočásticového systému 2 (Obrázek 26 nahoře), který je poměrně dost zředěný ( $10^{-4}$  mol/l H2 a  $10^{-5}$  až  $10^{-7}$  G1) jsou mezimolekulární vzdálenosti z hlediska FRET obrovské. K FRET proto nedochází i když u použitých látek je přítomen překryv jejich spekter a vypočtená Försterova vzdálenost ( $R_0$ ) je dokonce podobná jako  $R_0$  nanočásticových systémů (Obrázek 27 vs. Obrázek 28). Výsledná emise (tedy i barva roztoku) je tedy dána donorní látkou H2. Formováním nanočástic se poté mezimolekulární vzdálenosti mnohonásobně zmenší a k FRET již dochází, což je nejvíce patrné právě na barvě, ve které se začne projevovat emise akceptorní látky G1. K pozorování FRET v roztoku THF by byla nutná větší koncentrace obou látek.

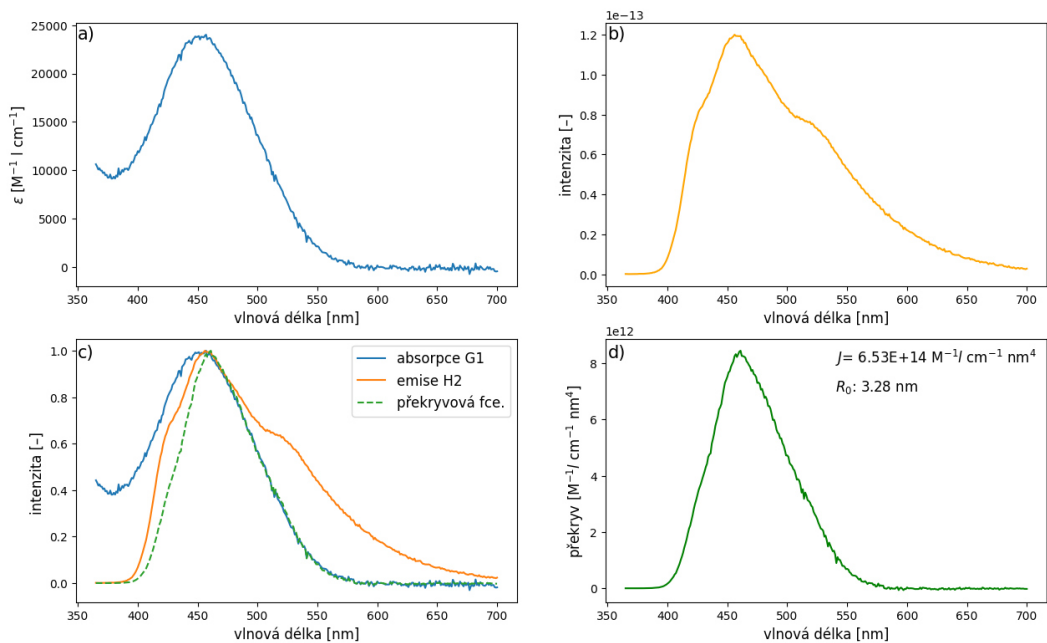


Obrázek 26: Nahoře: Společný roztok látek H2 a G1 v THF použitých pro přípravu nanočásticového systému 2. Dole: nanočástice systému 2.



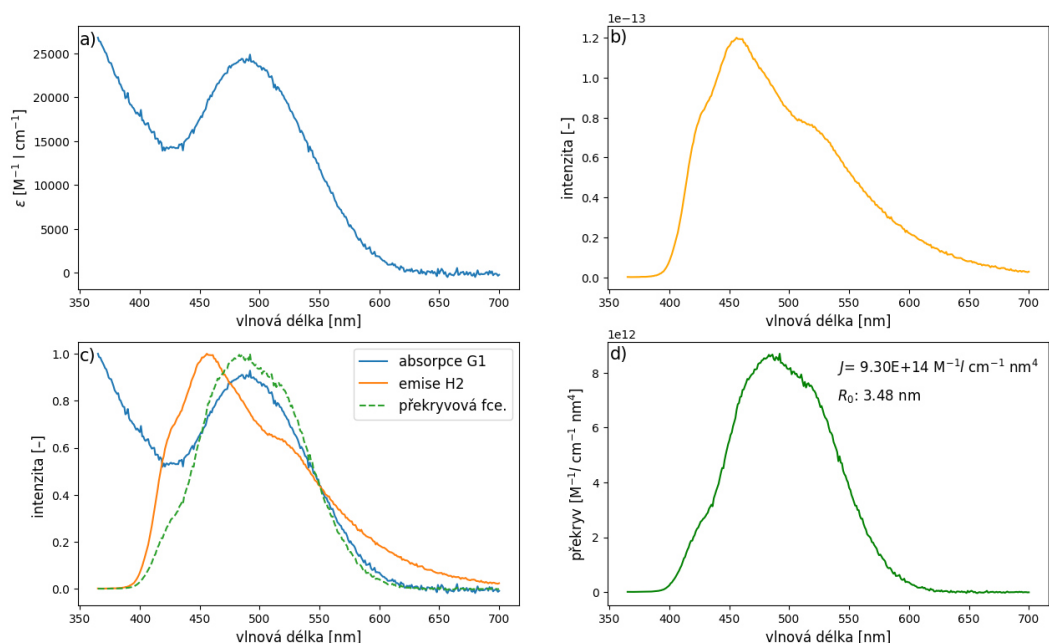
Obrázek 27: Grafické znázornění závislosti promítajících se do výsledků výpočtu pro společné roztoky H2 a G1 v THF použité pro přípravu nanočástic systému 2 a) absorpční spektrum G1 b) normalizované emisní spektrum H2 c) ukázka překryvu obou spekter s vynesenu překryvovou funkcí d) překryvová funkce a výsledky výpočtů

Na následujících obrázcích jsou znázorněny vlastnosti nanočásticových systémů 2 a 3, které se promítají do výsledku výpočtu. Dále jsou vypočteny a diskutovány parametry FRET těchto systémů a jejich vliv na WLE.



Obrázek 28: Grafické znázornění závislosti promítajících se do výsledků výpočtu pro systém 2 a) absorpční spektrum G1 b) normalizované emisní spektrum H2 c) ukázka překryvu obou spekter s vynesenu překryvovou funkcí d) překryvová funkce a výsledky výpočtů





Obrázek 29: Grafické znázornění závislostí promítajících se do výsledků výpočtu pro systém 3  
 a) absorpční spektrum G2 b) normalizované emisní spektrum H2 c) ukázka překryvu obou spekter s vynesenu překryvovou funkcí d) překryvová funkce a výsledky výpočtů

Čeho je důležité si na všimnout Obrázek 28 a Obrázek 29, je velikost překryvu emisního spektra donoru a absorpčního spektra akceptoru (c)). Akceptory v obou systémech vykazují podobné hodnoty absorpčních koeficientů. Jak je však ukázáno v kapitole 3.3.1 liší se absorpční spektra svojí polohou. Absorpční spektrum látky G2 je posunuto do oblastí vyšších vlnových délek, v důsledku čehož je překryv s emisním spektrem H2 větší. To se potom odráží ve vyšší hodnotě překryvového integrálu a větší Försterově vzdálenosti než v kombinaci H2 a G1 v případě systému 2.

V kapitole 4.2.1 byly diskutovány měnící se časy dob života fluorescence pro jednotlivé poměry. Bylo zjištěno že u systému 2 dochází k většímu zhášení než u systému 3. Účinnosti přenosu vypočtené pomocí  $\langle \tau_B \rangle$  dle Rovnice 10 ukazují, že v případě systému 2 probíhá přenos s vyšší účinností než v systému 3.

Vyšší zhášení fluorescence donoru dokládají rychlostní konstanty přenosu energie  $k_{\text{FRET}}$ , vypočtené pomocí účinnosti přenosu, ty se v případě fluorescence donoru započítávají do rychlostních konstant jeho nezářivých přechodů a bude-li hodnota těchto konstant růst, doba fluorescence donoru se bude snižovat. Konstanty  $k_{\text{FRET}}$  jsou opravdu v případě systému 2 vyšší, než je tomu u systému 3. Tyto informace je možné nalézt v Tabulka 23.

Pomocí Försterovy vzdálenosti a účinnosti přenosu je tedy možné vypočítat vzdálenost donor-akceptor a z tohoto pohledu porovnávat systémy mezi sebou. Försterova vzdálenost byla v kapitole 2.3.1 definována jako vzdálenost, při které má FRET účinnost právě padesát procent. Větší hodnota této vzdálenosti tedy znamená, že přenos bude stejně účinný i na delší vzdálenosti. Nebo naopak, že při stejné vzdálenosti mezi molekulami bude větší účinnost přenosu u systému s vyšší Försterovou vzdáleností. Toto je možné demonstrovat u vzdálenosti



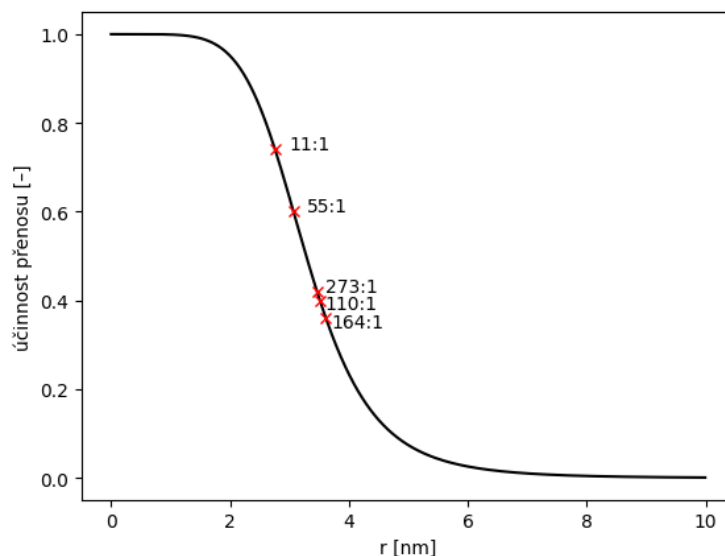
donor–akceptor 3,1 nm, účinnost přenosu v případě systému 3 je o 6 % vyšší, než je tomu u systému 2. (Tabulka 23).

K emisi WLE bylo u obou systémů dosaženo při poměru, u kterého byla účinnost přenosu podobná (blízká 0,4). V konečném důsledku tedy zřejmě vyšší Försterova vzdálenost u systému 3 přispívá k tomu, že v poměru produkujícím WLE bylo menší množství akceptorní látky.

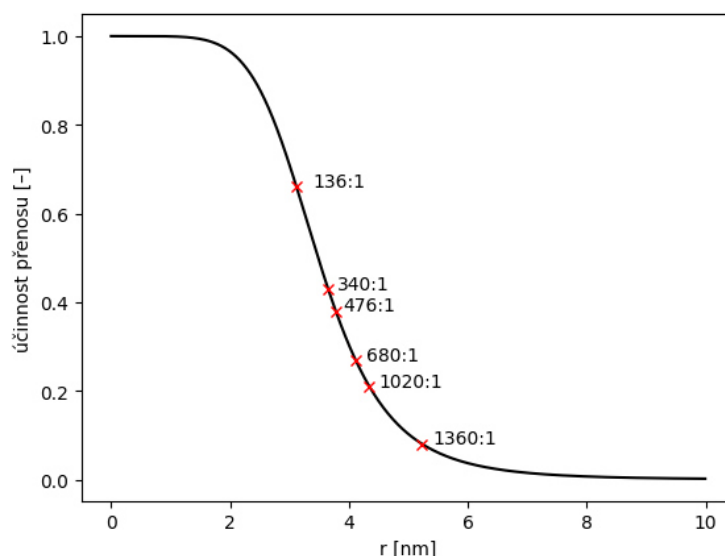
*Tabulka 23: Vypočtené hodnoty související s FRET pro různé objemové poměry studovaných systémů s vyznačenými poměry, u kterých došlo k WLE.*

Systém	Försterova vzdálenost [nm]	Překryvový integrál [M <sup>-1</sup> lcm <sup>-1</sup> nm <sup>4</sup> ]	Poměr	Účinnost přenosu [-]	Vzdálenost donor – akceptor [nm]	$k_{FRET}$ [ns <sup>-1</sup> ]	$\langle\tau_{FRET}\rangle$ [ns]
2	3,3 ± 0,1	6,5 · 10 <sup>14</sup>	11:1	0,74	2,8 ± 0,1	4,67	0,21
				0,60	3,1 ± 0,1	2,46	0,41
			<b>110:1</b>	0,40	3,5 ± 0,1	1,09	0,92
			<b>164:1</b>	0,36	3,6 ± 0,1	0,92	1,09
				0,42	3,5 ± 0,1	1,19	0,84
3	3,5 ± 0,1	9,3 · 10 <sup>14</sup>	136:1	0,66	3,1 ± 0,1	3,18	0,31
			<b>340:1</b>	0,43	3,7 ± 0,1	1,24	0,81
			<b>476:1</b>	0,38	3,8 ± 0,1	1,00	1,00
				0,27	4,1 ± 0,1	0,61	1,64
				0,21	4,3 ± 0,1	0,43	2,33
				0,08	5,3 ± 0,1	0,14	7,14

Obrázek 30 a Obrázek 31 vynášejí závislost účinnosti přenosu na vzdálenosti donor – akceptor, ze závislosti je dobře patrné, že s menším zastoupením akceptoru roste vzdálenost mezi jeho molekulami a molekulami donoru. V důsledku čehož se snižuje účinnost přenosu. Ukazuje se, že účinnost přenosu musí být dostatečně vysoká na to, aby se dostatečně projevila emise akceptorní látky. Při velkých účinnostech se však zastoupení donoru ve spektrech začíná klesat. WLE bylo u obou systémů dosaženo při účinnosti kolem 40 % (Tabulka 23).



Obrázek 30: Účinnost FRET v závislosti na vzdálenosti donor–akceptor pro systém 2



Obrázek 31: Účinnost FRET v závislosti na vzdálenosti donor–akceptor pro systém 3

V souvislosti s prováděnými výpočty je nutné diskutovat jejich přesnost. U výpočtů účinnosti je přesnost velká. Případné nepřesnosti vychází z nejistot parametrů fitu experimentálních dat závislosti vyhasínání fluorescence, tyto nejistoty jsou při dodržení optimálního proložení (dodržení hodnoty  $\chi^2$  okolo 1,2, optická kontrola reziduí) velmi malé. Z nich počítaná účinnost přenosu je tedy také poměrně přesná.

Problém však nastává u výpočtu Försterovy vzdálenosti a vzdálenosti donor–akceptor. Tyto výpočty jsou zatíženy poměrně velkou systematickou chybou. Použitá hodnota 2/3 orientačního faktoru se v literatuře vyskytuje nejčastěji protože vyjadřuje náhodně orientované dipóly donoru a akceptoru. Jisté nepřesnosti vnáší nízká hodnota a rozsah absorbance při měření absorpčních spekter. Největší problém je ale s indexem lomu. FRET probíhá mezi jednotlivými molekulami a není jasné, jestli použít index lomu THF, jehož zbytky by se molekulami mohly

nacházet, nebo použít index lomu vody, která tvoří disperzní prostředí částic. V limitním případě by pak mohlo být všechno THF z mezimolekulárního prostoru vytlačeno a mezi molekulami být volný prostor. Proto byl pro výpočet zvolen index lomu  $n = 1,25$  jako určitá střední hodnota. Díky této aproximaci indexu lomu je systematická chyba tohoto výpočtu odhadnuta až na 20 % [16].

Z výše uvedeného je zřejmé že není možné pracovat s konkrétními hodnotami. Díky preciznosti výpočtu (odhadnuto jako  $<0,1$  nm) je však možné sledovat trendy ve vypočtených hodnotách, což pro potřeby této práce dostačuje.

Orientační faktor, by při budoucí snaze o zpřesňování výpočtu mohlo jít zjistit pomocí měření anizotropie fluorescenčního záření. Otázka, jak lépe odhadnout index lomu je složitější. Základní motivem pro vývoj těchto nanočástic je jejich technologické uplatnění, například ve formě tenkých vrstev pro displejové technologie. V případě tenkých vrstev je možné k určení indexu lomu využít elipsometrii. V literatuře je dále popsáno použití Kramersových-Kronigových relací, které umožňují výpočet indexu lomu z absorpčních koeficientů. K těmto výpočtům dokonce existuje volně dostupná webová stránka, která je provádí [33]. V budoucnu by pak po zpřesnění potřebných parametrů, zejména indexu lomu, tyto výpočty poskytovaly ještě cennější informace.

#### **4.4. Určení optimálních poměrů pro dosažení WLE**

Tato kapitola ukazuje, jakým způsobem je možné ze získaných spekter nanočásticových systémů predikovat ideální poměr ve smyslu dosažení čisté WLE (největší blízkost (0,33 0,33)). Do následujících úvah nebudeme zahrnovat systém 1, jelikož u něj k WLE vůbec nedošlo. Dále je nutné upozornit na to že u systémů schopných produkovat WLE, pomocí jiného rozložení výsledného spektra, zejména poměrem intenzit v různých oblastech spektra (Obrázek 8), tento výpočet nebude platný. Z výše uvedeného tedy vyplývá, že následující úvahy jsou platné pro systémy studované v této práci a jim obdobné.

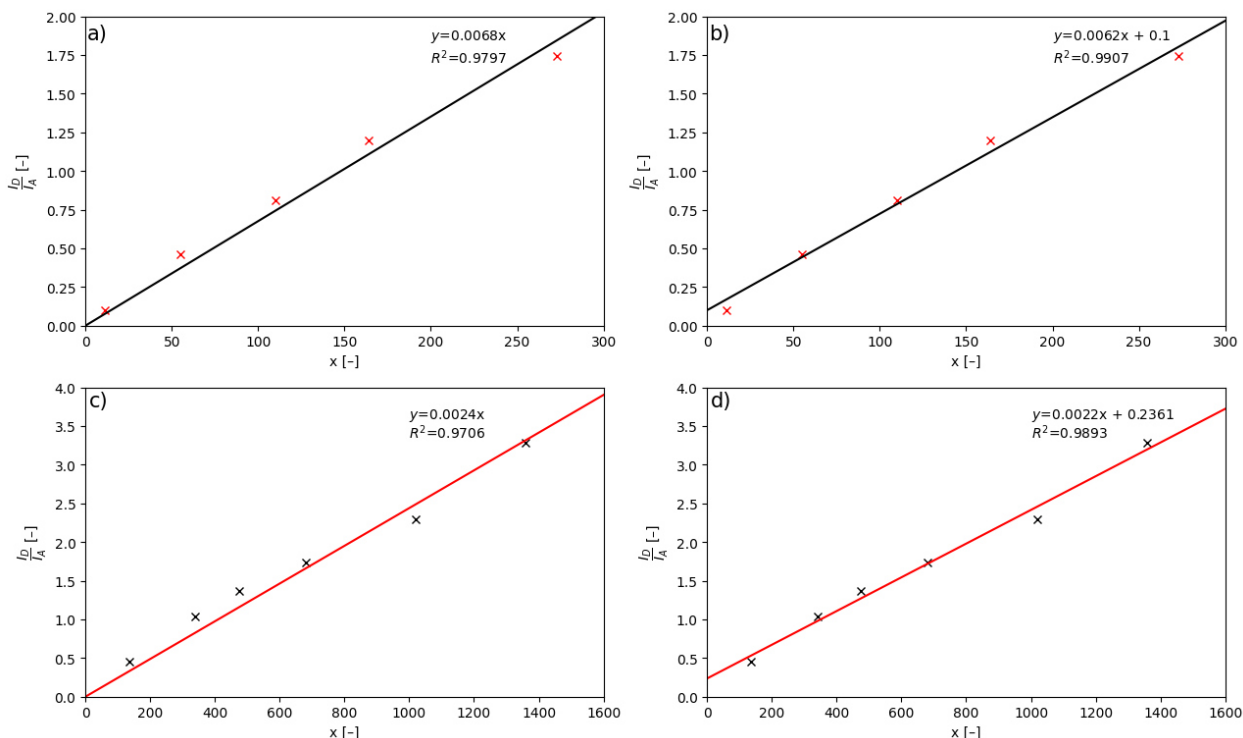
Z experimentálních výsledků této práce se ukazuje že, emisi barvy nejpodobnější bílé vykazuje systém s takovým poměrem komponent, u nějž dojde k vyrovnání relativních intenzit v krátkovlnné a dlouhovlnné oblasti spektra, toto ukazují spektra pro systém 2 (poměry 110:1 a 164:1) a systém 3 (poměry 340:1 a 476:1) (Tabulka 22).

Otázkou tedy je, jak je možné určit z experimentálně získaných dat ideální poměr látek v Host-Guest systému, tak aby v systému byly dosaženy barevné souřadnice co nejbližší ekvivalentnímu bílému bodu.

Jako řešení se ukázalo vynést závislost poměru  $\frac{I_D}{I_A}$  na přebytku donoru v násobku látkového množství akceptoru (značen jako  $x$ ). A proložit získanou závislost  $\frac{I_D}{I_A} = f(x)$ . To sebou ale přináší otázku, jakou závislostí prokládat, zda pouze sklon závislosti  $y = Ax$  nebo i posunutí na ose  $y$  funkcí  $y = Ax + B$  a jaké mají tyto proklady fyzikální význam. Z pohledu významu parametrů, by  $B$  mělo být nulové, protože v případě jeho nenulovosti by při obsahu donoru v systému rovnému nule byla intenzita v jeho emisní oblasti nenulová. Takovéto extrémny však pravděpodobně kvůli reálnému chování systému a experimentálními podmínkám uvažovat nelze. Data tedy byla fitována oběma závislostmi a ideální poměry byly v případě prokladu

$y = Ax$  vypočteny jako  $x = \frac{1}{A}$ , u prokladu  $y = Ax + B$  potom jako  $x = \frac{1-B}{A}$ . Jelikož požadovaným výsledkem byla rovnost intenzit tedy  $y = 1$ .

Grafické znázornění prokladů závislostí je zobrazeno na Obrázek 32, fitované parametry  $A$  a  $B$  včetně jejich nejistot potom uvádí Tabulka 24. Závislosti byly prokládány v programovacím jazyce Python pomocí funkce `curve_fit` z knihovny Sciopy.



Obrázek 32: Proložení závislosti  $\frac{I_D}{I_A} = f(x)$  lineární funkcí. a) systém 2 proložení závislosti  $y = 0,0068$  b) systém 2 proložení závislosti  $y = 0,0062 + 0,1$  c) systém 3 proložení závislosti  $y = 0,0024$  d) systém 3 proložení závislosti  $y = 0,0022 + 0,24$

Tabulka 24: Hodnoty fitu  $\frac{I_D}{I_A} = f(x)$  pro systémy 2 a 3.

System	Prokládaná funkce	$A$	$B$	$R^2$
2	$y = Ax$	$0,0068 \pm 0,0003$	–	0.9797
	$y = Ax + B$	$0,0062 \pm 0,0004$	$0,10 \pm 0,05$	0.9907
3	$y = Ax$	$0,0024 \pm 0,0001$	–	0.9706
	$y = Ax + B$	$0,0022 \pm 0,0001$	$0,24 \pm 0,09$	0.9893

Podle hodnoty  $R^2$ , která nabývá vyšších hodnot v případě prokladu s posunem  $B$  je možné tvrdit, že tento proklad je lepší. Jak ukazuje Tabulka 25 koeficienty  $A$  a  $B$  ale mají poměrně velké nejistoty, které se projevují zejména v případě výpočtu optimálních poměrů u systému 3.

V něm vychází teoretický poměr ještě vyšší (350:1), než reálný změřený (340:1,  $\frac{I_D}{I_A} = 1,03$ ), ze kterého se usuzovalo že optimální poměr bude o trochu nižší než právě 340:1. V rámci nejistoty

určení poměru  $((350 \pm 40):1)$  potom ale opravdu reálná hodnota nižší než  $340:1$  být může. I přes takovouto nejistotu nám ale výsledek může naznačovat, že proložení s parametrem  $B$  je správnější, protože u druhého prokladu i při odečtení maximální vypočtené nejistoty  $((410 \pm 15):1)$  se poměr pod hodnotu  $340:1$  nedostane. Z výsledku pro systém 2 nic o správnosti prokladu říci nejde, protože se poměry určené v obou typech proložení i při započtení svých nejistot pohybují v intervalu od  $110:1$  do  $164:1$ , ve kterém je vyrovnání intenzit předpokládáno. Nejistoty optimálních poměrů byly určeny v programovacím jazyku Python pomocí knihovny *uncertainties*.

*Tabulka 25: Teoreticky vypočtené poměry, ve kterých by mělo u studovaných systémů docházet k WLE*

Systém	Prokládaná funkce	Optimální poměr donor: akceptor
2	$y = Ax$	$(148 \pm 6):1$
	$y = Ax + B$	$(144 \pm 12):1$
3	$y = Ax$	$(410 \pm 15):1$
	$y = Ax + B$	$(350 \pm 40):1$

V obou proloženích se objevuje sklon přímky  $A$ . Čím větší  $A$  bude, tím rychleji bude tedy závislost růst. V kontextu studovaných systémů to říká že požadované hodnoty poměru  $\frac{I_D}{I_A} = 1$ , bude v případě vyššího  $A$  dosaženo při menší hodnotě souřadnici na ose  $x$ , tedy menším přebytkem donoru (vyšším obsahu akceptoru) než v případě nižší hodnoty parametru  $A$ . Musí vněm být tedy obsaženy vlastnosti látek tvořící systém, jako jsou jejich kvantové výtěžky, absorpční koeficienty atd. a důležitou roli v hodnotě  $A$  budou hrát i parametry FRET, k němuž mezi jednotlivými látkami dochází. V souvislosti s tím by bylo zajímavé vytvořit vztah, který by z výchozích parametrů vstupních látek umožňoval vypočítat poměr při kterém se jejich intenzity vyrovnají. Jak je ale vidět jen z prokládání experimentálních dat a vezmeme-li v úvahu všechny děje k nimž v systému mezi látkami dochází, je to problém velmi obtížný, ne-li nemožný.

Jak se tedy ukazuje s ohledem na přesnost určení optimálních poměrů je tento postup v případě systému 3 prakticky nepoužitelný, k velmi hrubému odhadu by však sloužit mohl. Jako řešení se nabízí větší množství experimentálních dat, rychlejší by v tomto případě ale zřejmě bylo zkoušet vytvářet poměry, které jsou nejbližší k tomu, který se zdá pod UV lampou nejbělejší.

## 5. ZÁVĚR

Úvodní charakterizace látek v pevné fázi ukázala vhodné spektrální zastoupení látek H2, G1 a G2. U látky H2 leželo maximum emisního spektra v oblasti kratších vlnových délek. U látek G1 a G2 se poté emisní maximum nacházelo ve větších vlnových délkách. U emisního spektra H2 a excitačních spekter G1 a G2 dochází k překryvu. Bylo tedy určeno použití látky H2 jako donor a látek G1 a G2 jako akceptor. Látka H1 překryv s akceptory také splňovala. Jak se však později ukázalo pro WLE s akceptorem G1 nebo G2 neměla vhodnou spektrální polohu emise. Látky v pevné fázi vykazovaly poměrně vysoké kvantové výtěžky, což je jeden z požadavků na výchozí látky pro pozdější tvorbu nanočásticových Host-Guest systémů. Dalším požadavkem byl překryv excitačních spekter látek zamýšlených jako akceptor a emisních spekter látek uvažovaných jako donor. Toto bylo splněno taktéž.

Ve spektrech nanočástic došlo k posunům spekter a zvětšení Stokesova posunu. Bylo pozorováno lehké ovlivnění barvy emise. U nanočástic H2 se oproti pevné fázi vlivem rozšíření emisního spektra při zachování stejného emisního maxima přidaly složky s větší vlnovou délkou, což mělo za výsledek posun emise této látky směrem k azurové barvě. Barvy G1 a G2 se vlivem posunu spekter nanočástic do vyšších vlnových délek posunuli více do červené.

Dále byl u nanočástic patrný pokles kvantových výtěžků, proto je potřeba zejména u donorní látky v pevné fázi, ze které se částice posléze připravují co nejvyšší kvantový výtěžek. Absorpční spektrum nanočástic látky G2 bylo v nanočásticích oproti G1 posunuto k vyšším vlnovým délkám, naměřená absorbance, respektive posléze vypočtené absorpční koeficienty obou látek nabývají podobných hodnot. Posun absorpčních spekter měl u nanočásticových systémů vliv na Försterovu vzdálenost.

Poté již byly připraveny celkem tři systémy, u prvního (H1+G1) vlivem výběru donorní látky jejíž spektrální vlastnosti s použitým akceptorem nebyly vyhovující k WLE nedošlo. Dále tedy byly podrobně charakterizovány jen systém 2 (H2+G1) a systém 3 (H2+G2). Ze spekter se ukazuje že emise obou systémů byla bílému bodu nejpodobnější tehdy, když se intenzita v donorní i akceptorní části spektra blížila co nejpodobnější hodnotě.

Největší blízkost bílému bodu vykazovaly v systému 2 poměry látkového množství 110:1 (0,32 0,38) a 164:1 (0,29 0,32) a v systému 3 340:1 (0,34 0,30) a 476:1 (0,31 0,28). Poměry systému 3 byly posunuty v diagramu více dolů což bylo způsobeno emisním maximem akceptorní látky G2 při vyšších vlnových délkách. Pro dosažení bílého bodu s donorní látkou H2 by byl zřejmě potřeba akceptor s maximem emisní vlnové délky v oblasti mezi maximy látek G1 a G2.

Z porovnání emise roztoku THF látek H2 a G1, který sloužil k přípravě nanočásticového systému 2 a nanočástic tohoto systému bylo zjištěno, že i když je systém charakterizován v obou případech velmi podobnou Försterovou vzdáleností, tak vlivem mnohem větší mezimolekulární vzdálenosti v roztoku k FRET nedochází. Výsledná barva emise v případě roztoku byla tedy dána pouze donorní látkou. V případě nanočástic, kdy jsou molekuly jednotlivých látek mnohem blíže již FRET probíhá a akceptor je ve spektru, potažmo ve výsledné barvě patrný.

Dále se z vypočtených parametrů ukazuje že v systému 2 je menší Försterova vzdálenost než systému 3. Také bylo zjištěno že k emisi bílého světla dochází při podobných účinnostech přenosu (kolem čtyřiceti procent). Z tohoto důvodu je u systému s vyšší Försterovou

vzdáleností větší vzdálenost donor-akceptor a WLE může produkovat poměr s nižším zastoupením akceptoru. V případě výpočtu je v budoucnu prostor k jeho zpřesnění. Nejdůležitější je z tohoto pohledu přesnější zjištění indexu lomu prostředí, ve kterém k FRET dochází.

Při snaze určit pro systémy 2 a 3 poměr jehož barevné souřadnice budou nejbližší (0,33 0,33) bylo zjištěno že neoptimálnější proložení dat je přímkou se směrnici  $A$  a úsekem na ose  $y$   $B$ . Směrnice  $A$  pak popisuje, kdy se v systému vyrovnají intenzity jednotlivých složek, čím větší je, tím je v ideálním poměru větší zastoupení akceptorní látky. Vypočtené teoretické poměry však byly zatíženy velkou nejistotou, což snižuje použitelnost tohoto postupu.

Hlavním problémem u připravených systémů byla jejich nízká fotostabilita, která byla zřejmě zapříčiněna vznikem izomerní trans formy látky H2 používané jako matrice. Degradace vlastností připravených částic potom značně urychlovalo vystavení UV záření. Z tohoto důvodu nebyl u systémů 2 a 3 měřen kvantový výtěžek a nebyla charakterizována velikost částic i když to původně bylo v plánu. Řešením by mohlo být nahrazení donorní látky látkou s podobnými spektrálními a strukturálními vlastnostmi ale lepší fotostabilitou.

V této práci bylo ukázáno, že použitým přístupem je možné připravit nanočástice produkující WLE. Další směřování, například ve formě diplomové práce, by bylo využití získaných zkušeností a za použití analogických látek, vytvořit systémy vykazující vyšší stabilitu a u nich pak již charakterizovat i jejich strukturu. Dále pak vytvořit tenké vrstvy, zkoumat jejich elektroluminiscenci a další parametry s ohledem na možné budoucí reálné použití.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] MUKHERJEE, Sanjoy a Pakkirisamy THILAGAR. Organic white-light emitting materials. *Dyes and Pigments* [online]. 2014, **110**, 2-27 [cit. 2024-04-21]. ISSN 01437208. Dostupné z: doi:10.1016/j.dyepig.2014.05.031
- [2] LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd edition. Springer Science+Business Media, LLC, 2006. ISBN 978-0387-31278-1.
- [3] SRIVASTAVA, Ritu, M.N. KAMALASANAN, Gayatri CHAUHAN, Arunandan KUMAR, Priyanka TYAGI a Amit KUMAR. Organic Light Emitting Diodes for White Light Emission. In: MAZZEO, Marco, ed. *Organic Light Emitting Diode* [online]. 3rd edition. Sciyo, 2010, s. 179-224 [cit. 2023-12-26]. ISBN 978-953-307-140-4. Dostupné z: doi:10.5772/9892
- [4] KUNDU, Subhankar, Bahadur SK, Pragyan PALLAVI, Arkaprabha GIRI a Abhijit PATRA. Molecular Engineering Approaches Towards All-Organic White Light Emitting Materials. *Chemistry – A European Journal* [online]. 2020, **26**(25), 5557-5582 [cit. 2024-04-21]. ISSN 0947-6539. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201904626
- [5] PAUK, Karel, Stanislav LUŇÁK, Aleš RŮŽIČKA et al. Colour-tuneable solid-state fluorescence of crystalline powders formed from push–pull substituted 2,5-diphenylstilbenes. *RSC Advances* [online]. 2022, **12**(54), 34797-34807 [cit. 2023-11-08]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D2RA05593G
- [6] BRASLAVSKY, S. E. Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006). *Pure and Applied Chemistry* [online]. 2007, **79**(3), 293-465 [cit. 2023-12-06]. ISSN 1365-3075. Dostupné z: doi:10.1351/pac200779030293
- [7] PAVIA, Donald L. *Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry*. 3rd edition. Fort Worth: Harcourt College Publishers, 2001. ISBN 00-303-1961-7.
- [8] VALEUR, Bernard. *Molecular fluorescence: principles and applications*. 1st edition. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. ISBN 35-272-9919-X.
- [9] MCMURRY, John. *Organická chemie*. Vydání první. Přeložil Jan BUDKA, přeložil Radek CIBULKA, přeložil Dalimil DVOŘÁK, přeložil Jaroslav KVÍČALA, přeložil Pavel LHOTÁK, přeložil Jiří SVOBODA. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, 2015. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-4769-1.
- [10] SAUER, Markus, Johan HOFKENS a Jörg ENDERLEIN. *Handbook of fluorescence spectroscopy and imaging: from single molecules to ensembles*. 1st edition. Weinheim: Wiley-VCH, 2011. ISBN 978-3-527-31669-4.
- [11] SLAVÍČEK, Petr a Eva MUCHOVÁ. *Kvantová chemie: první čtení*. Vydání první. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 9788075920423.
- [12] ATKINS, P. W. a R. S. FRIEDMAN. *Molecular quantum mechanics*. 5th edition. Oxford: Oxford University Press, 2011. ISBN ISBN978-0-19-954142-3.
- [13] SAMOZA. Depiction of Franck Condon principle in absorption and fluorescence. In: *Wikimedia commons* [online]. 2014 [cit. 2023-12-20]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Franck%E2%80%93Condon\\_principle#/media/File:Frank\\_Condon\\_Diagram.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Franck%E2%80%93Condon_principle#/media/File:Frank_Condon_Diagram.svg)
- [14] ALBANI, Jihad René. *Principles and applications of fluorescence spectroscopy*. 1st edition. Ames, Iowa: Blackwell Science, 2007. ISBN 978-1-4051-3891-8.



- [15] PORRÈS, Laurent, Adam HOLLAND, Lars-Olof PÅLSSON, Andrew P. MONKMAN, Chris KEMP a Andrew BEEBY. Absolute Measurements of Photoluminescence Quantum Yields of Solutions Using an Integrating Sphere. *Journal of Fluorescence* [online]. 2006, **16**(2), 267-273 [cit. 2023-11-08]. ISSN 1053-0509. Dostupné z: doi:10.1007/s10895-005-0054-8
- [16] MEDINTZ, Igor a Niko HILDEBRANDT, ed. *FRET – Förster Resonance Energy Transfer* [online]. 1st edition. Wiley, 2013 [cit. 2024-04-06]. ISBN 9783527328161. Dostupné z: doi:10.1002/9783527656028
- [17] MAITI, Dibakar Kumar, Rameswar BHATTACHARJEE, Ayan DATTA a Arindam BANERJEE. Modulation of Fluorescence Resonance Energy Transfer Efficiency for White Light Emission from a Series of Stilbene-Perylene Based Donor–Acceptor Pair. *The Journal of Physical Chemistry C* [online]. 2013, **117**(44), 23178-23189 [cit. 2023-11-22]. ISSN 1932-7447. Dostupné z: doi:10.1021/jp409042p
- [18] ANAND, Vivek, Roli MISHRA a Yash BAROT. Recent advances in the development of pure organic white light emitters. *Dyes and Pigments* [online]. 2021, **191**(109390), 1-25 [cit. 2023-11-11]. ISSN 01437208. Dostupné z: doi:10.1016/j.dyepig.2021.109390
- [19] WU, P.G. a L. BRAND. Resonance Energy Transfer: Methods and Applications. *Analytical Biochemistry* [online]. 1994, **218**(1), 1-13 [cit. 2023-11-11]. ISSN 00032697. Dostupné z: doi:10.1006/abio.1994.1134
- [20] VALEUR, Bernard a Mário Nuno BERBERAN-SANTOS. *Molecular Fluorescence* [online]. Second edition. Wiley, 2012 [cit. 2024-03-31]. ISBN 9783527328376. Dostupné z: doi:10.1002/9783527650002
- [21] ANTHONY, Savarimuthu Philip. Organic Solid-State Fluorescence: Strategies for Generating Switchable and Tunable Fluorescent Materials. *ChemPlusChem* [online]. 2012, **77**(7), 518-531 [cit. 2023-11-08]. ISSN 2192-6506. Dostupné z: doi:10.1002/cplu.201200073
- [22] HU, Wenping, ed. *Organic Optoelectronics* [online]. 1st edition. Wiley, 2013 [cit. 2024-01-02]. ISBN 9783527329687. Dostupné z: doi:10.1002/9783527653454
- [23] LINDSAY, S. M. *Introduction to nanoscience*. 1st edition. Oxford: Oxford Univ. Press, 2010. ISBN 978-019-954420-2.
- [24] KASAI, Hitoshi, Hari Singh NALWA, Hidetoshi OIKAWA et al. A Novel Preparation Method of Organic Microcrystals. *Japanese Journal of Applied Physics* [online]. 1992, **31**(8), 1132-1134 [cit. 2024-01-01]. ISSN 0021-4922. Dostupné z: doi:10.1143/JJAP.31.L1132
- [25] EFROS, Alexander L. a Louis E. BRUS. Nanocrystal Quantum Dots: From Discovery to Modern Development. *ACS Nano* [online]. 2021, **15**(4), 6192-6210 [cit. 2024-01-05]. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.1c01399
- [26] XIAO, Debao, Lu XI, Wensheng YANG, Hongbing FU, Zhigang SHUAI, Yan FANG a Jiannian YAO. Size-Tunable Emission from 1,3-Diphenyl-5-(2-anthryl)-2-pyrazoline Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2003, **125**(22), 6740-6745 [cit. 2024-01-05]. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja028674s
- [27] AN, Byeong-Kwan, Soon-Ki KWON, Sang-Don JUNG a Soo Young PARK. Enhanced Emission and Its Switching in Fluorescent Organic Nanoparticles. In: *Journal of the American Chemical Society*. United States: American Chemical Society, 2002, , s. 14410-14415. ISBN 0002-7863. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja0269082
- [28] SCHANDA, Janos, ed. *Colorimetry: Understanding the CIE System*. 1st edition. John Wiley & Sons, Inc, 2007. ISBN 978-0-470-04904-4.

- [29] DEPARTMENT OF PHYSICS AND ASTRONOMY, GEORGIA STATE UNIVERSITY. HyperPhysics. In: NAVE, Carl. DEPARTMENT OF PHYSICS AND ASTRONOMY, GEORGIA STATE UNIVERSITY. *CIE Color System* [online]. 2024 [cit. 2024-04-26]. Dostupné z: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/hph.html>
- [30] WANG, Hong, Peisheng ZHANG, Baiju P. KRISHNAN et al. Switchable single fluorescent polymeric nanoparticles for stable white-light generation. *Journal of Materials Chemistry C* [online]. 2018, **6**(37), 9897-9902 [cit. 2023-11-29]. ISSN 2050-7526. Dostupné z: doi:10.1039/C8TC03757D
- [31] ZHANG, Jianyu, Xueqian ZHAO, Hanchen SHEN, Jacky W. Y. LAM, Haoke ZHANG a Ben Zhong TANG. White-light emission from organic aggregates: a review. *Advanced Photonics* [online]. 2022, **4**(01), 014001-1-17 [cit. 2024-04-28]. ISSN 2577-5421. Dostupné z: doi:10.1117/1.AP.4.1.014001
- [32] *PhotochemCAD™- Common Compounds Spectra Database* [online]. 2024 [cit. 2024-04-19]. Dostupné z: <https://www.photochemcad.com/databases/common-compounds>
- [33] BENATTO, Leandro, Omar MESQUITA, Lucimara S. ROMAN, Marlus KOEHLER, Rodrigo B. CAPAZ a Graziãni CANDIOTTO. RI-Calc: A user friendly software and web server for refractive index calculation. *Computer Physics Communications* [online]. 2024, **298**(109100), 1-7 [cit. 2024-04-25]. ISSN 00104655. Dostupné z: doi:10.1016/j.cpc.2024.109100
- [34] MUHAMAD SARIH, Norfatirah, Peter MYERS, Anna SLATER, Ben SLATER, Zanariah ABDULLAH, Hairul Anuar TAJUDDIN a Simon MAHER. White Light Emission from a Simple Mixture of Fluorescent Organic Compounds. *Scientific Reports* [online]. 2019, **9**(1), 1-8 [cit. 2023-11-29]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-47847-5

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ICT – intramolekulární přenos náboje

S – singletový excitovaný stav

T – tripletový excitovaný stav

HOMO – horní obsazené molekulové orbitaly

LUMO – spodní neobsazené molekulové orbitaly

ISC – intra systémový přechod

IC – vnitřní konverze

FON – organické fluorescenční nanočástice

THF – tetrahydrofuran

a.u. – relativní jednotka

FRET – Försterův rezonanční přenos energie

WLE – emise bílého světla

## 8. PŘÍLOHY

V příloze se nachází program v jazyce Python, který byl vytvořen pro potřeby této práce. Pomocí něj byly počítány parametry spojené s FRET.

```
import pandas as pd
import numpy as np
import math as m
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.integrate import trapezoid
data = pd.read_excel("testfret.xlsx")
#promene
donor = ("DC-27")
akceptor = ("DC-20")
kpow2 = 2/3 #orientacni faktor??
qydonor = 0.08 #QY donoru
n = 1.25 #index lomu??
koncentrace = 5.3e-6 #koncentrace akceptoru v mol/l
#ucinnost
tDA = np.array([1.14674, 0.1819502, 4.6286])#casy donor + akceptor [ns]
BDA = np.array([1.8530e-2, 0.1101295, 1.31925e-3]) #B donor + akceptor
BD = np.array([3.5396e-2, 0.1636623, 3.4144e-3]) # B donoru
tD = np.array([1.73, 0.2525, 5.8697]) # casy donor [ns]
#-----
-----
vlnabs = data["lambdaabs"]
absorbance = data["abs"]
vlnem = data["lambdaem"]
emise = data["em"]
r = np.arange(0., 10., 0.01)
#%
#-----
-----
#-----
-----
```

```

#vypocet casu donoru vazeneho B
tDavrg = np.average(tD,weights=BD)
print(tDavrg)
#vypocet ucinnosti prenosu
def ucinnost (BDA,tDA,BD,tD):
    tauDAavrg = np.average(tDA,weights=BDA)
    tauDavrg = np.average(tD,weights=BD)
    uckor = (1-(tauDAavrg/tauDavrg))
    return(uckor)
qytexp = ucinnost(BDA,tDA,BD,tD)
print(qytexp)
#%%%
#absorpcni spektrum akceptoru
plt.plot(vlnabs, absorbance, "-")
plt.ylabel('absorbance [-]')
#%%%
#normalizovane emisni spektrum donoru na jednotkovou plochu
plt.plot(vlnem, emise/sum(emise*(vlnem**4)),"-")
plt.ylabel('intenzita [-]')
#%%%
#vypocet absorpcnich koeficientu je-li potřeba
if max(absorbance)<10: #pro spektra absorbance abs. koeficienty pocita
    def abskoef (koncentrace):
        koef = absorbance/koncentrace
        return koef
    absorpcnikoef = abskoef(koncentrace)
    print(absorpcnikoef)
    plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef, "-")
elif max(absorbance)>10: #nahrajou-li se rovnou abs. koef jenom je vypise
    absorpcnikoef = absorbance
    print(absorpcnikoef)
    plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef, "-")

```

```

#%%%
#prekryv spekter
absnorm = absorbance/max(absorbance)
emnorm = emise/max(emise)
plt.plot(vlnabs,absnorm , "-")
plt.plot(vlnem,emnorm , "-")
plt.legend(['absorpce akceptoru','emise donoru'])
plt.ylabel('normalizovana intenzita [-]')
#%%%
#prekryvova funkce- pro kontrolu vypoctu
def prekryvfce (absorpcnikoeff,vlnem,emise):
    vysledek1 = (emise*absorpcnikoeff*(vlnem**4))
    normalizace1 = trapezoid(emise)
    vysledeknorm1 = vysledek1/normalizace1 #normalizace plochy pod grafem
    return vysledeknorm1
prekryvovafunkce = prekryvfce (absorpcnikoeff,vlnem,emise)
# graficky
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce,"-")
plt.ylabel('[-]')
plt.title("prekryvova funkce")
#hodnoty
print (prekryvovafunkce,"M^-1 cm^-1 nm^4")
#%%%
#prekryv spekter+prekryvova fce
plt.plot(vlnabs, absorpcnikoeff/max(absorpcnikoeff), "-")
plt.plot(vlnem, emise/max(emise), "-")
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce/max(prekryvovafunkce), "--")
plt.legend(['absorpce akceptoru','emise donoru',"prekryvova funkce"])
plt.ylabel('normalizovan intenzita [-]')
#%%%
#integral numericky
def integral2 (absorpcnikoeff,vlnem, emise):

```

```

nasobeni = emise*absorpcnikoef*(vlnem**4)
vysledek = trapezoid(nasobeni,vlnem)
normalizace = trapezoid(emise,vlnem)
vysledeknorm = vysledek/normalizace
return vysledeknorm

hodnotaintegralu = integral2 (absorpcnikoef,vlnem, emise)
print(hodnotaintegralu)
print (hodnotaintegralu,"M^-1 cm^-1 nm^4")
#%%%
#vypocet Försterovy vzdalenessi
R0 = 0.02108*m.pow(((kpow2*qydonor)*(n**4)*hodnotaintegralu),1/6)
print("Försterova vzdaleness:",R0,"nm")
#%%%
#vykresleni krivky-teoreticka ucinnost prenosu v rozsahu 1 az 10 nm
qytteor = (1/(1+(r /R0)**6))
#%%%
#experimentalni vzdaleness vypoctena pomoci experimentalne zjistene ucinnosti prenosu
rexp = m.pow(((1/qytexp)-1),1/6)*R0
print("vzdaleness donor akceptor:",rexp,"nm")
#rychlostni konstanta FRETu
kt = ((1/tDavrg)*((m.pow(R0,6))/(m.pow(rexp,6))))
print("rychlostni konstanta FRETu:",kt,"ns^-1")
print("poločas FRETu:",(1/kt),"ns")
#vyneseni do grafu
plt.plot(r, qytteor, "-")
plt.plot(rexp,qytexp,"+")
plt.xlabel('r [nm]')
plt.ylabel('účinnost přenosu [-]')
#%%%
#vystupni soubory
plt.figure(figsize=(15,9))
plt.subplot(231)

```

```

plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef, "-")
plt.title("absorpční koeficienty "+ akceptor)
plt.ylabel("$\epsilon$ [M-1 l cm-1]")
plt.subplot(232)
plt.plot(vlnem, emise/sum(emise*(vlnem**4)),"-")
plt.ylabel('norm. intenzita [-]')
plt.title("normalizované emisní spektrum")
plt.subplot(233)
plt.plot(vlnabs,absnorm , "-")
plt.plot(vlnem,emnorm , "-")
plt.legend(["absorpce " + akceptor,"emise " + donor])
plt.ylabel('norm. intenzita[-]')
plt.title(donor+ " a " +akceptor)
plt.subplot(234)
plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef/max(absorpcnikoef), "-")
plt.plot(vlnem, emise/max(emise),"-")
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce/max(prekryvovafunkce),"--")
plt.legend([akceptor, donor,"překryvová fce."])
plt.ylabel('normalizovaná intenzita [-]')
plt.subplot(235)
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce,"-")
plt.ylabel('překryv [M-1 cm-1 nm4]')
plt.title("překryvová funkce")
plt.subplot(236)
plt.plot(r,qytteor, "-")
plt.plot(rexp,qytexp,"+")
plt.xlabel('r [nm]')
plt.ylabel('účinnost přenosu [-]')
plt.title("účinnost přenosu")
plt.savefig("fret_vysledky.png")
#vystupni soubory
plt.figure(figsize=(15,9))

```



```

plt.subplot(221)
plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef, "-")
plt.ylabel("$\epsilon$ [M$^{-1}$ l cm$^{-1}$]", fontsize = 12)
plt.text(350,26000,"a", fontsize= 15)
plt.xlabel("vlnová délka [nm]",fontsize = 12)
#plt.legend(["absorpce "+akceptor])
plt.subplot(222)
plt.plot(vlnem, emise/sum(emise*(vlnem**4)),"-", color = "orange")
plt.ylabel('intenzita [-]',fontsize = 12)
plt.xlabel("vlnová délka [nm]", fontsize =12)
#plt.legend(["emise " + donor])
plt.text(350,1.18e-13,"b", fontsize= 15)
plt.subplot(223)
plt.plot(vlnabs, absorpcnikoef/max(absorpcnikoef), "-")
plt.plot(vlnem, emise/max(emise),"-")
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce/max(prekryvovafunkce),"--")
plt.legend(["absorpce "+akceptor,"emise "+ donor,"překryvová fce."],fontsize = 12)
plt.ylabel('intenzita [-]', fontsize = 12)
plt.xlabel("vlnová délka [nm]", fontsize = 12)
plt.text(350,0.97,"c", fontsize= 15)
intsci = '%.2E' % Decimal(hodnotaintegralu)
gR0 = '%.2F' % (R0)
plt.subplot(224)
plt.plot(vlnem,prekryvovafunkce,"-",color = "green")
plt.ylabel('překryv [M$^{-1}$ l cm$^{-1}$ nm$^4$]', fontsize = 12)
plt.xlabel("vlnová délka [nm]", fontsize = 12)
plt.text(540, 8e12, "$J$= " + intsci+" M$^{-1}$ l cm$^{-1}$ nm$^4$", fontsize = 12 )
plt.text(540, 7e12, "$R_{0}$: " + gR0 + " nm", fontsize = 12 )
plt.text(350,8.5e12,"d", fontsize= 15)
from decimal import Decimal
file_name = "fret_vysledky.txt"
with open(file_name, "w") as file:

```

```
file.write( donor + " a " +akceptor + "\n")
file.write("Vysledek integralu: " + '%.2E' % Decimal(hodnotaintegralu) + " M^-1 cm^-1
nm^-4" "\n")
file.write("Rychlostni konstanta: " + '%.2E' % Decimal(kt) + " ns^-1" "\n")
file.write("Försterova vzdalenost (R0): " + '%.2F' % Decimal(R0) + " nm" "\n")
file.write("Vzdalenost donor akceptor: " + '%.2F' % Decimal(rexp) + " nm" "\n")
file.write("Ucinnost prenosu: " + '%.2F' % Decimal(qytexp) + "\n")
#%%
```