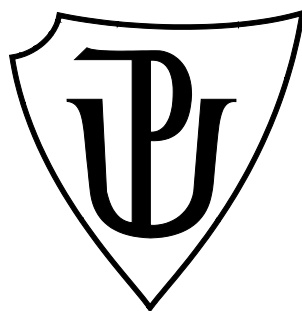


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
KATEDRA EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

Luminiscence ve středoškolské laboratoři



Autor:	<b>Bc. Jan Pokorný</b>
Studijní program:	N1407 Chemie
Studijní obor:	7504T075 Učitelství chemie pro střední školy 7504T055 Učitelství fyziky pro střední školy 7504T000 Společný základ učitelských oborů
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	Mgr. František Látal, Ph.D.
Termín odevzdání práce:	Červenec 2015

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením Mgr. Františka Látala, Ph.D. a že jsem použil pramenů, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne .....

.....

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucímu práce Mgr. Františku Látalovi, Ph.D. za vedení, náměty a připomínky k práci, nakoupené materiální vybavení a chemikálie, jeho trpělivost a ochotu.

Dále bych co nejsrdečněji poděkoval paní RNDr. Janě Skopalové, Ph.D. a doc. RNDr. Martě Klečkové, CSc. za vstřícnost a ochotu, věnovaný čas, odbornou pomoc, mnoho cenných rad a poskytnutých materiálů.

Poděkování patří taktéž katedře organické chemie, především Ing. Kamilu Motykovi, Ph.D., za umožnění měření spekter na fluorescenčním spektrometru a za pomoc při interpretaci naměřených spekter.

Děkuji své přítelkyni Janě za pomoc a velkou podporu při vzniku této práce. Práce vznikla za finanční podpory projektu IGA\_PrF\_2015\_017.

# Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Jan Pokorný
Název práce	Luminiscence ve středoškolské laboratoři
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Katedra experimentální fyziky
Vedoucí práce	Mgr. František Látal, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2015
Abstrakt	Diplomová práce je zaměřena na experimenty pro mezipředmětovou výuku fyziky a chemie. Jedná se o experimenty z různých druhů luminiscence, které lze provádět ve výuce fyziky i chemie na středních školách a k jejichž porozumění jsou třeba znalosti z obou těchto předmětů. Výběr pokusů je omezen tak, aby používané pomůcky i chemikálie byly snadno dostupné. Teoretická část práce se zaměřuje na popis známých druhů luminiscence. Experimentální část obsahuje databázi pokusů z luminiscence včetně podrobného návodu k jejich realizaci a odpovídajícího vysvětlení. K většině experimentů je připojena rozsáhlejší fotodokumentace a videozáznam.
Klíčová slova	Fluorescence, fosforescence, luminiscence.
Počet stran	125
Počet příloh	3
Jazyk	Český

# Bibliographical identification

Author's first name and surname	Jan Pokorný
Title	Luminescence in the school laboratory
Type of thesis	Diploma
Department	Department of Experimental Physics
Supervisor	Mgr. František Látal, Ph.D.
The year of presentation	2015
Abstract	<p>This diploma thesis is focused on experiments for interdisciplinary Physics and Chemistry classes. These experiments of various kinds of Luminescence can be conducted both during Physics and Chemistry classes at secondary school and basic knowledge of these subjects is essential for their understanding. The choice of experiments is restricted according to easy availability of used materials and chemicals. The theoretical part of this work is focused on summary of the known kinds of Luminescence. The experimental part contains a database of experiments from Luminescence, including detailed instructions for their realization and a corresponding explanation. An extensive photodocumentation and videos are attached to most of the experiments.</p>
Keywords	Fluorescence, luminescence, phosphorescence.
Number of pages	125
Number of appendices	3
Language	Czech

---

# Obsah

<b>Slovo úvodem.....</b>	<b>8</b>
<b>Teoretická část.....</b>	<b>10</b>
1. Co je to luminiscence .....	10
1.1 Fluorescence a fosforescence.....	13
2. Druhy luminiscence.....	15
2.1 Bioluminiscence .....	15
2.2 Chemiluminiscence .....	19
2.3 Katodoluminiscence.....	22
2.4 Rentgenoluminiscence a radioluminiscence .....	27
2.5 Fotoluminiscence .....	29
2.5.1 Absorpční, excitační a emisní spektra .....	32
2.6 Elektroluminiscence.....	34
2.7 Termoluminiscence.....	40
2.8 Mechanoluminiscence .....	43
2.9 Sonoluminiscence.....	46
2.10 Lyoluminiscence .....	47
3. Metodika měření .....	49
3.1 Vernier SpectroVis Plus .....	49
3.1.1 Měření spekter.....	52
3.1.2 Měření dalších typů závislostí.....	56
3.2 Vernier SpectroVis Optical Fiber.....	62
<b>Experimentální část .....</b>	<b>65</b>
4. Výběr luminoforů a měření jejich fluorescenčních spekter.....	65
5. Pokusy z fotoluminiscence.....	69
5.1 Luminiscenční duha.....	69
5.2 Difuze fluoresceinu ve vodě.....	70
5.3 Model zářivky, fosforescence .....	72

5.4	Fotoluminiscence minerálů.....	74
5.5	Fotoluminiscence rostlin.....	75
5.6	Difuze eskulinu ve vodě.....	79
5.7	Fotoluminiscence předmětů a výrobků okolo nás .....	80
5.8	Fotoluminiscence buzená laserovými ukazovátky.....	84
5.9	Měření fluorescenčních spekter roztoků.....	86
5.9.1	Přírodní fluorescenční barviva.....	87
5.9.2	Syntetická fluorescenční barviva .....	88
5.10	Fluorescenční stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik.....	97
6.	Pokusy z chemiluminiscence.....	109
6.1	Barevná chemiluminiscence luminolu.....	109
6.2	Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku .....	111
6.3	Chemiluminiscence směsi formaldehydu a pyrogallolu.....	114
6.4	Fosforescence bílého fosforu .....	117
7.	Pokusy z mechanoluminiscence .....	119
7.1	Drcení krystalového cukru.....	119
7.2	Luminiscence při krystalizaci .....	121
	<b>Slovo závěrem .....</b>	<b>123</b>
	<b>Použitá literatura.....</b>	<b>124</b>
	<b>Přílohy .....</b>	<b>126</b>
8.	Seznam natočených pokusů na DVD .....	126
9.	Seznam použitých zkratk.....	127
10.	Naměřená fluorescenční spektra roztoků.....	128

---

# Slovo úvodem

S luminiscencí se setkáváme několikrát denně. V ulicích se s příchodem tmy rozsvěčují výbojky opatřené luminiscenční vrstvou. Odcházíme z odpolední směny a nasedáme do nového, moderního automobilu, rozsvěčujeme světla tvořené LED diodami. Po cestě domů míváme reflexní plochy tabulí a okrajů vozovky. S příchodem do panelového domu zjistíme, že je na chodbě zase prasklá žárovka. Nic nevydrží. Pomalu a opatrně kráčíme vzhůru schodištěm. Ještě že je na každém schodu nalepena fosforeskující páska... Po horké sprše usedáme za novou LED TV a dálkovým ovladačem přepínáme kanály. Náhle si vzpomeneme, že ještě musíme na zítra udělat nějakou práci, a tak se stěhujeme do pracovny za notebook vybavený LCD LED panelem. Abychom hned neusnuli, rozsvítíme si stropní zářivku. V návalu práce zapomeneme, kolik je hodin. Znenadání nám to dojde, a tak spěcháme do postele. Potmě pátráme po budíku, abychom ráno nezaspali. Ještě že jdou ty ručičky vidět i bez rozsvícené lampičky...

Luminiscence je všude kolem nás. Víme o tom? A je potřeba to vůbec vědět? Nechtě odpověď na tuto otázku bude znát každý po přečtení práce zabývající se tímto zajímavým jevem.

Už jako malý kluk jsem byl fascinován zeleně svítícími hvězdičkami, které mi tatínek nalepil na zeď, a každý večer po zhasnutí světla se nade mnou rozzářila taková moje malá soukromá noční obloha. Zaujatost svítícími předměty mne neopouštěla ani ve školním věku, kdy jsem si nějaké sám v oddělení s hračkami koupil. To už jsem tušil, že použitý materiál bude mít nějakou souvislost s vrstvičkou nanesenou na koncích ručiček budíku, protože měly stejnou barvu a svítily přibližně stejně dlouhou dobu. Nikdy jsem však nechápal, jak je tohle všechno možné... Tato otázka mě provázela dlouhou dobu a uspokojivou odpověď jsem bohužel nedostal ani v gymnaziálních kurzech fyziky či chemie. Nebo si to alespoň neuvědomuji.

Cílem teoretické části práce je srozumitelnou formou podat ucelený pohled na dnes známé druhy luminiscence. Teoretická část je rozdělena na tři kapitoly. První kapitola se věnuje všeobecnému popisu luminiscence. Druhá kapitola poté podrobněji rozebírá různé druhy luminiscence, přičemž je kladen důraz na využití jednotlivých druhů v praxi. Poslední kapitola popisuje metodiku měření, použitou v experimentální části práce.

Experimentální část obsahuje výběr experimentů z fotoluminiscence, chemiluminiscence a mechanoluminiscence s podrobně popsáním způsobem provedení, metodickými radami a připomínkami pro hladký průběh pokusů či řešení možných



problémů. Pokusy z ostatních druhů luminiscence jsou ve středoškolských podmínkách nerealizovatelné. U každého experimentu je uvedena orientační časová náročnost. K řadě pokusů není potřeba žádné složité vybavení a dají se realizovat za poměrně krátkou dobu. Při výběru experimentů byl kladen důraz na názornost; princip experimentů je vždy vysvětlen tak, aby byl předváděný jev správně pochopen. K většině experimentů byla pořízena rozsáhlejší fotodokumentace a průběh vybraných pokusů byl natočen. Některé části textů, popř. struktury látek se v experimentální části opakují. Důvod je prostý – jednotlivé pokusy jsou koncipovány tak, aby mohly být vyňaty z kontextu. Každý experiment proto obsahuje všechny nezbytné údaje k jeho realizaci, tedy část úvodní, teoretickou a praktickou. V textu je množství fotografií, které byly pořízeny během experimentální práce v laboratoři, avšak nelze do něj zapracovat všechny. Další fotografie včetně videozáznamů lze nalézt na přiloženém DVD.

Práce je určena středoškolským pedagogům fyziky a chemie k inovaci a oživení výuky jak v běžných hodinách, tak také v laboratorním cvičení, popř. seminářích a kroužcích. Je na každém učiteli, aby objektivně zhodnotil význam luminiscence pro dnešní společnost a zařadil některý z pokusů do výuky.

V podstatě jedinou dnes aktuální literaturou, která se velmi čtivou a naučnou formou zabývá luminiscencí i všemi jejími exotickými druhy, je kniha *Luminiscence doma, v přírodě a v laboratoři*. Napsali ji Ivan Pelant a Jan Valenta, vydalo Nakladatelství Academia v Praze r. 2014. Druhou, dnes již poněkud zastaralou knihou je *Fyzikální podstata a využití luminiscence* od Lubomíra Dvořáka a Zdeňka Kupky, kterou vydalo nakladatelství SPN roku 1980. Nutno podotknout, že od té doby se především na poli elektroluminiscence udály velké pokroky.

---

# Teoretická část

## 1. Co je to luminiscence

S luminiscencí se lidé potkávali odedávna. Již římsí vojáci si při nočních výpravách značili cestu trouchnivějším světélkujícím dřevem. Ve středověku byly luminiscenční jevy především zdrojem pověr a představ spojených s nadpřirozenými silami. Ve starých lidových pověstech a bájích vystupují všem dobře známé bludičky, svítící svatojánští broučci, někdy i svítící trouchnivějící pařezy či hniající blata. Průkaznější zmínky o prvních pokusech s luminiscenčními látkami pocházejí ze 17. století. Tehdy se boloňský švec a alchymista Vincenzo Gasparolo rozhodl, že vyrobí zlato. Protože zlato je lesklé, usoudil, že je možné jej vyrobit z jiných lesklých předmětů. A tak chodil v okolí Boloně a hledal nějaké lesklé kameny, které by mohl k výrobě použít. Zvláště v okolí vrchu Padermo jich nasbíral spoustu a podrobil je nejrůznějším důmyslným experimentům, pochopitelně se mu zlato ale vyrobit nepodařilo. Ze vzteku jednoho večera ony kameny mrštil do kouta a odešel do krčmy. Když se v noci v radostné náladě vrátil domů, nestačil se divit. Z koutu jeho dílny vycházelo tlumené nazelenalé světlo. Tak ho to vyděsilo, že kameny rychle prodal jiným alchymistům s výmluvou, že se jedná o dlouho hledané kameny mudrců [1].

Dnes víme, že pan Gasparolo žádné kameny mudrců neobjevil. Pozdější analýzy kamenů z oněch míst prokázaly, že obsahují síran barnatý s příměsí mědi, manganu, stříbra a bismutu. Právě tato kombinace chemikálií byla zodpovědná za luminiscenci, kterou náš alchymista údajně pozoroval. Skutečný systematický výzkum luminiscenčních látek započal poměrně nedávno, tedy před zhruba sto padesáti lety, a je spojen s významnými jmény jako např. Becquerel, Lenard, Crookes, Stokes. Dnes je luminiscence spjata s celou řadou významných aplikací. A co že je to vlastně ta luminiscence?

Podle definicí v literatuře se jedná o *nerovnovážné netepelné záření, vysílané tělesem navíc oproti záření rovnovážnému, které je popsáno Planckovým zákonem* [2]. Rozeberme si tuto větu podrobněji.

Zahřejeme-li pevné těleso na vysokou teplotu, vyzařuje do okolního prostoru energii v podobě elektromagnetického záření, které spadá do infračervené oblasti spektra. Toto záření je lidskému oku neviditelné, jeho tepelné účinky však cítíme např. na kůži ruky. Jestliže zahřejeme kus oceli na teplotu 1000 °C, vysílá elektromagnetické vlny, které jsou v tomto případě poněkud kratší. Zasahují do oblasti viditelného spektra, což se na žhavé oceli projeví tak, že se nám jeví jako červená.

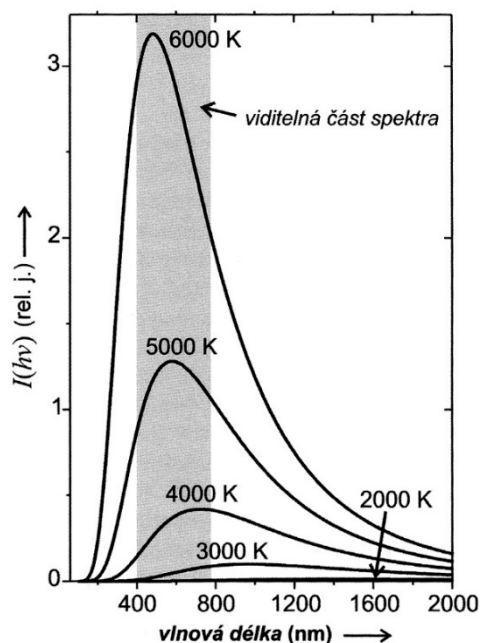
Při dalším zvyšování teploty tato barva přechází přes oranžovou a žlutou barvu až do bílé; ocel však stále vysílá i záření infračervené, kterého je dokonce mnohem více než záření viditelného. Na tomto principu je založena klasická žárovka – zdroj viditelného světla, jejíž tepelné účinky všichni dobře známe. Na poněkud odlišném základu pracuje další zdroj světla, který lidstvo využívá od nepaměti. Je to oheň. Společným jmenovatelem popsaných světelných zdrojů je skutečnost, že kromě světla připadá značná část vysílané energie na tepelné záření. Příslušné světlo proto označujeme jako *teplé světlo*.

Matematický popis tepelného záření našel roku 1900 Max Planck. Za jeho revoluční myšlenky obdržel roku 1918 Nobelovu cenu. Planck předpokládal, že světlo je vysíláno nikoli spojitě, ale po určitých částech, kvantech. Tato kvanta byla nazvána jako fotony. Energie fotonů je tím větší, čím kratší je vlnová délka záření  $\lambda$ , tedy čím vyšší je jeho frekvence  $\nu$ . Pro energii fotonu zavedl jednoduchý vztah

$$E = h\nu, \quad (1)$$

kde konstanta  $h$  později dostala název svého objevitele – Planckova konstanta. S takto definovanými předpoklady se mu podařilo přesně matematicky vystihnout tvar emisního spektra tělesa, které vyzařuje tepelné záření, tzn. právě ono teplé světlo. To vše naprosto odporovalo tehdejším představám. Jeho zásluhou však započala nová éra fyziky: kvantová fyzika [2].

Na obrázku 1 je uvedeno spektrum tepelného záření ideálního rozžhaveného tělesa při různých teplotách  $T$ . S rostoucí teplotou tělesa se celá křivka posouvá ke kratším vlnovým délkám a celková intenzita vysílaného elektromagnetického záření rychle vzrůstá.



**Obr. 1:** Spektrum tepelného záření ideálního rozžhaveného tělesa pro různé teploty.

Převzato z [2].

Podle teploty tělesa tedy vysílané záření je buď neviditelné, infračervené, nebo okem viditelné za vysokých teplot. Pokud ovšem těleso energii vysílá, musí také nějakou energii přijímat (jinak by došlo k porušení zákona zachování energie). Představme si šálek horké kávy, který je položen na stole a postupně chladne, tedy vysílá elektromagnetické záření do svého okolí, zbavuje se energie. Něko by mohlo napadnout, že káva sníží svou teplotu natolik, že by byla chladnější než teplota v místnosti, poté by úplně zamrzla. Ze zkušenosti ale víme, že se tak neděje, což je důsledek toho, že šálek neustále energii ze svého okolí přijímá, absorbuje. Jakmile se teplota šálku vyrovná s teplotou v místnosti, záření vysílané a přijímané jsou navzájem v rovnováze. Pak hovoříme o *rovnovážném záření*, které je popsáno Planckovým zákonem. A jak jsme již uvedli, luminiscence je záření *nerovnovážné*.

Název luminiscence pochází od německého fyzika Eilharda Wiedemanna. Je odvozen z lat. *lumen* = světlo. Důležitou skutečností je zejména to, že luminiscenční záření může být vysíláno předměty, které vůbec nemusí být teplé. Dokonce jejich intenzita luminiscence výrazně roste s klesající teplotou a nejvyšší může být v blízkosti absolutní nuly ( $T \rightarrow 0$  K, tedy  $-273$  °C). Z tohoto důvodu luminiscenci označujeme jako *studené světlo* [2].

Schopnost vysílat luminiscenční záření není vlastní všem látkám a neexistuje ani žádné kritérium, které by s jistotou dokázalo předpovědět, jestli daná látka bude luminiscenci vykazovat či nikoliv. Neexistuje ani jednotný matematický popis luminiscenčních spekter na rozdíl od univerzálně platného Planckova zákona pro tepelné záření. Společným znakem luminiscenčních jevů je však skutečnost, že jsou založeny na elektrických vlastnostech látek, přestože luminiscence patří mezi jevy optické. To naznačuje, že luminiskovat mohou pouze látky, které nevedou příliš dobře elektrický proud. Tyto vlastnosti mají zejména polovodiče a také izolátory. Z uvedeného vyplývá, že luminiscenci nejeví např. měď, zlato, stříbro, jejich sloučeniny ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{AgCl}$ ) však ano. Stejně tak mohou luminiskovat i složitější látky organické povahy, jako jsou některé polymery, nebo tzv. fluorescenční barviva (především jejich roztoky) [2].

Jestliže jsme luminiscenci definovali jako nerovnovážné a nadbytečné záření vzhledem k Planckovu zákonu, je zřejmé, že odněkud musí brát energii. Tuto energii dodáváme luminiskujícímu tělesu tzv. buzením neboli excitací, která může mít různé formy. Excitovaný luminofor poté září, tedy emituje luminiscenční fotony o energii

$$E = h\nu_{\text{lum}}. \quad (2)$$

Luminiscenci lze dělit z několika hledisek, a to především:

- z hlediska doby trvání luminiscence,
- z hlediska způsobu excitace.

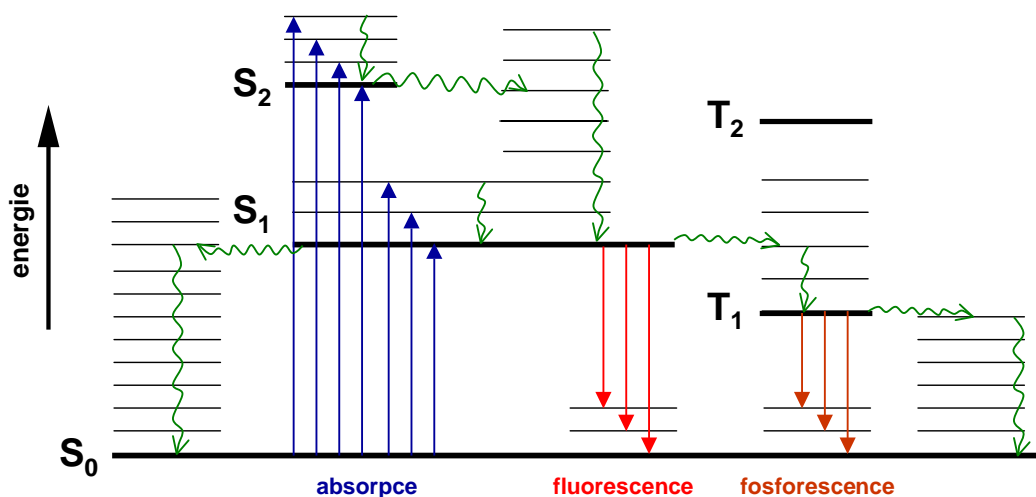
Podle doby trvání luminiscenci dělíme na tzv. *fluorescenci* a *fosforescenci*. Tomuto rozdělení se věnuje následující podkapitola 1.1. Z hlediska způsobu excitace rozdělujeme luminiscenci na celou řadu druhů, jimiž se zabývá celá kapitola 2.

## 1.1 Fluorescence a fosforescence

Tyto dva pojmy označují velmi podobné jevy, přesto nejde o synonyma.

*Fluorescenci* označujeme světelnou emisí, která vymizí (téměř) okamžitě po ukončení excitačního působení. Říkáme, že má krátké doznívání (nebo dohasínání). Slovo *téměř* v závorce značí, že minimální doba doznívání je stanovena na  $10^{-15}$  až  $10^{-14}$  sekundy, což je velmi krátká doba. Naopak *fosforescence* je emise světelného záření s dlouhým dozníváním, která trvá i po vymizení excitačního působení. Jak dlouho může takové doznívání trvat, není nijak omezeno – může jít o zlomky sekund, ale také o hodiny až dny [1]. Luminiscence neboli světélkování v sobě tedy zahrnuje jak fluorescenci, tak také fosforescenci. Podrobněji si tyto jevy vysvětlíme na modelovém příkladu energetického systému molekuly.

Za luminiscenci jsou zodpovědné přeskoky elektronů v elektronovém systému molekuly. Tyto přeskoky jsou vyvolány aplikací excitačního působení na látku. Z chemie je známo, že elektrony v molekule mohou nabývat pouze určitých dovolených hodnot energie. Zjednodušenou představu energetického systému molekuly znázorňuje obrázek 2, který nazýváme Jablonského diagram. Přímé šipky znázorňují zářivé přechody, vlnité šipky nezářivé přechody.



Obr. 2: Energetický systém molekuly – Jablonského diagram.

Převzato a upraveno z [3].

Na levé straně obrázku je systém hladin, které odpovídají energetickým stavům molekuly s celkovým spinem rovným nule (tzn. součet spinů všech elektronů molekuly je nulový). Těmto stavům říkáme singletní stavy a značíme je  $S$ . Základní

stav molekuly je označen  $S_0$  a udává nejmenší energii celého souboru atomů vázaných v molekule. Pravá strana obrázku značí systém hladin s celkovým spinem rovným jedné, tedy  $S = 1$ . Podle vztahu pro multiplicitu  $M = 2S + 1$  těmito stavům říkáme tripletní stavy a označujeme je  $T$  (tripletní proto, že každá hladina se v magnetickém poli štěpí na tři hladiny, které odpovídají různým průmětům spinu do směru vnějšího magnetického pole). Oba energetické systémy jsou tvořeny kombinací elektronových (tučnou čarou), vibračních (tenkou čarou) a rotačních hladin molekuly [1]. Nyní si popíšeme jednotlivé pochody, které jsou na obrázku znázorněny.

Absorpce, znázorněná modrými šipkami směrem vzhůru, je přechod ze základního stavu  $S_0$  nebo z některé vibrační podhladiny základního stavu  $S_0$  do některé z vibračních podhladin singletového excitovaného stavu  $S_1, S_2, \dots$ , popř. do tripletového excitovaného stavu  $T_1, T_2, \dots$ . K absorpci dochází během excitace vzorku, vzniká molekula v excitovaném, tedy vzbuzeném stavu. Ta má přebytek energie, které se zbavuje následujícími způsoby [1]:

- Vnitřní konverzí. Vnitřní konverze, znázorněná zelenými vlnkami, je *nezářivý* přechod z excitovaných vibračních podhladin na rovnovážnou elektronovou hladinu o téže multiplicitě, nebo na základní stav  $S_0$ . Vnitřní konverzí dochází k deexcitaci molekuly tak, že veškerá uvolněná energie se přeměňuje v teplo.
- Interkombinační konverzí. Interkombinační konverze, znázorněná zelenými vodorovnými vlnkami v pravé části obrázku, je *nezářivý* přechod mezi různými energetickými systémy, lišícími se celkovým spinem, tedy mezi systémem singletovým a tripletovým.
- Fluorescencí. Fluorescence je *zářivý* přechod zpravidla z nejnižší rovnovážné elektronové hladiny excitovaného singletového stavu  $S_1$  do některé z vibračních podhladin základního stavu  $S_0$ .
- Fosforescencí. Fosforescence je *zářivý* přechod z nejnižší elektronové hladiny tripletového stavu  $T_1$  do některé vibrační podhladiny základního stavu  $S_0$ . Tento přechod je spinově zakázán, proto je doba života tripletových stavů daleko delší než stavů singletových. Tato skutečnost má za následek delší doznívání luminiscence, hovoříme proto o fosforescenci.

Fluorescencí a fosforescencí dochází k deexcitaci molekuly tak, že veškerá uvolněná energie se přeměňuje v luminiscenční fotony. Právě těmito fotonům jsou věnovány další kapitoly.

## 2. Druhy luminiscence

### 2.1 Bioluminiscence

Bioluminiscenci definujeme jako speciální případ chemiluminiscence, doprovázející některé reakce probíhající v živých systémech, přičemž je emitováno světelné záření. Excitační energie má tedy původ v biochemických procesech.

S bioluminiscencí se člověk nesetkává příliš často, přesto je tento jev v přírodě docela rozšířený. Bioluminiscenci jeví mnozí živočichové, houby i mikroorganismy. Konkrétně jmenujme například nám známé světlušky, dále některé houby, plísně, bakterie, prvoky, z živočichů medúzy, hlubinné ryby, hvězdice, krevety. Svítí také někteří krabi, hlavonožci, členovci, červi atd. Tento jev tedy není systematickým znakem žádné konkrétní skupiny organismů.

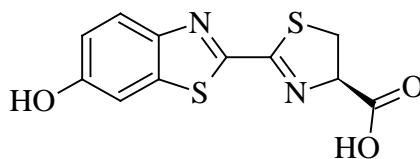
Bioluminiscence může mít několik funkcí. Především může sloužit k zastrašení nepřítele, může mít také dorozumivací funkci mezi jedinci téhož druhu, konkrétně jako nástroj k přilákání partnera. Pochopitelně stejně tak může sloužit i k přilákání kořisti. Hlubokomořským živočichům usnadňuje vydávané světlo orientaci v prostoru. U řady organismů je však důvod jejich luminiscence dosud nejasný. U fylogeneticky nejnižší postavených živočichů je bioluminiscence náhodným projevem, který se objevuje v důsledku chemické reakce uvolňující značné množství energie, která se za přítomnosti vhodného luminoforu transformuje ve viditelné záření.

Světélkování může být vázáno na buněčnou hmotu, poté mluvíme o intracelulární bioluminiscenci, ale zdrojem záření mohou být také sekrety vylučované buňkami (např. hlen), které se rozzáří až ve styku se vzduchem. V tomto případě mluvíme o bioluminiscenci extracelulární. Intracelulární bioluminiscenci jeví někteří prvoci a živočichové, jejichž světélkující buňky se soustřeďují na určitých místech těla, popř. vytváří speciální světélkující ústrojí. Extracelulární bioluminiscenci můžeme pozorovat u žížaly podhorské či u lasturnatek rodu *Cypridina*, které řadíme k drobným korýšům. Z jejich sekretu se svého času vyráběl prášek, který po navlhčení a rozetření produkoval dostatek světla k přečtení textu v podmínkách nouze [1].

Historické zmínky o bioluminiscenci lze nalézt u celé řady významných světových filozofů a přírodovědců, jakými byli třeba Francis Bacon, Robert Boyle, Humphry Davy, Michael Faraday, Louis Pasteur, Carl von Linné; v našich zemích se Jan Amos Komenský zmiňuje o světluškách ve svém díle *Brána jazyků otevřená*. Nutno podotknout, že je nepopsal správně, neboť považoval samečka a samičku za dva rozdílné hmyzí druhy. Podíváme se proto na světlušky podrobněji.

Z čeledi světluškovitých (*Lampyridae*) se u nás můžeme setkat se třemi rody a třemi druhy světlušek. Největší je světluška větší (*Lampyris noctiluca*), viz obr. 4, avšak nejčastěji se setkáme se světluškou menší (*Phausis splendidula*). Vzácně se

vyskytuje ještě světluška krátkokřídlá (*Phosphaenus hemipterus*). Světlušky můžeme zahlédnout nejčastěji poblíž lesa za teplého letního podvečera kolem svátku sv. Jana (24. června). Proto se někdy lidově nazývají svatojánské mušky nebo svatojánské broučci. Nutno podotknout, že tato idylická přezdívka příliš nekorresponduje s životním cyklem tohoto hmyzu, který ještě barvitě dokreslují příběhy Jana Karafiáta. Z nakladených vajíček se totiž líhne velmi dravá larva, která parazituje na hlemýždích, a její vývoj trvá až tři roky. Po zakuklení se z ní vylíhne buď létající sameček, nebo bezkřídlá samička larvovitého vzhledu, která žije na zemi a večer vylézá na trávu, ohýbá nad hlavu svůj zadeček a rozzářenými políčky na spodní straně zadečku vábí opačné pohlaví. Dospělí jedinci světlušek prakticky nepřijímají potravu a žijí jen několik dní, během nichž mají jediný úkol – spářit se a naklást vajíčka. Svítící orgány má sameček i samička na šestém a sedmém článku spodní strany zadečku. Pod pokožkou jsou opatřeny speciální fotogenní a reflektorickou vrstvou a jsou bohatě zásobeny vzdušnicemi a nervy. Protože je záření pro světlušky životně důležité, jsou především samečci vybaveni obrovskými očima. Velmi intenzivní svět pochází z biochemické reakce luciferinu, kterou katalyzuje enzym luciferáza. Luciferin je heterocyklická sloučenina znázorněná na obrázku 3, její základ tvoří benzothiazol (levá část molekuly).



**Obr. 3:** Strukturní vzorec D-luciferinu.

Reakce je poměrně složitá, proto ji nebudeme podrobně popisovat. Nezbytnou součástí celého procesu je přítomnost kyslíku a molekul ATP, z nichž se získává potřebná energie. Dochází k oxidaci molekuly luciferinu na excitovaný oxyluciferin, který přechodem do základního stavu emituje světelné záření žlutozelené barvy s vlnovou délkou kolem 570 nm. Mnoho světlušek žije především v tropických oblastech. Některé rody se shromažďují ve velkých počtech na některých dřevinách, které poté intenzivně blikají a září do velké vzdálenosti [1].





**Obr. 4:** Sameček (vlevo) a samička (vpravo) světlušky rodu *Lampyris noctiluca*.  
Převzato z [4].

Dalším živočichem vykazujícím bioluminiscenci, kterého lze v našich končinách potkat, je žížala podhorská (*Eisenia lucens*). Najdeme ji nejčastěji v horských lesích pod kůrou starých pařezů, nebo ve ztrouchnivělém dřevě. Má červenohnědou barvu s příčnými světlými proužky a podobá se žížale hnojní. Při podráždění vylučuje sliz, který v kyslíkatém prostředí září žlutozeleným světlem. Po vydatnějším nočním dešti se člověk může stát svědkem zvláštního úkazu, kdy v lese září celé pařezy. Se žížalou podhorskou lze provést i zajímavý experiment: ve tmě ji ponoříme do zkumavky s vodou, do které přikápneme několik kapek ethanolu. Žížala je alkoholem podrážděna a vyloučí najednou větší množství slizu, který začne lumineskovat. Jakmile žížalu vytáhneme, přidáme do zkumavky nějakou redukující látku, např. hydrogensířičitan sodný. Ihned po přidavku luminescence vymizí, po přikápnutí 30% peroxidu vodíku se však znovu objeví. Je tedy zřejmé, že bioluminiscenční děj je závislý na oxidační reakci. Pokud zkumavku zahřejeme na vyšší teplotu, luminescence vymizí vlivem znehodnocení enzymu, který reakci katalyzuje [1].

K nádherným příkladům bioluminiscence patří kovařící rodu *Pyrophorus* žijící v pralesních oblastech Střední a Jižní Ameriky. Vydávají velmi intenzivní nepřerušované světlo z políček umístěných po stranách horního štítu (viz obr. 5). Obě pohlaví si jsou na rozdíl od světlušek podobná a září několikanásobně více než světlušky. Přibližně 40 brouků tohoto kovaříka údajně vydává stejné množství světla jako 7000 světlušek rodu *Lampyris noctiluca*.



**Obr. 5:** Kovařík rodu *Pyrophorus noctilutus*. Dva svítící orgány po stranách štítu jsou dobře patrné. Převzato z [5].

Velmi efektní projevy bioluminiscence lze najít v tropických oblastech moří a oceánů. Světélkování mořského planktonu, tedy obrovského počtu mořských mikroorganismů lze nalézt už v knihách dávno minulých. K nejznámějším zástupcům svítícího planktonu patří bičíkovci rodu *Noctiluca* a *Ceratium* z třídy obrněnek. Svítící ryba *Bathysidus pentagrammus* má po bocích zploštělého těla pět řad svítících skvrn, které jsou obklopeny malými body zářícími purpurově. Dalším zástupcem je hlubinná ryba *Photostomias guernei*, která se vyskytuje v Atlantském a Tichém oceánu v hloubkách od jednoho do tří kilometrů. Četní hlavonožci mají vyvinutá speciální osvětlená vlnadla trychtýřovitého tvaru, např. někteří příslušníci rodu *Vampyroteuthis*. V Atlantském oceánu lze najít svítícího zástupce hlavonožců *Lycoteuthis diadema*, který má různě barevné bioluminiscenční orgány po celém těle. K odrazení útočníka vysílají někteří hlubinní garnáti ostré světelné záblesky.

Příkladem bioluminiscence může být také trouchnivějící dřevo, na němž pravděpodobně luminiskují bakterie. Hezkým příkladem jsou však některé jihoamerické druhy hub, které ve tmě intenzivně září zeleným světlem, jak je patrné z obrázku 6.



**Obr. 6:** Svítící houba *Panellus stipticus*.  
Převzato z [6].

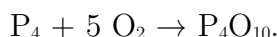
Účinnost bioluminiscenčních reakcí bývá nesmírně vysoká – více než 90 % uvolněné chemické energie se přímo přeměňuje na světlo. Pro srovnání můžeme uvést, že účinnost elektrické výbojky je v řádech desítek procent a u obyčejné žárovky se jen 4 % dodané elektrické energie využijí ke svícení. Barva vydávaného světla má u různých živočichů proměnlivou barvu od fialové až po červenou, nejčastěji se však vyskytuje žlutozelená a modrá. Bioluminiscence mimo viditelnou oblast zatím nebyla u žádného živočicha prokázána, stejně tak nebyla nalezena u vyšších rostlin, obojživelníků, plazů, ptáků a savců [1], [7].

Bioluminiscence nachází uplatnění i v lidské činnosti. Je využívána jako specifická analytická metoda testů cytotoxicity. Poněvadž citlivost současných detektorů je na velmi vysoké úrovni, je možné sledovat slabý světelný signál vydávaný živými buňkami. Výhodou této metody je její rychlost a skutečnost, že nedochází k destrukci vzorku. Princip je založen na poklesu intenzity bioluminiscenčního záření mořských bakterií v testovaném médiu. „*Nejprve se změří intenzita bioluminiscence výchozí čisté suspenze bakterií, poté se přidá testovaná látka v několika koncentracích, směsi se ponechají po určité době inkubovat a nakonec se změří intenzita utlumené bioluminiscence pro všechny koncentrace. Inkubace směsí i veškerá měření luminiscence se provádí při konstantní teplotě, neboť procesy bioluminiscence i jejího zhášení jsou silně teplotně závislé*“ (převzato z [2]). Metoda má uplatnění pro stanovení toxického znečištění vody, zemědělské půdy i pro vyhodnocení ekologických havárií.

## 2.2 Chemiluminiscence

Chemiluminiscence je nerovnovážné světelné záření, které vzniká během některých chemických reakcí. Energie uvolněná redoxním procesem z chemických vazeb vhodné molekuly se transformuje v elektromagnetické vlnění spadající do viditelné oblasti spektra. Část uvolněné energie se rovněž může přeměňovat v teplo, což se často u chemiluminiscenčních reakcí děje.

Velmi pěkným historickým příkladem chemiluminiscenční reakce je objev fosforu. Německý alchymista Hennig Brandt v roce 1669 experimentoval s lidskou močí a podařilo se mu vyizolovat látku, která ve tmě způsobovala světélkování aparatury. Tento objev nazval *phosphorus mirabilis*, tedy v překladu „světloňoš zázračný“. Má se za to, že se mu podařilo izolovat bílý fosfor (molekulu  $P_4$ ), velmi reaktivní látku, která ve styku se vzduchem ihned podléhá oxidační reakci:

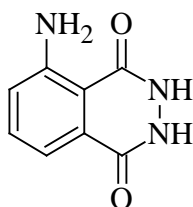


Bílý fosfor totiž okamžitě reaguje s molekulami kyslíku za vzniku oxidu, což lze pozorovat jako bouřlivou reakci, během níž fosfor vzplane a shoří. Proto je nutné zamezit přístupu vzduchu k bílému fosforu tak, že se uchovává pod vodou. Páry bílého fosforu se však oxidují pomaleji a reakční teplo uvolňující se během reakce

je transformováno v energii světelnou – bílé chemiluminiscenční záření, které trvá několik sekund. Tak vznikl pojem fosforescence, který dnes chápeme jako dlouho-trvající emisi studeného světla. Je potřeba si uvědomit, že fosforeskující látky nemusí obsahovat ani jednu molekulu fosforu.

Na chemiluminiscenční reakce mají vliv téměř všechny faktory běžných chemických reakcí: koncentrace složek, rozpouštědlo, teplota, katalyzátory. Množství světla vyzařeného během chemiluminiscenční reakce je určeno množstvím reagujících látek, úpravou podmínek však lze ovlivnit dobu jejího trvání. Dnes je známa celá řada organických látek, které jeví chemiluminiscenční chování.

Roku 1928 objevil německý chemik Herbert Otto Albrecht specifickou reakci, která se ještě před první světovou válkou stala součástí kriminalistické praxe a přetrvává do dnešních dob. Máme na mysli chemiluminiscenční reakci luminolu, tzn. 3-aminofthalhydrazidu, jehož struktura je znázorněna na obrázku 7. Tato látka se používá na ohledání místa kriminálního činu, neboť dokáže odhalit i minimální zbytky krevních stop, které nejsou okem viditelné.

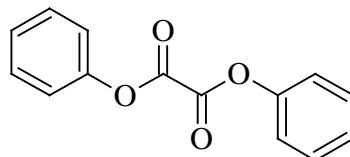


**Obr. 7:** Struktura luminolu.

Luminol je za běžných podmínek nažloutlá pevná látka, která se rozpouští ve vodě. Pokud je jeho roztok smíchán s vhodným oxidačním činidlem, dochází k chemiluminiscenční reakci, která se projeví intenzivním modrým světlem. Aby reakce proběhla, je zapotřebí kromě alkalického roztoku a peroxidu vodíku účinný katalyzátor. Funkci katalyzátoru této reakce může zastávat hem, barevná složka hemoglobinu obsahující železo. Právě hem jakožto krevní barvivo našel uplatnění v kriminalistice. Směsný roztok luminolu a peroxidu vodíku se rozprašovačem nanese na vyšetřovaná místa či předměty, přičemž přítomný  $H_2O_2$  se začne rozkládat v místech s krevními zbytky, kde vyvolá modrou luminiscenci trvající asi půl minuty. Tato vyšetřovací metoda se musí provádět v zatemněné místnosti, má však i jistá úskalí. Především mědnaté ionty z nejrůznějších sloučenin vystupují v chemiluminiscenční reakce luminolu rovněž jako katalyzátor, obdobně funguje i stopové množství krve v moči [2].

Lightsticks, označované také jako glowsticks jsou světelné zdroje nejčastěji tyčinkovitého tvaru založené na chemiluminiscenční reakci. Jedná se o uzavřené plastové trubičky naplněné roztokem chemiluminiscenční látky spolu s fluorescenčním barvivem. Uvnitř vždy plave druhá menší tenkostěnná skleněná trubička naplněná roztokem peroxidu vodíku, často ji však není jednoduché odhalit. Aktivace

tyčinky probíhá tak, že se jednoduše ohne do slyšitelného prasknutí, přičemž vnitřní skleněná trubička se zlomí a vypustí aktivující roztok peroxidu. Po protřepání dochází k okamžité chemiluminiscenční reakci v celém objemu trubičky, která trvá několik hodin a může dohasínat ještě následující den. Na trhu existuje celá řada nejrůznějších tvarů a barev těchto světelných tyčinek. Účinnou látkou je fenolický diester kyseliny šťavelové, známý spíše jako difenyloxalát (struktura viz obr. 8).



**Obr. 8:** Struktura difenyloxalátu.

Úspěšnost této látky spočívá v relativně nízké ceně, vysoké účinnosti (na světelnou energii se přeměňuje až 23 % energie chemické) a možnosti volby výsledné barvy chemiluminiscence. Barvu světla ovlivňuje přidané organické barvivo: např. červené tyčinky obsahují rhodamin B, oranžové 5,12-bis(fenylethynyl)naftacen, žluté rubren, zelené 9,10-bis(fenylethynyl)anthracen a modré 9,10-difenylnanthracen. Během chemiluminiscenční reakce nejprve reaguje peroxid vodíku s difenyloxalátem za vzniku dvou molekul fenolu a jedné molekuly nestabilního energeticky bohatého 1,2-dioxydionu. Ten se ihned rozkládá na dvě molekuly oxidu uhličitého, přičemž přebytečnou energii předává konjugovanému systému elektronů přítomného fluorescenčního barviva. Barvivo se tak dostává do excitovaného stavu a přechází ve stav základní za uvolnění luminiscenčního fotonu [8]. Reakce není exotermická, teplota tyčinky tak zůstává stále stejná. Okolní teplota však ovlivňuje rychlost probíhající reakce: pokud tyčinku výrazně zchladíme, reakce se zpomalí, naopak zahřátím dochází k nárůstu intenzity luminiscence, která však trvá kratší dobu. V literatuře (např. [9]) se často setkáme s deriváty difenyloxalátu, např. s (bis-(2,4-dinitrofenyl)oxalátem, známým pod zkratkou DNPO, nebo bis-(2,4,6-trichlorfenyl)oxalátem (zkratka TCPO). Použití těchto látek ve středoškolských experimentech je však nevhodné, neboť reakcí vznikají toxické meziprodukty. Navíc jsou výchozí látky špatně dostupné [7].

Využití světelných tyčinek je velmi široké. Nejčastěji se s nimi můžeme setkat na diskotékách, kde slouží k efektním dekorativním účelům. Jejich primární aplikace je ovšem v nouzových situacích tam, kde není k dispozici jiný světelný zdroj. S výhodou se jich využívá při potápění, neboť bez problému vydrží tlak vody. Využití mají také pro vojenské účely, při označování nehod, popř. zraněných osob v temnotě, při přírodních katastrofách apod. Jejich nevýhodou je značná křehkost – jakmile se tyčinka jednou nalomí, nelze vzít reakci zpátky. Z toho plyne jejich jednorázové použití. Výhodou je naopak jejich nízká cena a dostupnost.



**Obr. 9:** Typické provedení svítících tyčinek lightstick. Každá tyčinka je na konci opatřena plastovou spojkou, díky které se dá tyčinka uchytit např. na ruku. Tyčinky je možné také vzájemně spojovat do nejrůznějších tvarů.

Chemiluminiscenční reakce mají využití také k některým analytickým účelům. Například stanovení koncentrace oxidu dusnatého jakožto výfukového plynu v atmosféře spočívá v reakci této molekuly s ozonem. Během exotermické reakce vzniká oxid dusičitý a molekula kyslíku, přičemž přebytečná energie se vyzáří formou chemiluminiscenčního fotonu:

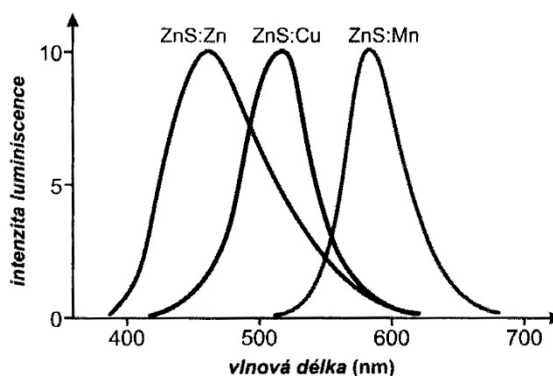


### 2.3 Katodoluminiscence

Katodoluminiscenci definujeme jako emisi světelného záření způsobenou dopadem urychlených elektronů pohybujících se vakuem nebo prostorem se silně zředěným plynem na luminofor. Elektrony se urychlují prostřednictvím elektrického pole na energii  $10^2$  až  $10^5$  eV a vzhledem ke své velké kinetické energii způsobují vznik několika generací sekundárních elektronů a excitaci mnoha set až tisíců luminiscenčních center. Zároveň však pronikají do hloubky pouze několika mikrometrů (hloubka závisí na urychlovacím napětí), takže vzniká tenká vrstvička silně excitované luminiscenční látky, která jeví intenzivní luminiscenci. Excitace urychlenými elektrony je tedy vhodná především pro práškové luminofory, tenké napařené vrstvy, povrchy monokrystalů, plyny ve výbojových trubiciích apod., nehodí se pro excitaci vnitřních oblastí krystalů a skel. Účinnost katodoluminiscence, definovaná jako podíl vyzářené energie formou luminiscence a energie budících elektronů, je nižší než u fotoluminiscence, kde typicky dosahuje 40–50 %. To je způsobeno velkými ztrátami vlivem rozptylu primárních i sekundárních elektronů na luminoforu, nezářivými přechody sekundárních elektronů a sekundární emisí elektronů z luminoforu do vakua uvnitř obrazovky [1].

Uplatnění katodoluminiscence je značné. Jmenujme dnes již překonané CRT obrazovky počítačů a starší typy televizorů, osciloskopy, radary, elektronové mikroskopy. Společnou součástí všech těchto přístrojů je vakuová obrazovka s luminiscenčním stínítkem (skleněná plocha pokrytá tenkou vrstvičkou luminoforu), na které dopadá elektronový paprsek. Věnujme se chvíli jejímu vývoji.

Vakuová obrazová elektronka, tedy CRT (z angl. *Cathode Ray Tube*) byla zkonstruována již v roce 1890 a společně s tímto vynálezem probíhal výzkum vhodných luminoforů pro stínítka. S tímto výzkumem je úzce spjato jméno Philippa von Lenarda, nositele Nobelovy ceny za fyziku pro rok 1905. Právě jeho tým poukázal na fakt, že i nepatrné koncentrace příměsí v anorganických luminiforech mají velký vliv na barvu luminiscence. Jako příklad můžeme uvést sulfid zinečnatý, ZnS, jehož barva luminiscence se mění podle přidané příměsi (viz spektrum na obr. 10): s atomy mědi (ZnS:Cu) je zelená, s příměsí manganu (ZnS:Mn) červená a při přebytku zinku v krystalové mřížce (ZnS:Zn) modrá. Tato skutečnost je velmi výhodná z hlediska variability potřeb luminiscenčního stínítka. Další důležitou vlastností sulfidu zinečnatého je skutečnost, že vykazuje velmi intenzivní luminiscenci za pokojové teploty, což není vůbec samozřejmé – většina anorganických látek se takto chová pouze za velmi nízké teploty. Sulfid zinečnatý je proto dodnes používaným luminoforem.



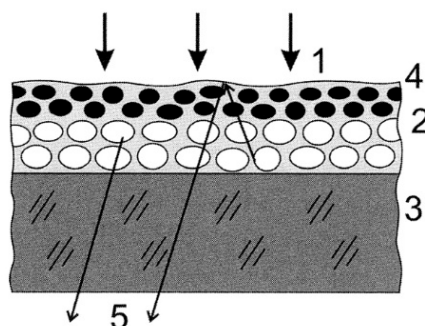
**Obr. 10:** Luminiscenční spektrum sulfidu zinečnatého (ZnS) obsahujícího různé příměsi při pokojové teplotě. Převzato z [2].

Elektrony, budící luminiscenci stínítka v obrazovce, vystupují ze žhavené katody uvnitř evakuované trubice, jsou zformovány do úzkého paprsku a pomocí vysokého napětí jsou přitahovány k anodě – elektrodě s opačným, kladným znaménkem. Pohyb elektronů v elektrickém poli popisuje následující rovnice:

$$\frac{1}{2}m_e v^2 = eU, \quad (3)$$

kde  $m_e$  značí hmotnost elektronu,  $v$  jeho rychlost,  $e$  elektrický náboj elektronu a  $U$  urychlovací napětí. Elektron po dopadu na luminiscenční stínítka předá část

své energie atomům stínítka, což způsobí excitaci elektronů v atomu a jejich přeskok z valenčního do vodivostního pásu. Ve valenčním pásu tak vznikají kladně nabitě díry, které poté rekombinují s excitovanými elektrony za současné emise luminiscenčního záření. Aby se zabránilo nabití vrstvičky luminoforu záporným nábojem dopadajících elektronů (které by odpuzovaly další elektrony budícího paprsku), je stínítka z vnitřní strany potaženo tenkou vrstvou elektricky vodivé látky, která náboj odvádí. Navíc tento film funguje jako zrcadlo a odráží část luminiscenčního záření směrem k pozorovateli, čímž se zvyšuje jas obrazovky. Jako luminofor se dnes používají nejčastěji práškové sulfidy ( $\text{ZnS}$ ), selenidy ( $\text{ZnSe}$ ), křemičitany ( $\text{Zn}_2\text{SiO}_4$ ) a wolframany ( $\text{CaWO}_4$ ) nanesené na vnitřní stěně skleněné podložky. Střední rozměr použitých částic jsou jednotky až desítky mikrometrů, i když se v současnosti vyvíjejí luminofory s ještě menším průměrem částic, což zvyšuje optické rozlišení stínítka, které má schopnost zobrazit více detailů. Luminofor je nanesen ve vrstvičce tloušťky desítek mikrometrů, což souhlasí s maximální hloubkou průniku budících elektronů. Silnější vrstva by způsobovala neefektivní ztráty energie elektronů a nežádoucí jevy na obrazovce. Kromě částic luminoforu musí vrstva obsahovat také pojidlo, které zajišťuje soudržnost a přilnavost vrstvy ke skleněné podložce. Schematický řez luminiscenčním stínítkem je znázorněn na obrázku 11.



**Obr. 11:** Schematický řez luminiscenčním stínítkem. Části: 1 – budící elektronový paprsek, 2 – částice luminoforu, 3 – skleněná podložka, 4 – vodivý film (hliníkový), 5 – katodoluminiscenční záření. Převzato z [2].

Nyní se ještě krátce podíváme na proces vzniku obrazu v televizní obrazovce. Následující text však platí pouze pro těžké rozměrné vakuové obrazovky, nikoli pro nové ploché LCD, popř. plazmové TV, které nahradily hlavní nedostatek CRT obrazovek – totiž jejich značnou hloubku potřebnou k urychlení elektronů. Evakovaným prostorem obrazovky se v případě barevné TV pohybují tři, v případě černobílé TV pouze jeden elektronový paprsek vodorovně po stínítku, které obsahuje luminofor. Barevná TV je tedy „tříkrát složitější“ než černobílá, obsahuje tři druhy luminoforů, které jsou uspořádány do bodů nebo proužků a svítí barvou červenou, zelenou a modrou. Skládáním těchto tří základních barev (RGB) lze vytvořit libovolný barevný odstín. Elektronové paprsky vykreslují každý řádek zvlášť, paprsek vždy sestoupí o řádek níže a celá akce se opakuje 50× za sekundu. Paprsky jsou



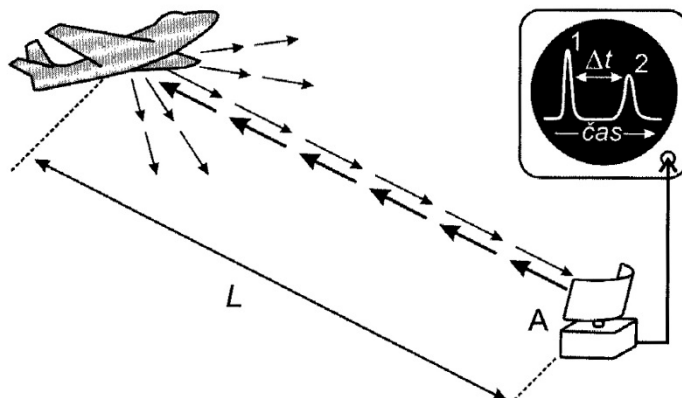
různě modulovány řídicími elektrodami tak, aby výsledná intenzita katodoluminiscence dala vzniknout pozorovatelnému ostrému obrazu, který je složen z několika set řádků. Setrvačnost lidského oka spojí odlišné statické obrazy do spojitého obrazu dynamického. Pohyb elektronových paprsků napříč stínítkem je řízen dvěma navzájem kolmými magnetickými poli, vytvářených cívkami. Magnetické rozmítání paprsku dokáže vychýlit elektrony do větších úhlů než rozmítání pomocí elektrostatického pole, což je důležité pro udržení rozumných rozměrů obrazovky. Posledním důležitým parametrem, který nesmíme opomenout, je doba doznívání luminiscence použitého luminiscenčního materiálu. Poněvadž u standardních TV přeběhne elektronový paprsek obrazovku za 64 mikrosekund, nemůže mít luminofor dobu doznívání kratší než je tato doba, neboť celkové množství světla, vyvolané tak krátkým luminiscenčním zábleskem, je velmi malé a obraz by tudíž nebyl dostatečně intenzivní. Naopak příliš dlouhá doba doznívání by zapříčinila překrývání a vznik rozmazaného obrazu – neostrého zrakového vjemu. Doba doznívání luminiscence u klasických obrazovek jsou typicky desítky mikrosekund [2].

V průběhu 2. světové války bylo televizní vysílání ve většině zemí zastaveno, ale výzkum luminiscenčních látek pokračoval, a to především díky vynálezu radaru, který zažíval obrovský vzestup. Radar (z angl. *Radio Detection and Ranging*) byl sice vyvíjen již od poloviny 30. let, práce na jeho zdokonalení však v tomto období výrazně zrychlila. Snad každý zná z historických válečných filmů obrazovku radaru, na které se otáčí paprsek a znázorňuje polohu nepřátelských letadel nebo lodí. Princip radaru popíšeme na obrázku 12. Anténa radaru vysílá krátké impulzy elektromagnetických vln o délce kolem deseti centimetrů (vlnová délka může mít řádově centimetry až decimetry) směrem ke sledovanému objektu. Současně se malý zlomek energie impulzů transformuje na elektrický pulz, který se objeví na obrazovce osciloskopu jako pík (na obrázku s číslem 1). Impulzy radiových vln dopadající na sledovaný objekt se odráží do všech směrů, přičemž malá část odraženého elektromagnetického vlnění dopadá s určitým zpožděním zpět na anténu radaru, která zprostředkovává jeho zobrazení jako druhý elektrický pulz na osciloskopu. Na obrazovce se tak zobrazí další pík (na obrázku s číslem 2). Z časového zpoždění  $\Delta t$  mezi pulzy 1 a 2 a z rychlosti šíření elektromagnetického vlnění  $c$  lze vypočítat vzdálenost objektu  $L$  od radaru jako

$$L = \frac{c\Delta t}{2}. \quad (4)$$

Moderní radary však pracují mírně odlišným způsobem. Parabola vysílače se neustále otáčí a monitoruje široké okolí, popř. určitou kruhovou výseč. Obrazovka radaru vykresluje svítící přímku, která míří radiálně od středu obrazovky a navíc se otáčí synchronně s parabolou antény. Střed obrazovky, ze které vychází katodoluminiscenční paprsek, značí polohu antény vůči sledovaným objektům, které se vykreslují jako svítící body. Po proběhnutí jedné otáčky se na obrazovce objeví polohy sledovaných objektů, tedy zjednodušená mapa okolí radiolokátoru. Přímka se otáčí

s periodou asi jedné otočky za sekundu a zanechává za sebou blednoucí plochu. S každou otáčkou se mapa mění podle aktuální polohy sledovaných objektů.



**Obr. 12:** Schematické znázornění principu radaru. Anténa A vysílá radiové vlny a pulzy odražené od sledovaného objektu jsou anténou zachyceny a zpracovány. Z časového zpoždění vyslaného a přijatého pulzu lze určit vzdálenost  $L$  sledovaného objektu od antény.

Převzato z [2].

Nakonec ještě poznamenejme, jaké požadavky jsou kladeny na luminofor v radarových obrazovkách. Jak je zmíněno výše, přímka udělá asi jednu otočku za sekundu. Katodoluminiscence proto musí dohasínat přibližně stejně dlouhou dobu. Při kratším dosvitu by totiž obrazovka blikala, zobrazení by bylo nespojité, při delším dosvitu by naopak docházelo ke vzniku spojitých rozmazaných čar.

Osciloskop je přístroj sloužící k zobrazování napětového signálu. Pracuje rovněž na principu katodoluminiscence: elektronový paprsek se šíří evakuovaným prostorem, je vychylován dvěma navzájem kolmými deskami elektrostatickou silou a dopadá na luminiscenční stínítko, kde budí zelenou luminiscenci (na zelenou barvu je lidské oko nejcitlivější). Na horizontální vychylovací desku se přivádí napětí pilovitého průběhu z generátoru, čímž se vytváří tzv. časová základna, udávající dobu, za kterou paprsek vykreslí na stínítku jeden dílek. Toto napětí zároveň posouvá paprsek po obrazovce určitou rychlostí zleva doprava a velmi rychle jej vrací zpět, přičemž se obraz zatmí a celý děj se opakuje znovu od začátku. Na vertikální vychylovací desky se přivádí vhodně zesílený elektrický signál, jehož průběh pozorujeme na obrazovce. Doba doznívání katodoluminiscence na obrazovkách osciloskopů musí být přizpůsobená rychlosti zobrazovaných dějů. Obvykle se zobrazují periodické průběhy s frekvencí vyšší než 10 Hz, čemuž odpovídá doba doznívání luminiscence stínítka v řádech desítek milisekund. Delší doba doznívání by způsobila rozmazání obrazu.

Neopomenutelnou aplikací katodoluminiscence jsou elektronové mikroskopy. Poněvadž studovaný předmět nelze zobrazit klasicky okulárem jako u optických mikroskopů, je skenovací elektronový mikroskop (SEM) vybaven obrazovkou, na níž elektronový paprsek vykresluje katodoluminiscenční obraz předmětu. Výjimku

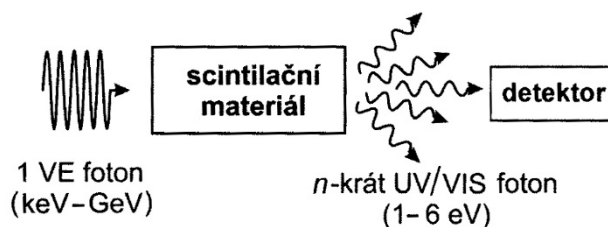
tvoří transmisní elektronový mikroskop (TEM), který vytváří obraz pomocí elektronů prošlých studovaným preparátem. Na dně tubusu mikroskopu je poté umístěno luminiscenční stínítko, na něž dopadající elektrony vytvářejí katodoluminiscenční obraz (ten již lze pozorovat okem). Daleko důležitější význam katodoluminiscence však nastupuje v případech, kdy studovaný preparát sám o sobě může vysílat katodoluminiscenční záření, které vzniká v důsledku dopadajícího elektronového svazku. Dostáváme tak velmi cennou informaci o spektrálním složení katodoluminiscenčního záření vzorku. Velmi důležité je však při této aplikaci prostorové rozlišení. Fokuseovaný elektronový svazek dopadá na velmi malou plošku preparátu, takže dokáže vybudit katodoluminiscenci z extrémně malého objemu vzorku. Tak se dají analyzovat velmi jemné strukturní detaily polovodičových prvků, zkoumat nečistoty i poruchy pravidelného uspořádání krystalů atd. Těchto výsledků je možné dosáhnout pouze kombinací mikroskopického zobrazení spolu s katodoluminiscencí buzenou elektronovým svazkem [2].

## 2.4 Rentgenoluminiscence a radioluminiscence

Tyto dva typy luminiscence jsou do jisté míry podobné s fotoluminiscencí a katodoluminiscencí. Excitace látky v případě rentgenoluminiscence se děje prostřednictvím rentgenového záření, tedy elektromagnetickým vlněním značné energie, které proniká řadou materiálů. V případě radioluminiscence se používají produkty radioaktivního rozpadu, tedy částice alfa (jádra helia  ${}^4_2\text{He}$ ), beta (elektrony nebo pozitrony) a záření gama (vysokoenergetické fotony). Tyto zdroje označujeme také pojmem ionizující záření. Všechna tato záření jsou pro lidské oko neviditelná a je obtížné je detekovat pomocí různých typů detektorů. Potřebujeme-li zjistit přítomnost rentgenového nebo radiového záření, je jimi buzená luminiscence ideálním prostředníkem. Dopadající záření vybudí viditelnou luminiscenci ve vhodném luminiscenčním stínítku a toto sekundární záření jsme již schopni detekovat pomocí klasických detektorů, ať už na bázi polovodičových diod, nebo pomocí fotonásobičů.

Pro transformaci rentgenového a radiového záření na záření viditelné nebo ultrafialové se využívají speciální luminofory zvané *scintilátory*. Lze je použít rovněž k detekci urychlených nabitých částic (elektronů, protonů) i neutronů (luminiscenční materiál pak musí k tomuto účelu obsahovat příměsi lithia, boru či gadolinia). Scintilační materiál přemění foton vysokoenergetického záření na ohromné množství fotonů viditelného/UV záření, které jsou vyzářeny mnoha luminiscenčními centry nacházejícími se v cestě pronikající částice. Scintilátory se zhotovují většinou ve formě monokrystalu komplexních halogenidů nebo oxidů (např. CsI:Tl, NaI:Tl, PbWO<sub>4</sub>, YAlO<sub>3</sub>:Ce, Lu<sub>2</sub>SiO<sub>5</sub>:Ce). Z uvedených příkladů si lze povšimnout, že scintilátor tvoří základní materiál, např. jodid cesný CsI, který je dopován malým množstvím příměsových iontů, např. thalliem Tl (méně než 1 %). Všechny scintilační materiály musí splňovat důležitou podmínku. Aby bylo možno detekovat

scintilací produkované viditelné nebo UV záření, je nezbytné, aby byl tento materiál zcela průhledný. Z mikroskopického hlediska to znamená, že všechny scintilátory mají velmi široký pás zakázaných energií mezi vodivostním a valenčním pásem. Detailní popis scintilačního mechanismu je poměrně složitý a přesahoval by rámec této práce. Schéma funkce scintilátoru je znázorněno na obrázku 13.



**Obr. 13:** Schematické znázornění funkce scintilátoru – transformace jednoho vysokoenergetického (VE) fotonu na skupinu fotonů z viditelné (VIS) nebo ultrafialové (UV) oblasti spektra. Převzato z [2].

Nabité částice i fotony vysokoenergetického záření – rentgenového a gama záření mají schopnost pronikat nejen do povrchových vrstev materiálu, ale taky hluboko dovnitř celého objemu vzorku. Energie dopadajících částic je tedy značně vyšší než vazebná energie valenčních elektronů i energie chemických vazeb. Proto se na procesech buzení luminiscence podílejí také elektrony vázané v hlubších vrstvách atomů – ze slupek K, L i M. Na tyto hluboké energetické hladiny nemá uspořádání atomů v molekule, popř. v krystalu téměř žádný vliv, takže interakce vysokoenergetického záření závisí pouze na druhu atomů luminoforu a nikoli na chemické struktuře této látky. Z hlediska pronikavosti částic a fotonů vysokých energií do luminiscenčních látek poté dochází k různým jevům, které lze rozdělit následujícím způsobem [1]:

1) *Absorpce a excitace vysokoenergetickým elektromagnetickým zářením*

V případě excitace luminoforu rentgenovým a gama zářením mohou probíhat tři procesy, jejichž význam je závislý na energii dopadajících fotonů:

- Fotoefekt
- Comptonův rozptyl
- Vznik páru elektron – pozitron

2) *Absorpce a excitace elektricky nabitými částicemi*

V tomto případě excitace luminoforu se objevuje také několik jevů, z nichž nejvýznamnější jsou:

- Elektromagnetické brzdné záření
- Ionizace látky
- Čerenkovovo záření (nezpůsobí luminiscenci látky)

Využití radioluminiscence a rentgenoluminiscence je dnes velmi rozšířené. Pokud nahlédneme do moderního fyzikálního výzkumu, je tato oblast využívána především ke studiu stavby hmoty do stále větších detailů. V obrovských podzemních urychlovačích se sledují vzájemné srážky částic urychlených na velmi vysoké energie. Součástí těchto moderních detektorů zkoumajících teorii vzniku vesmíru je vrstva scintilačního materiálu, která je tvořena téměř 80 tisíci monokrystalickými bloky  $\text{PbWO}_4$  o celkovém objemu  $12 \text{ m}^3$ . Jde tak o největší aplikaci scintilačních materiálů na světě [2].

Běžně se scintilační materiály využívají v medicíně, kde mají uplatnění hlavně v počítačové tomografii (CT), pozitronové emisní tomografii (PET) a v detektorech mamografu. Tato moderní zařízení slouží k zobrazování stavby lidského těla.

Jinými aplikacemi scintilátorů jsou například skenovací elektronový mikroskop (SEM) v módu detekce sekundárních elektronů, hledání ložisek ropy a zemního plynu, průmyslová defektoskopie, bezpečnostní letištní a hraniční kontroly apod.

## 2.5 Fotoluminiscence

Fotoluminiscenci označujeme luminiscenci způsobenou ultrafialovým nebo viditelným světlem. Lze ji vybudit rovněž laserovým paprskem vhodné vlnové délky, čehož se hojně využívá v laboratorním výzkumu.

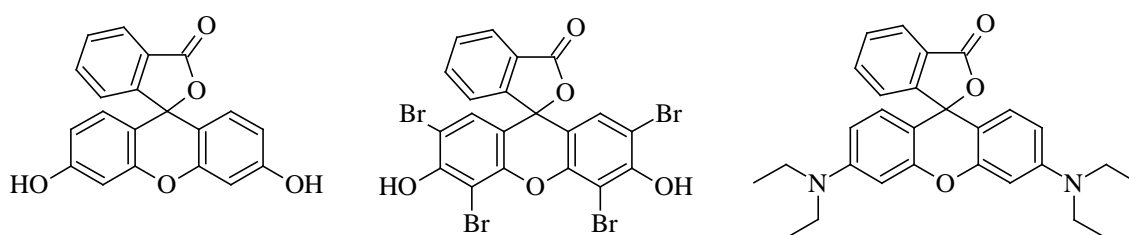
S fotoluminiscencí se nesetkáváme příliš často, i když je téměř všude kolem nás. Především ochranné prvky bankovek a nejrůznějších dokladů obsahují fotoluminiscenční barviva, která jsou však za denního světla neviditelná. Typicky se s fotoluminiscencí můžeme setkat v tanečních klubech, kde se používají UV zářivky – tzv. černé světlo. To poznáme na bílých částech oblečení, které ve tmě jasně modře září, neboť obsahují tzv. opticky zjasňující přísady, které při dopadu ultrafialového fotonu jeví fotoluminiscenci.

Měření fotoluminiscenčních vlastností materiálů poskytuje velmi důležité informace o procesech, které probíhají v jejich mikrostruktuře. Energie fotonů ultrafialového a viditelného záření jsou totiž srovnatelné s rozdíly energií mezi energetickými hladinami v elektronové struktuře zkoumaných látek, díky čemuž můžeme získat údaje o šířce zakázaného pásu luminoforu i o systému energetických a záchytných hladin. Tyto informace lze vyčíst z naměřených absorpčních, excitačních a emisních spekter [1]. Fotoluminiscenční metoda má i další výhody: k měření spekter není zapotřebí žádné složité ani nákladné laboratorní vybavení. Je možné měřit vzorky libovolného skupenství i tvaru, bez problémů lze použít např. drobné úlomky s nepravidelným povrchem, práškový materiál i roztok, stejně dobře se dá metoda aplikovat na dokonale rostlé krystaly či tenké vrstvy materiálu na hladkém podkladu. Vzorky lze měřit za laboratorních podmínek, tedy při atmosférickém tlaku, pokojové teplotě a na vzduchu. Některé vzorky však jeví fotoluminiscenci pouze za

velmi nízkých teplot, proto jsou používaná zařízení vybavena kryostatem (chladičím médiem je nejčastěji kapalný dusík, popř. helium). Navíc měření fotoluminiscence není podmíněno elektrickou vodivostí vzorku, jak je tomu v řadě jiných případů. Fotoluminiscence je tedy velmi výhodná bezkontaktní nedestruktivní a rychlá metoda studia optických vlastností látek [2].

Již bylo zmíněno, že fotoluminiscenci lze vybudit UV zářivkou, přičemž barva luminiscence může být různá, od fialové až po (infra)červenou (tzn. celé viditelné spektrum). Excitační UV záření má však kratší vlnovou délku, tedy větší energii, než emitované záření luminiscenční. Toto obecně platné pravidlo nazýváme Stokesův zákon a říká nám, že vlnová délka luminiscenčního záření je vždy delší, než vlnová délka záření excitačního. Jinými slovy se jedná o zákon zachování energie – excitační foton předá část své energie luminiscenčnímu centru, které vyše tuto energii zpět ve formě luminiscenčního fotonu, přičemž zbylá energie se v látce přemění na jiný druh energie, např. v teplo. Tím dojde k nepatrnému zvýšení teploty luminiskujícího tělesa. Z uvedeného zákona je zřejmé, že viditelným zářením je možné vybudit fotoluminiscenci spadající do infračervené oblasti spektra, která pochopitelně nebude lidským okem pozorovatelná, lze ji však zaznamenat celou řadou detektorů [2].

Fotoluminiscenci je možné vybudit u obrovského množství organických látek. Uvedme ty nejvýznamnější. Typickým zástupcem je celá řada fluorescenčních barviv rozmanité struktury. Lze si všimnout, že určitý strukturní prvek je ale společný všem těmto látkám. Jedná se o systém konjugovaných násobných vazeb, což značí, že elektrony jsou v molekule delokalizovány. Mezi známá přírodní barviva patří chlorofyl, tedy listová zeleň, nebo také hemoglobin, červené krevní barvivo. Tato barviva řadíme do skupiny tetrapyrrolových barviv, neboť jejich základní skelet tvoří kruh spojený ze čtyř molekul pyrrolu. Jinou skupinou organických fluorescenčních barviv jsou např. barviva trifenylmethanová, kam řadíme fluorescein, eosin Y, rhodamin B, jejichž struktura je znázorněna na obrázku 14.



**Obr. 14:** Zástupci trifenylmethanových barviv. Zleva: fluorescein, eosin Y, rhodamin B.

Především fluorescein se využívá v celé řadě aplikací: ke zviditelnění říčních, podzemních a mořských proudů, ke zvýraznění bubliny ve vodováze, v očním lékařství, ke značení buněk ve fluorescenční mikroskopii, ve zvýrazňovačích, nebo také při leteckých nehodách, kdy letoun havaruje do moře. Při vysypání fluoresceinu totiž dojde ke zbarvení okolní vody, čímž se usnadní letecké pátrání po pohřešovaných.

Na tomto velkém využití fluoresceinu má zásluhu několik jeho pozitivních vlastností: jeho fotoluminiscence je velmi výrazná a dá se vybudit denním světlem. Navíc barva jeho fotoluminiscence spadá do maxima spektrální citlivosti lidského oka. Důležité je také zmínit, že není škodlivý pro živé organismy. Fotoluminiscenci jeví také celá řada polymerů.

Množství anorganických látek vykazujících fotoluminiscenci je také velké. Zmíníme se o halogenidech. Například obyčejná kuchyňská sůl, NaCl, vykazuje při vhodném způsobu excitace fotoluminiscenci. Barva fotoluminiscence je ovšem velmi proměnlivá a závisí na čistotě této iontové sloučeniny a na vlnové délce použitého excitačního zdroje. Tyto jednoduché iontové soli – NaCl, KCl, NaBr apod. – byly předmětem intenzivního výzkumu, neboť jejich pravidelná krystalická struktura je předurčuje ke studiu modelových příkladů k objasnění vlastností polovodičů – technicky velmi významných materiálů.

Zajímavým příkladem, který stojí za zmínku, je fotoluminiscence chloridu stříbrného, AgCl. U stříbrných halogenidů se projevuje velká závislost na teplotě. Za pokojové teploty vykazují tyto látky jednu vlastnost, která sehrála důležitou roli v lidské společnosti. Touto vlastností je fotochemická citlivost, což znamená, že halogenid stříbrný se působením světla chemicky mění. Dochází k procesu, při němž vznikají drobné shluky atomů stříbra, jejichž velikost s dobou osvitu roste. Této unikátní vlastnosti lidstvo vděčí za to, že již více jak 150 let může fotografovat. Bromidu stříbrného se využívá v černobílé fotografii. Právě shlukující se atomy stříbra jsou podstatou vzniku latentního obrazu. Celý tento děj se děje za pokojové teploty. Výrazná změna však nastane, pokud chlorid stříbrný ochladíme na teplotu pod  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Jestliže při těchto teplotách osvítíme stříbrný halogenid, nebude probíhat fotochemická reakce. Pohlcená energie vyvolá intenzivní modrozelenou fotoluminiscenci.

Zajímavé fotoluminiscenční chování jeví roztoky nanočástic, u nichž se uplatňuje tzv. kvantově-rozměrový jev. Jednoduše řečeno se zmenšující se velikostí částic se posouvá jejich fotoluminiscence ke kratším vlnovým délkám.

Významnou aplikací fotoluminiscence, se kterou se denně setkáváme, jsou nám dobře známé zářivky, podlouhlé skleněné trubice sloužící k umělému osvětlení interiérů. Uvnitř jsou naplněny parami rtuti s příměsí argonu, který zajišťuje snadnější zažehnutí výboje v plynu. Elektrický výboj generuje ultrafialové záření, které pochází ze rtuťových par a pro lidské oko není viditelné. Proto je vnitřní stěna trubice potažena vrstvičkou luminoforu, který UV záření prostřednictvím fotoluminiscence přeměňuje ve viditelné. Používané luminofory (směsi fosforečnanů, fluoridů a chloridů vápenatých) vykazují převážně červenou fotoluminiscenci, jež se skládá s částečně stěnou trubice pronikající modrozelenou emisí rtuťových par v bílou barvu denního světla. Zářivky se vyrábí již od roku 1936. Mají poměrně slušnou účinnost přeměny elektrické energie ve světlo (20 %) a dlouhou životnost (20 tisíc

hodin), jejich nevýhodou je však zátěž pro životní prostředí vlivem přítomnosti rtuti.

Asi málokdo tuší, že fotoluminiscenci vykazují i všechny zelené rostliny kolem nás. Důvodem je chlorofyl, barvivo zodpovědné za absorpci energie ze slunečního záření. Pohlcená energie je posléze využita k procesu fotosyntézy, což je velmi složitý systém reakcí, během nichž se z vody a oxidu uhličitého vytvářejí látky složitějšího charakteru, přičemž vedlejším produktem reakce je kyslík. Ne vždy se ale veškerá energie pohlcená chlorofylem spotřebuje na energii chemických přeměn. To se může stát v horkých letních měsících, kdy je intenzita slunečního záření enormně vysoká. Aby nedošlo k přehřátí rostliny vlivem nahromaděné nespotřebované energie, která by se jinak přeměňovala v teplo, dochází k fotoluminiscenci chlorofylu, čímž je přebytečná energie vyzářena z rostliny ven. Vlnová délka fotoluminiscence spadá do oblasti červené barvy, intenzita záření je však tak slabá, že na denním světle není pozorovatelná. Navíc lidské oko není dostatečně citlivé na červenou oblast viditelného spektra. Pokud bychom přesto toužili fotoluminiscenci chlorofylu spatřit, není nic jednoduššího, než jej vyextrahovat do vhodného rozpouštědla (např. aceton) a posvítit na něj laserovým ukazovátkem modrofialové nebo zelené barvy. V místě dopadu paprsku se stopa ukazovátka zbarví jasně červeně.

Fotoluminiscence má uplatnění i v dalších oblastech výzkumu, především v experimentální, molekulární a buněčné biologii, kde se využívá fluorescenční mikroskopie. Dále se fotoluminiscence využívá ke studiu polovodičů. Díky ní je možné velmi přesně stanovit obsah cizích příměsí v polovodivých materiálech. Na principu fotoluminiscence pracují také tzv. barvivové lasery. Detailní popis těchto důležitých aplikací by však přesahoval rámec práce.

### 2.5.1 Absorpční, excitační a emisní spektra

Barva látky, kterou vnímáme na denním světle, je dána tím, že elektronový systém molekuly této látky selektivně pohlcují určité vlnové délky dopadajícího elektromagnetického záření. Při dopadu je část světla odražena a část do látky proniká, přičemž se může v látce absorbovat. Tato pohlcená energie pak může být částečně využita k vybuzení fotoluminiscence. Odražené, popř. látkou prošlé světlo je tedy ochuzené o určité vlnové délky, které látka absorbovala. Uvedeme si příklad. Jestliže se roztok na denním světle jeví jako červený, znamená to, že z viditelného spektra pohlcuje vlnové délky reprezentující zelenomodrou barvu. To ostatně můžeme jednoduše zjistit změřením tzv. absorpčního spektra.

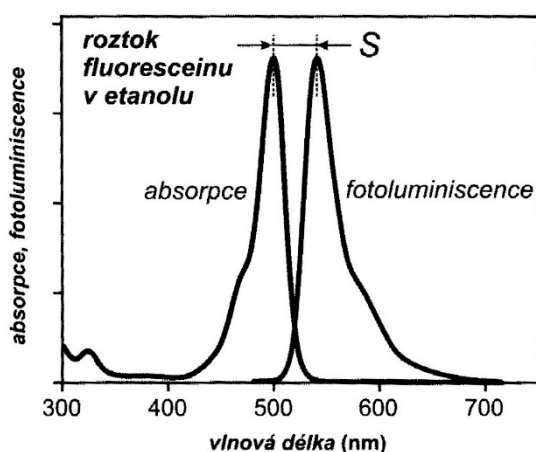
Absorpční spektrum udává, jaké vlnové délky dopadajícího záření jsou v látce absorbovány. Na obrázku 15 je znázorněno absorpční spektrum ethanolického roztoku fluoresceinu spolu se spektrem luminiscenčním. Ze spektra můžeme vyčíst, že rozpuštěný fluorescein pohlcuje z bílého denního světla vlnové délky v rozmezí cca 420 nm až 520 nm, které spadají do oblasti modré barvy. Zbytek spektra (tedy



žlutá až červená barva) zůstává nepohlčen – proto se fluorescein v práškové formě na denním světle jeví oranžový. Můžeme říci, že absorpční spektrum je komplementární, tedy doplňkové k barvě, kterou vidíme za denního světla.

Emisní spektrum vyjadřuje závislost intenzity luminiscence na vlnové délce při konstantní vlnové délce excitačního zdroje. Jinými slovy ze spektra vyčteme, jak intenzivní luminiscenci je schopen u měřené látky vybudit použitý excitační zdroj a jakou barvu bude tato luminiscence mít. Na obrázku 15 vidíme, že emisní fluorescenční spektrum fluoresceinu má ostré maximum v rozmezí vlnových délek 520 nm až 530 nm s asymetrickým křídlem v oblasti delších vlnových délek. To napovídá, že barva luminiscence tohoto barviva bude žlutozelená.

Porovnáním absorpční křivky s křivkou fotoluminiscenční vidíme, že vlnové délky fotoluminiscence jsou delší, než vlnové délky pohlčeného záření. To je jen praktická ukázka výše popsaného Stokesova zákona vyjadřujícího zákon zachování energie. Zajímavé však je, že tvary obou spekter jsou téměř zrcadlovým obrazem. To odráží vliv vibračních a rotačních pohybů atomů molekuly. Zrcadlová podobnost absorpčního a emisního fluorescenčního spektra je typická pro velké molekuly organických barviv. V obrázku vyznačená vzdálenost  $S$  je tzv. Stokesův posuv vyjadřující energetickou vzdálenost mezi maximy naměřených křivek. Posledním zajímavým detailem na obrázku je vzájemný překryv malého úseku absorpčního spektra se spektrem emisním. Nejedná se v pravém slova smyslu o narušení energetické rovnováhy, jak by se na první pohled mohlo zdát, nýbrž o skutečnost, že luminiscenční foton si „půjčuje“ malé množství chybějící energie právě z tepelné energie vibrací molekuly. Stokesův zákon na této malé překryvové ploše skutečně neplatí, a proto tuto luminiscenci nazýváme antistokesovskou [2].



**Obr. 15:** Absorpční a fotoluminiscenční emisní spektrum ethanolickeho roztoku fluoresceinu. Převzato z [2].

Nakonec se zmíníme o tzv. spektrech excitačních, které vyjadřují závislost intenzity luminiscence na vlnové délce excitačního zdroje při konstantní vlnové délce luminiscenčního záření. Jinými slovy lze z excitačního spektra vyčíst, jakou

vlnovou délku excitačního zdroje použít, aby vzorek vykazoval co největší intenzitu luminiscence. Je zřejmé, že luminiscence může být v látce vybuzena pouze takovým zářením, které se v ní absorbuje. Navíc veškerá absorbovaná energie není nikdy využita se stoprocentní účinností k vybuzení luminiscence. Vlnovou délku, tedy barvu nejvhodnějšího excitačního zdroje nám prozrazuje právě maximum nejvyššího píku naměřeného excitačního spektra.

## 2.6 Elektroluminiscence

Elektroluminiscence zažívá v dnešní době patrně nejširší uplatnění ze všech luminiscenčních jevů. Nejdříve si však řekněme, co to vlastně elektroluminiscence je.

Elektroluminiscenci můžeme chápat jako emisi světelného záření, které vzniká v důsledku aplikace elektrického napětí na vhodnou látku, přičemž danou látkou během tohoto procesu prochází elektrický proud. Excitačním zdrojem elektroluminiscence je tedy elektrická energie, která se mění v energii světelnou. Elektroluminiscenci však nesmíme zaměňovat s tepelným zářením, které vzniká v důsledku průchodu elektrického proudu odporovým vláknem, jež se rozžhaví do běla. Toto klasické tepelné záření je popsáno Planckovým zákonem a nemá s luminiscencí nic společného.

Elektroluminiscenci rozdělujeme na dva typy: elektroluminiscence ve vysokých elektrických polích se v praxi příliš neuplatňuje. Daleko rozšířenější je tzv. injekční elektroluminiscence, kam řadíme elektroluminiscenční diody.

Nejjednodušším způsobem dosáhneme elektroluminiscence tak, že luminofor opatříme po stranách vodivými kontakty, na které připojíme elektrické napětí. Přestože luminiscenční látky většinou nevedou elektrický proud, je možné v nich luminiscenci vybudit. Je však potřeba použít místo stejnosměrného střídavé napětí o velikosti jednotek voltů. Vytvořená soustava poté představuje vlastně kondenzátor, kterým střídavé napětí může procházet. Abychom elektroluminiscenci v materiálu vybudili, musí být tento luminofor nanesen pouze v tenké vrstvičce tloušťky maximálně několika desítek mikrometrů. Lze vypočítat, že vytvořené pole uvnitř materiálu je pak přibližně rovno podílu aplikovaného napětí  $U$  a tloušťce vrstvičky  $d$ , což mohou být řádově desítky tisíc voltů na centimetr. To je skutečně velmi vysoké elektrické pole, které je nutné k tomu, abychom uvolnili elektrony zachycené v tzv. elektronových pastech luminoforu. Tyto pasti vznikají v důsledku různých defektů či přítomnosti příměsí v krystalické mřížce, elektron je v nich zachycen a nemůže se podílet na vedení elektrického proudu. Vysokým napětím tedy dodáme elektronům potřebnou energii k uvolnění do vodivostního pásu a urychlení na vysokou hodnotu kinetické energie. Pohybující se elektrony narážejí na luminiscenční centra, tvořené nejčastěji ionty přechodných kovů (např.  $Mn^{2+}$ ,  $Er^{3+}$ ), kterým předávají energii, což způsobí jejich excitaci. Energie je poté vyzářena v po-

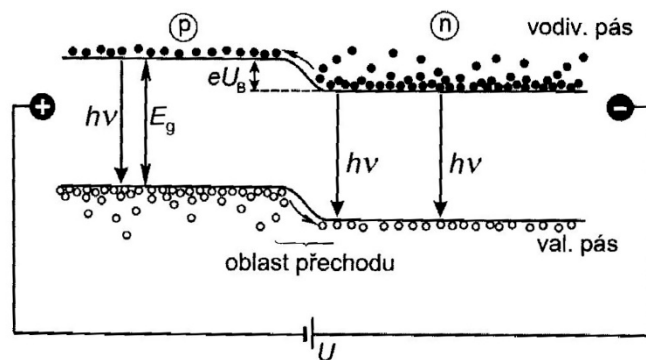
době elektroluminiscenčního fotonu. Jistou dobu byl tento typ luminiscence využíván v elektroluminiscenčních panelech, což byla úsporná varianta převážně nouzového osvětlení. Jako luminofor se používal sulfid zinečnatý dopovaný různými příměsemi. Takto řešené panely bohužel měly krátkou životnost, a tak byla jejich výroba ukončena. V současnosti se určité nedostatky elektroluminiscenčních panelů podařilo překonat, nicméně jev elektroluminiscence ve vysokých polích není moc prakticky využíván [2].

Injekční elektroluminiscence má pro praxi mnohem větší význam. Dokonce by se dalo tvrdit, že se v posledních několika letech jedná přímo o revoluci v použití tohoto jevu. A to vše díky LEDkám, světelným zdrojům, které se raketovým tempem dostávají do nejrůznějších odvětví: elektrické spotřebiče, osvětlení automobilů a domácností, dopravní signalizace, optická komunikace, zobrazovací technika atd. Základním principem injekční elektroluminiscence je polovodičový PN přechod. Polovodič typu P vytvoříme tak, že do krystalické struktury polovodiče (např. do křemíku) zabudujeme prvek ze III. A skupiny periodické soustavy prvků. Tímto prvkem může být bor. Tento příměsový atom má o jeden elektron méně než okolní atomy křemíku, má tedy tendenci si jej doplnit, tedy „akceptovat“ od svého souseda. Tím vznikne v elektronovém obalu sousedního atomu díra, jejíž elektrický náboj považujeme za kladný. Díra se může volně pohybovat v krystalové struktuře polovodiče a přispívá k vedení elektrického proudu, příměsový atom tedy nazýváme akceptorem (akceptor = příjemce elektronu). Elektrická vodivost tohoto typu polovodiče je tvořena kladně nabitými děrami, je „pozitivní“, tedy typu P. Analogicky polovodič typu N vytvoříme zabudováním prvku z V. A skupiny, může jít např. o atomy fosforu. Tyto prvky mají o jeden elektron navíc oproti atomům křemíku. Nadbytečné elektrony se mohou snadno uvolnit od mateřských atomů a přispívá tak k vedení elektrického proudu. Nazýváme je donorovými atomy (donor = dárce, tedy v tomto případě dárce elektronu). Elektrická vodivost polovodiče je nyní tvořena záporně nabitými elektrony, je tedy „negativní“, typu N. Moderními technologiemi lze připravit řadu nejrůznějších polovodičů s N-typovou a P-typovou vodivostí, z chemického hlediska může jít o tutéž látku, např. křemík, pouze s jiným typem příměsi.

Nyní si představme, že k sobě přitiskneme jeden polovodič typu P a druhý typu N. V prvním z nich je mnoho kladných děr, ve druhém mnoho volných elektronů. Jakmile zařídíme, aby došlo k jejich vzájemnému promíchání, začne docházet k rekombinaci elektronu s dírou, což se v případě luminiscenčních diod projeví vznikem elektroluminiscenčního záření. Jestliže tedy k polovodiči typu P připojíme kladný pól baterie, budou díry jakožto kladně nabitá částice vlivem elektrické síly od tohoto pólu odpuzovány do polovodiče typu N. Stejně tak připojíme-li k polovodiči typu N záporný pól baterie, budou elektrony vypuzovány do polovodiče typu P. V oblasti PN přechodu tedy bude docházet k vzájemnému míchání elektronů

a děr, ty spolu budou rekombinovat a přebytečnou energii emitovat v podobě luminiscenčních fotonů. Tento proces je podstatou injekční elektroluminiscence (tzn. injekce nosičů proudu – elektronů a děr vlivem elektrických sil).

Graficky si probíhající procesy v PN přechodu můžeme znázornit obrázkem 16. Na tomto energetickém pásovém modelu si můžeme všimnout prohnutí uprostřed. Toto prohnutí znázorňuje právě oblast přechodu PN, tedy skutečnost, že elektrony ani díry přes tuto bariéru samy od sebe přecházet nebudou; je třeba jim dodat určitou energii. Pro lepší pochopení si elektrony můžeme představit jako těžké černé kuličky, které snadno spadnou co nejbližší dnu vodivostního pásu. Proto samovolně nemohou překonat bariéru představovanou schůdkem o výšce  $eU_B$ . Díry naopak chápeme jako lehké bublinky vznášející se v kapalině se snahou zaujmout pozici co nejbližší stropu valenčního pásu. I ony pochopitelně nebudou ochotny přecházet z levé části přechodu do pravé vlivem energetické bariéry. Abychom mohli vyvolat rekombinaci elektronů a děr, musíme na PN přechod přiložit elektrické napětí z vnějšího zdroje.



**Obr. 16:** Pásový model PN přechodu. Elektrony jsou znázorněny jako černé kuličky, díry jako duté bublinky. Převzato z [2].

Budeme-li tedy zvyšovat napětí na PN přechodu, poroste prudce elektrický proud protékající přechodem, neboť injekce elektronů a děr neustále poroste, čemuž odpovídá i snižování energetické bariéry  $eU_B$ . Energie luminiscenčních fotonů  $h\nu$  je rovna šířce zakázaného pásu polovodiče, což je z obrázku patrné. To také napovídá, že světlo luminiscenční diody bude mít úzké spektrum, což se přibližuje monochromatickému záření. Jestliže ale na PN přechod připojíme napětí opačné polarity, dojde k opačnému procesu: elektrony i díry budou „odsávány“ z PN přechodu vlivem elektrických sil a energetická bariéra přechodu poroste. Logicky nebude přechodem protékat žádný proud. Zjistili jsme, že PN přechod má nesymetrické chování. V jednom směru elektrický proud propouští, jedná se tedy o tzv. propustný směr, naopak v opačném směru přechodem žádný proud neprochází, nazýváme jej tedy směrem závěrným. Přechod má tedy usměrňující účinek, čehož využívají právě elektrické součástky zvané diody. V našem případě hovoříme o speciálním druhu

diody, u níž vlivem rekombinace elektronů a děr dochází k emisi luminiscenčního záření. Označujeme ji zkratkou LED z angl. *Light Emitting Diode*, což v překladu znamená „světlo emitující dioda“. Jen pro úplnost dodejme, že elektroluminiscenční dioda může svítit pouze za předpokladu, že je zapojena v propustném směru. Historický vývoj polovodičových LED diod je velmi zajímavý, detailní popis by však přesahoval rámec této práce. Uvedme jen, že dnešní elektroluminiscenční diody mají poněkud složitější strukturu a náročný proces výroby, aby se zajistila vysoká účinnost přeměny elektrické energie v energii světelnou.

Jak již bylo uvedeno, elektroluminiscence nalézá uplatnění zejména v elektronice a v optických komunikacích. V domácnostech se princip elektroluminiscence uplatňuje v tzv. LEDkách, nesprávně LED žárovkách. Spojení těchto dvou slov je naprostý nesmysl, přesto se stále objevuje velmi často. Svědčí o hrubé neznalosti fyzikálních zákonů a navzájem se vylučuje, neboť LED jako zdroj studeného světla je „ledkou“ právě z toho důvodu, že to není žárovka, tedy žhavené odporové vlákno. To již ostatně bylo řečeno v úvodu této kapitoly. Světelné LED zdroje pomalu, ale jistě vytlačují klasické žárovky a zářivky, včetně těch úsporných. Příklad elektroluminiscenční LED diody je na obrázku 17.



**Obr. 17:** Detail typické elektroluminiscenční LED diody.  
Převzato z [10].

Co však zůstává naším očím skryto, je celá paleta dalších aplikací: LED fungují jako světelné zdroje pro optické komunikace – telefon, internet, počítačové sítě. Ve výzkumných laboratořích, lékařských a diagnostických přístrojích se používají jako světelné zdroje určité vlnové délky. A také určitě minimálně jednu LED diodu máme všichni doma, jen o ní nevíme: prostřednictvím LED vysílající v infračervené (tedy neviditelné) oblasti spektra ovládáme televizi z dálkového ovladače.

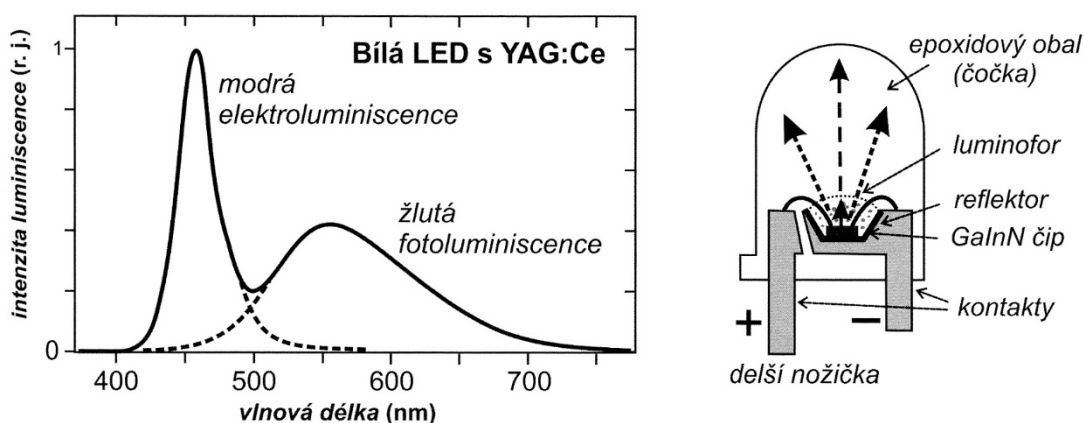
Pro zajímavost uvedme, že vývoj dostupných LED diod chronologicky sledoval spektrální pořadí barev. Nejprve byla sestrojena infračervená dioda z GaAs. Poté následovaly diody emitující v červené a žluté oblasti, nesvítily však nijak osl-

nivě. Zásadní vylepšení přineslo použití tzv. heterostruktur, které navrhl H. Kroemer (za tento objev mu byla roku 2000 udělena Nobelova cena, o kterou se podělil s Jackem Kilbym, vynálezcem integrovaného obvodu). Pak se již objevily superjasné infračervené a červené LED diody (slitiny AlGaAs, GaAsP, žlutá LED GaP:N). Vyrobit kvalitní modrozelenou a modrou LED diodu se dlouhá léta nedařilo. Sestrojením modré LED se zabývalo mnoho významných pracovišť včetně obrovských firem vyrábějících elektroniku, až se nakonec tento úkol podařilo vyřešit v polovině 90. let samostatně pracujícím japonskému inženýrovi Shujimu Nakamurovi z malé firmy Nichia. Za tento významný objev získal Nobelovu cenu pro rok 2014. Sestrojením modré LED (materiál GaInN) odstartovala nová éra aplikačních možností. Na závěr této kapitoly se proto podívejme, jak se dnes modře lumínující dioda využívá.

Všem je jasné, že lidstvo se dnes bez umělého osvětlení neobejde. Faktem je, že na osvětlení se spotřebuje více než  $\frac{1}{4}$  vyrobené elektrické energie. Přitom právě LED by mohly přinést značné úspory především tím, že jsou velmi účinné. Zatím jsme se však bavili pouze o LED diodách zářících určitou barvou, přičemž je zřejmé, že abychom je mohli použít k interiérovému osvětlení, musí svítit bíle. Bílou barvu můžeme podle principu aditivního míchání barev RGB vytvořit kombinací červené (red, R), modré (blue, B) a zelené (green, G) diody. Intenzitu elektroluminiscence jednotlivých diod můžeme nastavit dle libosti, takže výsledná barva světla se dá libovolně namíchat. Tyto světelné zdroje již lze na trhu sehnat dokonce s dálkovým ovládáním, které umožňuje přepínat jednotlivé barvy, což je u dřívějších světelných zdrojů naprosto nevídaná věc. RGB světelný LED zdroj je však zbytečně drahý, pokud potřebujeme svítit pouze bílým světlem.

Existuje však jiný, jednodušší a levnější způsob, jak vyrobit pomocí LED bílé světlo. Hlavní podstatou je kombinace elektroluminiscence modré LED diody s fotoluminiscencí přidaného luminoforu. PN přechod modré LED emituje fotony o vlnové délce kolem 450 nm s energií dostatečnou k tomu, aby vybudila fotoluminiscenci tenké vrstvy luminoforu, který je nanesen v okolí přechodu. Emisní spektrum buzené fotoluminiscence zahrnuje široký pás ve zbylém intervalu vlnových délek, které spadají do oblasti 500 nm až 700 nm, což představuje žlutooranžovou barvu. Smícháním části nepohlceného záření elektroluminiscence modré LED spolu s vybuzenou žlutooranžovou fotoluminiscencí luminoforu vzniká v oku vjem bílého světla. Dle použitého luminoforu, který má vliv na barvu fotoluminiscence a tedy na výsledný subjektivní vjem bílé barvy, hovoříme o studeném bílém nebo teplém bílém světle. S těmito pojmy se už čtenář možná setkal, pokud v oddělení se světelnými zdroji vybíral náhradu za prasklou žárovku. Spektrum bílé LED diody spolu se schématem je zobrazeno na obr. 18. Luminofor v podobě prášku je nejčastěji nasypán přímo na PN přechod (čip) diody, nebo je zabudován do epoxidového obalu dále od čipu, což připomíná princip fungování zářivky. Typickým žlutě svítícím luminoforem je yttrium-aluminiový granát s příměsí iontů ceru (YAG:Ce).

Z obrázku je patrné, že jen velmi malá část celé LED je vyplněna samotným PN přechodem (typicky zabírá místo menšího průřezu než  $1 \text{ mm}^2$ ). Čip je totiž zalitý hluboko uvnitř epoxidové pryskyřice, která tvoří ochranný obal celé diody, z něhož vystupují pouze přívodní kontakty. Barva obalu je často shodná s barvou vysílané luminiscence. Ochranný obal často funguje také jako jednoduchá optická čočka, která svým zakřiveným tvarem soustřeďuje emitované světelné paprsky do žádaného směru.



**Obr. 18:** Spektrum typické bílé LED diody (vlevo) a schéma jejího uspořádání (vpravo).  
Převzato z [2].

Provedme si nyní shrnutí vlastností nejen bílé LED diody. Již jsme uvedli, že hlavní výhodou je mnohem vyšší účinnost přeměny elektrické energie ve světlo než u jakéhokoli jiného zdroje. Používáme-li je místo klasických žárovek, značně ušetříme za spotřebovanou elektřinu. Proto se v současnosti LED montují do reflektorů automobilů i vlaků. Díky vysoké účinnosti se LED při svícení daleko méně zahřívají než klasické žárovky, o které se zajisté spálíme. LED diody tedy dělají čest svému názvu „studené světlo“ a redukuje se tím i nebezpečí vzniku požáru. Mají dlouhou životnost, výrobci dnes zaručují až padesát tisíc hodin nepřetržitého svitu (srovnejte se dvěma tisíci hodinami vláknové žárovky). LED se dají rychle a bez omezení zapínat, vypínat i tlumit. Díky nízkému přívodnímu napětí umožňují osvětlit místa, kde neexistuje rozvodná elektrická síť. Stačí použít solární článek, akumulátor elektrické energie a LED diodu. LED mají však i své nevýhody: vyžadují úzký interval hodnot napětí, popř. proudu, při němž svítí. V praxi to znamená nutnost speciální napájecí jednotky s transformátorem a usměrňovačem, čímž se jednoduchost LED komplikuje. Potřebují být totiž napájeny stejnosměrným proudem o napětí jednotek voltů – připojením do sítě dojde k okamžitému zničení. Další nevýhodou je malá velikost samotných diod, potřebujeme-li jimi nahradit žárovku nebo zářivku. To vede k jejich spojování a formování do vhodných obalů, přičemž je nutné přidat výše zmíněnou napájecí jednotku, což se pochopitelně nutně projeví na ceně výsledného výrobku. Připomeňme, že není nutné omezovat se na tvar klasické žárovky.

Z LED diod se dají vyrobit osvětlovací zdroje nejrůznějších tvarů, např. svítící pásky atd.

Na závěr kapitoly ještě učinme poznámku o tzv. LED televizorech. V mnohých prodejnách spotřební elektroniky najdeme cedulky, které zvýrazňují zkratku LED v kontextu s plochými obrazovkami. To by mohlo vést k domněnce, že samotná zobrazovací plocha je tvořena velmi drobnými LED diodami – červenou, zelenou a modrou, které po smíchání dají vzniknout libovolné barvě a tedy celému obrazu, jak jsme vysvětlili výše. Jde však o zavádějící označení, neboť takto to ve skutečnosti nefunguje. LED diody sice v těchto panelech přítomny jsou, nicméně zajišťují jen podsvícení celé zobrazovací plochy. Samotné barevné pixely jsou tvořeny technologií LCD (kapalné krystaly). I tak dochází ke snížení spotřeby elektrické energie a prodloužení doby životnosti zobrazovacího panelu. LED diody jsou dnes stále příliš velké na to, aby mohly tvořit samostatné pixely.

## 2.7 Termoluminiscence

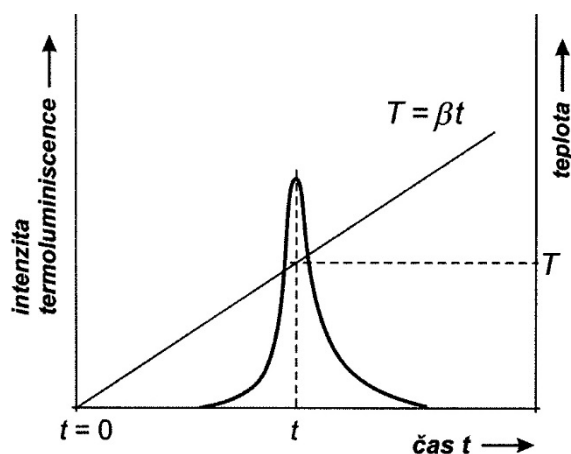
Termoluminiscencí označujeme typ luminiscence, která je vyvolána dodáním tepelné energie určité látky. Abychom však mohli hovořit o termoluminiscenci, musí jí předcházet některé důležité kroky. V první řadě je nutné látku ochladit na dostatečně nízkou teplotu a poté ji excitovat vhodným zdrojem záření (může jít o excitaci viditelným, UV, rentgenovým zářením atd.). Převážná část energie v excitované látce se ihned přemění na klasické (foto)luminiscenční záření. Pokud ale látka obsahuje vhodné příměsi a poruchy ve své krystalové struktuře, může se část energie do těchto míst jakoby „zakonzervovat“, samovolně uložit na libovolně dlouhou dobu. Jestliže tuto látku poté pozvolna zahříváme, nashromážděná energie se začne postupně uvolňovat ve formě viditelného elektromagnetického záření.

Podívejme se na proces termoluminiscence podrobněji. Při excitaci vznikají v látce volné elektrony a kladně nabitě díry. Jestliže krystalická struktura této látky obsahuje defekty a příměsi, jsou tyto poruchy v pásovém modelu pevných látek reprezentovány energetickou hladinou v zakázaném pásu, která se nachází v blízkosti pásu vodivostního. Excitovaný elektron se na této hladině může snadno zachytit, takže nedojde k jeho rekombinaci s dírou za vyzáření luminiscenčního fotonu. Je-li látka ochlazená na dostatečně nízkou teplotu, zůstane excitovaný elektron na této energetické hladině libovolně dlouhou dobu. Říkáme o něm, že je uvězněn v elektronové pasti. Kvantově-mechanicky je tento stav stabilní, důležité však je, že není stabilní energeticky. Parametr, kterým lze elektronovou past charakterizovat, je tzv. energetická hloubka elektronové pasti. Čím větší tato hodnota bude, tím více energie je potřeba uvězněnému elektronu dodat, aby byl z pasti uvolněn. Potřebnou energii dodáme elektronu právě formou tepla. Elektron pak vyskočí z pasti zpět do vodivostního pásu a po nalezení díry s ní zrekombinuje za vyzáření termoluminiscenčního fotonu. Je tedy zřejmé, že čím větší hloubka energetické pasti



bude, tím vyšší bude i teplota, při níž se objeví termoluminiscenční maximum. Typická hodnota energie elektronové pasti leží obvykle v intervalu 0,1 eV až 1 eV [2].

Časovým průběhem intenzity termoluminiscence na lineárně rostoucí teplotě je tzv. termoluminiscenční neboli *vyhřívací křivka* (viz obr. 19). Při zahřívání termoluminiscenční látky dojde při určité teplotě k uvolňování elektronů z pastí, jejich rekombinaci s kladnými děrami a prudkému nárůstu intenzity luminiscence. Po určité době se však vyčerpá zásoba zachycených elektronů a dochází k opětovnému poklesu, až luminiscence vyhasne. Z polohy maxima naměřené vyhřívací křivky lze vypočítat hloubku odpovídající záchytné hladiny [1].



**Obr. 19:** Jednoduchá termoluminiscenční křivka – závislost intenzity termoluminiscence na době zahřívání vzorku. Přímka znázorňuje lineárně rostoucí teplotu s časem. Převzato a upraveno z [2].

Přítomnost příměsí a defektů je v určité míře vlastní každé luminiscenční pevné látce. Některé z těchto poruch pravidelnosti uspořádání mohou hrát roli elektronových nebo děrových pastí. Z toho důvodu lze určitou intenzitu termoluminiscence naměřit téměř u každé luminiscenčně aktivní látky. Navíc každá látka obsahuje více různých typů elektronových a děrových pastí, které se liší svou hloubkou, tedy energií potřebnou pro uvolnění zachycených částic. Termoluminiscenční spektra poté vykazují velké množství maxim při různých teplotách, což značně komplikuje jejich interpretaci. Z tohoto důvodu nemá termoluminiscence až na speciální případy velký význam. Jedinou značně využívanou a unikátní vlastností je schopnost termoluminiscenčních látek akumulovat energii přijatou během excitace, čehož se ve velké míře využívá pro dozimetrické účely.

První aplikací termoluminiscence, se kterou se lze v běžném životě setkat, je oblast zdravotnictví, přesněji radiologie. Hned poté následují různé výzkumné laboratoře. Obsluhující personál je opakovaně vystavován účinkům ionizačního záření, které se v těle kumuluje. Pokud obdržená dávka záření překročí určitou hranici, může dojít k poškození zdraví. Proto je nutné u všech zaměstnanců sledovat,

jakou dávku záření obdrželi. K tomuto účelu slouží tzv. kumulativní dozimetry, u většiny radiologických asistentů v našich nemocnicích jde konkrétně o filmové dozimetry. Mají podobu tužky v náprsní kapse, popř. placičky připevněné na klopě pláště. Tato zařízení se v několikaměsíčních intervalech mění a vyhodnocují. Účinkem ionizačního záření se v nich vytváří latentní obraz (jako u černobílé fotografie) a vyhodnocení se provádí jednoduše vyvoláním dozimetrického filmu. Následně se provede stanovení hustoty zčernání filmu, která odpovídá obdržené dávce záření. Vyhodnocení je však poměrně složité, a proto se postupně nahrazují materiálovými dozimetry, které pracují na termoluminiscenčním principu. Jsou zhotoveny nejčastěji v podobě prstenu a účinnou látkou je fluorid lithný (LiF). Vyhodnocení je pak značně zjednodušeno – změří se vyhřívací křivka a plocha pod touto křivkou je přímo úměrná obdržené dávce záření. Navíc je dozimetr po vyhřátí připraven k opětovnému použití, což je velmi výhodné.

Termoluminiscenční dozimetrie je výhodná rovněž při nenadálých radiačních haváriích. Obdrženou dávku záření lze v krajních případech odhadnout např. i z termoluminiscence drahokamů zdobících náramkové hodinky, řetízky, náušnice apod. Termoluminiscenční metoda by se dala použít také k identifikaci ozářených potravin.

Nejdůležitější termoluminiscenční aplikací je archeologické datování. V tomto kontextu však zapomeňme na nejpoužívanější metodu určování stáří předmětů měřením úbytku koncentrace radioaktivního izotopu uhlíku  $^{14}\text{C}$ , která je svázána s organickými látkami. Termoluminiscenční metoda má význam především u předmětů vyrobených z hlíny, porcelánu a skla. Jedná se tedy nejčastěji o keramiku, pálené stavebniny, ale také sopečné vyvřeliny, jejichž stáří vždy bylo velmi obtížné stanovit. Tyto předměty byly v procesu výroby vystaveny vysokým teplotám při vypalování, popř. tavení skla, takže jakékoliv organické materiály se spálením znehodnotily. Pro termoluminiscenční datování znamená proces vypalování těchto předmětů naopak obrovskou výhodu, neboť při tom dochází k „vynulování“ všech elektronových pastí. Tím je jednoznačně určeno datum vzniku nalezených předmětů.

Z chemického hlediska jsou stanovované předměty nejčastěji křemičitany, které obsahují velké množství hlubokých elektronových a děrových pastí. V nich mohou zachycené částice setrvat při běžných pozemských teplotách teoreticky nekonečně dlouhou dobu. Toto rozpětí teplot je rovněž velmi výhodné, neboť nahrazuje prvotní ochlazení vzorku. Vyprazdňování energetických pastí totiž probíhá za značně vysokých teplot než je teplota pokojová, a těch je dosaženo pouze při procesu vypalování, popř. tavení. Nyní si krátce nastíníme metodiku stanovení stáří nalezeného předmětu.

Veškeré předměty (včetně nás samotných) jsou na Zemi neustále vystaveny účinkům kosmického a radioaktivního záření. Jedná se o všudypřítomné tzv. radioaktivní pozadí, které je tvořeno převážně alfa a beta částicemi. Toto záření vzniká

rozpadem přirozených nestálých izotopů některých prvků a je velmi slabé a neškodné pro živé organismy. Dokáže však excitovat částice v určitých materiálech a ty se pak mohou ukládat do energetických pastí, čímž v sobě akumulují dávku tohoto záření. Změřením termoluminiscenční křivky lze stanovit stáří archeologického nálezu, neboť intenzita termoluminiscence předmětu je přímo úměrná době, po níž byl stanovovaný předmět vystaven účinkům záření (tedy celkové obdržené dávce). Při tom je však důležité předpokládat, že stanovovaný nález byl po celou dobu své existence ozařován stále stejnou intenzitou excitačního záření a také že částice se hromadily v energetických pastech lineárně v čase. Postup měření pak probíhá následovně:

- Vzorek z části archeologického nálezu se rozemele na prášek a změří se u něj termoluminiscenční křivka. Poté se stanoví celková termoluminiscence vzorku jako plocha pod naměřenou křivkou. Ta pochopitelně ještě nevypovídá o stáří vzorku, neboť nevíme, jaká část naměřené plochy přibyla za jednotku času.
- Stejný vzorek se podrobí ve stejných laboratorních podmínkách opakovanému kalibračnímu ozáření známou dávkou záření. Po proměření termoluminiscenčních křivek se zjistí, jaká část termoluminiscence přibývá na jednotku absorbované dávky záření. Stále však není jasné, jaké záření způsobilo ukládání částic do energetických pastí v místě nálezu předmětu.
- Posledním, nejsložitějším krokem je stanovení dávkové rychlosti, tedy určení pohlcené dávky záření za jeden rok v místě nálezu. Prakticky se tento krok realizuje tak, že se vhodný dozimetr vloží spolu se vzorkem zpět na přesné místo nálezu, kde se ponechá jeden rok. Po uplynutí této doby se dozimetrem naměřená dávka vyhodnotí. Ze všech naměřených veličin lze stáří vzorku vypočítat následovně:

$$\text{stáří vzorku (roky)} = \frac{\text{termoluminiscence (krok 2)} \cdot \frac{\text{dávka}}{\text{rok}} \text{ (krok 3)}}{\text{termoluminiscence (krok 1)}} \quad (5)$$

Termoluminiscenční datování je navzdory jisté obtížnosti velmi využívanou metodou v archeologii a geologii. Zjednodušená metoda najde uplatnění také v kriminalistice při odhalování napodobenin archeologických nálezů. Aby se dosáhlo měřitelného efektu, musí se dávka záření ve stanovovaném předmětu ukládat velmi dlouhou dobu. Rozsah stanovitelného stáří této metody je jeden rok až milion let s odchylkami do 10 % [2].

## 2.8 Mechanoluminiscence

První zmínka o jevu mechanoluminiscence pochází od známého anglického filozofa a spisovatele Francise Bacona z počátku 17. století. Ve své knize *O pokroku ve vzdělávání* (1605) zaznamenal, že „*krystaly cukru při rychlém škrábání nožem vy-*

dávají světelné záblesky“. Robert Boyle roku 1664 popisuje, že „při působení ocelovým hrotem na diamant se objevuje jasné, ale velmi krátké světélkování“. V roce 1684 popisuje podobné chování Waller u dalších krystalických látek při jejich drcení ve hmoždíři. Koncem 17. století již byla známa řada materiálů vykazujících mechanoluminiscenci. Roku 1792 publikuje Wedgwood článek o mechanoluminiscenčním chování materiálů včetně křemene, diamantu a rubínu. V dnešní době je jev mechanoluminiscence popsán asi u poloviny známých anorganických a třetiny organických pevných látek.

Pojem mechanoluminiscence chápeme jako typ luminiscence, která vzniká v důsledku libovolného mechanického působení na pevnou látku. Světelné záření tedy může vznikat broušením, řezáním, škrábáním, ohýbáním, lámáním, drcením, štípáním podél krystalických os, při stlačování tělesa a podobně. Mechanoluminiscence může být rovněž vyvolána teplotním šokem při náhlém drastickém snížení nebo zvýšení teploty tělesa, což zapříčiní prudkou změnu objemu tělesa vlivem teplotní roztažnosti. Podobně se mechanoluminiscence může objevit při deformaci způsobené fázovým přechodem, při vystavení vzorku výkonnému laserovému pulzu, při růstu některých krystalů, ale i při rychlém oddělení dvou různých materiálů, které byly ve vzájemném kontaktu (např. určitý typ lepidla na poštovních obálcích vydává při odtrhávání ve tmě viditelné záblesky, podobně se chová i lepicí páska).

Jev mechanoluminiscence nemá do dnešního dne jednotnou terminologii. Lze se proto setkat s dalšími názvy, které označují určitý „poddruh“ mechanoluminiscence, jako jsou např. triboluminiscence, fraktoluminiscence, piezoluminiscence, deformační luminiscence, krystaloluminiscence a další. Protože předpona *mechano-* v obecné rovině zahrnuje různé typy mechanického působení, byla zvolena jako nadřazené pojmenování všech typů luminiscence, které vznikají výše popsaným způsobem.

Triboluminiscence (z řec. *tribo* = třít) označuje druh luminiscence, která vzniká v důsledku tření, škrábání či drcení krystalů. Termínem fraktoluminiscence (z lat. *fractus* = zlomený) je označován druh mechanoluminiscence vyvolané lámáním. U těchto druhů mechanoluminiscence tedy dochází k nevratné (plastické) deformaci pevné látky. Naopak piezoluminiscencí rozumíme emisi světelného záření zapříčiněnou tlakem, který vede pouze k pružné (elastické) deformaci krystalové mřížky, přičemž nedochází ke znehodnocení krystalu [11]. Bylo zjištěno, že piezoluminiscenci vykazují různé materiály, převážně iontové krystaly NaCl, KCl, KBr, LiF [12], dále křemen a některé feroelektrické polymery, např. poly(1,1-difluorethylen) [13]. Krystaloluminiscence označuje typ mechanoluminiscence, při níž dochází k mechanickému namáhání ploch krystalů při krystalizaci látky z roztoku nebo taveniny, což způsobuje emisi světla. Jako příklad lze uvést krystalizaci roztoků bromičnanu barnatého, strontnatého, nebo směs síranu sodného a draselného, popř. N-isopropylkarbazol při krystalizaci z taveniny [7].

Podle [14] fyzikální procesy probíhající v materiálu při vzniku mechanoluminiscence naznačují, že v zásadě existují dva typy: deformační mechanoluminiscence (DML) a tribomechanoluminiscence (TML). První z nich, DML, vzniká v důsledku mechanické deformace pevné látky, přičemž závisí pouze na materiálu, který podléhá deformaci. DML lze dále rozdělit na další tři „poddruhy“: fraktomechanoluminiscenci (FML), plastickou mechanoluminiscenci (PML) a elastickou mechanoluminiscenci (EML). U druhého typu, TML, hraje roli vzájemný kontakt dvou rozdílných materiálů, přičemž jejich povaha silně ovlivňuje intenzitu luminiscence. Tak například při drcení krystalového cukru nebo krystalického sulfidu zinečnatého ocelovým (popř. jakýmkoliv jiným) hrotem dochází k DML, neboť jev je nezávislý na materiálu, ze kterého je hrot vyroben. Naopak luminiscence vznikající při působení ocelové nebo safírové jehly na krystal alkalického halogenidu je typu TML, protože intenzita mechanoluminiscence je závislá na materiálu použitého hrotu i na vzájemném kontaktu mezi hrotem a krystalem [14].

Pokud se více zaměříme na mechanoluminiscenci alkalických halogenidů způsobenou elastickou deformací, lze z mnohých experimentů sledovat, že s růstem mechanického působení na krystal začíná narůstat napětí v krystalické mřížce a zároveň rychle roste intenzita luminiscence. Při určité hodnotě mechanického působení se nárůst napětí v krystalu i intenzity luminiscenčního záření zpomalí, i když je krystal stále silně deformován a odolává zničení. Tento stav nazýváme pružnou, neboli elastickou deformací. Jestliže síly přestanou na krystal působit, vrátí se do původního stavu. Při překročení kritické hodnoty napětí však dochází v krystalu k nevratné, plastické deformaci, krystalová struktura se bortí a intenzita luminiscence skokově klesá téměř k nule. Tohoto jevu se dá v praxi využít při nedestruktivním testování deformačních procesů určitých materiálů – vzorek sám o sobě indikuje stav své mechanické deformace. Dále může mít tento jev využití především v dolech nebo při zemětřeseních.

Iontové krystaly alkalických halogenidů lze rovněž štípat podél štěpných rovin, které jsou určeny vnitřní symetrií krystalu. Např. na ingot kuchyňské soli jednoduše přiložíme ostří nože, na nějž udeříme přiměřenou silou kladívkem. Pokud se trefíme do správného směru, krystal se rozpadne na dvě části ohraničené přirozenou hladkou plochou. Při rozštěpení krystalu lze pozorovat velmi krátký světelný záblesk (v řádu mikrosekund).

Podstata mechanoluminiscence dodnes nebyla uspokojivě vysvětlena. Předpokládá se, že dochází k rekombinačním procesům elektronů a kladně nabitých děr za přítomnosti příměsí v krystalové mřížce<sup>1</sup>. Spektrální složení mechanoluminiscenčních záblesků je navíc velmi rozmanité, což komplikuje interpretaci tohoto jevu. Lze se setkat s čárovými spektry (podobnost elektrického výboje v plynech) i se spektry pásovými, které jsou téměř totožné s fotoluminiscenčním spektrem daného materiálu. Jedna z teorií předpokládá, že při rozštěpení krystalu podél jeho štěpné roviny se nově vzniklé hladké stěny nabíjí opačným nábojem a přeskočí mezi nimi

pozorovatelný elektrický výboj. V takovém případě je však otázkou, jestli se ještě skutečně jedná o luminiscenci.

## 2.9 Sonoluminiscence

Z lat. *sonus* (zvuk) bychom tento typ luminiscence mohli přeložit jako luminiscence buzená zvukem, „světlo ze zvuku“. Někdy se tento typ luminiscence řadí do skupiny mechanoluminiscenčních jevů (neboť zvuk je mechanické vlnění, které se šíří látkovým prostředím). O objev sonoluminiscence se zasloužili N. Marinisco a J. J. Trillat, kteří v Paříži ve třicátých letech 20. století zkoumali vliv ultrazvuku na vyvolávání fotografické emulze. Po vyvolání zjistili, že se na určitých místech filmu vyskytují jakoby lokálně exponované skvrnky. Tento jev chybně připsali lokální zvýšené chemické aktivitě v systému emulze – vývojka, způsobené ultrazvukem. Teprve později se ukázalo, že příčinou skvrnek je skutečně světlo vyvolané sonoluminiscencí.

Sonoluminiscenci lze interpretovat jako emisi velmi krátkých záblesků viditelného záření způsobenou změnami tlaku uvnitř mikroskopických bublinek v kapalině, které samovolně vznikají vlivem silných zvukových vln<sup>1</sup>.

*„Příčinou této světelné emise je obrovský rozdíl mezi stlačitelností kapaliny a plynu. Vzduch se stlačuje mnohem snáze než kapalina, a proto bublinky reagují velmi snadno na změny tlaku ve svém okolí, způsobené zvukovou vlnou. Jestliže se tlak snižuje, bublina expanduje, naopak při zvýšení okolního tlaku se silně zmenšuje. Poloměr bublinky v kapalině při působení zvuku nebo ultrazvuku tedy poměrně složitým způsobem osciluje. V každé periodě akustické vlny je vyslán velmi krátký světelný záblesk, který je synchronní s kolapsem poloměru bublinky“* (upraveno podle [2]).

Dodnes však není koncept sonoluminiscence uspokojivě vysvětlen. Jisté je pouze to, že jde o přeměnu mechanické energie v energii elektromagnetickou. Existuje několik teorií, z nichž nejjednodušší klasifikuje sonoluminiscenci jako záření tepelného původu, což je v přímém rozporu s obecnou definicí luminiscence. Proti této teorii navíc stojí výsledky experimentů, které ukazují, že v řadě případů obsahují sonoluminiscenční spektra úzké čáry, což poukazuje na zářivé přechody elektronů excitovaných atomů nebo molekul. Navíc intenzita sonoluminiscence roste s klesající teplotou. Jiná teorie navrhuje, že by mohlo jít o druh chemiluminiscenčního děje. Někteří autoři se domnívají, že k emisi světla dochází na dvou místech – uvnitř velmi horkého vzduchu (až 10 000 °C!) v bublince a v okolní vrstvičce

---

<sup>1</sup> Tento jev označujeme jako *kavitaci* (z lat. *cavitas* = bublina). Při aplikaci velmi silných ultrazvukových vln na kapalinu samovolně vznikají a zase zanikají mikroskopické dutinky v kapalině. Kavitace vzniká např. i na lopatkách turbín nebo lodních šroubů, které tak může mechanicky poškodit.

kapaliny. Setkáme se i s názorem, že by mohlo jít o elektrický výboj uvnitř bublinky [2]. V posledních letech se tomuto fenoménu věnuje značná pozornost.

## 2.10 Lyoluminiscence

Předponou *lyo-* označujeme děje spojené s rozpouštěním látek. Lyoluminiscence je tedy děj, při kterém dochází k emisi světelného záření v důsledku rozpouštění látky ve vhodném rozpouštědle.

Je známo, že během rozpouštění různých látek mohou nastat tři případy. Pokud vhodíme kostku cukru nebo lžičku soli do kádinky s vodou, v níž máme ponořený teploměr, krystaly se rozpustí, vznikne homogenní roztok a k žádné další pozorovatelné změně nedojde. Jestliže stejný experiment provedeme s dusičnanem nebo chloridem amonným,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , popř.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , lze si všimnout, že teplota roztoku výrazně poklesne a kádinka je na dotek chladná. Naopak pokud budeme rozpouštět bezvodý síran měďnatý,  $\text{CuSO}_4$ , nebo např. hydroxid sodný,  $\text{NaOH}$ , roztok se hodně zahřeje. Energetická bilance procesu rozpouštění je tedy značně složitá. Určitá energie se během tohoto děje spotřebovává (na vytržení iontů z rovnovážných poloh, což vede k rozbití krystalické mřížky) a určitá energie se naopak uvolňuje (hydratace uvolněných iontů). Hnací silou rozpouštění je nárůst entropie. Podle toho, která z forem energie převládne, nastává změna teploty roztoku. Kuchyňská sůl s cukrem jsou zhruba uprostřed, proto žádnou tepelnou změnu nepozorujeme. Pro pochopení jevu lyoluminiscence bychom se museli ponořit do studia chemické termodynamiky, ani tak bychom ale k obecnému mechanismu excitačních pochodů lyoluminiscence nedospěli. Mikroskopická podstata tohoto jevu totiž není do dnešního dne uspokojivě vysvětlena.

Jestliže však látku před rozpouštěním ozáříme gama zářením, rentgenovým zářením, popř. katodovými paprsky, lze následný průběh do jisté míry spolehlivě vysvětlit. Během ozáření organické látky ionizujícím zářením dojde ke vzniku radikálů, částic s neparovým elektronem. Většina z nich poté ihned reaguje mezi sebou a dochází tak k rekombinaci, malá část radikálů ale zůstane zachována. V iontových krystalech (např.  $\text{NaCl}$ ) dochází při ozáření vysokoenergetickými fotony k tvorbě poruch krystalové struktury a ke vzniku volných elektronů a děr. Z nich vznikají tzv. barevná centra, která si uchovávají značnou část excitační energie. Během rozpouštění těchto látek ve vhodném rozpouštědle dochází k destrukci volných radikálů a barevných center a jejich akumulovaná energie se složitými reakcemi v rozpouštědle uvolňuje ve formě elektromagnetického záření, jehož intenzita závisí na množství volných radikálů/barevných center a tedy i na dávce vysokoenergetického záření, kterou byla látka ozářena.

Při zkoumání jevu lyoluminiscence bylo zjištěno, že intenzitu záření lze značným způsobem zvýšit, pokud do roztoku přidáme vhodné ionty, popř. jiný luminofor. Konkrétně v případě rozpouštění chloridu sodného takto funguje  $\text{TlCl}$ , chlorid

thallný, při rozpouštění v destilované vodě. Dalším důležitým poznatkem je skutečnost, že energie zůstává v látce po ozáření nashromážděná velmi dlouhou dobu. Toho lze pochopitelně využít v dozimetrii, podobně jako u termoluminiscenčního datování. Tato aplikace je zatím pouze v počátcích. Může být však s výhodou využita v biologických systémech u specifických látek s lyoluminiscenčními vlastnostmi, jako jsou sacharidy či aminokyseliny [2], [15].



## 3. Metodika měření

### 3.1 Vernier SpectroVis Plus

Školní přenosný spektrometr a fluorimetr SpectroVis Plus od firmy Vernier (viz obrázek 20) slouží k měření transmitance, absorpance, fluorescenčních a emisních spekter. Přidanou hodnotou oproti ostatním spektrometrům tohoto výrobce je kromě většího rozsahu a lepšího rozlišení přítomnost dvou excitačních LED zdrojů o vlnových délkách 405 nm a 500 nm pro měření fluorescence.



**Obr. 20:** Školní spektrometr Vernier SpectroVis Plus.

Pro měření emisních spekter je potřeba dokoupit volitelné optické vlákno SpectroVis Plus Optical Fiber, o němž bude pojednáno v samostatné kapitole. Jestliže potřebujeme spektrometr používat v terénu, lze jej jednoduše připojit k notebooku nebo přenosnému dataloggeru LabQuest. Pro použití s počítačem je nutné nainstalovat program Logger Lite, který je zdarma dostupný na webových stránkách výrobce. Není potřeba kupovat placenou verzi programu Logger Pro.

Balení spektrometru obsahuje kromě USB kabelu také sadu polystyrenových kyvet o objemu 3,5 ml včetně plastových víček. Kyvety jsou transparentní ze dvou stran, nejsou proto vhodné k měření fluorescenčních spekter, kde je nutné mít transparentní všechny čtyři strany. Kyvety navíc nejsou vhodné pro měření roztoků organických rozpouštědel, jako je aceton, benzin atd.

Mnoho středních škol je dnes vybaveno alespoň jedním typem ICT pomůcek, používaných ve výuce přírodovědných předmětů, ať už od firmy Vernier, popř.

Pasco atd. Spektrometr Vernier SpectroVis Plus (zkr. SVIS-PL) lze pořídit do dvaceti pěti tisíc korun [16] a lze jej jednoznačně doporučit. Nalezne uplatnění ve výuce chemie, fyziky i biologie.

### **Technické parametry spektrometru:**

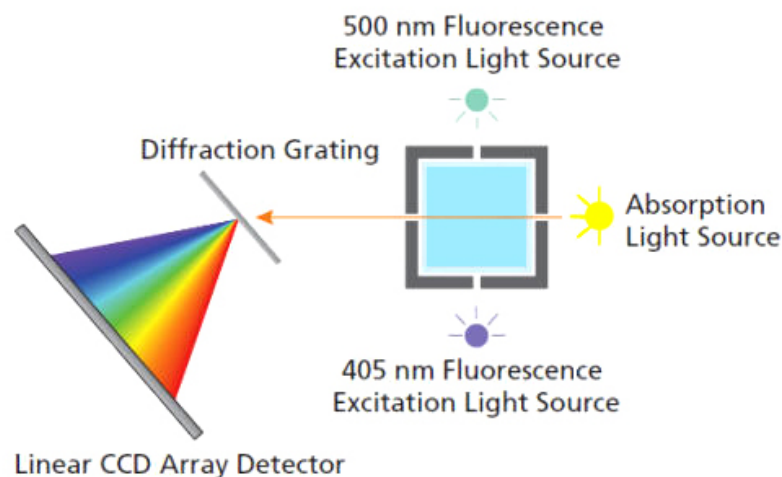
- rozsah měřených vlnových délek: 380–950 nm
- rozlišení: 1 nm
- optické rozlišení: 4 nm při 656 nm, 25 nm při 486 nm
- přesnost vlnových délek:  $\pm 3$  nm při 650 nm,  $\pm 7$  nm při 450 nm
- detektor: lineární CCD
- světelný zdroj: bílá žárovka
- vlnové délky excitačních zdrojů pro fluorimetrii: 405 nm, 500 nm
- pracovní teplota: 15–35 °C
- rozměry: 14,5 cm  $\times$  8,5 cm  $\times$  4 cm
- délka dodávaného USB kabelu: 150 cm

### **Příklady použití spektrometru:**

- měření absorpčních spekter roztoků
- studium Lambert-Beerova zákona (závislost absorpce roztoku na koncentraci zkoumané látky)
- měření emisních spekter světelných zdrojů (LED, zářivky, žárovky, výbojky, plamenové zkoušky)
- měření fluorescenčních spekter roztoků luminoforů
- studium chemické rovnováhy

Při měření absorpce a transmitance využívá spektrometr jako světelný zdroj bílou žárovku. Ta je umístěna v držáku kyvet přímo naproti otvoru pro vstup záření na detektor a rozsvítí se ihned po připojení spektrometru k počítači a spuštění měřicího programu. Měření těchto spekter vyžaduje kalibraci spektrometru, kterou lze spustit z hlavní nabídky příkazem Experiment ► Kalibrovat ► Spectrometer: 1. Po nažhavení žárovky se do spektrometru vloží kyveta s čistým rozpouštědlem, ve kterém bude rozpuštěn měřený vzorek (tzv. blank). Po potvrzení dojde ke kalibraci a ihned poté můžeme měřit.

K měření fluorescenčních emisních spekter je spektrometr vybaven dvěma LED o vlnových délkách 405 nm (modrofialová oblast viditelného spektra) a 500 nm (zelenomodrá oblast viditelného spektra), které slouží jako zdroje excitačního záření. Najdeme je v držáku kyvet a jsou umístěny naproti sobě kolmo na vstup k detektoru. Toto uspořádání je v souladu s instrumentací pro fluorimetrii, neboť ta se měří vždy kolmo na zdroj excitačního záření. Schéma světelných zdrojů spektrometru spolu se vstupem na detektor je znázorněno na obrázku 21.

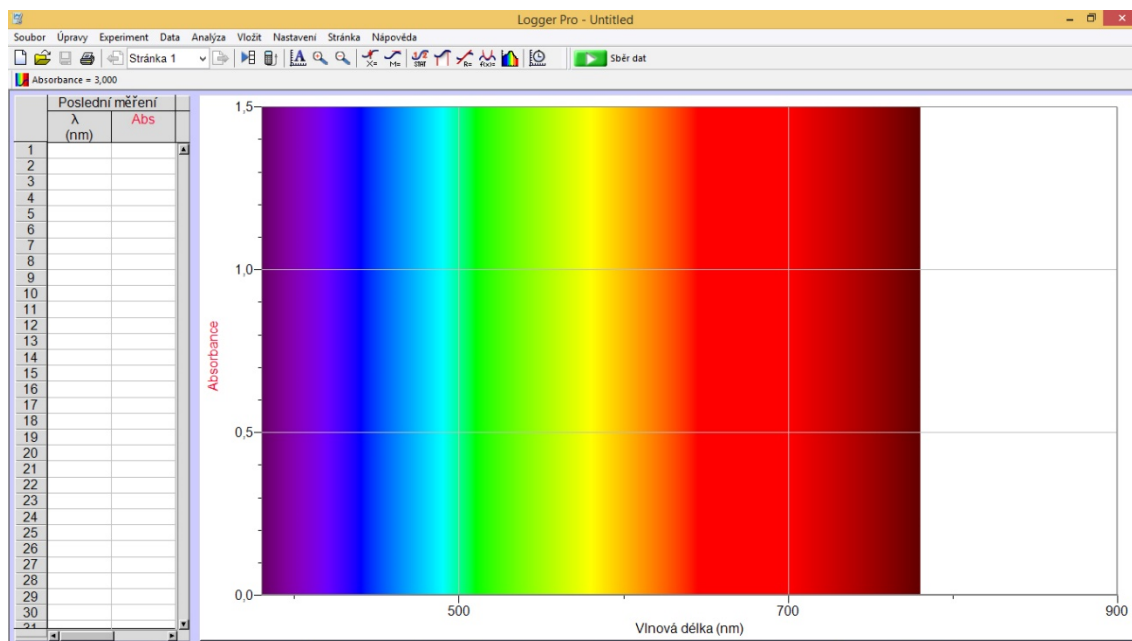


**Obr. 21:** Schéma spektrometru Vernier SpectroVis Plus (vpravo světelný zdroj pro měření absorbance a transmittance, nahoře a dole excitační zdroje pro fluorimetrii, vlevo vstup na detektor po rozkladu záření na difrakční mřížce).

Převzato z [17].

Připojení spektrometru k počítači nevyžaduje žádné další rozhraní (pro připojení jiných typů senzorů Vernier k PC je nutné použít převodník LabQuest Mini). Práce je proto velmi snadná a naměřená data lze pro další použití ihned exportovat např. do tabulkového editoru Microsoft Office Excel.


Spektrometr propojíme pomocí přiloženého USB kabelu s počítačem (nebo s dataloggerem LabQuest) a spustíme program Logger Pro, popř. bezplatnou verzi Logger Lite (pro jednoduchost bude následující postup uveden pro práci na PC v programu Logger Pro, postup v dataloggeru se může mírně lišit). Program i datalogger rozpozná připojené zařízení a nastaví nové měření. Ve výchozím stavu by prostředí programu Logger Pro mělo vypadat jako na obrázku 22.

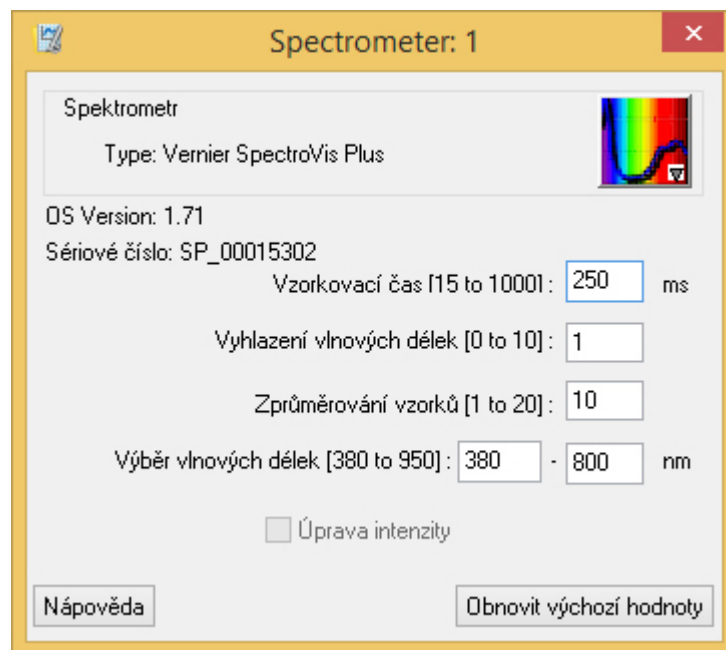


Obr. 22: Prostředí programu Logger Pro po připojení spektrometru.



### 3.1.1 Měření spekter

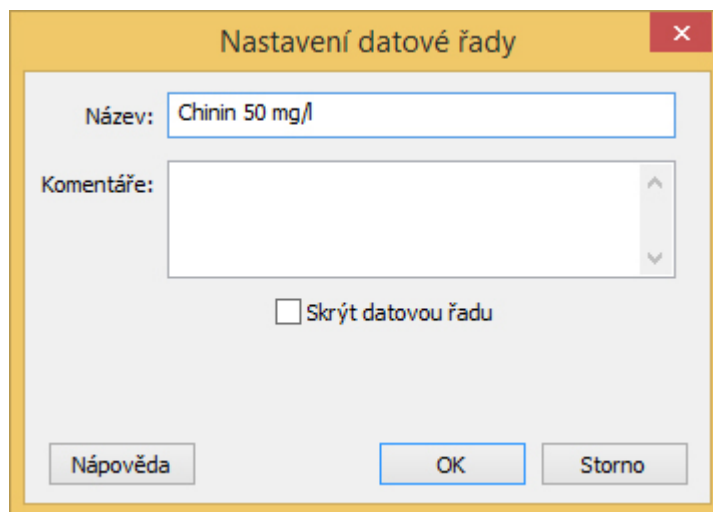
V základním módu měří spektrometr závislost intenzity měřené veličiny na vlnové délce záření. Program po spuštění automaticky nastavuje režim spektrometru na měření absorbance, což signalizuje popisek u ypsilonové osy. Pokud absorpční spektrum měřit nechceme, lze spektrometr přepnout do režimu měření fluorescenčních spekter, emisních spekter i měření transmitance. V hlavní nabídce klikneme na položku Experiment ► Změnit jednotky ► Spectrometer: 1 ► a vybereme si z nabízených možností. K měření fluorescence máme na výběr dva typy excitačních zdrojů: Fluorescence 405 nm (budícím zdrojem je LED o vlnové délce 405 nm) a Fluorescence 500 nm (budícím zdrojem je LED o vlnové délce 500 nm). Jakmile přepneme měřicí režim, objeví se u ypsilonové osy nápis použitého režimu, např. Fluorescence 405 nm (Rel).

Důležitým nastavením, které je potřeba často měnit, jsou parametry měření: klikneme na tlačítko  úplně vlevo pod nástrojovou lištou (taktéž Experiment ► Nastavení měření ► Spectrometer: 1) a v zobrazeném okně (viz obr. 23) nalezneme čtyři volby: Vzorkovací čas (15–1000 ms, výchozí hodnota je 50 ms), tzn. jak dlouho bude spektrometr sbírat data; Vyhlazení vlnových délek (0–10, výchozí hodnota je 1), tzn. jak intenzivní vyhlazení naměřeného spektra požadujeme; Zprůměrování vzorků (1–20, výchozí hodnota je 6), tzn. kolikrát spektrometr proměří a zprůměruje naměřená data vzorku během jednoho měření – platí, že čím více, tím lépe, měření však trvá úměrně déle; a Výběr vlnových délek (380–950 nm), tzn. v jakém intervalu vlnových délek budeme měřit. Po nastavení požadovaných parametrů okno křížkem zavřeme. Parametry lze měnit i během spuštěného sběru dat.




Obr. 23: Nastavení parametrů spektrometru pro měření.

Spektrometr je primárně určen k měření kapalných vzorků. Do kyvety nalijeme asi 2,5 ml vzorku (pokud je vzorek těkavý, uzavřeme kyvetu víčkem) a umístíme ji do držáku kyvet ve spektrometru. Spektrometr poté překryjeme neprůsvitnou kartonovou krabicí. Pokud do kyvety necháme pronikat okolní světlo (např. světlo ze stropních zářivek), dojde ke zkreslení naměřeného spektra. Měření zahájíme stiskem zeleného tlačítka  Sběr dat. Jakmile se nám zobrazí spektrum měřené látky, měření ukončíme červeným tlačítkem  Zastavit. Naměřená data nalezneme nalevo v tabulce. Jestliže chceme změnit název měření, poklepeme na záhlaví tabulky (konkrétně na Poslední měření; taktéž Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření, popř. Data ► Nastavení měření ► Měření1) a v zobrazeném okně přepíšeme položku Název (např. na Chinin 50 mg/l, jak je znázorněno na obr. 24), poté klikneme na tlačítko OK.



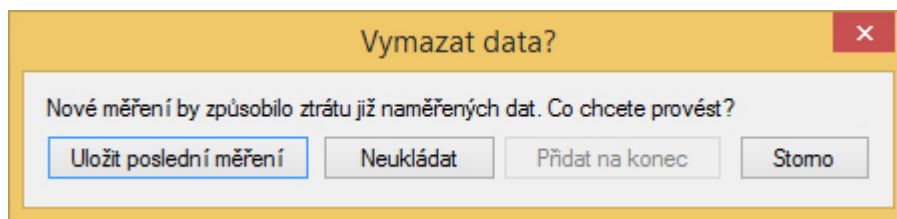
**Obr. 24:** Změna názvu datové řady.

K orientačnímu odečítání naměřených dat ze spektra slouží nástroj Odečet hodnot. Ten lze aktivovat z hlavní nabídky klepnutím na položku Analýza ► Odečet hodnot (taktéž klávesová zkratka Ctrl + E). V grafu se poté objeví tabulka a svislá příčka, se kterou lze libovolně pohybovat po spektru. V tabulce se zobrazují aktuálně vybrané hodnoty dat. Pokročilejším analytickým nástrojem je Statistika, kterou vyvoláme z nástrojové lišty kliknutím na ikonu  Statistika (taktéž Analýza ► Statistika). V zobrazené tabulce nalezneme na prvním řádku název měření, na druhém řádku lze zjistit vlnovou délku s minimální a maximální intenzitou fluorescence, absorbance, popř. transmitance (podle nastaveného režimu měření, viz obr. 25). Na dalších řádcích nalezneme různé statistické údaje, např. průměr, medián, směrodatnou odchylku atd.

<p>Statistika pro: Chinin 50 mg/l   Fluorescence 405 nm  min: 0,01199 v 790,6 max: <u>0,8905 v 455,3 blue</u>  průměr: 0,1952 medián: 0,02707  std. dev: 0,2793 vzorků: 527  Δy: 0,879</p>
--

**Obr. 25:** Údaje v tabulce Statistika s vyznačeným fluorescenčním maximem.

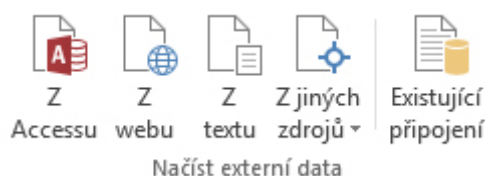
Pokud je intenzita naměřeného spektra nevyhovující, otevřeme okno s parametry měření a prodloužíme, popř. zkrátíme vzorkovací čas tak, aby se maximální intenzita píku přiblížila požadované hodnotě. Po úpravě vzorkovacího času opět stiskneme tlačítko Sběr dat, při dotazu na vymazání naměřených dat zvolíme Neukládat (viz obr. 26) a podle naměřeného výsledku případně parametry ještě upravíme. Pokud zvolíme možnost Uložit poslední měření, předchozí naměřené spektrum zůstane v grafu zachováno.



**Obr. 26:** Dialog tázající se na vymazání naměřených dat.

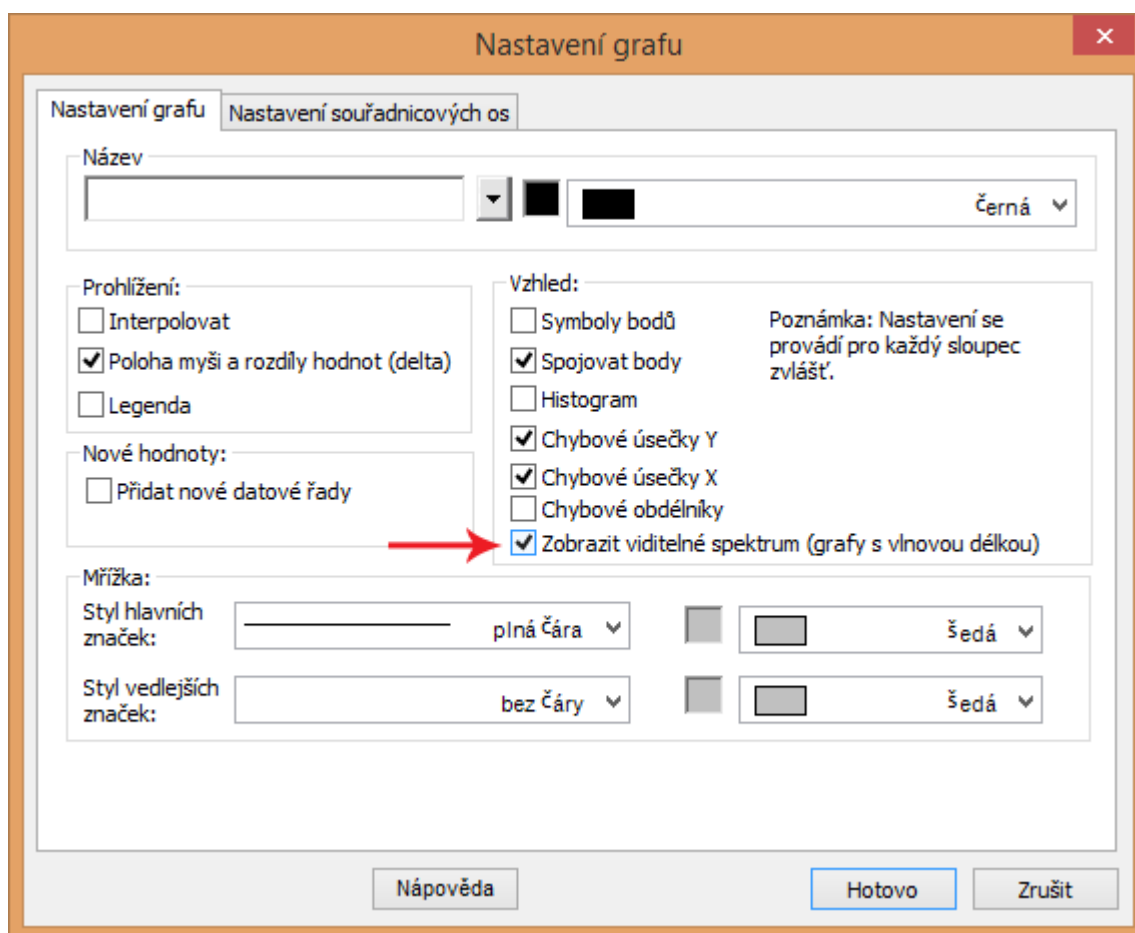
Jakmile jsme s naměřenými výsledky spokojeni, měření uložíme: Soubor ► Uložit jako, soubor pojmenujeme a nabídnutý formát ponecháme na výchozím nastavení \*.cmlb.

Pro následné použití naměřených dat v tabulkovém editoru zvolíme Soubor ► Exportovat jako ► CSV... a soubor opět libovolně pojmenujeme a uložíme. Další práce s naměřenými daty bude popsána pro program Microsoft Office Excel 2013. Protože není možné vyexportovaná data ve formátu CSV rovnou otevřít a upravovat, je potřeba je do tabulkového editoru nejprve nainportovat (otevřít je lze, došlo by však k nesprávnému formátování dat vlivem odlišného kódování). Otevřeme program Excel, zvolíme nový prázdný sešit a přejdeme na záložku DATA, kde úplně nalevo nalezneme nástroje pro import dat. Klikneme na ikonu Z textu, viz obr. 27. V otevřeném okně vybereme požadovaný soubor, zvolíme Otevřít a dostaneme se do průvodce importem dat. Na první stránce nic neměníme a zvolíme Další >, na druhé stránce zatrhneme políčko Středník v nabídce oddělovačů dat. Klikneme opět na Další > a na poslední stránce pouze potvrdíme tlačítkem Dokončit. Program se dotáže na umístění nových dat, klepneme na tlačítko OK. Tímto krokem je import dat dokončen.



**Obr. 27:** Nástroje pro import dat v programu Microsoft Office Excel 2013.


Na tomto místě je vhodné podotknout, že naměřená spektra i grafy lze z programu Logger Pro přímo kopírovat a vkládat v dobré tiskové kvalitě do textového editoru. U naměřeného spektra stačí kliknout pravým tlačítkem do oblasti grafu a zvolit možnost kopírovat (Ctrl + C), poté se přesunout do otevřeného dokumentu a zkopírovanou položku vložit. Pokud nechceme, aby bylo v pozadí spektra zobrazeno barevně viditelné spektrum (šetříme barvy v tiskárně), stačí přes pravé tlačítko nebo dvojitým kliknutím přejít do nastavení grafu (taktéž z hlavní nabídky Nastavení ► Nastavení grafu) a zrušit možnost Zobrazit viditelné spektrum (grafy s vlnovou délkou), jak je vyznačeno na obrázku 28.



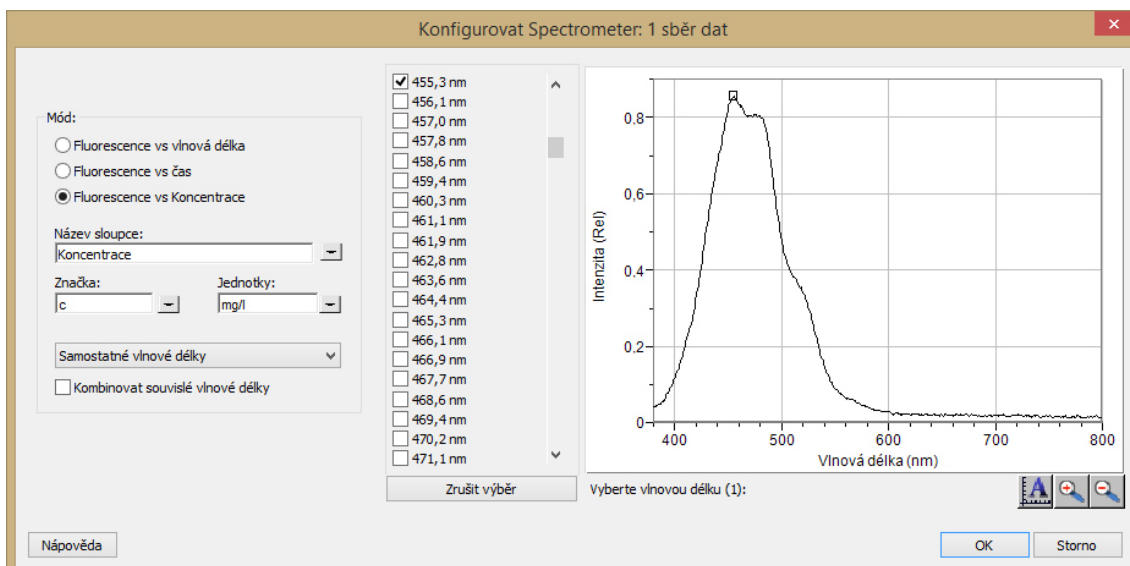
Obr. 28: Okno nastavení grafu programu Logger Pro.

### 3.1.2 Měření dalších typů závislostí

Pomocí spektrometru nemusíme měřit pouze absorpční nebo fluorescenční spektra, lze jej přepnout do dalších dvou módů. Prvním z nich je měření závislosti zvolené veličiny (absorbance, transmittance, fluorescence) na čase. Tímto nástrojem lze sledovat např. rychlost chemických reakcí a určovat rychlostní konstantu. Velmi pořízeným nástrojem je měření závislosti intenzity zvolené veličiny na koncentraci vzorku. Proto se na tento mód podíváme podrobněji.

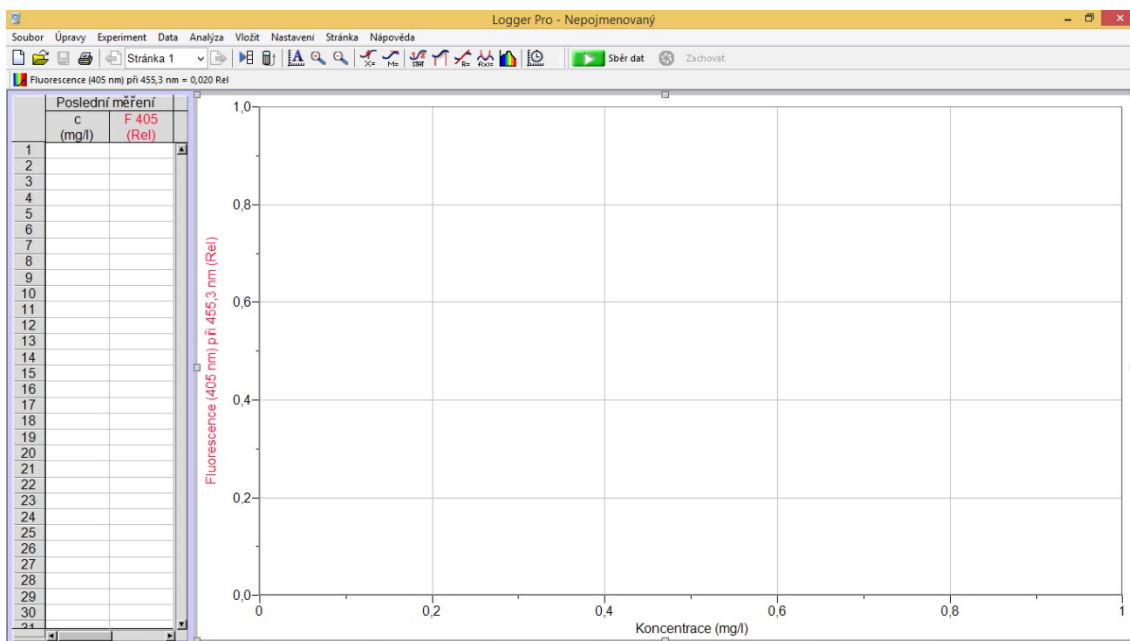
Mód slouží například k měření kalibračních řad a stanovení neznámé koncentrace vzorku. Grafem je závislost intenzity měřené veličiny na koncentraci vzorku. Pro změnu měřicího módu klikneme v nástrojové liště na ikonu  Konfigurovat spektrometr a v zobrazeném okně změním měřicí Mód na Abs/%T/Fluorescence vs. Koncentrace (podle měřené veličiny). Pokud měříme koncentraci vzorku, ponecháme název předvolen, Značku změním na  $c$  a Jednotky na mol/l, popř. mg/l (dle potřeby). Hned napravo vidíme nabídku vlnových délek, při kterých je možné závislost měřit. Program automaticky vybere vlnovou délku s maximální intenzitou absorbance/transmittance/fluorescence, kterou jsme zjistili při předešlém měření celého spektra (pokud jsme jej uskutečnili, viz obr. 29).






Obr. 29: Nastavení módu měření pro závislost intenzity měřené veličiny (absorbance, transmittance, fluorescence) na koncentraci vzorku.

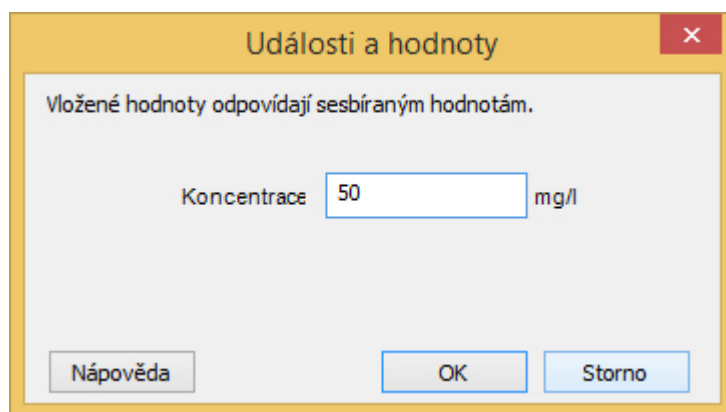
Zkontrolujeme, jestli je zatrhnuto políčko u správné vlnové délky (popř. provedeme korekci, lze vybrat i více vlnových délek), a klikneme na tlačítko OK. Program se dotáže na uložení posledního měření – klikneme na Ne. Následně se změní prostředí programu, což znázorňuje obrázek 30. Pokud zůstane v oblasti grafu otevřena prázdná tabulka se statistikou, křížkem ji zavřeme.



Obr. 30: Prostředí programu Logger Pro po změně měřicího módu.

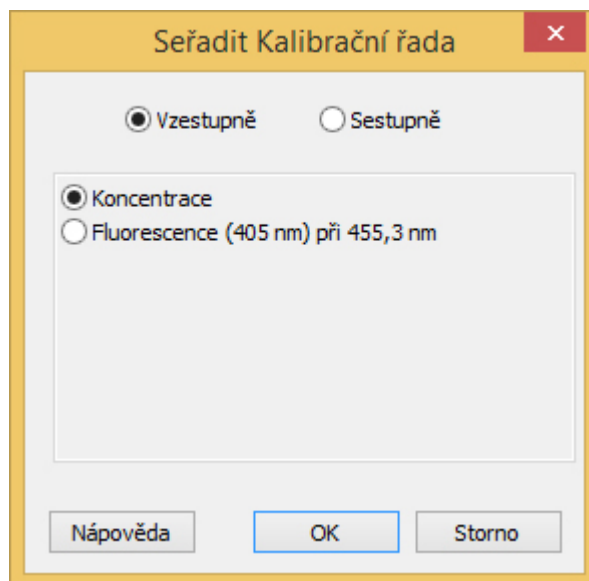
Měření si opět nejdříve pojmenujeme. Nalevo v datové tabulce poklepeme na záhlaví tabulky (konkrétně na Poslední měření; také Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném okně změnímme Název např. na Kalibrační řada.

Do spektrometru vložíme kyvetu s prvním vzorkem, spektrometr zakryjeme a spustíme měření kliknutím na tlačítko Sběr dat. Po chvíli se v grafu objeví červený bod. Klikneme na tlačítko  Zachovat a do zobrazeného okna vepíšeme aktuální koncentraci vzorku v přednastavených jednotkách, poté potvrdíme tlačítkem OK (viz obrázek 31). Měření nezastavujeme, odkryjeme spektrometr, vyjmeme kyvetu a obsah vylijeme do odpadní kádinky. Poté kyvetu dvakrát propláchneme, kapky vyklepeme o ubrousek a naplníme ji dalším vzorkem tak, že první podíl vylijeme do odpadní kádinky a s následujícím podílem již můžeme měřit. Otřeme stěny kyvety a vložíme ji zpátky do spektrometru, který překryjeme. Dbáme na to, aby stěny kyvety byly stále čisté, kyvetu uchopíme vždy pouze za vršek, popř. za její hrany. Tímto postupem proměříme celou kalibrační řadu. Jakmile změříme poslední vzorek kalibrační řady, měření zastavíme klepnutím na tlačítko Zastavit.





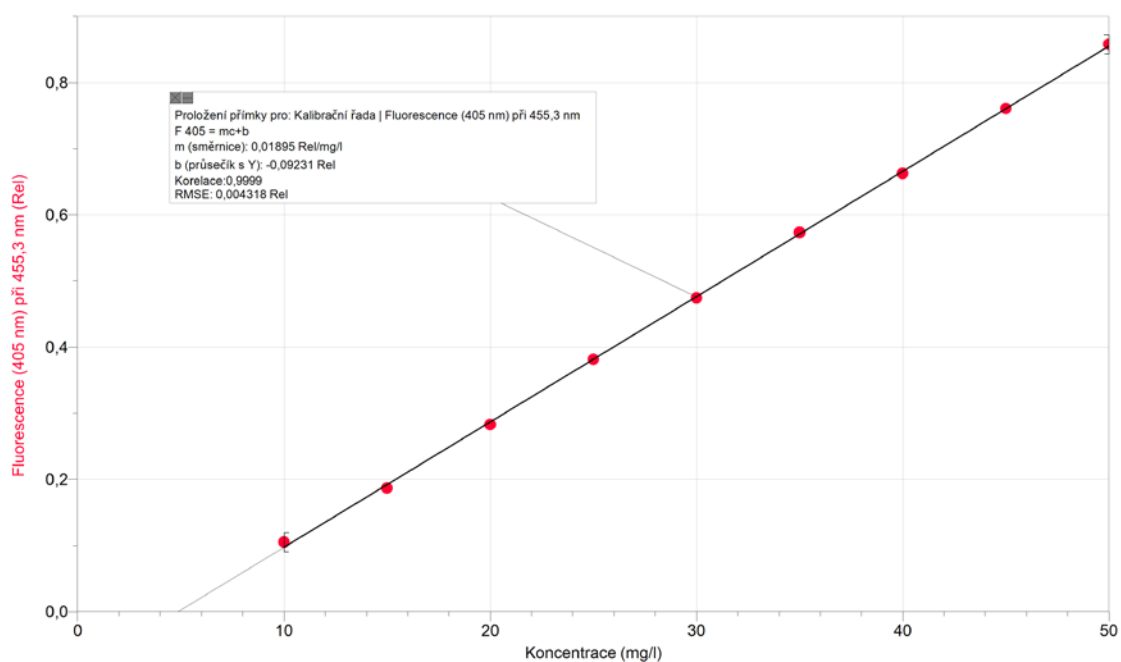
**Obr. 31:** Zadání aktuální koncentrace měřeného vzorku po stisknutí tlačítka Zachovat.

Jestliže jsme nepostupovali v řadě rostoucí nebo klesající koncentrace, lze naměřená data dodatečně seřadit. V hlavní nabídce zvolíme položku Data ► Seřadit datovou řadu ► Kalibrační řada a v zobrazeném okně vybereme nastavení vzestupného nebo sestupného řazení podle koncentrace, viz obr. 32.



Obr. 32: Volba seřazení naměřených dat.

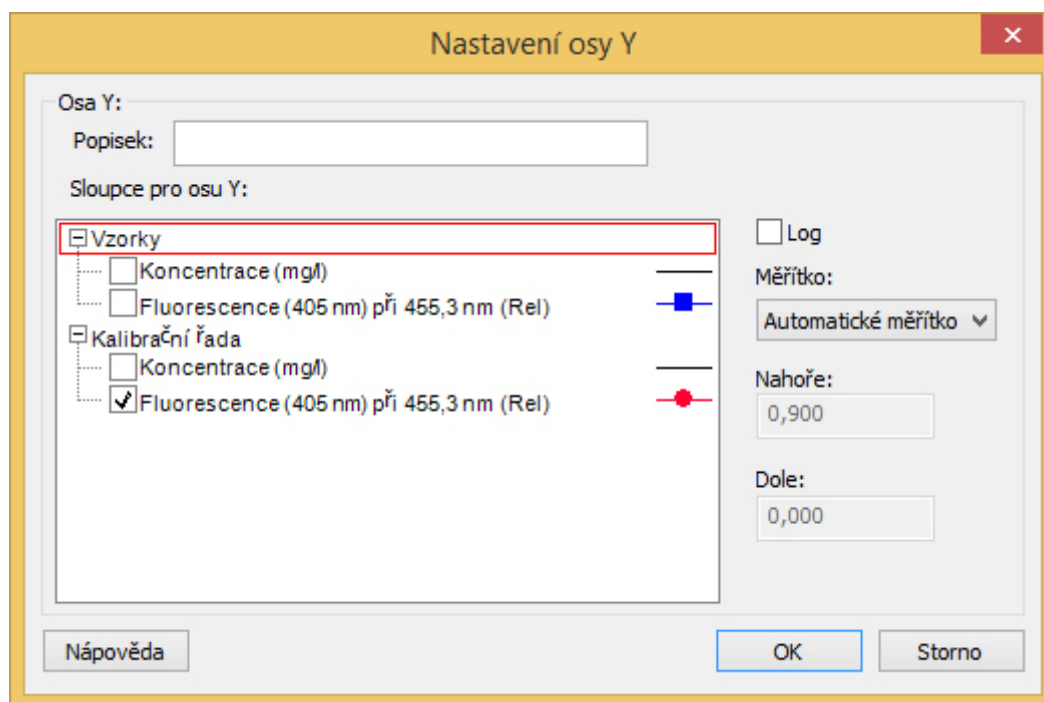
Nakonec v nástrojové liště klikneme na ikonu  Proložit přímkou nebo  Proložit křivku (popř. Analýza ► Proložit přímkou/křivku) a kalibrační křivka je hotová. V zobrazené tabulce lze nalézt rovnici křivky i hodnotu spolehlivosti (korelace). Příklad hotové kalibrační křivky je znázorněn na obrázku 33.



Obr. 33: Příklad naměřené kalibrační křivky.

Jakmile máme kalibrační křivku hotovou, přistoupíme k proměření vzorků o neznámých koncentracích. Propláchnutou kyvetu naplníme vzorkem (první podíl opět vylijeme do odpadní kádinky a s dalším podílem můžeme měřit), vložíme ji do spektrometru, zakryjeme a klepneme na tlačítko Sběr dat. Program se dotáže

na uložení naměřených dat, v zobrazeném okně zvolíme možnost Uložit poslední měření (jinak bychom si kalibrační křivku vymazali). Jakmile se v grafu zobrazí nový bod, klepneme na tlačítko Zachovat a do políčka koncentrace vepíšeme libovolné číslo (např. 1, koncentraci vzorku totiž neznáme). Po kliknutí na OK můžeme spektrometr odкрыt, kyvetu vytáhnout a naplnit dalším vzorkem. Měření nezastavujeme, postupujeme obdobným způsobem jako u měření kalibrační řady a proměříme libovolné množství připravených vzorků. Pokud máme naměřeno, klikneme na tlačítko Zastavit. V tabulce dat nalevo poté klepneme do každého políčka koncentrace naměřeného vzorku a zadaná čísla přepíšeme např. na jména měřených vzorků, abychom věděli, který byl který. Následně dvakrát poklepeme na název celé datové řady (konkrétně na Poslední měření) a v zobrazeném okně přepíšeme položku Název např. na Vzorky. V grafu klepneme na název ypsilonové souřadnice, zvolíme Další... a v zobrazeném okně zatrhneme políčko Absorbance/Transmittance/Fluorescence (405 nm nebo 500 nm) při 455,3 nm (Rel)<sup>2</sup> pouze u Kalibrační řady, viz obr. 34. Po kliknutí na tlačítko OK body naměřených vzorků z grafu zmizí, čehož jsme chtěli docílit. Tímto krokem jsme dokončili měření, spektrometr můžeme od PC odpojit.

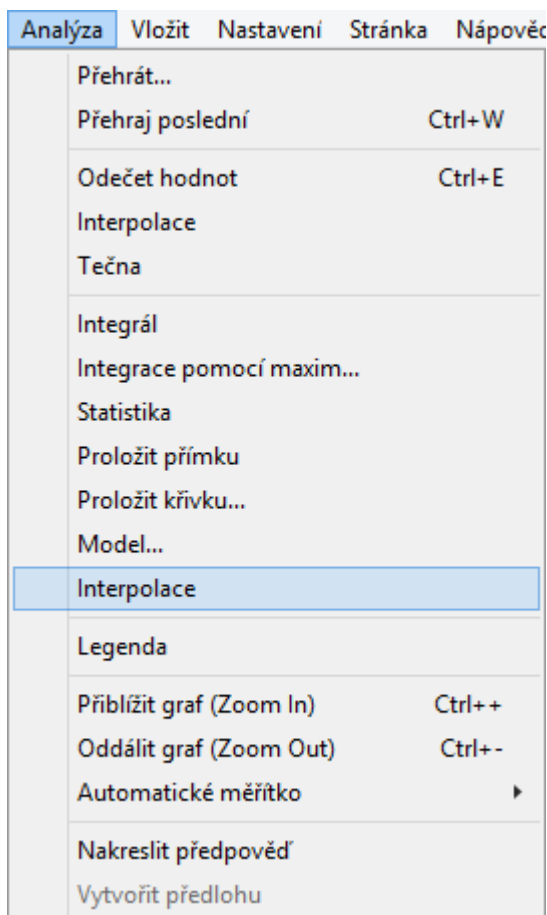


**Obr. 34:** Příklad nastavení zobrazení ypsilonové osy po proměření neznámých vzorků.

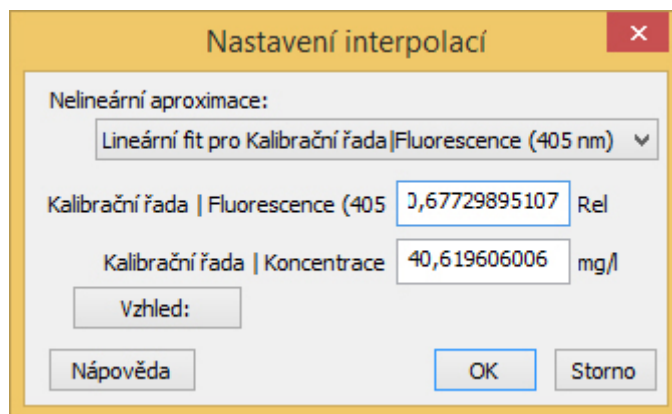
Pro zjištění výsledné koncentrace neznámých vzorků klikneme nalevo v tabulce s daty pravým tlačítkem do políčka s naměřenou intenzitou měřené veličiny u prvního vzorku a zvolíme Kopírovat (Ctrl + C). Následně vybereme v hlavní

<sup>2</sup> Vlnová délka se může lišit podle nastavených parametrů měření.

nabídce položku Analýza ► Interpolace (tato možnost je v nabídce dvakrát, vybereme spodní pod položkou Model..., viz obr. 35), v zobrazeném okně klepneme do horního prázdného políčka pravým tlačítkem a zvolíme Vložit (Ctrl + V). Ihned po vložení se do spodního políčka automaticky dopočítá koncentrace vzorku, jak je vidět na obr 36. Klepneme na OK a do grafu se zanese vypočítaná koncentrace aktuálního vzorku ve formě tabulky na kalibrační přímce.



Obr. 35: Nástroj Interpolace v programu Logger Pro.



Obr. 36: Automatický výpočet koncentrace vzorku nástrojem Interpolace.

Stejným postupem zaneseme na kalibrační křivku koncentrace všech neznámých vzorků. Nakonec celé měření uložíme a provedeme export dat.

### 3.2 Vernier SpectroVis Optical Fiber

Jedná se o přídatný doplněk ke spektrometru Vernier SpectroVis Plus, který je možno dokoupit samostatně. Toto světelné vlákno (viz obr. 37) umožňuje měření emisních spekter nejrůznějších zdrojů, nalezne proto uplatnění především ve fyzice. Pořizovací cena vlákna (zkr. SVIS-FIBER) je do čtyř tisíc korun [18].



Obr. 37: Světelné vlákno Vernier SpectroVis Optical Fiber (volitelný doplněk ke spektrometru Vernier SpectroVis Plus).

#### Technické parametry vlákna:

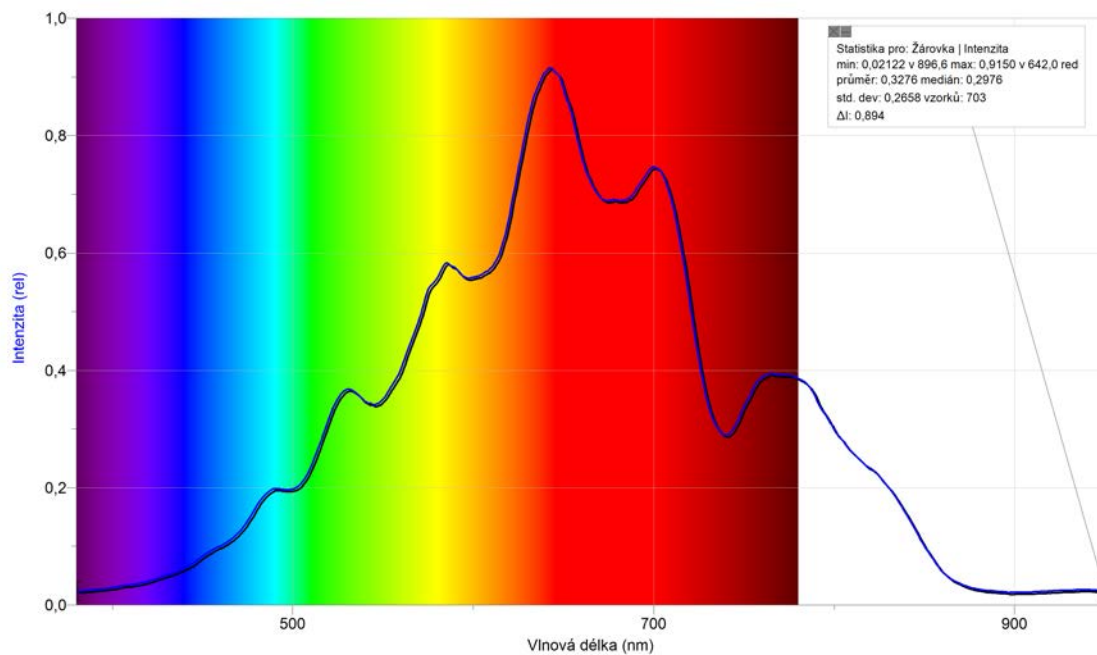
- délka vlákna: 100 cm
- materiál: plast

Optické vlákno se zasouvá spodním dílem přímo do držáku kyvet ve spektrometru. Spodní díl tvaru kvádra má rozměry  $10\text{ mm} \times 10\text{ mm}$ , je tudíž stejně široký jako standardní kyveta. Při zasouvání do držáku kyvet je potřeba dodržet správnou orientaci, kdy šipka na spektrometru musí mířit k šipce na spodním dílu optického vlákna. Nápis je tedy převrácen ke vstupu na detektor ve spektrometru, jak je vidět na obr. 38. Výstup z vlákna lze najít uvnitř písmene O. Žlutým koncem míříme na světelný zdroj, jehož spektrum chceme měřit. Vlákno je dostatečně ohebné.



**Obr. 38:** Správná orientace spodního dílu optického vlákna Vernier SpectroVis Optical Fiber při zasouvání do držáku kyvet ve spektrometru.

K měření se světelným vláknem slouží režim Intenzita. Po připojení spektrometru k počítači a spuštění programu Logger Pro (popř. Logger Lite) přejdeme v hlavní nabídce na položku Experiment ► Změnit jednotky ► Spectrometer 1 ► Intenzita. Lze si všimnout, že po změně jednotek nesvítí v držáku kyvet žádný světelný zdroj. Zdrojem záření je v tomto případě měřený vzorek nebo zdroj světla, jehož spektrum chceme měřit. Optické vlákno přivede toto záření na detektor. Po stisknutí tlačítka Sběr dat se zobrazí spektrum měřeného vzorku. Pokud s výsledkem nejsme spokojeni, přejdeme do nastavení parametrů měření a upravíme vzorkovací čas, popř. další veličiny. Tímto způsobem lze změřit například zdroje světla v domácnosti (zářivky, LED, žárovky, denní světlo atd.). Jeden ze způsobů použití znázorňuje obrázek 39.



**Obr. 39:** Emisní spektrum obyčejné žárovky (naměřeno s pomocí optického vlákna Vernier SpectroVis Optical Fiber, vzorkovací čas 15 ms, vyhlazení vlnových délek 2).



---

# Experimentální část

## 4. Výběr luminoforů a měření jejich fluorescenčních spekter

V rámci experimentální části práce probíhalo hledání významných fotoluminiscenčních látek v literatuře, jejich následný výběr a testování na dostatečnou intenzitu fluorescence. Jedná se především o syntetické látky, používané k nejrůznějším účelům, a také látky přírodního charakteru, které jsou pokud možno snadno dostupné.

Všechny testované luminofory byly převedeny do roztoku a podrobeny měření na fluorescenčním spektrometru Cary Eclipse firmy Agilent na katedře organické chemie PŘF UP (viz obr. 40). Roztoky s vysokou intenzitou fluorescence byly následně testovány na dostatečnou odezvu pro běžná středoškolská laboratorní měření na školním spektrometru SpectroVis Plus firmy Vernier. Popis měření na fluorescenčním spektrometru Cary Eclipse by přesahoval rámec této práce, z toho důvodu jsou v práci pouze uvedena a interpretována naměřená spektra. Vybrané testované luminofory jsou seřazeny v následujících tabulkách.



**Obr. 40:** Fluorescenční spektrometr Cary Eclipse na katedře organické chemie PŘF UP. Převzato z [19].

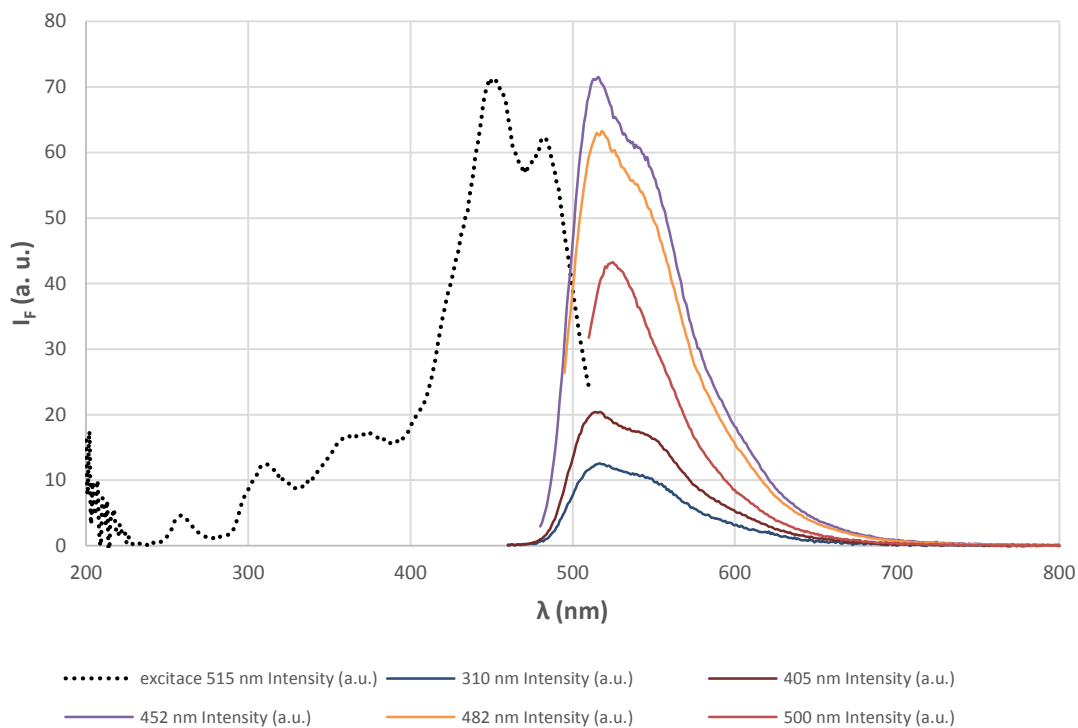
**Tab. 1:** Testovaná fluorescenční barviva.

Fluorescenční látka	Vhodná rozpouštědla	Barva roztoku pod UV
fluorescein	ethanol, 0,1M-NaOH	žlutozelená
eosin Y	ethanol, voda	oranžová
eosin B	ethanol, voda	červenooranžová (málo intenzivní)
rhodamin B	ethanol, 0,1M-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , voda	růžová
chinin	0,1M-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	modrá
berberin	ethanol	žlutá
fuchsin	0,1M-HCl	žlutá (málo intenzivní)
riboflavin	ethanol, voda	žlutozelená

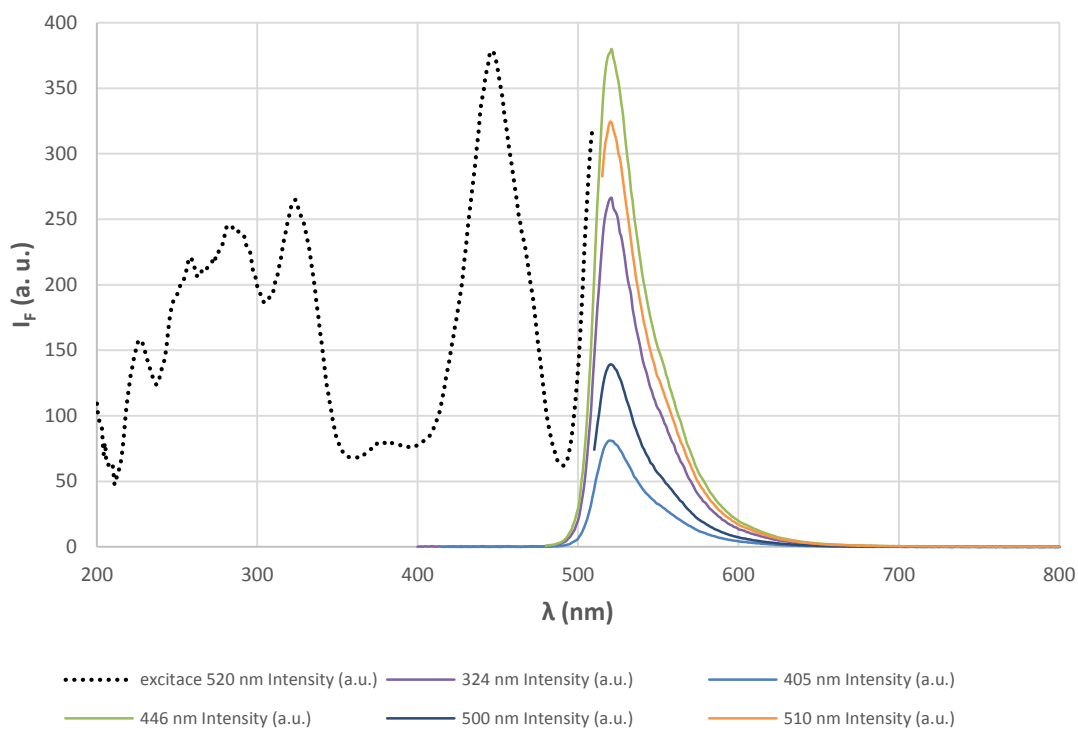
**Tab. 2:** Testované extrakty z rostlin.

Fluorescenční látka	Zdroj	Vhodná rozpouštědla	Barva roztoku pod UV
chlorofyl	špenát	aceton, ethanol	červená
eskulin	jírovec maďal	voda	modrá
kurkumin	kurkuma	ethanol	žlutá
apigenin	rozmarýn	1M-KOH	nepozorovatelné
směs alkaloidů	vlaštovičník	methanol, ethanol, voda	nepozorovatelné
krocín	šafrán	voda	nepozorovatelné

Fluorescenční spektrometr Cary Eclipse firmy Agilent umožňuje kromě dalších funkcí především měření excitačních a emisních spekter roztoků. Spektrum fluoresceinu ve dvou různých rozpouštědlech, naměřené na spektrometru Cary Eclipse, zachycují obrázky 41 a 42.



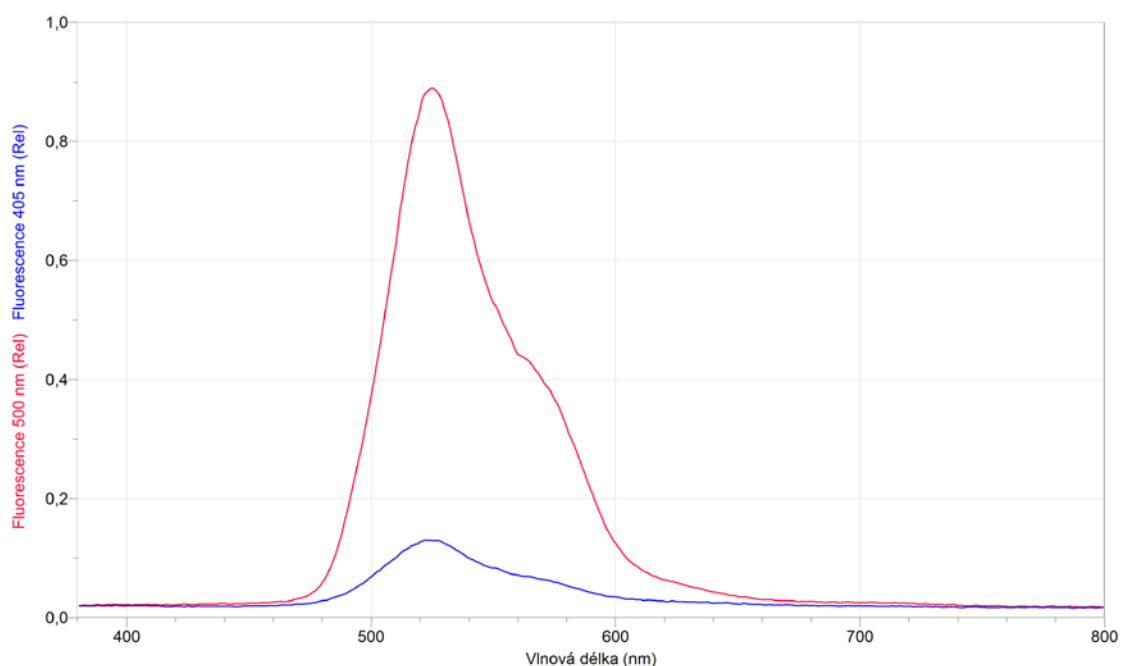
**Obr. 41:** Excitační (tečkovaně) a emisní (plně) fluorescenční spektrum roztoku fluoresceinu v ethanolu (Agilent Cary Eclipse).



**Obr. 42:** Excitační (tečkovaně) a emisní (plně) fluorescenční spektrum roztoku fluoresceinu v 0,1M-KOH (Agilent Cary Eclipse).

Z naměřených spekter výše jasně plyne závislost měřeného signálu na použitém rozpouštědle – rozpouštědlo má velmi často vliv na tvar fluorescenčních spekter. Podrobněji je o excitačních a emisních fluorescenčních spektrech pojednáno v teoretické části práce, viz podkapitola 2.5.1.

Látky, jejichž fluorescenční intenzita byla vzhledem ke koncentraci roztoku vysoká, byly poté měřeny na školním spektrometru Vernier SpectroVis Plus. Tento přístroj nelze z pochopitelných důvodů porovnávat s drahými fluorescenčními spektrometry, a tak jsou naměřená spektra méně přesná a vykazují odchylky. Pro školní účely však spektrometr bohatě postačuje. Naměřené spektrum ethanolického roztoku fluoresceinu ukazuje obrázek 43.



**Obr. 43:** Fluorescenční spektrum roztoku fluoresceinu v ethanolu při excitaci zářením o vlnové délce 405 nm (modrá křivka) a 500 nm (červená křivka); Vernier SpectroVis Plus, vzorkovací čas 40 ms.

Pokud naměřené spektrum porovnáme s výše uvedeným spektrem specializovaného fluorescenčního spektrometru, je na první pohled zřejmé, že tvary obou píků včetně hodnot maxim jsou shodné. Spektra dalších měřených látek včetně doporučení k použití ve školních podmínkách jsou uvedena v přílohách, viz kapitolu 10.

## 5. Pokusy z fotoluminiscence

Fotoluminiscence nabízí nejširší škálu experimentů od velmi jednoduchých a rychlých po složitá laboratorní měření. V literatuře lze najít řadu modifikací uvedených pokusů.

### 5.1 Luminiscenční duha

Tento pokus je svou efektivností vhodný jako demonstrační, v případě použití náplní barevných zvýrazňovačů jej však lze zařadit i do laboratorního cvičení. S některými luminofory by žáci z bezpečnostních důvodů neměli pracovat.

**Pomůcky:** Erlenmayerovy baňky, pryžové zátky, UV zářivka, barevné zvýrazňovače

**Chemikálie:** fluorescein, eosin Y, rhodamin B, chininsulfát dihydrát, ethanol,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , NaOH, destilovaná voda

**Časová náročnost:** cca 30 minut příprava + 5 minut realizace

#### Postup:

Do Erlenmayerových baněk připravíme roztoky chemikálií tak, aby vytvořily barevné spektrum od fialové až po červenou. Fluorescein rozpustíme v 0,1M-NaOH, eosin Y a rhodamin B v ethanolu nebo destilované vodě, chininsulfát dihydrát v 0,1M- $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Fialovou barvu lze získat smícháním roztoku rhodaminu B a chininsulfát dihydrátu, tmavě červenou barvu pod UV zářivkou vytvoří roztok rhodaminu B v 0,1M- $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Místo chemikálií lze použít i barevné zvýrazňovače, které rozebereme a po zkoušce rozpustnosti (voda nebo ethanol) náplň necháme vyluhovat v příslušném rozpouštědle. Baňky následně seřadíme vedle sebe a pozorujeme na světle a ve tmě pod UV zářivkou. Vhodným smícháním lze vytvořit roztoky barev celého viditelného spektra.

#### 📌 *Poznámka:*

Pokus lze zrealizovat pouze s použitím barevné sady zvýrazňovačů, které rozebereme (pomůžeme si kombinačkami) a z náplní připravíme roztoky. Na trhu je v současné době řada odstínů tvořící celé spektrum: fialová, modrá, zelená, žlutá, oranžová, růžová, červená a další.

Při manipulaci s některými organickými barvivy je nutné použít ochranné rukavice.

## Závěr:

Tento experiment je typickou ukázkou fotoluminiscence některých organických barviv, které obsahují ve své molekule systém konjugovaných dvojných vazeb. Delokalizované elektrony jsou schopny absorbovat určité vlnové délky z oblasti UV záření, jako excitační zdroj je proto možné použít UV zářivku. Pohlcená energie je pak částečně vyzářena v podobě luminiscenčního záření o delších vlnových délkách než měl excitační zdroj. To vše se navíc děje za pokojové teploty. Jeden z možných výsledků experimentu znázorňuje obrázek 44.



**Obr. 44:** Porovnání luminiscenčních roztoků na světle a pod UV zářivkou (zleva: směs rhodaminu a chininsulfát dihydrátu, chininsulfát dihydrát, výluh ze zeleného zvýrazňovače, fluorescein, eosin Y, rhodamin B v ethanolu, rhodamin B v 0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

## 5.2 Difuze fluoresceinu ve vodě

Tento experiment netradiční formou prezentuje difuzi. Je vhodný především jako demonstrační pokus k výkladu difuze, lze jej však zařadit také k poutavé ukázce fotoluminiscence.

**Pomůcky:** velká kádinka, UV zářivka

**Chemikálie:** fluorescein, NaOH, destilovaná voda

**Časová náročnost:** 5 minut

### Postup:

Do velké kádinky nalijeme destilovanou vodu, ve které rozpustíme dvě pecky NaOH, a dobře promícháme. Ke kádince umístíme UV zářivku, zatemníme a na hladinu opatrně vsypeme malé množství fluoresceinu. Pozorujeme difuzi a luminiscenci rozpouštějící se látky.

#### 📌 *Poznámka:*

K pokusu lze použít jakýkoliv práškový luminofor ve vhodném rozpouštědle. Fluorescein je však nejvhodnější pro jeho snadnou dostupnost a dobrou „viditelnost“ experimentu – září intenzivní žlutozelenou barvou.

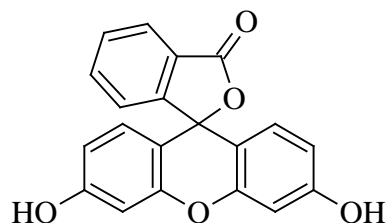
Pokus je možné provést ve dvou kádinkách vedle sebe se studenou a teplou vodou pro porovnání rychlosti difuze za rozdílných teplot rozpouštědla.

### Závěr:

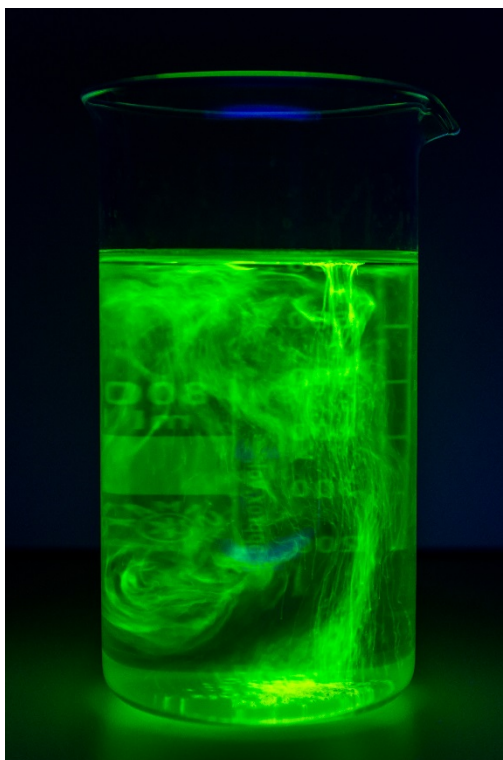
Vhozením špetky fluoresceinu (struktura viz obr. 45) na hladinu alkalického roztoku sledujeme pod UV zářivkou pomalé rozpouštění a difuzi látky do celého objemu rozpouštědla, přičemž vznikající roztok výrazně žlutozeleně luminiskuje (viz obr. 46). Pokud tento experiment provedeme na začátku vyučovací hodiny, můžeme nechat difuzi probíhat celou hodinu a na konci výuky ukázat, že se luminofor rovnoměrně rozptýlil v celém objemu – vznikl homogenní roztok. Pokud porovnáváme dvě kádinky vedle sebe s rozdílnou teplotou vody, je jasně patrné, že difuze v teplé vodě probíhá rychleji než ve studené. To je způsobeno větší kinetickou energií částic, které se mohou pohybovat rychleji, a četnější nárazy molekul způsobí rychlejší rozptýlení luminoforu do celého objemu roztoku.

Fluorescein se používá především ve fluorescenční mikroskopii, dále také v očním lékařství nebo v geografii ke zviditelnění říčních, podzemních a mořských proudů [2].

**Odkaz na video:** <https://youtu.be/1gUyVCY79z8>



**Obr. 45:** Struktura fluoresceinu.



Obr. 46: Difuze fluoresceinu ve vodě pod UV zářivkou.

### 5.3 Model zářivky, fosforescence

Tímto jednoduchým experimentem lze demonstrovat zároveň fotoluminiscenci i fosforescenci. Navíc lze na konstrukci pokusu velmi dobře popsat princip zářivky. Svým charakterem se experiment hodí do laboratorního cvičení. Inspirováno [20].

**Pomůcky:** zkumavka, držák na zkumavky, kahan, korková zátka, UV LED, třecí miska s tloučkem, špachtle, jehla, papírový ubrousek, zdroj stejnosměrného napětí, vodiče

**Chemikálie:** kyselina boritá, fluorescein

**Časová náročnost:** 25 minut

#### Postup:

Do třecí misky nasypeme kyselinu boritou a na špičku špachtle fluoresceinu v hmotnostním poměru asi 100 : 1 (postačí velmi malé množství). Tloučkem směs v digestoři dobře rozetřeme. Pokud nemáme k dispozici digestoř, pracujeme tak, abychom se nenadýchali dráždivých výparů kyseliny. Sypkou oranžovou směs poté uchovááme v prachovnici.

Dvě až tři lžičky směsi vsypeme do zkumavky, zkumavku uchytneme do držáku a pozvolna zahříváme nad kahanem do roztavení – ze zkumavky uniká vodní pára:





Oranžovou taveninu poté nakláněním zkumavky rozprostřeme pokud možno rovnoměrně po jejích stěnách alespoň do poloviny výšky zkumavky. Zahřívání ukončíme a zkumavku necháme pozvolna chladnout. Rychlým chladnutím dochází k rozpraskání kompaktní vrstvy boritého skla. Po vychladnutí vyklepeme ze zkumavky neroztavené zbytky práškové směsi a okraje zkumavky, kde sklo dobře neupělo, vyčistíme navlhčeným ubrouskem.

Korkovou zátku upravíme tak, aby pasovala do zkumavky, jehlou do ní uděláme dvě dírky na zastrčení kontaktů UV diody a LED následně k zátce připevníme tak, aby směřovala dovnitř zkumavky. Po zazátkování připojíme ke kontaktům diody vodiče (pozor na správnou polaritu, diodu musíme zapojit v propustném směru) propojené se zdrojem stejnosměrného napětí a diodu rozsvítíme. Nesmíme překročit prahovou hodnotu napětí, udávanou výrobcem konkrétní LED, abychom zabránili průrazu PN přechodu. Pozorujeme fotoluminiscenci borité vrstvy. Poté diodu zhasneme a sledujeme fosfoescenci.

### **Závěr:**

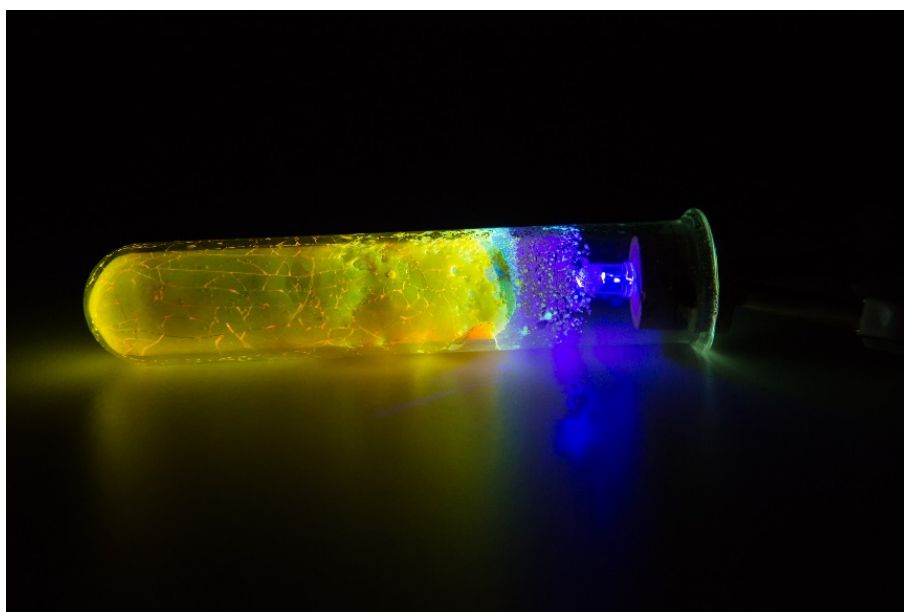
Roztavená prášková směs kyseliny borité a fluoresceinu vytváří kompaktní oranžovou vrstvičku, která drží na stěnách zkumavky, jak je patrné z obrázku 47. Po rozsvícení UV diody pozorujeme žlutou fotoluminiscenci boritého skla, viz obr. 48. UV záření excituje vrstvičku taveniny s fluoresceinem a ta část energie vysílá zpět v podobě fluorescenčního záření ve žluté oblasti spektra. Po zhasnutí diody lze sledovat dohasínání luminiscence, které trvá asi 2 s. Jedná se tedy o fosfoescenci.

Na tomto principu pracuje také klasická zářivka. Podlouhlé skleněné trubice plněné parami rtuti obsahují dvě žhavené elektrody, na které se vkládá napětí ze sítě. Po zažehnutí výboje v plynu dochází k záření rtuťových par především v neviditelné ultrafialové oblasti. Na vnitřní stěně trubice je však nanášena vrstvička vhodného luminoforu, který po absorpci UV záření luminiskuje ve viditelné oblasti spektra. Složením fotoluminiscence luminoforu s modrozelenou emisí rtuťových par, která částečně proniká stěnami trubice, vzniká odstín podobný bílému dennímu světlu [2].

**Odkaz na video:** <https://youtu.be/f9zQfIuhCqo>



**Obr. 47:** Zkumavka s roztaveným boritým sklem a korkovou zátkou s připevněnou UV diodou.



**Obr. 48:** Fotoluminiscence boritého skla po rozsvícení UV diody – model zářivky.

## 5.4 Fotoluminiscence minerálů

Tento experiment prezentuje zajímavou vlastnost některých minerálů, které obsahují vhodné příměsi.

**Pomůcky:** různé minerály z geologických sbírek, UV zářivka

**Chemikálie:** nejsou potřeba

**Časová náročnost:** 5 minut

**Postup:**

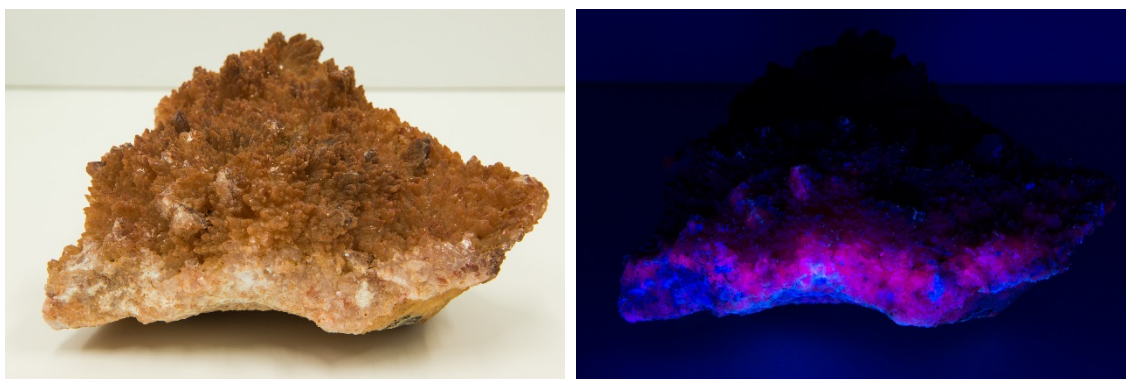
Vybrané minerály pozorujeme v zatemněné místnosti pod UV zářivkou.

**📌 Poznámka:**

Učitelé geologie většinou vědí o konkrétních minerálech vykazujících luminiscenci pod UV světlem. Zeptejte se, jestli takové kousky ve sbírkách mají.

**Závěr:**

Některé minerály vykazují barevnou fotoluminiscenci pod UV zářivkou. Ta je způsobena přítomností příměsí těžkých kovů či vyšších uhlovodíků ve struktuře minerálu. Tyto oblasti luminiskují různými barvami, jak je vidět na obrázcích 49 a 50.



**Obr. 49:** Kalcit pocházející z Vrančic u Příbrami. Luminiscence je způsobená příměsí olova a manganu.



**Obr. 50:** Sádrovec z Koberžic u Opavy. V tomto případě luminiscenci způsobují inkluze vyšších uhlovodíků.

## 5.5 Fotoluminiscence rostlin

Tento experiment má za úkol prokázat výskyt fotoluminiscenčních látek v přírodě okolo nás, konkrétně v rostlinách. Pokus lze použít jako demonstrační i žákovský.

V literatuře lze najít i další rostliny, které by měly obsahovat luminiskující látky, např. mařinka vonná, rozmarýn lékařský [21]. Koncentrace těchto látek je však často tak nízká, že se nám luminiscenci ve školních podmínkách nepodaří prokázat. Z tohoto důvodu jsou v experimentu vybrány pouze rostliny, které zaručeně „fungují“. Významným fotoluminiscenčním barvivem je rovněž chlorofyl. Poněvadž jeho luminiscence nelze dobře pozorovat na samotných zelených částech rostlin, je potřeba je vyextrahovat do rozpouštědla. Tento postup je uveden níže v experimentu 5.9.

**Pomůcky:** Petriho miska, nůž, větvička jírovce maďalu, vlašovičnick větší (celý), větvička vrby, UV zářivka, filtrační papír

**Chemikálie:** nejsou potřeba

**Časová náročnost:** cca 10 minut

### Postup:

Větvičku jírovce maďalu a vrby nařezeme ostrým nožem na malé kousky do Petriho misky a pozorujeme ve tmě pod UV zářivkou.

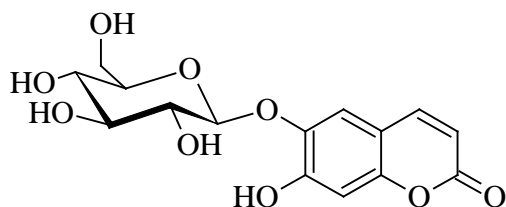
Mléko vytékající z odtržené části vlašovičnicku většího pozorujeme pod UV zářivkou a kreslíme jím po filtračním papíře.

☞ *Možné nezdary:*

Ve vrbových větvičkách může být problém najít místa s větší koncentrací luminiskujících látek. Je dobré loupat kůru nebo řezat celou větvičku pod UV zářivkou tak dlouho, dokud na oblast s luminiscencí nenarazíte.

### Závěr:

Větvičky i pupeny jírovce maďalu obsahují značné množství eskulinu (aesculinu), který po osvětlení UV zářivkou intenzivně modře luminiskuje (viz obr. 52). Eskulin je přírodní glykosid, obsahující sacharidovou složku vázanou na hydroxyderivát kumarinu, jak je vidět na obrázku 51.

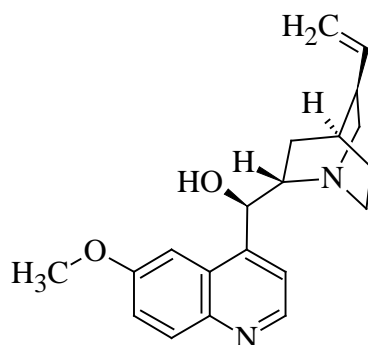


Obr. 51: Struktura eskulinu.



**Obr. 52:** Větvička jírovce maďalu (kaštanu) na světle a pod UV zářivkou.

Vrbová kůra obsahuje kromě jiných významných látek také malé množství chininu (struktura viz obr. 53), který pod UV zářivkou luminiskuje rovněž modrou barvou. Oblasti s výskytem chininu jsou patrné na obrázku 54.



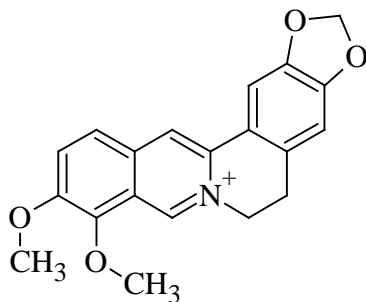
**Obr. 53:** Struktura chininu.



**Obr. 54:** Nařezané kousky vrbové větvičky na světle a pod UV zářivkou.

Celá rostlina vlašovičnicku v sobě obsahuje žlutooranžové mléko, které se objeví po odtrhnutí části rostliny. Nejlépe je pozorovatelné na utrženém stonku, kde po osvětlení UV zářivkou jasně žlutě luminiskuje, jak lze vidět na obr 56. Mléko obsahuje celou řadu alkaloidů, z nichž nejvýznamnější berberin (struktura viz obr. 55) z velké části zapříčiňuje žlutooranžovou barvu. Mléko lze vymačkat na filtrační

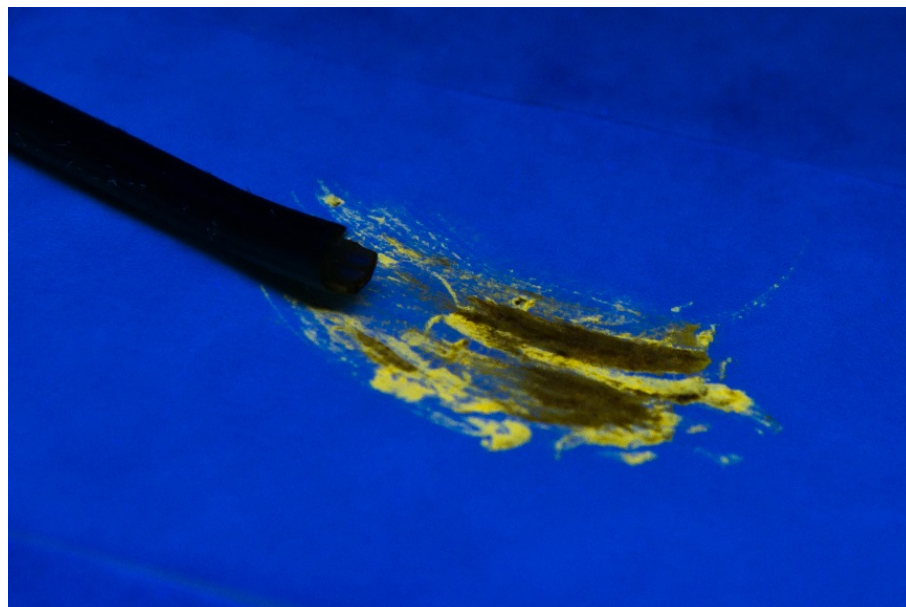
papír, který můžeme uschovat pro další použití. Luminiscence přetrvává i po vyschnutí mléka, což je patrné na obrázku 57.



Obr. 55: Struktura berberinu.



Obr. 56: Porovnání utrženého stonku vlašovičnicku na světle (vlevo) a detail vytékajícího mléka pod UV zářivkou.



Obr. 57: Mléko z vlašovičnicku na filtračním papíře pod UV zářivkou.

## 5.6 Difuze eskulinu ve vodě

Tento efektní pokus demonstruje přítomnost luminiskujících látek v rostlinách a zároveň netradičně prezentuje difuzi – pronikání eskulinu do celého objemu rozpouštědla. Inspirováno [21]

**Pomůcky:** 2× Petriho miska, nůž, větvička jírovce maďalu, UV zářivka

**Chemikálie:** ethanol, destilovaná voda

**Časová náročnost:** 15 minut

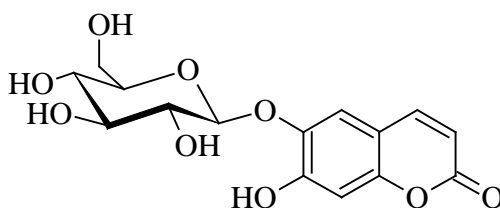
### Postup:

Do dvou Petriho misek nařezeme na kousky větvičku nebo pupen jírovce maďalu (kaštanu), zatemníme a rozsvítíme UV zářivku. Poté do jedné misky nalejeme destilovanou vodu a do druhé ethanol. Pozorujeme difuzi eskulinu, který se uvolňuje z nařezaných kousků rostliny. Po několika minutách misky porovnáme a vyhodnotíme, ve kterém rozpouštědle je difuze lépe pozorovatelná.

### Závěr:

Vložení nařezaných kousků větvičky nebo pupenů jírovce maďalu do Petriho misky s vodou, popř. s ethanolem dojde k difuzi modře luminiskujícího eskulinu do objemu rozpouštědla. Tento přírodní glykosid, obsahující sacharidovou složku vázanou na hydroxyderivát kumarinu, je znázorněn na obrázku 58. Je lépe rozpustný ve vodě, proto miska s ethanolem svítí méně. Výsledek pokusu je vidět na obrázku 59.

**Odkaz na video:** <https://youtu.be/yPWQbV4QVmk>



Obr. 58: Struktura eskulinu.



**Obr. 59:** Difuze eskulinu z kousků větvičky jírovce mađalu ve vodě.

## 5.7 Fotoluminiscence předmětů a výrobků okolo nás

Tento velmi jednoduchý experiment, kterým lze hravou formou proniknout do světa luminiscence všude okolo nás, se dá zařadit jako demonstrační, lépe však vynikne, pokud jej žáci mají možnost provádět samostatně. Zaručeně budou zaujatě bádát, které předměty luminiscenci vykazují, a z výsledků budou mnohdy velmi překvapeni. Inspiraci k těmto experimentům lze čerpat z různé literatury, např. [20].

**Pomůcky:** bílý oděv (chemický plášť), zvýrazňovače, kancelářský a filtrační papír, bankovky, jízdenky, doklady, cukr, prací prášek, fosforeskující hračky a předměty, ručičkový budík, UV zářivka

**Chemikálie:** nejsou potřeba

**Časová náročnost:** cca 10 minut

### Postup:

Pod UV zářivkou zkoumáme, které předměty denní potřeby vykazují luminiscenci, popř. fosforescenci. Odhadujeme, k jakému účelu tato skutečnost daným předmětům slouží.

### Závěr:

Žáci by měli zjistit, že pod UV zářivkou svítí:

- bílý chemický plášť a bílé části oděvů
- zvýrazňovače (napsaný text i samotný fix)
- kancelářský papír, poznámkové bločky křiklavých barev



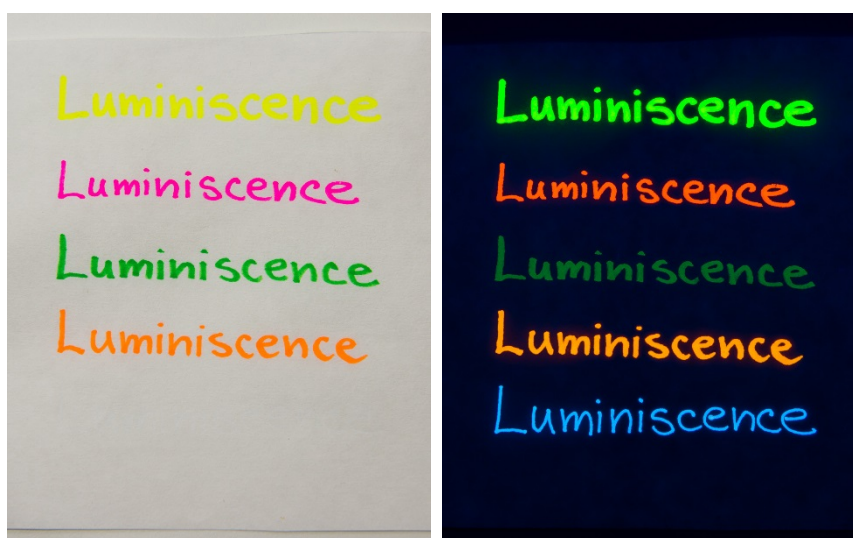
- ochranné prvky bankovek, osobních dokladů, jízdenek, stravenek atp.
- prací prášek
- předměty obsahující fosforeskující přísady (řetízky, ciferník a ručičky budíku atp.)

Dále by měli zjistit, že naopak nesvítí:

- filtrační papír
- cukr

Všechny luminiskující předměty obsahují různé typy luminoforů, které slouží nej-různějšímu účelu. Tak například bílý oděv obsahuje opticky aktivní látky, tzv. zjasňovače, aby „bílá bílá byla“ [21].

Náplně zvýrazňovačů jsou tvořeny celou řadou syntetických luminoforů. Jmenujme třeba křiklavě žlutý pyranin, fluorescein, tzv. „acid blue 9“ z řady trifenylmethanových barviv s modrou barvou, jejich kombinací dostaneme barvu křiklavě zelenou; smícháním xanthenových a kumarinových derivátů se vyrábí luminofory oranžového odstínu, růžový zvýrazňovač obsahuje například rhodamin B atd. [22]. Nejinak tomu bude v případě samotných plastových obalů zvýrazňovačů nebo malých barevných poznámkových bločků, na které si píšeme důležité poznámky a úkoly. Text podbarvený zvýrazňovači nám razí do očí za denního světla. Pod UV zářivkou se jeho luminiscence ještě zesílí, jak je vidět na obrázku 60.



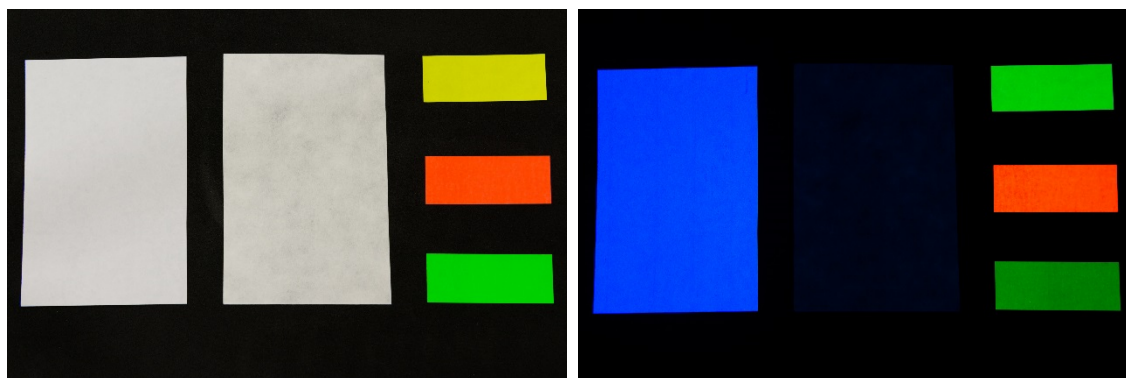
**Obr. 60:** Text napsaný pomocí zvýrazňovačů na světle a pod UV zářivkou.

Poslední řádek na obrázku 60 není na světle viditelný. Text je v tomto případě napsán speciálním fixem, který je k dostání v papírnictví. Jedná se o sadu firmy Centropen spolu s malou svítilnou tvořenou UV diodou (viz obr. 61).



**Obr. 61:** Bezpečnostní UV sada – neviditelný fix (Centropen).

Je možná překvapující, že pod UV zářivkou „svítí“ i obyčejný kancelářský papír, kdežto filtrační papír najednou „není vidět“. Za vším opět hledejme opticky aktivní přísady, které mají za úkol zjasnit na denním světle bílou barvu. V případě kancelářského papíru se jedná konkrétně o deriváty kyseliny 4,4'-diaminostilben-2,2'-disulfonové, známé spíše pod komerčním názvem Rylux [21]. U filtračního papíru žádné bělicí přísady nejsou potřeba, proto nejeví známky fotoluminiscence, jak lze vidět na obrázku 62.



**Obr. 62:** Kancelářský papír (vlevo), filtrační papír (uprostřed) a barevné záložky na světle (vlevo) a pod UV zářivkou.

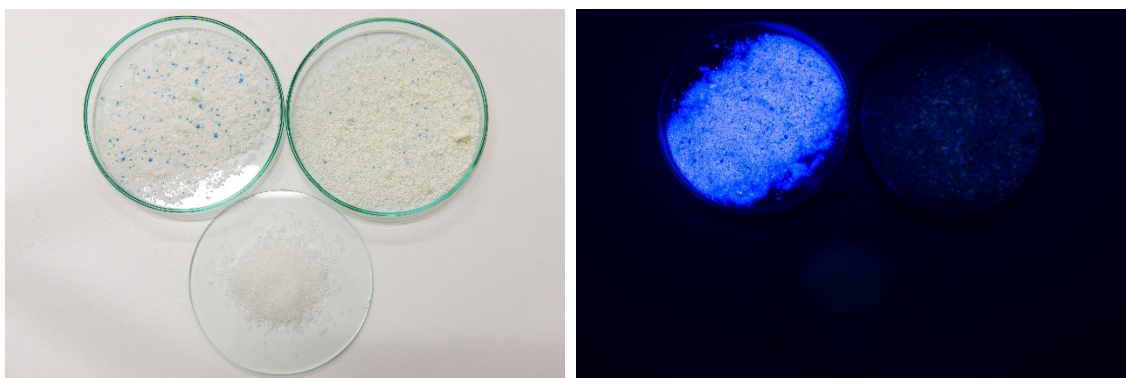
Co mají společného bankovky, osobní doklady (občanský průkaz, řidičský průkaz, pas atd.), jízdenky Českých drah či MHD, nebo stravenky do restaurací? Odpověď zní zase stejně: luminiscenční přísady. V tomto případě se tyto látky používají jako ochranné prvky, které na denním světle nejsou vidět. Člověk o nich často vůbec neví. Velmi zajímavý pohled se nám pak naskytne, pokud tyto předměty

osvítíme UV světlem, jak znázorňuje obrázek 63. Je zřejmé, že padělat tyto ochranné prvky není možné, tudíž dobře slouží svému účelu.



**Obr. 63:** Otevřený pas ČR na světle a pod UV zářivkou.

A jak vypadá porovnání pracího prášku a krystalového cukru? Z obrázku 64 je na první pohled zřejmé, že prací prášky opět obsahují optické zjasňovače, které zapříčiňují jeho silnou luminiscenci. I v prášku do myčky lze najít zrníčka, která slabě luminiscují, zato krystalový cukr luminiscenci nevykazuje.



**Obr. 64:** Srovnání pracího prášku (vlevo nahoře), prášku do myčky (vpravo nahoře) a krystalového cukru (dole) na světle a pod UV zářivkou.

Velmi důležitá skutečnost, která by žákům neměla uniknout, je délka trvání luminiscence. Ve většině případů je zřejmé, že luminiscenci lze pozorovat pouze za přítomnosti budícího zdroje záření, v tomto případě UV zářivky. Po jejím vypnutí luminiscence okamžitě ustává. Tento typ luminiscence označujeme *fluorescencí*. Jinak je tomu v případě řetízků či ciferníku a ručiček budíku, kde luminiscence přetrvává i po vypnutí excitačního zdroje. Tento typ luminiscence nazýváme *fosforescencí* a přetrvává od několika sekund až po hodiny.

## 5.8 Fotoluminiscence buzená laserovými ukazovátky

Tímto zajímavým experimentem lze rychle, snadno a efektivně zkoumat přítomnost fluorescenčních látek v libovolných kapalinách. Pokus se přímo nabízí do laboratorního cvičení, jedinou nevýhodou je potřeba většího množství laserových ukazovátek, která nejsou nejlevnější záležitostí. Navíc ve spojení se školním spektrometrem Vernier SpectroVis Plus a volitelným doplňkem Vernier Optical Fiber lze měřit fluorescenční spektrum při použití takových excitačních zdrojů, kterými školní spektrometr nedisponuje<sup>3</sup>. Inspirováno [23], [24].

**Pomůcky:** malé kádinky, laserová ukazovátka (modrofialové 405 nm, zelené 532 nm, červené 650 nm), slunečnicový olej, olivový olej a další kapaliny, Vernier SpectroVis Plus, Vernier Optical Fiber

**Chemikálie:** nejsou potřeba

**Časová náročnost:** 5 minut

### Postup:

Do malých kádinek nalijeme připravené kapaliny a svítíme na ně laserovými ukazovátky všech tří barev. Pozorujeme, zda dochází ke změně barvy laserového paprsku při průchodu kapalinou. Porovnáme vedle sebe kádinky se slunečnicovým a olivovým olejem, které prosvítíme naskrz jedním paprskem.

Pokud máme k dispozici spektrometr Vernier SpectroVis Plus a světelné vlákno Vernier Optical Fiber, připojíme spektrometr k počítači, spustíme program Logger Pro, změníme jednotky na Intenzitu (práce se spektrometrem viz kapitola 3 v teoretické části práce) a světelné vlákno zasuneme správnou stranou do držáku kyvet. Spustíme měření a druhý konec přidržujeme u kádinky kolmo na procházející laserový paprsek tak, aby do vlákna vstupovalo fluorescenční záření roztoku. Pozorujeme výsledné spektrum, popř. upravíme vzorkovací čas.

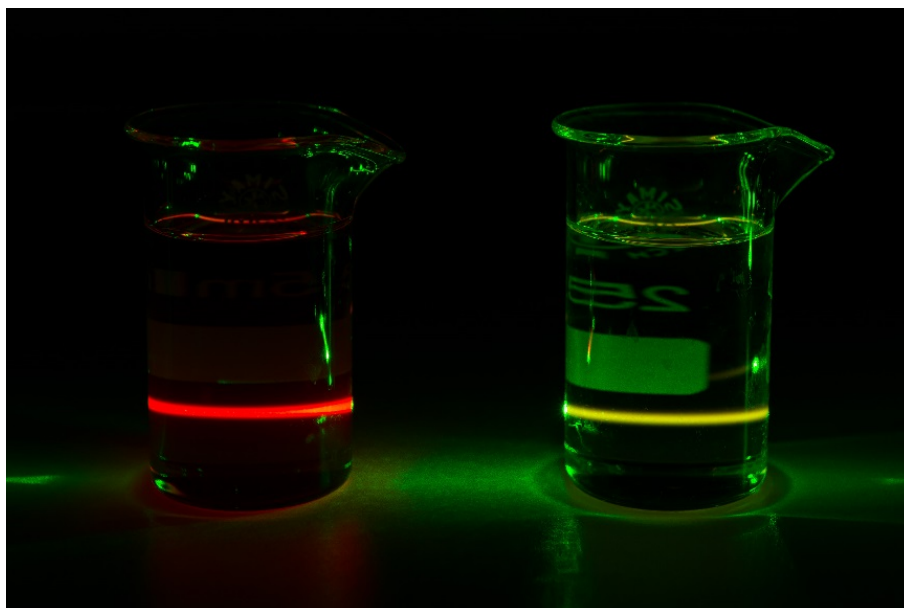
### Závěr:

Laserový paprsek o určité vlnové délce funguje jako excitační zdroj. Po absorpci záření roztokem dochází v přítomnosti luminoforu k jeho excitaci a následné fluorescenci, přičemž vlnová délka tohoto záření je vyšší než měl laserový paprsek.

V případě slunečnicového a olivového oleje by žáci měli zjistit, že olivový olej mění barvu zeleného laserového paprsku v červenou, což se u slunečnicového oleje neděje, viz obr. 65.

---

<sup>3</sup> Školní spektrometr Vernier SpectroVis Plus obsahuje dva excitační světelné zdroje k měření fluorescenčních spekter o vlnových délkách 405 nm a 500 nm.



**Obr. 65:** Porovnání fluorescence olivového (vlevo) a slunečnicového (vpravo) oleje při použití zeleného laserového ukazovátka (532 nm).

Modrý paprsek naopak excituje i slunečnicový olej a jeho barva se mění ve světle modrou, v případě oleje olivového v temně červenou. Navíc paprsek proniká jen necelý centimetr do oleje, kde je úplně absorbován, jak lze vidět na obrázku 66.



**Obr. 66:** Porovnání fluorescence olivového (vlevo) a slunečnicového (vpravo) oleje při použití modrofialového laserového ukazovátka (405 nm).

Pokud na oleje posvítíme červeným laserovým ukazovátkem, zjistíme, že v oleji slunečnicovém není paprsek vůbec viditelný, ale v olivovém oleji je jasně červený. Červené zabarvení paprsků v případě olivového oleje je způsobeno přítomností

chlorofylů, které mají absorpční maximum v modré a červené oblasti spektra vlnových délek cca 610 nm až 640 nm a fluoreskují rovněž v červené oblasti viditelného spektra s maximem o vlnové délce kolem 675 nm. Slunečnicový olej chlorofyl neobsahuje, z toho důvodu tuto změnu nepozorujeme. Přítomnost vitamínu E však způsobí změnu barvy modrofialového ukazovátka ve světle modrou.

Obdobným způsobem lze zkoumat roztoky syntetických luminoforů i extrakty přírodních látek. Snadno a rychle zjistíme, jestli roztoky vykazují fluorescenci, jejíž spektrum bychom mohli měřit. K měření fluorescenčních spekter roztoků dobře poslouží experiment 5.9.

## 5.9 Měření fluorescenčních spekter roztoků

Tento experiment je analogií předchozího pokusu 5.8. Je inspirován některými pokusy z [25]. Odlišnost spočívá v excitačním zdroji – místo laserových ukazovátek použijeme diody zabudované ve spektrometru Vernier SpectroVis Plus, určené k měření fluorescenčních spekter roztoků.

**Pomůcky:** školní spektrometr Vernier SpectroVis Plus, PC nebo Vernier LabQuest, kyveta transparentní ze všech čtyř stran ( $l = 10$  mm, nejlépe křemenná), malá neprůsvitná krabice na přikrytí spektrometru (např. papírová), papírové ubrousky

**Chemikálie:** roztoky vzorků

**Časová náročnost:** cca 30 minut příprava vzorků + 15 minut měření

### Postup:

Nejprve připravíme vzorky k měření. Příprava roztoků vzorků je uvedena níže.

Pokud máme nachystáno, propojíme spektrometr Vernier SpectroVis Plus pomocí přiloženého USB kabelu s počítačem (nebo s dataloggerem LabQuest) a spustíme program Logger Pro, popř. bezplatnou verzi Logger Lite (pro jednoduchost bude následující postup uveden pro práci na PC v programu Logger Pro, postup v dataloggeru se může mírně lišit). Program automaticky rozpozná připojené zařízení a nastaví nové měření. Změníme jednotky na Fluorescence 405 nm nebo Fluorescence 500 nm podle požadovaného excitačního zdroje. Do kyvety nalijeme asi 2,5 ml vzorku a umístíme ji do držáku kyvet ve spektrometru. Spustíme sběr dat a podle naměřeného spektra případně upravíme parametry měření (nastavení spektrometru pro měření – viz kapitola 3 v teoretické části práce). Vzorek proměříme s použitím obou excitačních zdrojů, můžeme změřit i jeho absorpenci (v tomto případě je však nutné provést kalibraci spektrometru, popis měření absorpčních

spekter by přesahoval rámec této práce). Pokud jsme s výsledkem spokojeni, naměřené spektrum uložíme. Kyvetu dobře omyjeme a necháme vykapat obrácenou dnem vzhůru na papírovém ubrousku.

Následující text popisuje přípravu vzorků pro měření. Vyberte si takové, které máte snadno k dispozici.

### 5.9.1 Přírodní fluorescenční barviva

**Pomůcky:** kurkuma, špenát (mražený), větvičky nebo pupeny jírovce maďalu, kořen nebo větvičky dříváku, riboflavin, olivový olej, limonáda tonik obsahující chinin, třecí miska s tloučkem, stojan, filtrační kruh, filtrační nálevka, skleněné tyčinky, filtrační papír, kádinky, mořský písek, nůž

**Chemikálie:** ethanol, aceton, destilovaná voda

#### ❗ *Poznámka:*

Kurkuma je významné oranžové koření, používané v asijské kuchyni. Je snadno k dostání v obchodních řetězcích. Přidává se rovněž do kari koření, kde způsobuje jeho sytě oranžovou barvu.

Dřívák (*Berberis*) je velmi běžný okrasný keř. Vyskytuje se v mnoha barevných varietách a poznáme jej snadno podle trnitých stonků, malých listů a kulovitých nebo protáhlých červených, popř. modrých plodů.

Riboflavin seženeme ve formě tablet v lékárnách. Jedná se o vitamin B<sub>2</sub>, rozpustný ve vodě.

#### **Postup:**

Půl lžičky kurkumy nasypeme do malé kádinky a přidáme asi 50 ml ethanolu. Skleněnou tyčinkou dobře promícháme a po několika minutách zfiltrujeme na filtrační aparatuře.

Asi půl lžičky mraženého špenátu rozetřeme ve třecí misce se špetkou mořského písku v homogenní směs. Poté přidáme malé množství acetonu a pokračujeme v roztírání. Místo acetonu lze použít také ethanol (především v případě, pokud aceton leptá stěny kyvety). Následně přidáme asi 50 ml acetonu, promícháme a směs zfiltrujeme na filtrační aparatuře. Vzorek pro měření zředíme použitým rozpouštědlem tak, aby byl světle zelený.

Větvičky a pupeny jírovce maďalu (kaštanu) nařežeme ostrým nožem na malé kousky a necháme je vyluhovat v 50 ml destilované vody. Můžeme použít také ethanol. Směs poté zfiltrujeme na filtrační aparatuře.

Kořeny a větvičky dříví nařezáme nožem na malé kousky (pozor na trny!) a necháme vyluhovat v 50 ml ethanolu. Směs poté zfiltrujeme na filtrační aparatuře.

Dvě tablety riboflavinu vyloupneme z plata a rozdrtíme ve třetí misce na prášek. Přidáme trochu destilované vody a pokračujeme v roztírání. Směs poté rozředíme asi na 50 ml a zfiltrujeme na filtrační aparatuře. Lze rovněž připravit ethanolický roztok.

S ostatními vzorky pracujeme přímo bez předchozí úpravy (olivový a slunečnicový olej, limonáda tonik).

### 5.9.2 Syntetická fluorescenční barviva

**Pomůcky:** kádinky, skleněné tyčinky, zvýrazňovače, kombinačky

**Chemikálie:** fluorescein, eosin Y, eosin B, fenolftalein, rhodamin B, chininsulfát dihydrát, berberin, fuchsin bazický, NaOH, ethanol, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, destilovaná voda

① *Poznámka:*

Pokud nemáme k dispozici chemikálie, použijeme obyčejné zvýrazňovače. Pomocí kombinaček je rozebereme a náplně i s hrotem necháme vyluhovat v destilované vodě, příp. v ethanolu. Vzorky před měřením vhodně naředíme.

**Postup:**

Na špičku špachtle fluoresceinu rozpustíme ve 100 ml ethanolu nebo 0,1M-NaOH. Rozpustnost v hydroxidu je větší než v ethanolu, koncentrovaný roztok má zářivě oranžovou barvu.

Eosin Y a B připravíme podobným způsobem. Nejvhodnějším rozpouštědlem je ethanol, v hydroxidu je jeho barva tmavší a časem bledne.

Rhodamin B rozpustíme v ethanolu nebo destilované vodě. Pokud chceme připravit tmavě růžový až červený roztok, použijeme 0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Dihydrát chininsulfátu rozpustíme v 0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lze použít také zředěnou HCl. Látka je rozpustná i v ethanolu, roztok však vykazuje nízkou fluorescenci.

Berberin rozpustíme v ethanolu. V methanolu je látka nerozpustná, podobně se chová i ve vodě.

Fuchsin rozpustíme v 0,1M-HCl. Připravený roztok několik minut mícháme, pozorujeme, jak tmavne (je na světle nestálý).

☞ *Tip:*

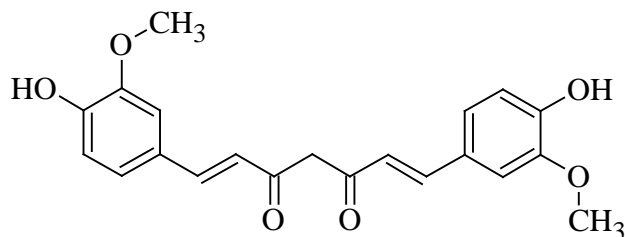
Porovnejte fluorescenční spektra alkalických roztoků fluoresceinu, fenolftaleinu, eosinu Y a eosinu B s jejich strukturou. Pokuste se interpretovat zjištěné závěry.



Vzorek fenolftaleinu připravíme tak, že na špičku špachtle této látky rozpustíme v 10 ml ethanolu a poté přidáme 0,1M-NaOH.

### Závěr:

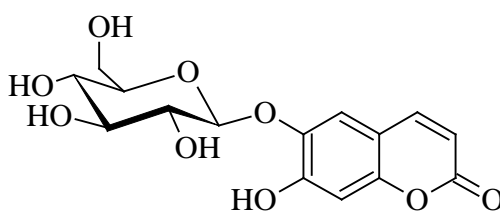
Vzorek připravený z kurkumy má sytě žlutou barvu, obsahuje barvivo kurkumin, jehož struktura je znázorněna na obr. 67. Roztok fluoreskuje ve žlutozelené oblasti viditelného spektra, možná podoba naměřeného spektra je uvedena v příloze, kapitola 10.



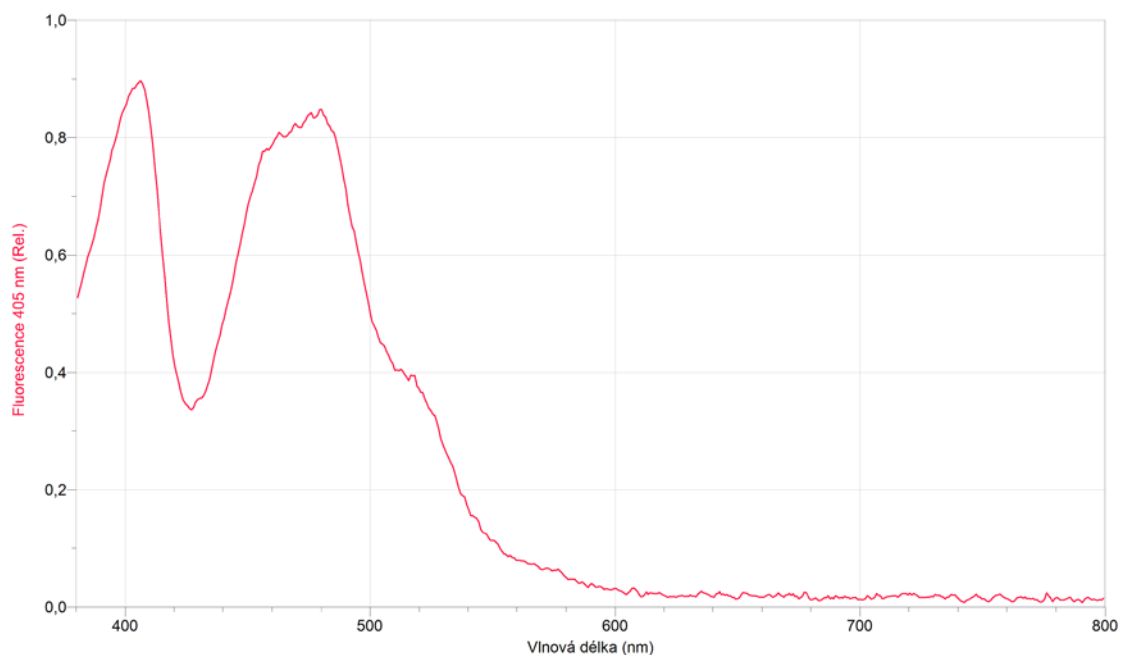
Obr. 67: Struktura kurkuminu.

Acetonový výluh ze špenátu obsahuje značné množství chlorofylů, které způsobují jeho sytě zelenou barvu. Vzorek je nutno naředit tak, aby byl jen světle zelený, koncentrovaný roztok má špatnou odezvu na detektoru. Fluorescence se objevuje v červené oblasti viditelného spektra, podobně jako v případě olivového oleje, viz níže.

Větvičky a pupeny jírovce maďalu obsahují eskulin, který po excitaci zářením vhodné vlnové délky světla modře fluoreskuje. Struktura této látky je znázorněna na obr. 68. Skládá se ze sacharidové složky, která je navázaná na hydroxyderivát kumarinu.



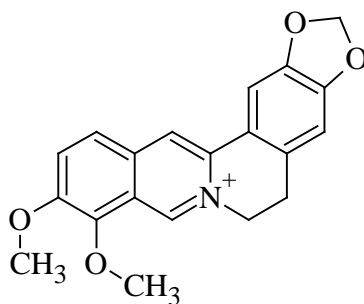
Obr. 68: Struktura eskulinu.



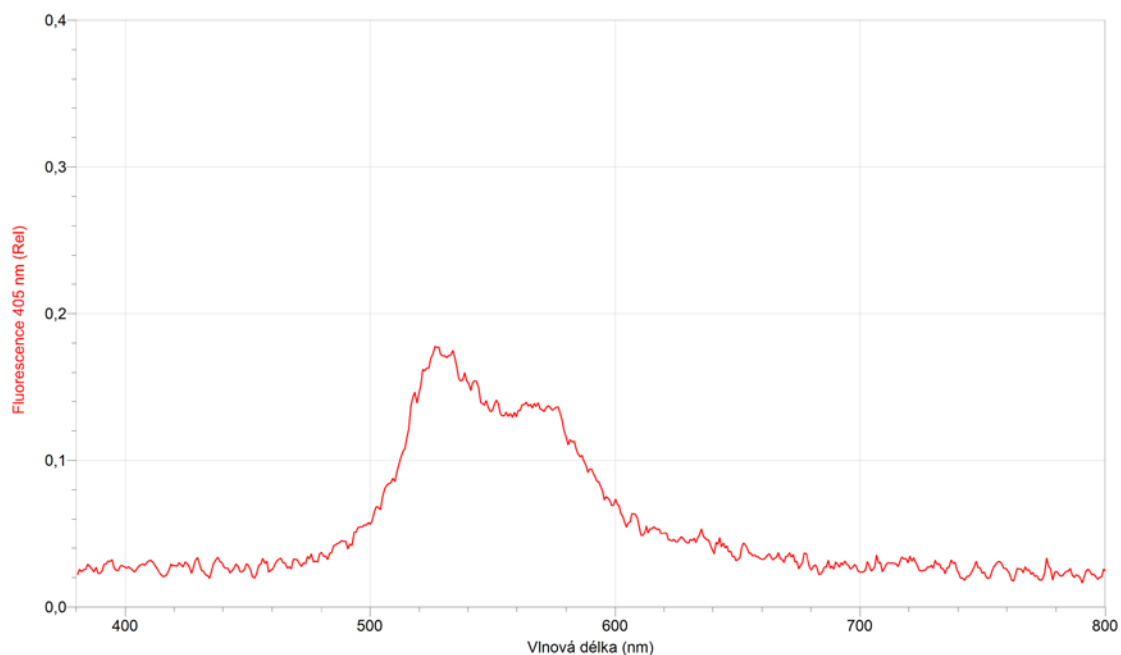
**Obr. 69:** Naměřené fluorescenční spektrum extraktu z jírovce maďalu ve vodě při použití excitačního zdroje a vlnové délce 405 nm.

Na obrázku 69 je vidět naměřené fluorescenční spektrum eskulinu ve vodě při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm. Pokud použijeme záření o vlnové délce 500 nm, fluorescenci ve spektru nepozorujeme, neboť toto záření nemá dostatečnou energii k excitaci fluoroforu. Z naměřeného spektra je zřejmé, že první pík patří samotnému excitačnímu zdroji o vlnové délce 405 nm, maximum fluorescence eskulinu ve vodě se objevuje okolo vlnové délky 470 nm. Této vlnové délce přísluší světlo modrá barva, o čemž se můžeme snadno přesvědčit pohledem na kyvetu ve spektrometru během měření.

Berberin je významný přírodní alkaloid, obsažený v mnoha našich rostlinách (např. vlašovičník, dřšťál, řebříček). Izoluje se z rostlin čeledi dřšťálovitých, chromatograficky čistí a prodává. V ethanolu vytváří žlutý roztok, který slabě žlutě fluoreskuje. Struktura berberinu je uvedena na obrázku 70 a jeho fluorescenční spektrum na obrázku 71.

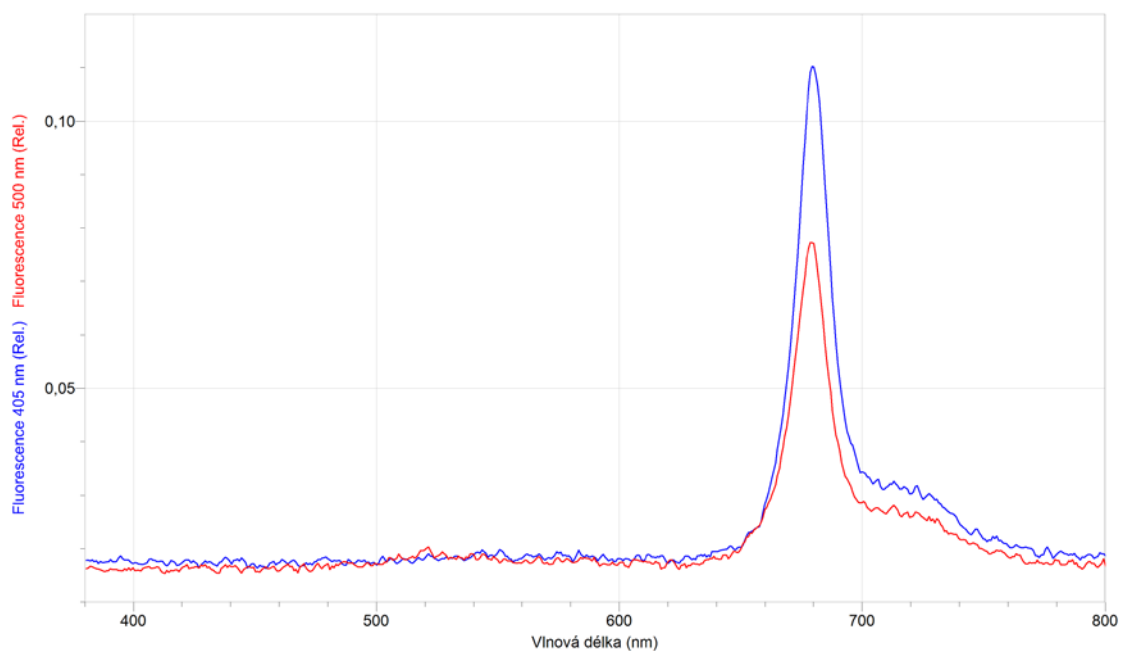


**Obr. 70:** Struktura berberinu.



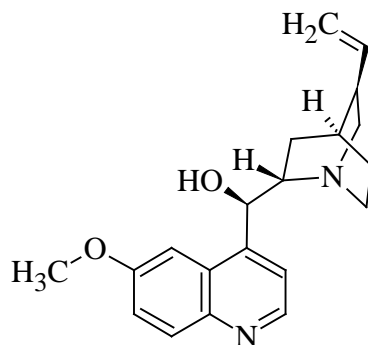
**Obr. 71:** Naměřené fluorescenční spektrum ethanolického roztoku berberinu při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm.

Olivový olej obsahuje malé množství chlorofylu, který způsobuje fluorescenci v červené oblasti viditelného spektra. Maximum se pohybuje okolo vlnové délky 680 nm. V případě slunečnicového oleje toto chování nepozorujeme. Fluorescenční spektrum olivového oleje je na obrázku 72.



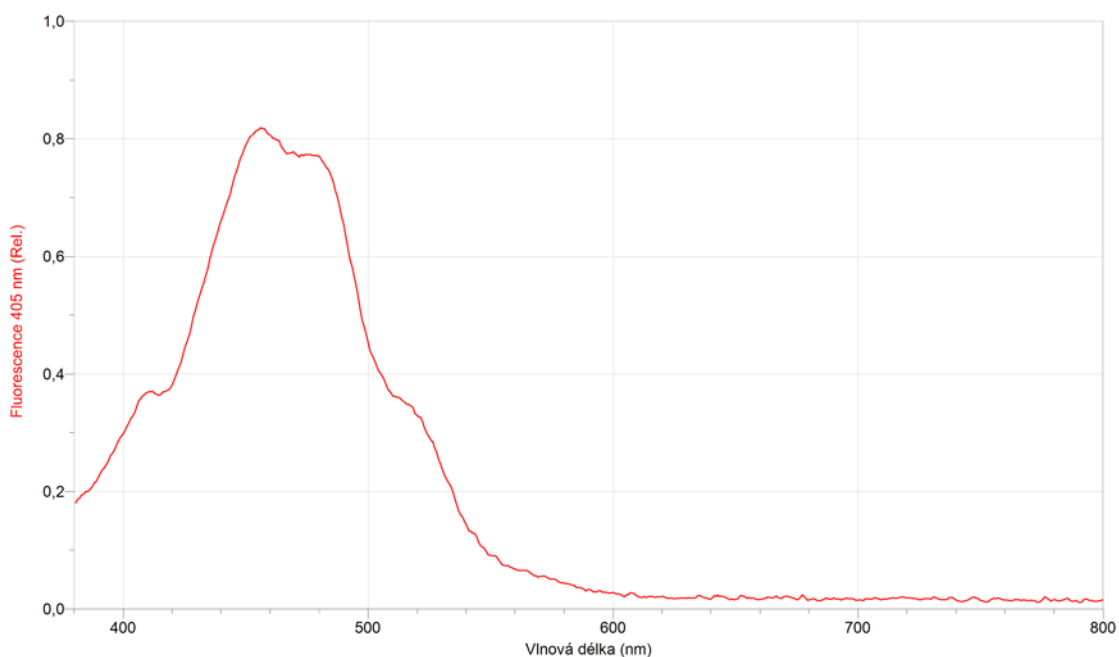
**Obr. 72:** Naměřené fluorescenční spektrum panenského olivového oleje při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (modrá křivka) a 500 nm (červená křivka).

Limonády tonik s obsahem chininu fluoreskují po vhodné excitaci v modré oblasti viditelného spektra. Struktura chininu je znázorněna na obr. 73.



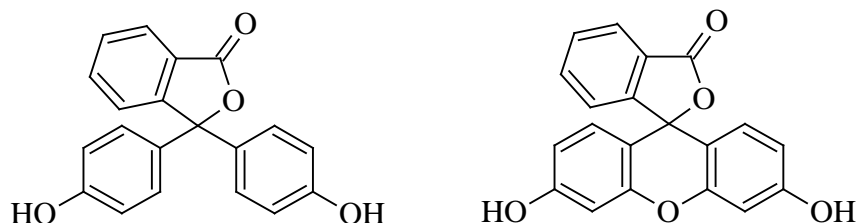
Obr. 73: Struktura chininu.

Naměřené fluorescenční spektrum limonády tonik obsahující chinin je velmi podobné spektru samotného chininu, uvedeného v příloze, kap. 10. Je zřejmé, že fluorescenční spektrum limonády na obr. 74 vykazuje široké maximum s nejvyšší hodnotou fluorescence okolo vlnové délky 455 nm. Tomu odpovídá modrá barva, která je dobře pozorovatelná i pod UV zářivkou. Při použití excitačního zdroje o vlnové délce 500 nm se fluorescence chininu neobjevuje, ve spektru pozorujeme pouze pík samotného budícího zdroje.



Obr. 74: Naměřené fluorescenční spektrum limonády tonik při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm.

Fluorescein, fenolftalein, eosin Y a B i rhodamin B mají velmi podobnou strukturu. Liší se však funkčními skupinami na fenolových jádrech, které jsou příčinou jejich rozdílných vlastností. Strukturální vzorce těchto látek jsou uvedeny na obrázcích níže.



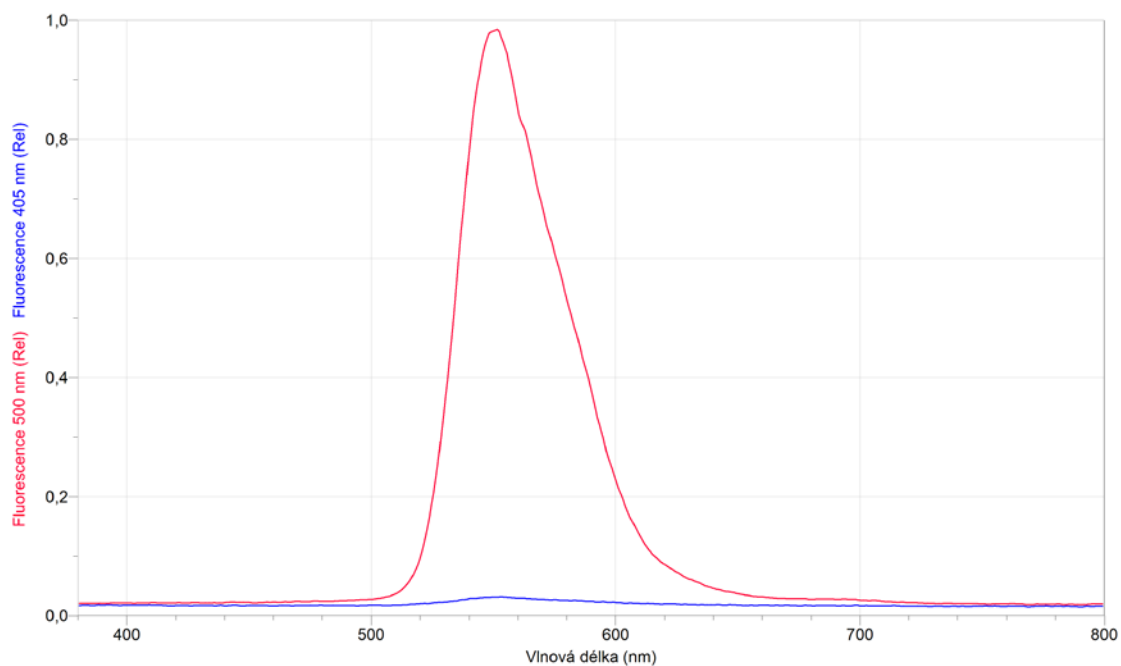
**Obr. 75:** Struktura fenolftaleinu (vlevo) a fluoresceinu (vpravo).

Z obrázku 75 je zřejmé, že fluorescein se od fenolftaleinu liší přítomností kyslíkového můstku mezi fenolovými jádry. Ten je příčinou rozdílných vlastností této látky a látek od něj odvozených. Alkalické roztoky obou látek jsou barevné, fenolftalein však nevykazuje fluorescenci, jak je patrné na obrázku 76. Fluorescein se používá především ve fluorescenční mikroskopii, dále také v očním lékařství nebo v geografii ke zviditelnění říčních, podzemních a mořských proudů [2].



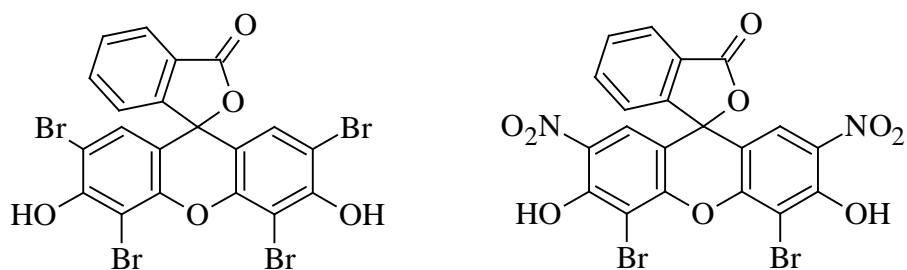
**Obr. 76:** Srovnání alkalických roztoků fluoresceinu a fenolftaleinu (pravá baňka) na světle a pod UV zářivkou.

Eosin Y a eosin B jsou luminofory, které v ethanolu vytvářejí oranžový roztok. Alkalické roztoky mají tmavší barvu, přičemž eosin B má vždy tmavší odstín než eosin Y, je zabarven do červena a vykazuje nižší intenzitu fluorescence. Oproti molekule fluoresceinu se eosiny liší navázanými funkčními skupinami – brom, popř. nitroskupinou. Naměřené fluorescenční spektrum ethanolického roztoku eosinu Y znázorňuje obrázek 77.



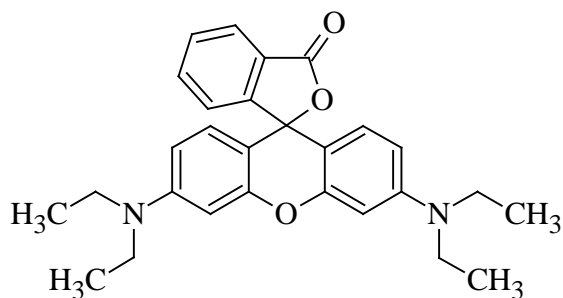
**Obr. 77:** Naměřené fluorescenční spektrum ethanolického roztoku eosinu Y při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (modrá křivka) a 500 nm (červená křivka).

Oba roztoky fluoreskují ve žlutooranžové oblasti viditelného spektra, přičemž intenzita fluorescence eosinu B je velmi slabá, na demonstrační účely se tato látka nehodí. Eosiny se používají v mikroskopii k obarvení preparátů; jejich struktura je znázorněna na obr. 78.

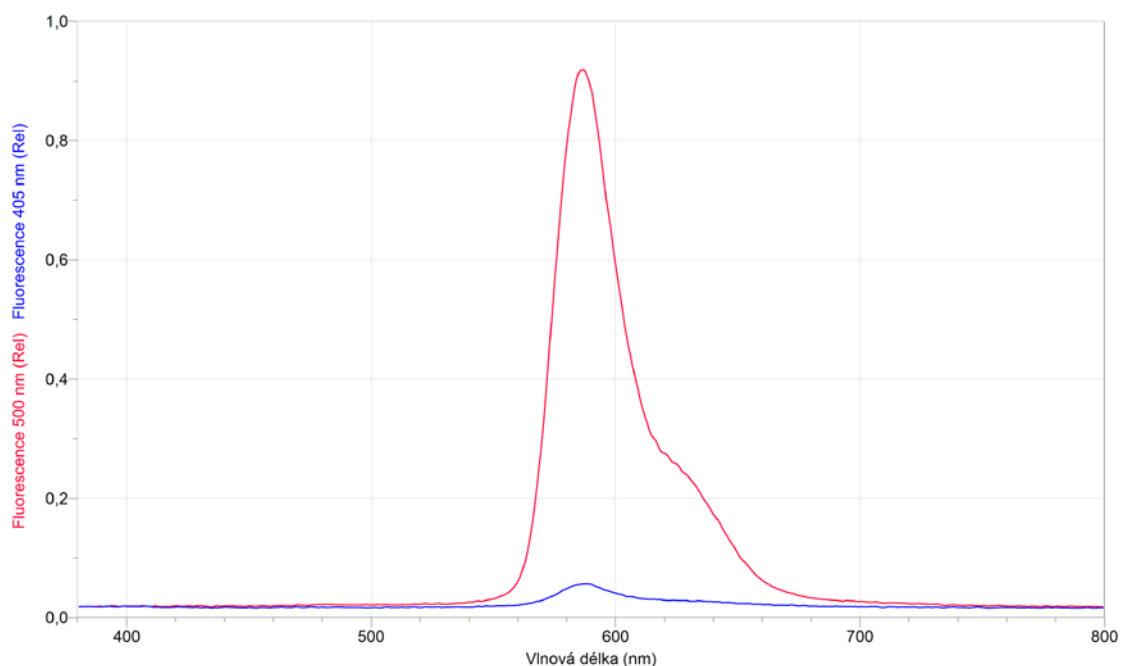


**Obr. 78:** Struktura barviv eosinu Y (vlevo) a B (vpravo).

Rhodamin B je rovněž využíván jako značkovací barvivo v biologii a fluorescenční mikroskopii. Na základním skeletu molekuly jsou navázány dvě diethylaminové skupiny, jak je vidět na obrázku 79. Připravené roztoky mají sytě růžovou až růžově červenou barvu, barva fluorescence spadá do oranžové až oranžovočervené oblasti spektra. Kyselé roztoky vykazují maximum fluorescence v oblasti vyšších vlnových délek než roztoky ethanolické či vodné. Spektrum kyselého roztoku je znázorněno na obrázku 80.



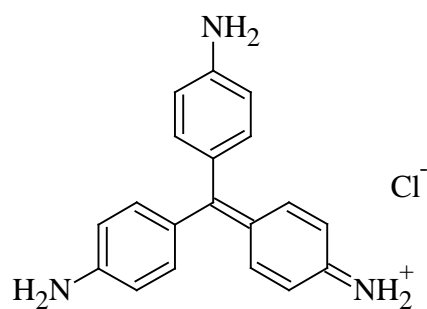
Obr. 79: Struktura rhodaminu B.



Obr. 80: Naměřené fluorescenční spektrum roztoku rhodaminu B v 0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (modrá křivka) a 500 nm (červená křivka).

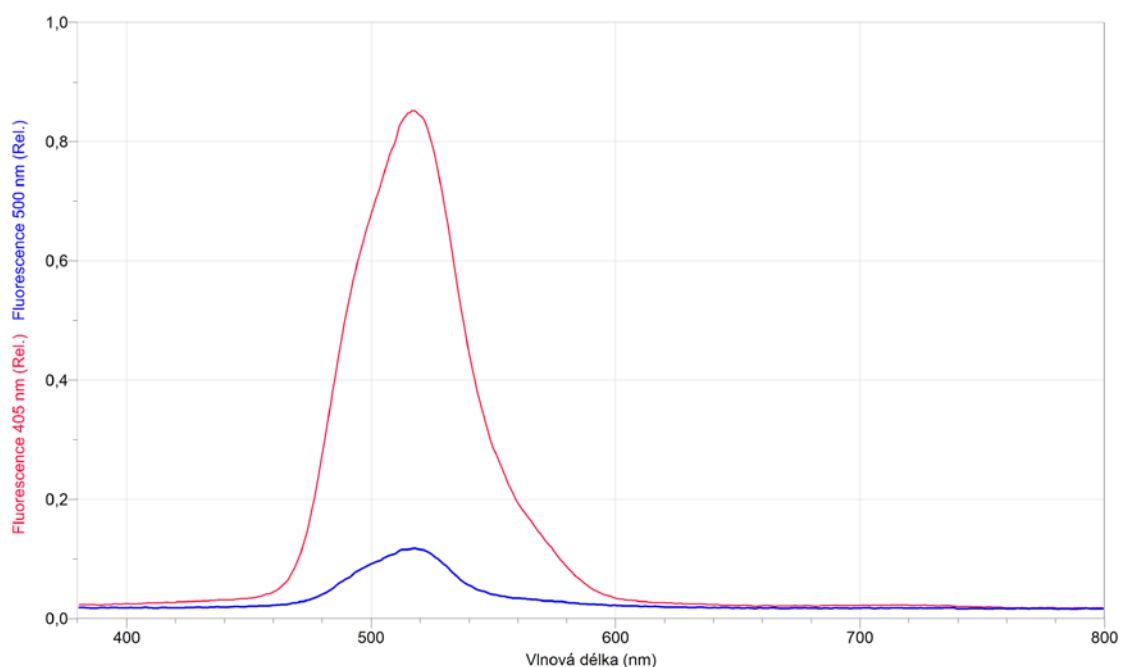
Chininsulfát dihydrát, jedna ze standardních látek chininu, vykazuje fluorescenci v oblasti vlnových délek modré barvy. Struktura chininu je zobrazena výše na obr. 73. Fluorescenční spektrum této látky je uvedeno v příloze, kap. 10.

Fuchsin, v krystalické podobě tmavozelený prášek s kovovým leskem, vytváří purpurově červený roztok. Používá se rovněž k barvení mikroskopických preparátů. V kyselém roztoku (0,1M-HCl) vykazuje slabou fluorescenci překvapivě ve žluté oblasti spektra, jak je patrné z obrázku v příloze, kap. 10. Struktura fuchsinu je znázorněna na obrázku 81 níže.



**Obr. 81:** Struktura bazického fuchsinu.

Jestliže nemáme k dispozici syntetická barviva, prozkoumáme alespoň snadno dostupné náplně zvýrazňovačů. Tak například fluorescenční spektrum zeleného zvýrazňovače, vyluhovaného v destilované vodě, znázorňuje obrázek 82.



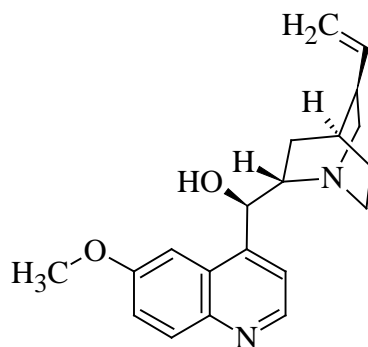
**Obr. 82:** Naměřené fluorescenční spektrum roztoku zeleného zvýrazňovače při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (červená křivka) a 500 nm (modrá křivka).

Nyní si ještě položíme otázku, co mají všechny tyto látky společného. Pokud pohlédneme na jejich struktury na obrázcích výše, všimneme si, že obsahují ve svých molekulách systém konjugovaných dvojných vazeb. Delokalizované elektrony jsou schopny absorbovat určité vlnové délky elektromagnetického záření. Pohlcená energie je pak částečně vyzářena zpátky v podobě luminiscenčního záření o delších vlnových délkách než měl excitační zdroj. To vše se navíc děje za pokojové teploty.



## 5.10 Fluorescenční stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik

Chinin je přírodní alkaloid nacházející se v kůře stromu chininovníku. Jeho struktura je znázorněna na obrázku 83. Pro jeho hořkou chuť se používá do oblíbených nápojů s názvem tonik (tonic). Díky fluorescenčním vlastnostem chininu za určitých podmínek je možné stanovit jeho koncentraci v roztoku pomocí školního spektrometru Vernier SpectroVis Plus. Fluorescenční spektrum chininu má široké maximum s nejvyšší hodnotou okolo vlnové délky 455 nm ležící v modré oblasti viditelného spektra. Následující návod podrobně popisuje jednu z možností stanovení této látky v nápoji metodou fluorescenčního měření kalibrační křivky. Pokus je z časových důvodů vhodný pouze do alespoň dvouhodinového laboratorního cvičení. V literatuře lze nalézt také stanovení metodou měření absorbance – inspirováno [25].



Obr. 83: Struktura chininu.

**Pomůcky:** školní spektrometr Vernier SpectroVis Plus, PC nebo Vernier LabQuest, kyveta transparentní ze všech čtyř stran ( $l = 10$  mm, nejlépe křemenná), malá neprůsvitná krabice na přikrytí spektrometru (např. papírová),  $2 \times 100$  ml odměrná baňka se zátkou, 5 ml dělená pipeta, pipetovací balonek, analytické váhy, váženka, špachtle, skleněná nálevka, stříčka,  $10 \times 25$  ml kádinka (nebo zkumavky se zátkami ve stojánku), 150 ml kádinka, 250 ml kádinka, papírové ubrousky, různé druhy nápojů tonik

**Chemikálie:** chininsulfát dihydrát ( $M_r = 782,96$ ), konc.  $H_2SO_4$ , destilovaná voda

❶ *Poznámka:*

Chinin lze na trhu sehnat v různých podobách, nejčastěji ve formě hydratovaných solí, např. síran (sulfát), hydrochlorid, hydrobromid. Při přípravě roztoku standardu o určité koncentraci chininu je nutné dát pozor na správný výpočet navážky.

**Časová náročnost:** 90 minut

## Postup:

### 1) Příprava standardního roztoku chininu

Na analytických vahách navážíme přesně 12,1 mg dihydrátu chininsulfátu a kvantitativně jej převedeme pomocí nálevky do 100ml odměrné baňky. Destilovanou vodou ze stříčky doplníme po rysku a dobře zamícháme. Připravený roztok má koncentraci chininu 100 mg/l. Pokud roztok připravujeme pro dlouhodobější použití, uchováváme jej v lednici.

### 2) Příprava roztoku $\text{H}_2\text{SO}_4$ o koncentraci 0,2 mol/l

Do 100ml odměrné baňky nalejeme asi 50 ml destilované vody a odpipetujeme přesně 1,1 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Destilovanou vodou ze stříčky doplníme odměrnou baňku po rysku a dobře promícháme. Při práci s koncentrovanou kyselinou sírovou používáme ochranné pomůcky.

### 3) Příprava roztoků kalibrační řady

Nachystáme si devět 25ml kádinek (nebo zkumavek) a popíšeme je čísly 1–9. Do každé kádinky odpipetujeme 5,0 ml 0,2M- $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 1,0 ml až 5,0 ml standardního roztoku chininu po 0,5 ml. Následně kádinky 1 až 8 doplníme do celkového objemu 10,0 ml destilovanou vodou. Ředění kalibrační řady uvádí tabulka 3. Tímto postupem připravíme kalibrační řadu roztoků chininu o rostoucí koncentraci 10 mg/l až 50 mg/l.

**Tab. 3:** Ředění kalibrační řady.

Kádinka	$\frac{c(\text{chinin})}{\text{mg/l}}$	$\frac{V(\text{standard})}{\text{ml}}$	$\frac{V(0,2\text{M-H}_2\text{SO}_4)}{\text{ml}}$	$\frac{V(\text{H}_2\text{O})}{\text{ml}}$
1	10	1,0	5,0	4,0
2	15	1,5	5,0	3,5
3	20	2,0	5,0	3,0
4	25	2,5	5,0	2,5
5	30	3,0	5,0	2,0
6	35	3,5	5,0	1,5
7	40	4,0	5,0	1,0
8	45	4,5	5,0	0,5
9	50	5,0	5,0	-
10 (vzorek)		-	5,0	-


### 4) Příprava vzorků

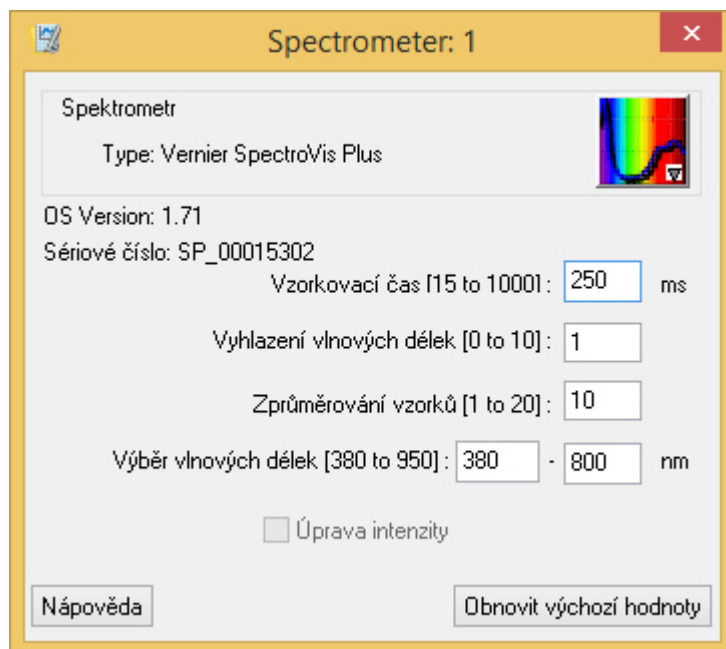
Do 150ml kádinky odlejeme cca 50 ml toniku. Pokud je nápoj silně perlivý, zbavíme se bublinek oxidu uhličitého nejlépe ponecháním toniku v otevřené nádobě přes noc. V krajním případě umístíme kádinku na několik minut do mírně teplé vodní

lázně. Vzorek nevaříme na elektrickém vařiči! Následně odpipetujeme do 25ml kádinky 5,0 ml vzorku a přidáme 5,0 ml 0,2M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Takto připravíme 10,0 ml vzorku pro měření. Vzorek je naředěn v poměru 1 : 1, což musíme zohlednit ve výpočtu celkové koncentrace v nápoji. Stejným způsobem můžeme připravit vzorky různých druhů nápojů obsahujících chinin.

#### 5) Nastavení měření


Spektrometr Vernier SpectroVis Plus propojíme pomocí přiloženého USB kabelu s počítačem (nebo s dataloggerem LabQuest) a spustíme program Logger Pro, popř. bezplatnou verzi Logger Lite (pro jednoduchost bude následující postup uveden pro práci na PC v programu Logger Pro, postup v dataloggeru se může mírně lišit). Program automaticky rozpozná připojené zařízení a nastaví nové měření.

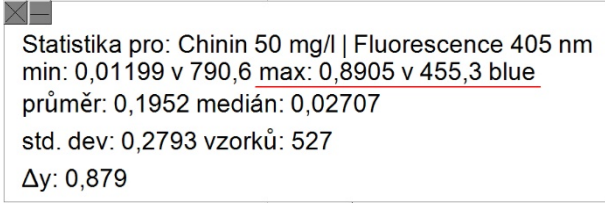
Spektrometr přepneme do režimu měření fluorescenčních spekter s použitím excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (práce se spektrometrem viz kapitola 3 v teoretické části práce). Následně upravíme parametry měření: klikneme na tlačítko  vlevo pod nástrojovou lištou (taktéž Experiment ► Nastavení měření ► Spectrometer: 1) a v zobrazeném okně změníme položku Vzorkovací čas na 250 ms, Vyhlazení vlnových délek na 1 (výchozí hodnota), Zprůměrování vzorků na 10 (čím více, tím lépe, měření však trvá déle) a Výběr vlnových délek na hodnoty 380–800 nm (odpovídá zhruba viditelnému spektru, což pro měření plně postačuje); viz obr. 84, a okno křížkem zavřeme.



Obr. 84: Nastavení parametrů spektrometru pro měření.

Do kyvety nalijeme asi 2,5 ml standardu z kádinky č. 9 o nejvyšší koncentraci chininu 50 mg/l, kyvetu umístíme do spektrometru, zakryjeme jej krabicí<sup>4</sup> a zahájíme měření stiskem tlačítka Sběr dat. Jakmile se zobrazí fluorescenční spektrum chininu, měření ukončíme. Nalevo v tabulce s daty poklepeme na název datové řady (konkrétně na Poslední měření, také Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném okně přepíšeme položku Název na Chinin 50 mg/l, poté klikneme na OK.

V nástrojové liště klikneme na ikonu  Statistika a v zobrazené tabulce na druhém řádku vyhledáme vlnovou délku s maximální intenzitou fluorescence (viz obr. 85).



Statistika pro: Chinin 50 mg/l   Fluorescence 405 nm
min: 0,01199 v 790,6 <u>max: 0,8905 v 455,3 blue</u>
průměr: 0,1952 medián: 0,02707
std. dev: 0,2793 vzorků: 527
Δy: 0,879

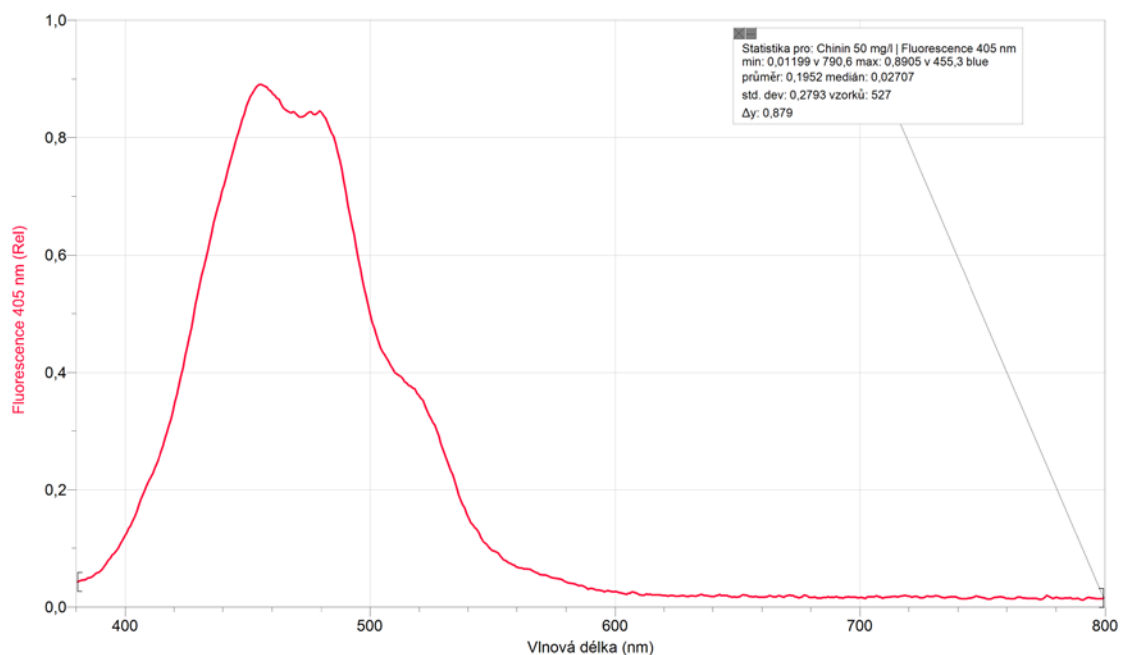
**Obr. 85:** Údaje v tabulce Statistika s vyznačeným fluorescenčním maximem.

Maximum by se mělo pohybovat kolem vlnové délky 455 nm s intenzitou okolo 0,9 Rel. Pokud je intenzita fluorescence nižší, popř. vyšší, otevřeme okno s parametry měření a prodloužíme, popř. zkrátíme vzorkovací čas tak, aby se maximální intenzita píku přiblížila hodnotě 0,9 relativních jednotek. Po úpravě vzorkovacího času opět stiskneme tlačítko Sběr dat, při dotazu na vymazání naměřených dat zvolíme Neukládat a podle naměřeného výsledku případně parametry ještě upravíme.

Jakmile se maximum píku pohybuje kolem hodnoty 0,9 relativních jednotek, spektrum uložíme a pro následné použití naměřených dat v programu Microsoft Office Excel data vyexportujeme do formátu CSV. Výsledek měření by se měl podobat spektru na obrázku 86.


---

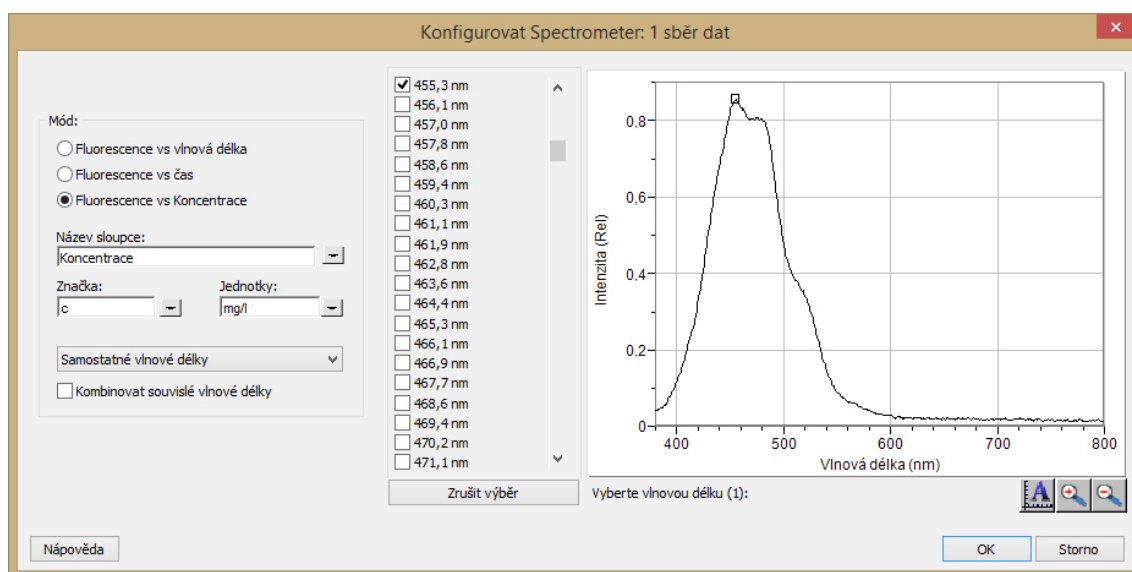
<sup>4</sup> Pokud do kyvety necháme pronikat okolní světlo, např. ze stropních zářivek, dojde ke zkreslení naměřeného spektra.



**Obr. 86:** Naměřené fluorescenční spektrum standardu chininu o koncentraci 50 mg/l při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (vzorkovací čas 270 ms).


#### 6) Proměření kalibrační řady

Nyní můžeme přistoupit k proměření připravené kalibrační řady. V nástrojové liště klikneme na ikonu  Konfigurovat spektrometr a v zobrazeném okně změníme měřicí Mód na Fluorescence vs. Koncentrace. Název sloupce ponecháme pojmenovaný Koncentrace, Značku nastavíme na c a Jednotky změníme na mg/l. Hned napravo vidíme nabídku vlnových délek, při kterých je možné fluorescenci měřit. Program automaticky vybere vlnovou délku s maximální intenzitou fluorescence, kterou jsme zjistili při předešlém měření celého spektra (viz obr. 87).

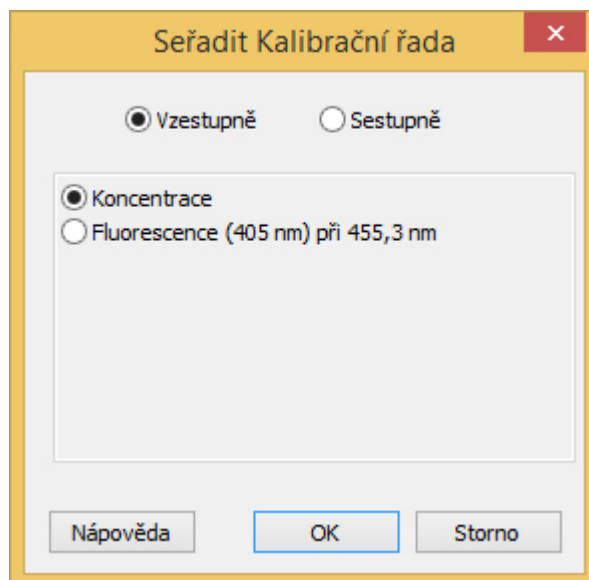


**Obr. 87:** Nastavení módu měření pro kalibrační řadu.


Zkontrolujeme, jestli je zatrhnuto políčko u správné vlnové délky (popř. provedeme korekci, lze vybrat i více vlnových délek), a klikneme na tlačítko OK. Program se dotáže na uložení posledního měření – klikneme na Ne. Následně se změní prostředí programu a nastaví nové měření. Pokud zůstane v oblasti grafu otevřena prázdná tabulka se statistikou, křížkem ji zavřeme.

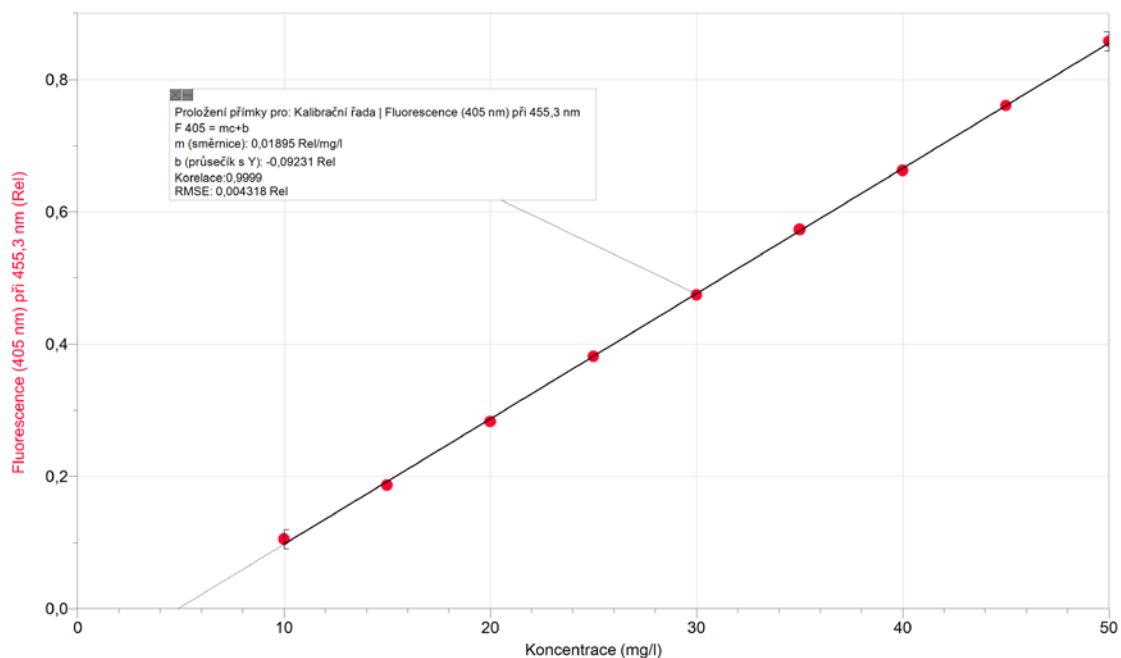
Nyní nalevo v datové tabulce poklepeme na název datové řady (konkrétně na Poslední měření; také Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném okně změním Název na Kalibrační řada; potvrdíme tlačítkem OK. Protože máme ve spektrometru pořád vloženou kyvetu s koncentrací chininu 50 mg/l, můžeme ihned začít měřit kliknutím na tlačítko Sběr dat. Po chvíli se v grafu objeví červený bod. Klikneme na tlačítko  Zachovat, do zobrazeného okna vepíšeme aktuální koncentraci chininu (tedy 50 mg/l) a potvrdíme. Měření nezastavujeme, odkryjeme spektrometr, vyjmeme kyvetu a obsah vylijeme do odpadní 250ml kádinky. Poté kyvetu dvakrát propláchneme destilovanou vodou ze stříčky, kapky vyklepeme o ubrousek a naplníme ji vzorkem standardu o nejmenší koncentraci chininu 10 mg/l z kádinky č. 1 tak, že první podíl vylijeme do odpadní kádinky a s následujícím podílem již můžeme měřit. Otřeme stěny kyvety a vložíme ji zpátky do spektrometru, který překryjeme (dbáme na to, aby stěny kyvety byly stále čisté, kyvetu uchopujeme pouze za vršek a za její hrany). Tímto postupem proměříme celou kalibrační řadu.

Jakmile změříme poslední vzorek standardu, měření zastavíme klepnutím na tlačítko Zastavit. Naměřená data seřadíme podle rostoucí koncentrace chininu: v hlavní nabídce zvolíme položku Data ► Seřadit datovou řadu ► Kalibrační řada a v zobrazeném okně zkontrolujeme nastavení vzestupného seřazení podle koncentrace, viz obr. 88.



Obr. 88: Volba seřazení naměřených dat.

Nakonec v nástrojové liště klikneme na ikonu  Proložit přímkou (popř. Analýza ► Proložit přímkou) a kalibrační křivka je hotová. V zobrazené tabulce lze nalézt rovnici přímkou i hodnotu spolehlivosti (korelace). Naměřená kalibrační křivka je znázorněna na obrázku 89.



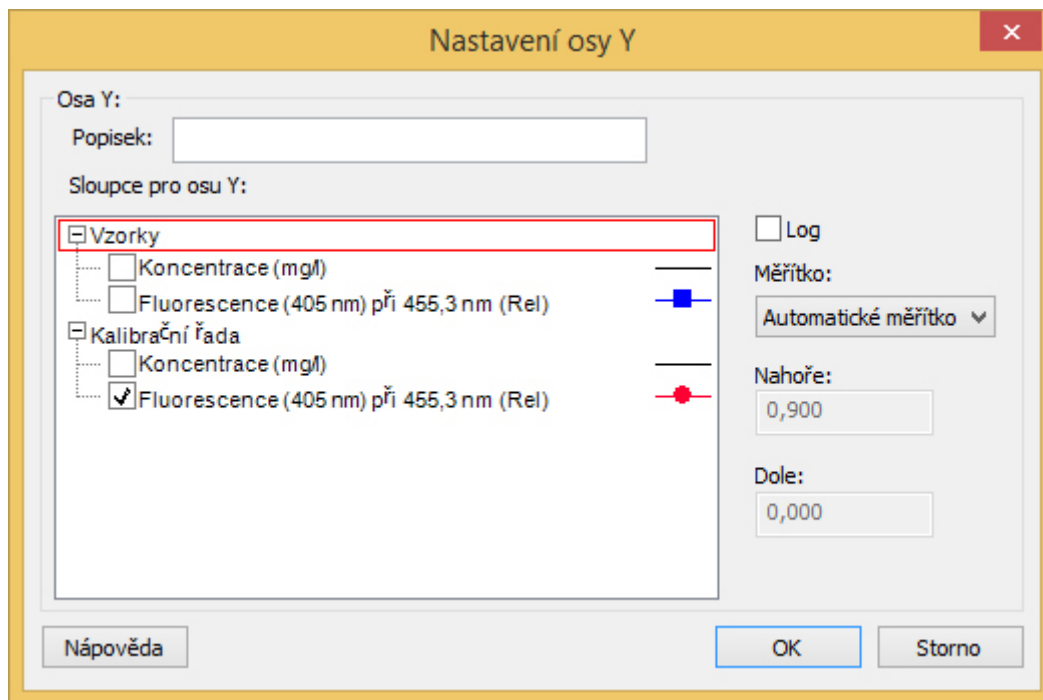
**Obr. 89:** Naměřená kalibrační křivka chininu – závislost intenzity fluorescence vzorku na jeho koncentraci.

### 7) Proměření vzorků

Vytáhneme kyvetu ze spektrometru, obsah vylijeme do odpadní kádinky a kyvetu ze stříčky dvakrát propláchneme destilovanou vodou. Poté kapky oklepeme o ubrousek a kyvetu naplníme připraveným vzorkem nápoje tonik (první podíl opět vylijeme do odpadní kádinky a s dalším podílem můžeme měřit). Vratíme ji zpět do spektrometru, zakryjeme a klepneme na tlačítko Sběr dat. Program se dotáže na uložení dat, v zobrazeném okně zvolíme možnost Uložit poslední měření. Jakmile se v grafu zobrazí nový bod, klepneme na tlačítko Zachovat a do políčka koncentrace vepíšeme libovolné číslo (např. 1, koncentraci chininu ve vzorku totiž neznáme). Po kliknutí na OK můžeme spektrometr odkrýt, kyvetu vytáhnout a naplnit dalším vzorkem. Měření nezastavujeme, postupujeme obdobným způsobem jako u měření kalibrační řady a proměříme libovolné množství připravených vzorků různých druhů nápojů.

Pokud máme naměřeno, klikneme na tlačítko Zastavit. V tabulce dat nalevo poté klepneme do každého políčka koncentrace naměřeného vzorku a zadaná čísla přepíšeme např. na jména měřených nápojů, abychom věděli, který vzorek byl který. Následně dvakrát poklepeme na název celé datové řady (konkrétně Poslední měření; také Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném

okně přepíšeme položku Název na Vzorky. V grafu klepneme na název ypsilonové souřadnice, zvolíme Další... a v zobrazeném okně zatrhneme políčko Fluorescence (405 nm) při 455,3 nm (Rel) pouze u Kalibrační řady, jak je vidět na obr. 90. Po kliknutí na tlačítko OK body naměřených vzorků z grafu zmizí, čehož jsme chtěli docílit. Tímto krokem jsme dokončili celé měření, spektrometr můžeme od PC odpojit.



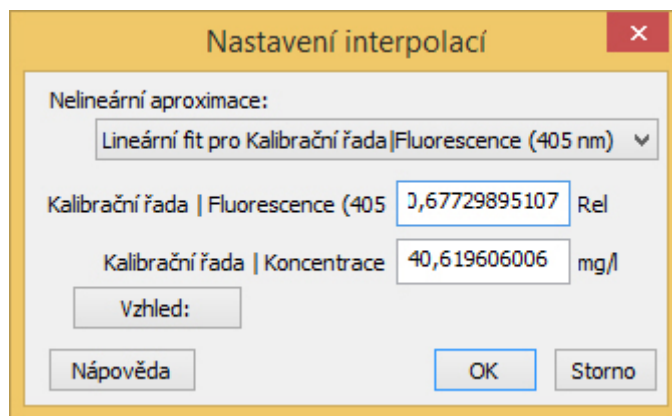
Obr. 90: Nastavení zobrazení ypsilonové osy.

#### 8) Zpracování výsledků

Program Logger Pro disponuje poměrně slušnými analytickými nástroji, a tak lze výslednou koncentraci vzorků zjistit velmi rychle ihned po dokončení měření.

Nalevo v tabulce s daty klikneme pravým tlačítkem do políčka s naměřenou intenzitou fluorescence u prvního vzorku toniku a zvolíme Kopírovat (Ctrl + C). Následně vybereme v hlavní nabídce položku Analýza ► Interpolace (tato možnost je v nabídce dvakrát, vybereme spodní pod položkou Model...), v zobrazeném okně klepneme do horního prázdného políčka pravým tlačítkem a zvolíme Vložit (Ctrl + V). Ihned po vložení se do spodního políčka automaticky dopočítá koncentrace vzorku, jak je vidět na obr 91. Klepneme na OK a do grafu se zanesou vypočítaná koncentrace aktuálního vzorku ve formě tabulky na kalibrační přímce. Poněvadž jsme vzorky ředili v poměru 1 : 1, vypočítaná koncentrace je právě poloviční.





**Obr. 91:** Automatický výpočet koncentrace vzorku nástrojem Interpolace.

Stejným postupem zaneseme na kalibrační přímku koncentrace všech měřených vzorků. Poté celé měření uložíme a nakonec ještě provedeme export dat pro tabulkový editor do formátu CSV. Vzorovou kalibrační přímku se zanesenými koncentracemi vzorků naleznete níže v textu na obrázku 95.

S daty nainportovanými do tabulkového editoru Microsoft Office Excel (podrobný postup importu viz kapitola 3 v teoretické části práce) již pracujeme dle vlastního uvážení, pomocí nástroje Grafy vytvoříme spektrum standardního roztoku chininu i kalibrační křivku. Jednotlivými body proložíme spojnicí a z rovnice přímky vypočítáme koncentraci měřených vzorků. Podrobný popis postupu by přesahoval rámec této práce. Výstupy z tabulkového editoru jsou uvedeny v textu níže.

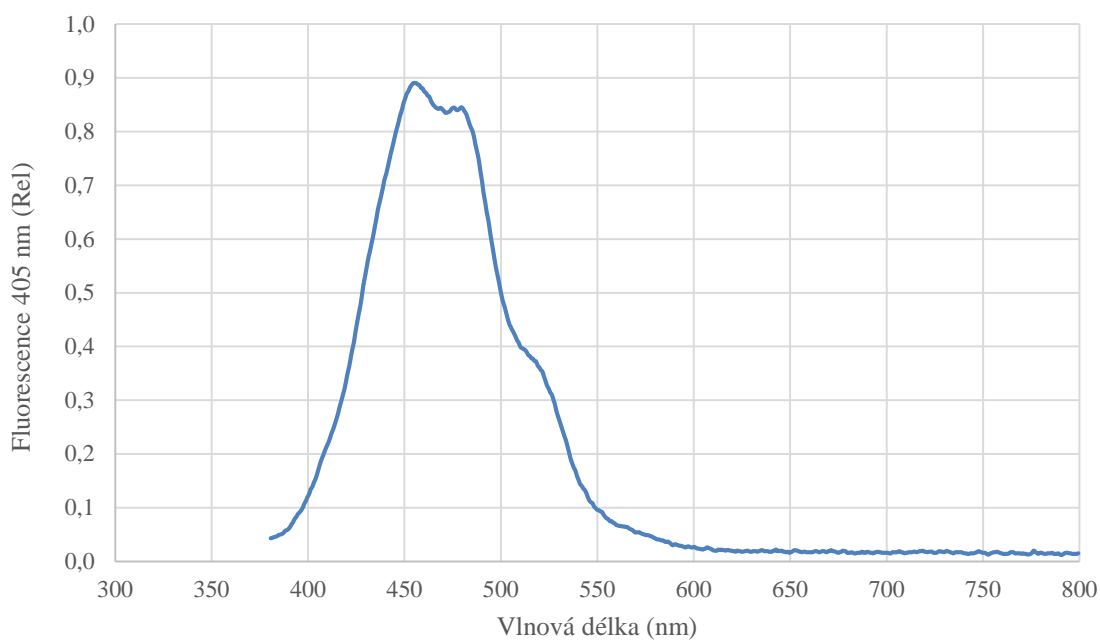
### **Výsledky měření:**

Množství chininu v toniku bylo měřeno u třech limonád, zakoupených v běžném obchodním řetězci. Jednalo se o nápoje Schweppes Indian Tonic (Karlovarské minerální vody, a.s.), Chito Tonic Water (Kofola a.s.) a Original River Indian Tonic Water (Maspex Czech s.r.o.), viz obr. 92.



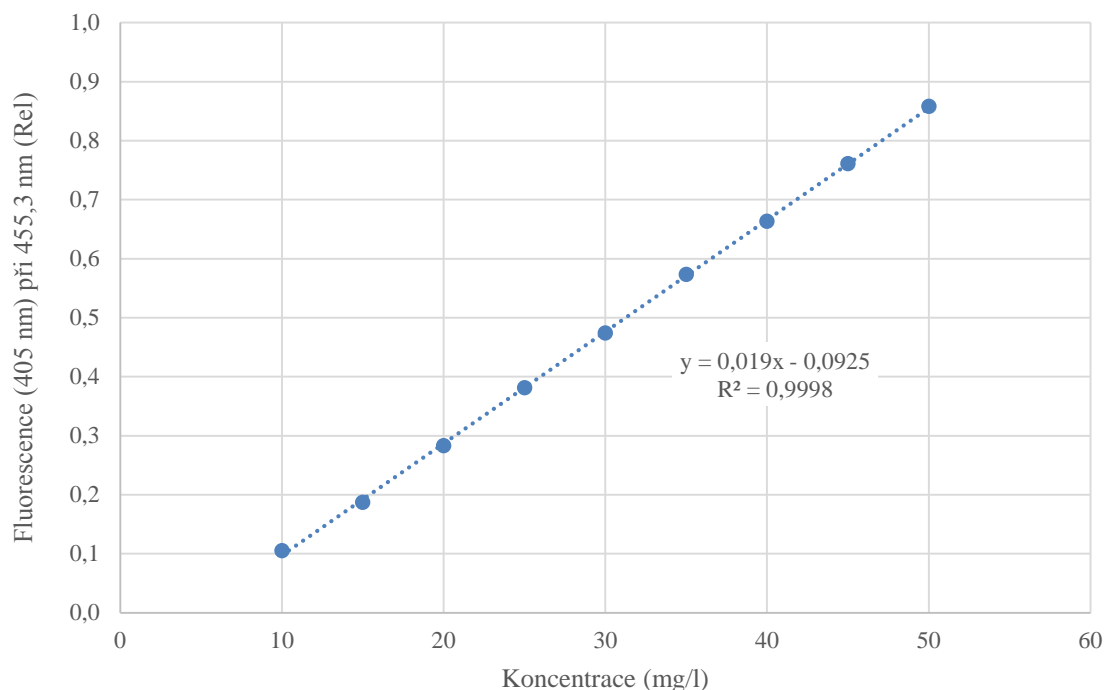
Obr. 92: Měřené nápoje tonik.

Nejdříve bylo potřeba správně nastavit parametry měření. Naměřené spektrum standardního roztoku chininu o koncentraci 50 mg/l přímo z programu Logger Pro je zobrazeno výše na obr. 86. Naměřená data poté byla naimportována do programu Excel, aby bylo možné spektrum vytvořit i běžným postupem – nástrojem Grafy. Výsledek je na obrázku 93. Tímto způsobem by měli postupovat i žáci při zpracování protokolu, aby se naučili program efektivně využívat a vytvářet nejrůznější podoby grafů a tabulek.



Obr. 93: Naměřené spektrum standardního roztoku chininu o koncentraci 50 mg/l při použití excitačního zdroje o vlnové délce 405 nm (Microsoft Office Excel).

Po změření kalibrační řady byly proměřeny připravené vzorky nápojů zředěné v poměru 1 : 1. Výsledná kalibrační přímka z programu Logger Pro je zobrazena výše na obr. 89. Kalibrační přímka vytvořená v programu Excel spolu s rovnicí přímky je na obr. 94.



**Obr. 94:** Naměřená kalibrační křivka pro stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik (Microsoft Office Excel).

Rovnici přímky z grafu si přepíšeme na tvar

$$F = 0,019c - 0,0925, \quad (6)$$

kde  $F$  značí intenzitu fluorescence v relativních jednotkách a  $c$  koncentraci vzorku v mg/l. Z rovnice je zřejmé, že pokud známe intenzitu fluorescence vzorku, lze jeho koncentraci dopočítat. V tomto případě se jedná o vztah

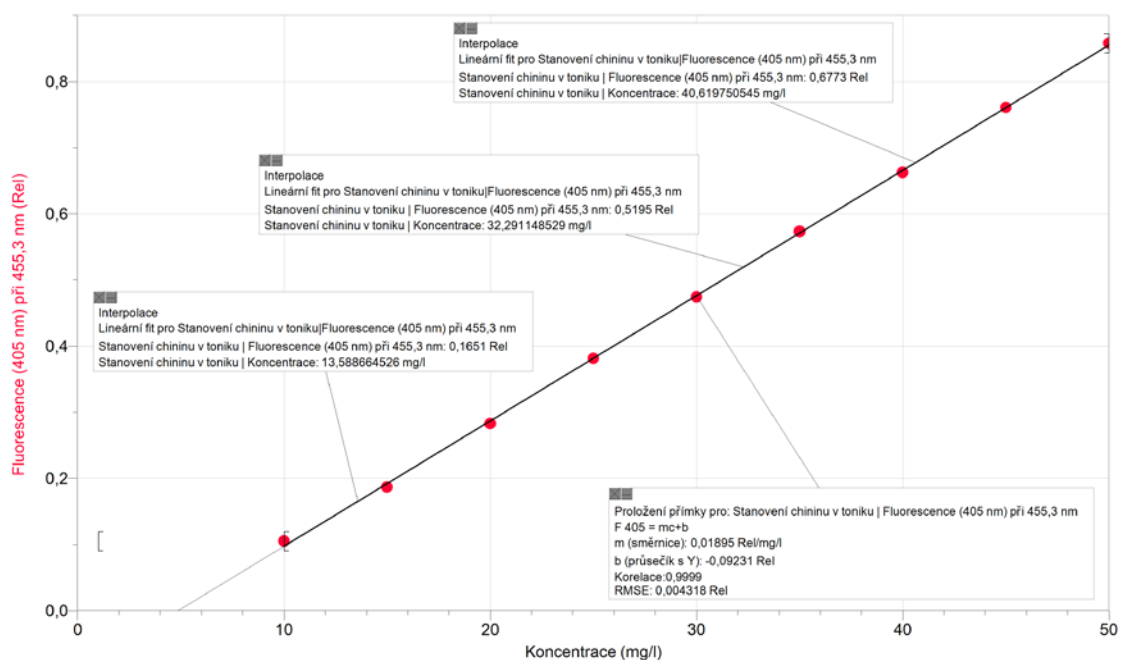
$$c = \frac{F + 0,0925}{0,019}. \quad (7)$$

Podle vztahu 7 byla vypočítána koncentrace měřených vzorků, zředěných v poměru 1 : 1. Skutečná koncentrace chininu v nápoji byla tedy dvojnásobná. Výsledky výpočtů shrnuje tabulka 4.

**Tab. 4:** Vypočítané koncentrace chininu ve vybraných nápojích tonik.

Nápoj	Koncentrace chininu (mg/l)
Schweppes	64,7
Chito	81,0
Indian River	27,1

Výsledky měření vypočítané přímo v programu Logger Pro znázorňuje obrázek 95. V tabulkách interpolací je uvedena koncentrace chininu opět ve zředěném vzorku, ke zjištění skutečné koncentrace je třeba ji zdvojnásobit. Nalezené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 5.



**Obr. 95:** Kalibrační přímka se zanesenými výsledky vzorků.

**Tab. 5:** Hodnoty koncentrace chininu ve vzorcích nápojů tonik z programu Logger Pro (zaokrouhleno na desetiny).

Nápoj	Koncentrace chininu (mg/l)
Schweppes	64,6
Chito	81,2
Indian River	27,2

Z tabulek je po srovnání zřejmé, že výsledky se liší v řádu desetin. To je způsobeno zaokrouhlením naměřených dat při importu z programu Logger Pro do Excelu.

## Závěr:

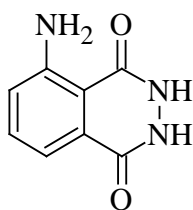
Na trhu existuje mnoho různých nápojů tonik s přidavkem chininu. Najdou se však i limonády, které chinin neobsahují (např. Korunní Tonic), při výběru je proto nutné číst etikety, na kterých musí být chinin vždy uveden. Často zde nalezneme i udané maximální množství chininu v limonádě v jednotkách mg/l. U nápoje Chito je to právě 90 mg chininu na litr, Indian River má maximální přípustnou hranici stanovenou na 35 mg/l. Tonik Schweppes limit na etiketě neuvádí. Ani jeden výrobce nepřekročil stanovený limit maximální koncentrace chininu, uvedenu na etiketě výrobku. Je potřeba si uvědomit, že přesnost naměřených výsledků závisí hlavně na přesnosti pipetování. Proto vypočtené výsledky zaokrouhlujeme na jednotky.

## 6. Pokusy z chemiluminiscence

### 6.1 Barevná chemiluminiscence luminolu

Tento efektní experiment je snad nejznámější chemiluminiscenční reakcí. Často se provádí jako demonstrační na různých popularizačních akcích. Při správném provedení pokusu lze sledovat intenzivní světlo modrou luminiscenci asi jednu minutu. Přidavkem dalších luminiscenčních barviv lze barvu chemiluminiscence do jisté míry ovlivnit.

Luminol je významná látka, donedávna používaná především v kriminalistice ke zviditelnění biologických stop. Jeho struktura je znázorněna na obrázku 96.



Obr. 96: Strukturní vzorec luminolu.

**Pomůcky:** 2× 600ml kádinka, 6× 150ml kádinka, 500ml baňka, spirálový chladič, stojan, svorka a držák, skleněná nálevka, skleněná tyčinka, pipeta, pipetovací balonek, váhy, lihový fix

**Chemikálie:** luminol, NaOH,  $K_3[Fe(CN)_6]$ , 30%  $H_2O_2$ , destilovaná voda, fluorescein, rhodamin B, eosin Y

**Časová náročnost:** 15 minut příprava + 5 minut realizace

❶ *Poznámka:*

Spirálový chladič není k provedení pokusu nutný. Reakci lze uskutečnit pouze ve velké kádince, do které slijeme připravené roztoky. Pro větší efektivnost pokusu se však často spirálový chladič používá.

**Postup:**

Dvě 600ml kádinky popíšeme písmeny A a B a nalijeme do nich asi 150 ml destilované vody. Do kádinky A přidáme 1 g NaOH a 0,1 g luminolu, v kádince B rozpustíme 0,5 g červené krevní soli –  $K_3[Fe(CN)_6]$  a přidáme 1,5 ml 30% peroxidu vodíku. Následně obě kádinky doplníme destilovanou vodou na objem 400 ml a dobře promícháme. Oba roztoky rozlejeme po 100 ml do 150 ml kádinek, které taktéž popíšeme. Do tří kádinek A s alkalickým roztokem luminolu ještě přidáme asi půl špachtle barviva (fluorescein, eosin Y, rhodamin B) a dobře promícháme. Tak připravíme 4 sady různě barevných roztoků.

Spirálový chladič uchytneme ke stojanu, pod jeho ústí umístíme 500ml baňku a nahoru do chladiče vložíme skleněnou nálevku. Po zatemnění místnosti sléváme roztoky A a B do nálevky v poměru 1 : 1. Pozorujeme chemiluminiscenční reakci.

❷ *Poznámka:*

Jinou variantou pokusu, kterou lze nalézt v literatuře [9], je použití roztoků následujícího složení:

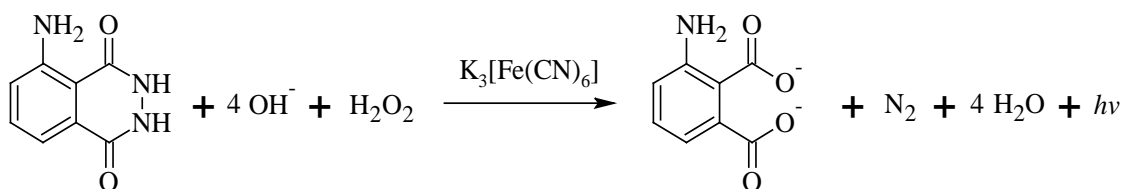
*Roztok A:* V 60 ml destilované vody rozpustíme 0,4 g  $Na_2CO_3$ , 0,2 g luminolu, 2,4 g  $NaHCO_3$ , 5 g  $(NH_4)_2CO_3$  a 0,4 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ . Po rozpuštění doplníme destilovanou vodou do objemu 100 ml roztoku.

*Roztok B:* 6 ml 30%  $H_2O_2$  doplníme do objemu 100 ml roztoku destilovanou vodou.

V návodu je uvedena taktéž varianta o celkovém objemu 1000 ml roztoku A i B s použitím stejných chemikálií v mírně odlišném poměru. Jako nejlepší katalyzátor pro reakce s luminolem autor zmiňuje ionty  $Co^{2+}$ . Z vlastní zkušenosti však doporučuji provádět pokus výše popsaným ověřeným postupem. Je daleko méně náročný na chemikálie a navíc poskytuje dlouho trvající chemiluminiscenci oproti alternativním postupům.

**Závěr:**

Smísením roztoků A a B dochází k chemické reakci mezi luminolem a peroxidem vodíku, což se projeví světlem modrou chemiluminiscencí protékajícího roztoku. Reakční schéma je uvedeno na obr. 97.



Obr. 97: Reakční schéma chemiluminiscence luminolu.

Barvu chemiluminiscence lze v určité míře ovlivnit přidavkem fluoresceinu pro žlutozelenou, rhodaminu B pro fialovou a eosinu Y pro oranžovou barvu.

Odkaz na videa: [https://youtu.be/Y\\_3Gc3frq6Y](https://youtu.be/Y_3Gc3frq6Y)  
<https://youtu.be/IOMU3R0JiBk>  
<https://youtu.be/kMIZzOwIOvM>  
<https://youtu.be/Ul0DGyya2xA>



Obr. 98: Připravená aparatura na světle (vlevo) a průběh chemiluminiscenční reakce luminolu s přidavkem eosinu Y (vpravo).

## 6.2 Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku

Tento experiment je náročnější na přípravu a je nutné jej provádět v digestoři. Z toho důvodu jej lze použít především jako demonstrační. Při reakci vzniká energeticky bohatý, tzv. singletový kyslík, který přechází do základního stavu a svou přebytečnou energii vysílá v podobě záření spadajícího do oblasti viditelného spektra, což lze pozorovat jako červenou luminiscenci.

**Pomůcky:** frakční baňka, dělicí nálevka se zátkou, 3× stojan, svorky a držáky, 2× promývačka, silikonové nebo PE hadice, 150ml kádinka, odměrný válec, skleněná tyčinka

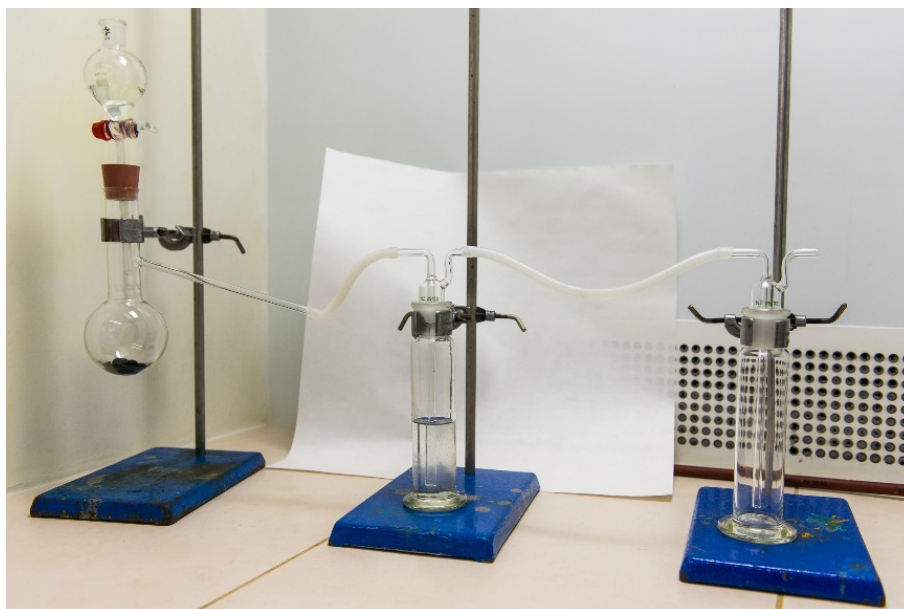
**Chemikálie:** NaOH, konc. HCl,  $\text{KMnO}_4$  ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{MnO}_2$ ), 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$

**Časová náročnost:** 10 minut den předem + 30 minut realizace

### Postup:

Do 150ml kádinky připravíme roztok hydroxidu rozpuštěním 20 g NaOH v 80 ml destilované vody. Skleněnou tyčinkou mícháme do rozpuštění. Spolu s lahví čerstvého 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  dáme kádinku do lednice nebo mrazáku vychladit do druhého dne, kdy budeme provádět experiment.

V digestoři sestavíme aparaturu na vyvíjení chloru podle obr. 99. Do frakční baňky, uchycené ke stojanu, nasypeme alespoň 5 vrchovatých lžiček  $\text{KMnO}_4$  a na ústí baňky nasadíme dělicí nálevku, kterou předem zkontrolujeme na těsnost, aby neprotékala. Vývod z frakční baňky propojíme silikonovou nebo PE hadičkou s promývačkou, rovněž uchycenou ke stojanu, do které nalijeme vychlazený roztok NaOH a přidáme 40 ml ledového 30% peroxidu vodíku. Roztok by měl sahat maximálně do poloviny promývačky, aby unikající bublinky chloru nemusely překonávat příliš vysoký tlak. Vývod z promývačky zavedeme do druhé promývačky, kterou taktéž uchytneme ke stojanu. Tato promývačka bude sloužit pouze jako pojistná.



**Obr. 99:** Aparatura potřebná k provedení experimentu.

Do dělicí nálevky nalejeme asi 50 ml konc. HCl a zatemníme místnost. Poté začneme kyselinu přikapávat do frakční baňky a pozorujeme vyvíjení chloru.



Jakmile připravený chlor vytěsňuje z baňky veškerý vzduch a začne probublávat reakčním roztokem, objeví se první světélkování. Kyselinu poté přikapáváme tak, aby roztokem procházel stálý proud bublin.

❶ *Poznámka:*

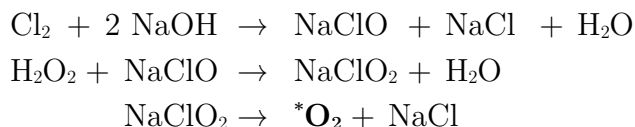
Na propojení aparatury nejsou vhodné pryžové hadičky. Plynný chlor způsobuje jejich ztvrdnutí a praskání.

Pokud chlor uniká přes kyselinu v dělicí nálevce, použijeme zátku, kterou uvolníme vždy jen při přikapávání kyseliny do frakční baňky.

Experiment lze výrazně zjednodušit použitím snadno dostupných chemikálií. Do podchlazeného Sava, které pořídíme v běžné drogerii, zavádíme roztok peroxidu vodíku. Účinnou látkou Sava je právě chlornan sodný, vznikající zaváděním chloru do vychlazeného roztoku NaOH. Provedení pokusu je poté podobné experimentu 6.3.

### **Závěr:**

Při zavádění plynného chloru do zásaditého reakčního roztoku dochází ke sledu několika chemických reakcí, při nichž vzniká molekulární kyslík v energeticky bohatém (excitovaném), tzv. singletovém stavu:



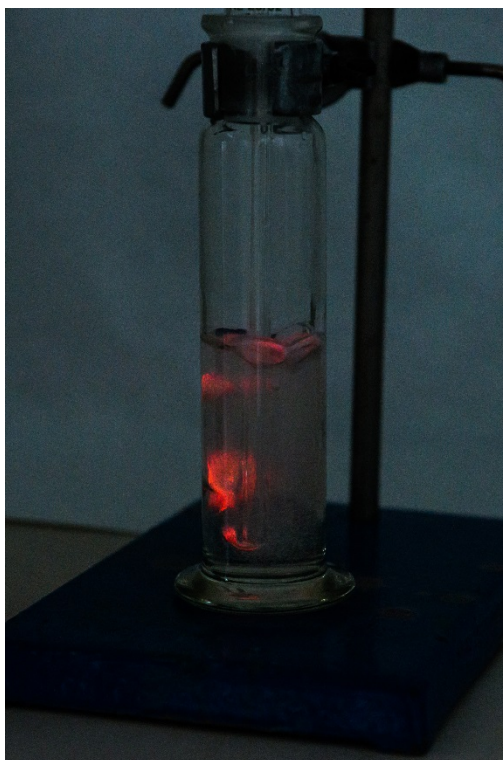
Excitovaný singletový kyslík velmi rychle přechází ve stabilnější formu, tzv. tripletový stav, za uvolnění energie  $h\nu$  spadající do viditelné oblasti spektra elektromagnetického záření:



Tento proces je pozorovatelný jako jasně červená luminiscence na styčných plochách bublinek a reakčního roztoku, viz obr. 100. Během reakce dochází k pění a silnému zahřívání směsi (exotermická reakce), luminiscence proto po několika minutách ustává. Z tohoto důvodu je nutné reakční roztok předem dobře vychladit, neboť již samotné rozpouštění NaOH ve vodě vede ke značnému zahřátí roztoku.

Tento pokus současně demonstruje podstatu dezinfekčních účinků Sava. Jeho rozkladem vznikající singletový kyslík je silným oxidantem, který je schopen ničit buněčnou stěnu bakterií. Reakce s peroxidem vodíku je velmi bouřlivá, při provádění pokusu je potřeba na to brát zřetel.

**Odkaz na video:** [https://youtu.be/-etZe6\\_wcyc](https://youtu.be/-etZe6_wcyc)



Obr. 100: Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku v promývačce.

### 6.3 Chemiluminiscence směsi formaldehydu a pyrogallolu

Tento experiment není nejvhodnější ukázkou chemiluminiscenčních reakcí, neboť jeho průběh je poněkud nepředvídatelný. Pokud se však učitelé nebojí experimentovat, lze pokus pro jeho efektní průběh doporučit. Při práci s koncentrovanými roztoky (varianta B) reakční směs znenadání prudce vzkypí, je proto nutné provádět pokus ve velmi prostorné nádobě v digestoři. Jedná se tedy především o demonstrační experiment.

**Pomůcky:** 3 × 50ml kádinka, 2 × skleněná tyčinka, demonstrační válec o výšce alespoň 40 cm nebo velká Erlenmayerova baňka, pipeta, pipetovací balonek, odměrný válec, zkumavka

**Chemikálie:** pyrogallol,  $K_2CO_3$ , konc. roztok formaldehydu (cca 36–38% formalín), 30%  $H_2O_2$ , destilovaná voda

**Časová náročnost:** 10 minut příprava + 5 minut realizace

#### Postup – varianta A:

Do dvou 50ml kádinek nalijeme 20 ml destilované vody. V první kádince rozpustíme 4 g pyrogallolu, ve druhé kádince 10 g  $K_2CO_3$ . Skleněnými tyčinkami mícháme

do rozpuštění látek. Poté oba roztoky přelijeme do demonstračního válce nebo alespoň litrové Erlenmayerovy baňky a přidáme 20 ml roztoku formaldehydu. Směs v nádobě asi 5 minut mícháme, pozorujeme postupné tmavnutí. Poté baňku umístíme do digestoře, zatemníme a přilejeme 30 ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Pozorujeme průběh reakce.

### Postup – varianta B:

Do vysokého demonstračního válce (nejméně 8 cm širokého) nebo alespoň dvoulitrové Erlenmayerovy baňky napipetujeme 20 ml roztoku formaldehydu, ve kterém rozpustíme 10 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a poté 4 g pyrogallolu. Směs v nádobě mícháme alespoň 5 minut, pozorujeme postupné tmavnutí a vznik sraženiny. Asi 1 ml směsi odlijeme do zkumavky. Poté nádobu umístíme do digestoře, podložíme filtračním papírem, zatemníme a přilijeme maximálně 15 ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Stejný pokus provedeme i ve zkumavce – přidáme do ní pipetou asi 0,5 ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

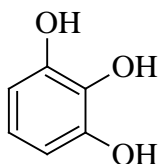
#### ☞ Možné nezdary:

Pokud je průběh reakce špatně pozorovatelný, vyzkoušejte jinou lahev s peroxidem vodíku. Častou příčinou nezdaru je právě nízký obsah  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve starších roztocích.

### Závěr:

Varianta A má mírnější průběh reakce, avšak chemiluminiscence je viditelná pouze v dobře zatemněné místnosti ihned po přilítí peroxidu vodíku, což vzhledem k doporučení provádět pokus v digestoři není dost dobře možné. Varianta B, přezdívaná taktéž “sopka“, je daleko efektivnější, neboť reakce je velmi bouřlivá, hrozí však vystříknutí směsi a znečištění všeho okolo – je nutné s tím počítat. Provedení ve zkumavce je z tohoto důvodu vhodnější, směs vystříkne maximálně kousek od zkumavky na připravený filtrační papír.

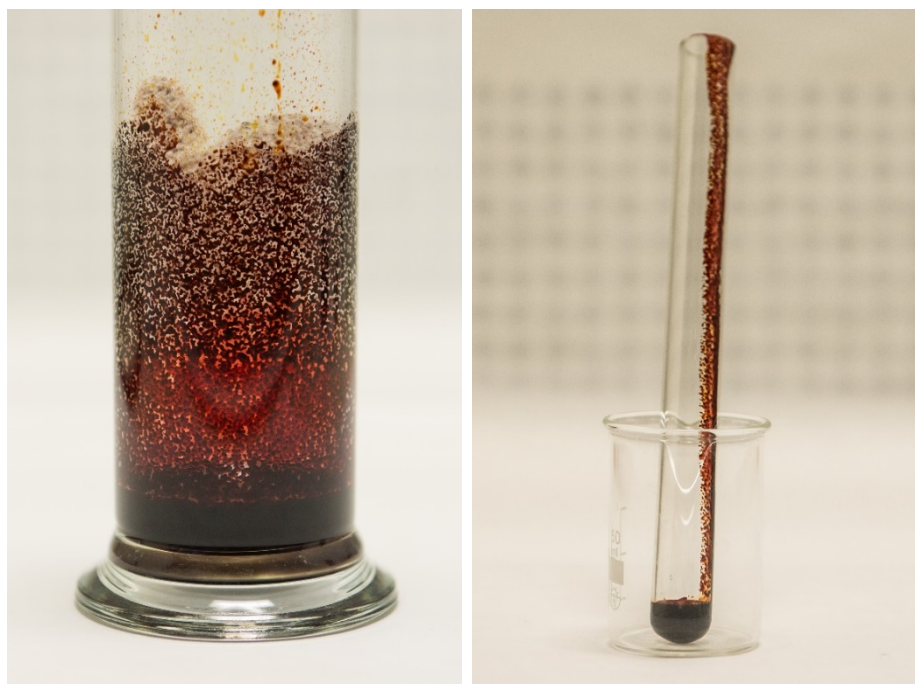
Při mísení pyrogallolu s formaldehydem v alkalickém vodném prostředí vzniká kondenzační produkt a barva směsi se mění z původně světle žlutooranžové na tmavě oranžovou až červenou, v případě varianty B může vznikat temně červená až černá sraženina, která ulpívá na stěnách nádoby (viz obr. 102). Pyrogallol je trojsytný fenol, bílý krystalický prášek rozpustný ve vodě, jehož struktura je znázorněna na obrázku 101.



Obr. 101: Struktura pyrogallolu.

Po přidavku koncentrovaného peroxidu vodíku dochází k celé řadě složitých reakcí, jejichž produktem je především kyslík v singletovém stavu, který přechází z excitované formy v základní, tripletový stav za současného uvolnění energie ve formě elektromagnetického záření spadajícího do viditelné oblasti spektra. To lze pozorovat jako červenou luminiscenci (viz obr. 103), která trvá přibližně jednu až pět sekund ihned po přidavku peroxidu vodíku (dle provedení pokusu). Reakce produkuje také velké množství tepla – jedná se tedy o exotermickou reakci, během níž směs vzkypí a značně pění. Pokud použijeme malou nádobu, dojde k vystříknutí směsi do okolí. Zvláště varianta B je náchylná k velmi prudké reakci, může dojít až k vystříknutí směsi na strop (z vlastní zkušenosti). Pokus proto provádíme v digestoři s vědomím následného snadného úklidu. Baňka je po proběhnutí reakce velmi horká, vyčkáme proto, až směs doreaguje a zchladne.

**Odkaz na videa:** <https://youtu.be/RHHzGz4s0Xg>  
<https://youtu.be/qMINJwxdXW4>



**Obr. 102:** Válec s reakční směsí (vlevo) a provedení ve zkumavce (vpravo) před přidavkem peroxidu vodíku.



**Obr. 103:** Prudká chemiluminiscenční reakce po přilítí malého množství  $\text{H}_2\text{O}_2$  do válce s reakční směsí.

## 6.4 Fosforescence bílého fosforu

Tento experiment je velmi efektní. Z bezpečnostních důvodů je možné jej provádět pouze jako demonstrační. Bílý fosfor je velmi reaktivní látka, je proto nutné jej uchovávat pod vodou. Nikdy nebereme fosfor do rukou – způsobuje popáleniny a navíc je prudce jedovatý! Všechny manipulace s ním provádíme pod vodou včetně krájení. Fosfor je měkký, podobá se vosku, lze jej proto krájet nožem při současném přidržování kleštěmi nebo pinzetou. Zbytky vracíme ihned do zásobní lahve, nikdy je nevyhazujeme do odpadu! Fosfor je samozápalný, proto zbytky spalíme v železné misce. Nádobí čistíme koncentrovanou kyselinou dusičnou. Popáleniny od fosforu omýváme vodou a pak roztokem modré skalice.

**Pomůcky:** železná miska, porcelánová miska, nůž, pinzeta, kleště, filtrační papír, 50ml kádinka

**Chemikálie:** bílý fosfor, sirouhlík, konc.  $\text{HNO}_3$

**Časová náročnost:** 10 minut

### Postup:

Ze zásobní lahve vytáhneme větší kousek bílého fosforu a ihned jej přeneseme do porcelánové misky s destilovanou vodou, kde pomocí nože uřežeme malý kousek velikosti hrachu. Tento kousek rozpustíme asi ve 4 ml sirouhlíku, který odlijeme do kádinky. Nad železnou miskou roztokem polijeme kousek filtračního papíru (viz obr. 104), který držíme v kleštích, a lehce jím máváme. Po odpaření sirouhlíku pozorujeme fosforescenci par fosforu, papír se poté rychle vznítí. Zbytky papíru necháme dohořet v železné misce. Kádinku po provedení pokusu vypláchneme opět malým množstvím sirouhlíku, který nalijeme na filtrační papír a spálíme v misce.

### ⓘ *Poznámka:*

Sirouhlík je páchnoucí jedovatá hořlavina, jejíž páry vytvářejí se vzduchem výbušnou směs. Pracujeme s ním v digestoři.

### Závěr:

Tímto pokusem lze demonstrovat samozápalnost bílého fosforu na vzduchu. Před vznícením se těkající páry bílého fosforu oxidují vzdušným kyslíkem a při tom krásně bílé fosforeskují (viz obr. 105), poté se filtrační papír náhle vznítí.

**Odkaz na video:** <https://youtu.be/4HGUKOy7E5k>



**Obr. 104:** Bílý fosfor rozpuštěný v sirouhlíku (v kádince) a přichystaná železná miska.



**Obr. 105:** Fosforescence par bílého fosforu na filtračním papíře umístěném nad železnou miskou.

## 7. Pokusy z mechanoluminiscence

### 7.1 Drcení krystalového cukru

Tento pokus je velmi jednoduchý a lze jej provést dokonce jako domácí – všechny potřebné pomůcky najde žák v každé běžné domácnosti.

**Pomůcky:** 2× skleněná tabulka, cukr krystal

**Časová náročnost:** 10 minut

#### **Postup:**

V místnosti, kde je možné dostatečně dobře zatemnit, nasypeme do středu podložní skleněné tabulky lžičku krystalového cukru (viz obr. 106). Druhou tabulku položíme na nasypanou hromádku, zatemníme a vyčkáme nejméně 5 minut, až si oči zvyknou na úplnou tmou a budou schopny vnímat velmi slabou intenzitu modré luminiscence. Poté horním sklíčkem drtíme krystalky cukru. Nejvhodnější je sklíčkem otáčet doprava a doleva za současného tlačení na podložku.

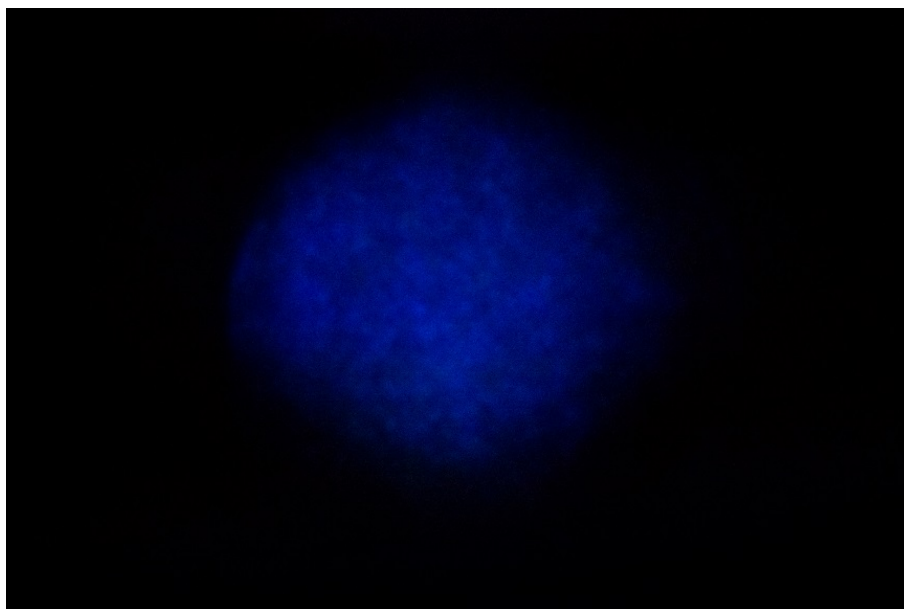
#### **Závěr:**

Tento typ luminiscence je vyvolán mechanickým působením – třením a drcením krystalů, nazývá se *triboluminiscence*. Během drcení krystalků cukru lze pozorovat slabou modrou luminiscenci, jak je vidět na obrázku 107. Je důležité mít oči při-

způsobené úplné tmě, jinak luminiscenci nepostřehneme. Princip mechanoluminiscence není do dnešního dne uspokojivě vysvětlen. Podobné chování jeví při tření také křemen, slídy, některé druhy mramoru, sfalerit i zrnka z brusného papíru. Při zahřátí nad 100 °C mechanoluminiscenci můžeme objevit dokonce i u diamantu, topasu, fluoritu a jiných nerostů.



**Obr. 106:** Realizace experimentu – lžička krystalového cukru nasypaná na podložním sklíčku.



**Obr. 107:** Drcení krystalového cukru mezi sklíčky (expoziční čas 30 s).



## 7.2 Luminiscence při krystalizaci

Tento zvláštní typ mechanoluminiscence je pozorovatelný v dobře zatemněné místnosti během krystalování roztoku. Svým charakterem je vhodný spíše do pokročilejšího laboratorního cvičení, neboť je náročný na čas (luminiscenční záblesky jsou pozorovatelné asi až po hodině od přípravy roztoku). Inspirováno [9].

**Pomůcky:** 1000ml kádinka, skleněná tyčinka, elektrický vaříč

**Chemikálie:** Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, destilovaná voda

**Časová náročnost:** cca 60 minut

### Postup:

Do litrové kádinky nalijeme asi 300 ml destilované vody a dáme ji vařit na elektrický vaříč. Než se voda ohřeje, navážíme si 100 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 40,8 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ekvimolární množství), které v kádince na vařiči za stálého míchání rozpouštíme. Potřebujeme připravit nasycený roztok, přiléváme proto malá množství destilované vody tak, aby se všechna látka právě rozpustila. Celkový objem výsledného roztoku po rozpuštění je cca 0,5 l. Jakmile se na povrchu vařičího roztoku začnou vylučovat krystaly, zahřívání ukončíme a kádinku postavíme do zatemněné místnosti, kde ji necháme volně chladnout. Roztok nadále nemícháme a s kádinkou nijak nepohybujeme. Asi po hodině krystalování lze pozorovat luminiscenci ve formě jednotlivých záblesků s četností cca jeden záblesk za sekundu.

### ❗ Poznámka:

Roztok z kádinky po provedení pokusu nevytléváme. Experiment lze provádět opakovaně opětovným rozpuštěním všech krystalů po přidavku dostatečného množství destilované vody při umístění kádinky na vaříč.

### Závěr:

Při chladnutí směsného roztoku se z něj vylučují krystaly podvojného síranu draselno-sodného, přičemž lze pozorovat jednotlivé záblesky, které se objevují již při teplotě okolo 60 °C asi po hodině chladnutí, viz obr. 108. Mezi první a druhou hodinou krystalování je luminiscence nejsilnější, poté pozvolna slabne. Schéma reakce je následující:

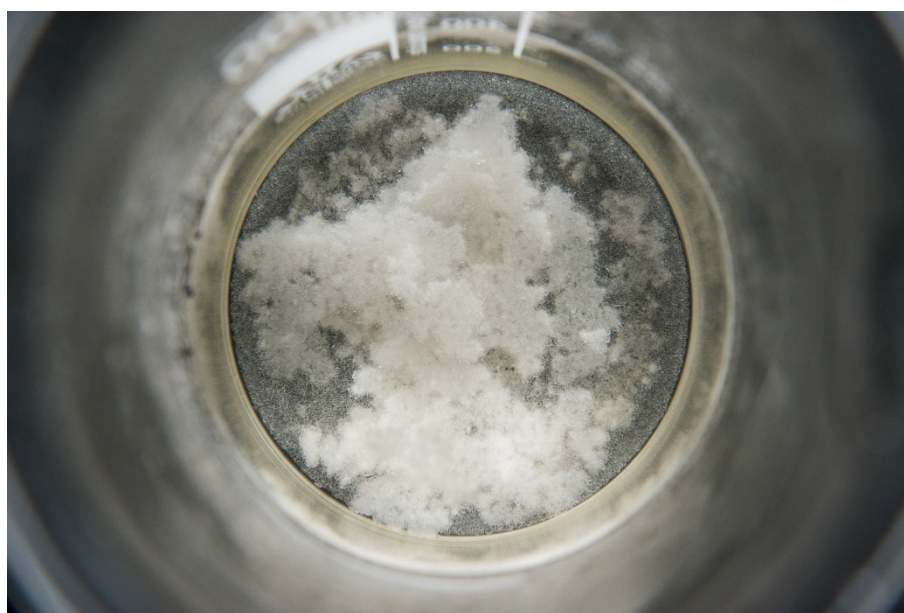


Po ukončení experimentu ponecháme kádinku přikrytou k dalšímu použití. Vyschnutí rozpouštědla ničemu nevádí. Vznikající krystaly v kádince umístěné na světle jsou na obrázku 109.

Odkaz na video: [https://youtu.be/j\\_vdWiDv1Pc](https://youtu.be/j_vdWiDv1Pc)



**Obr. 108:** Jednotlivé luminiscenční záblesky vznikajících krystalů (expoziční čas 84 s).



**Obr. 109:** Kádinka se směsnými krystaly.

---

## Slovo závěrem

Tato diplomová práce představuje ucelený text, který se věnuje problematice luminiscence. Mou snahou bylo vybrat a detailněji popsat několik efektních experimentů, které budou přímo použitelné ve výuce nebo praktickém cvičení z chemie či fyziky. Těmto pokusům předchází část teoretická, jež má za úkol objasnit fyzikální jevy, nebo probíhající chemické pochody.

Byl bych velmi rád, kdyby se práce stala užitečným materiálem, nebo alespoň inspirací pro praktickou výuku, kroužky či semináře. Natočená videa demonstrují průběh experimentů, lze je tedy využít přímo ve výuce, jakožto zpestření výkladu. Názorných příkladů není nikdy dost, proto si myslím, že minimální alternativou praktické realizace pokusu je alespoň jeho zhlédnutí v elektronické podobě. K tomuto účelu jsou videa umístěna na stránkách *www.youtube.com*, kde lze nalézt řadu dalších experimentů z celé oblasti lidského poznání. V dnešní době má tato elektronická forma vzdělávání značný potenciál a přínos hlavně kvůli její snadné dostupnosti, kdy nám stačí pouze přístup k internetu a chuť naučit se něco nového.

---

## Použitá literatura

- [1] DVOŘÁK, L., KUPKA, Z.: *Fyzikální podstata a využití luminiscence*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980.
- [2] PELANT, I., VALENTA, J.: *Luminiscence doma, v přírodě a v laboratoři*. 1. vyd. Praha: Academia, 2014. ISBN 978-80-200-2394-0.
- [3] LEMR, K.: *Analytická chemie*. Přednášky pro studenty. Univerzita Palackého v Olomouci, 2009.
- [4] <http://www.colpolon.biol.uni.wroc.pl/lampyris%20noctiluca.htm> [online] [cit. 2015-07-11].
- [5] <http://fireflyforest.net/firefly/2006/06/06/fire-beetle/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [6] <http://bioluminescence-rocroy.e-monsite.com/album/flaure/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [7] <http://www.chemieasvetlo.cz> [online] [cit. 2015-07-11].
- [8] <http://www.compoundchem.com/2014/10/14/glowsticks/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [9] ŠIMŮNEK, O.: *Chemiluminiscence*. 2. rozšířená a upravená verze. Praha, 2007. Dostupné na: [http://chemiluminiscence.xf.cz/chemiluminiscence\\_II\\_final.pdf](http://chemiluminiscence.xf.cz/chemiluminiscence_II_final.pdf)
- [10] <http://changetoled.com/about-us/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [11] ATARI, N. A.: *Piezoluminescence Phenomenon*. Physics Letters A Volume 90: Issues 1–2, 21 June 1982, str. 93–96.
- [12] AL-HASHIMI, A., EID, A. M., ETTINGER, K. V., MALLARD, J. R.: *On Piezoluminescence in Irradiated Alkali Halide*. Radiat Prot Dosimetry (1983) 6(1-4): 203-205.
- [13] GEORGE REYNOLDS, T.: *Piezoluminescence from a ferroelectric polymer and quartz*. Journal of Luminescence, Volume 75: Issue 4, December 1997, str. 295–299.
- [14] CHANDRA, B. P.: *Mechanoluminescence*. Luminescence of Solids. Springer US, 1998. str. 361 – 389. ISBN 978-1-4613-7446-6.

- [15] ETTINGER, K.V., PUITE, K.J.: *Lyoluminescence Dosimetry Part I*. Principles, Int. J. Appl. Radiat. Isot. Vol. 33, 1982. str. 1115 to 1138.
- [16] <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/svis-pl/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [17] <http://www.vernier.com/products/sensors/spectrometers/visible-range/svis-pl/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [18] <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/SVIS-FIBER> [online] [cit. 2015-07-11].
- [19] [http://www.bioorganickachemiesite.upol.cz/site/?page\\_id=4647](http://www.bioorganickachemiesite.upol.cz/site/?page_id=4647) [online] [cit. 2015-07-11].
- [20] KRIST, J., GÉLA, F., FRONČEK, F., KUBALA, M. (2008): *Luminiscence v běžném životě i v laboratoři*. Chem. Listy 102: 1012 – 1016.
- [21] ŠINDELÁŘ, Z., KLEČKOVÁ, M.: *Luminiscence – experimenty*. Pracovní text. Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. Dostupné na: [http://ucitelchemie.upol.cz/materialy/experimenty/experimenty\\_gh\\_sgo\\_luminiscence.doc](http://ucitelchemie.upol.cz/materialy/experimenty/experimenty_gh_sgo_luminiscence.doc)
- [22] <http://www.compoundchem.com/2015/01/22/highlighters/> [online] [cit. 2015-07-11].
- [23] KONGBONGA, Y. G. M a kol.: *Characterization of Vegetable Oils by Fluorescence Spectroscopy*. Food and Nutrition Sciences, 2011, 2, 692-699.
- [24] WAHAB, M. F., GORE, G. R.: *Deeper Insight into Fluorescence – Excitation of Molecules by Light*. The Physics Teacher: 51, 306. 2013.
- [25] <http://www.vernier.cz/experimenty/podle-produktu/kod/SVIS-PL> [online] [cit. 2015-07-11].

---

# Přílohy

## 8. Seznam natočených pokusů na DVD

### Pokusy z fotoluminiscence:

- Difuze fluoresceinu ve vodě <https://youtu.be/1gUyVCY79z8>
- Model zářivky <https://youtu.be/f9zQfIuhCqo>
- Difuze eskulinu ve vodě <https://youtu.be/yPWQbV4QVmk>

### Pokusy z chemiluminiscence:

- Barevná chemiluminiscence luminolu [https://youtu.be/Y\\_3Gc3frq6Y](https://youtu.be/Y_3Gc3frq6Y)  
<https://youtu.be/IOMU3R0JiBk>  
<https://youtu.be/kMIZzOwIOvM>  
<https://youtu.be/U10DGyya2xA>
- Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku [https://youtu.be/-etZe6\\_wcyc](https://youtu.be/-etZe6_wcyc)
- Chemiluminiscence směsi formaldehydu a pyrogallolu  
<https://youtu.be/RHHzGz4s0Xg>  
<https://youtu.be/qMINJwxdXW4>
- Fosforescence bílého fosforu <https://youtu.be/4HGUKOy7E5k>

### Pokusy z mechanoluminiscence:

- Luminiscence při krystalizaci [https://youtu.be/j\\_vdWiDv1Pc](https://youtu.be/j_vdWiDv1Pc)

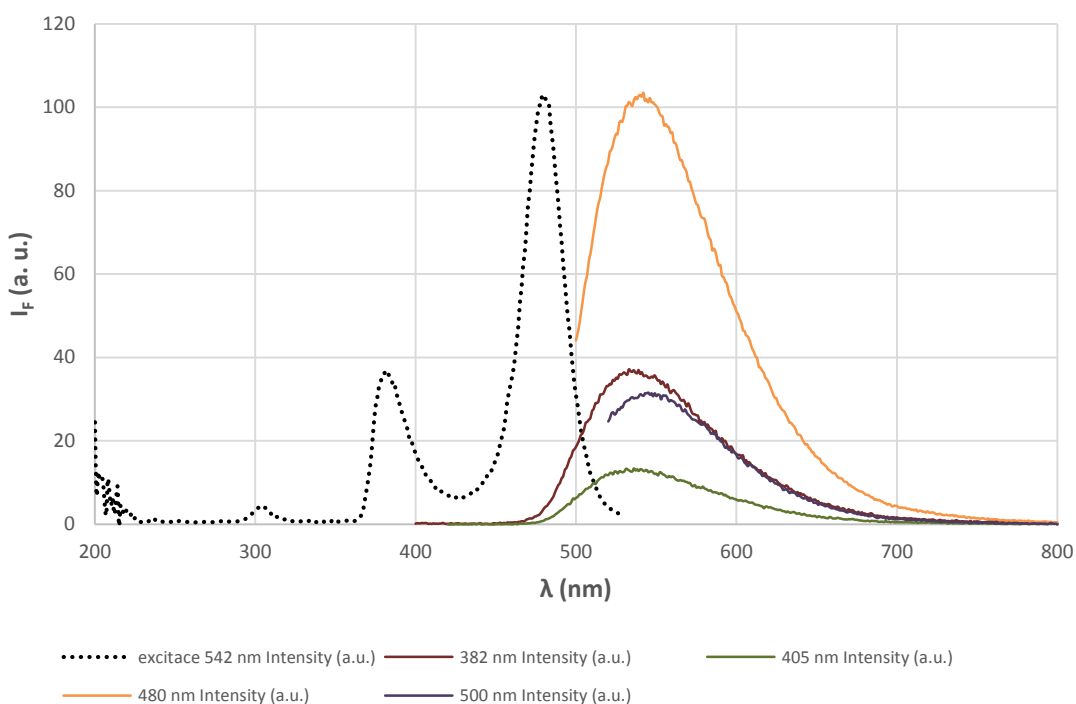
## 9. Seznam použitých zkratk

CRT .....	Cathode Ray Tube, vakuová obrazová elektronka
ICT .....	informační a komunikační technologie
LCD .....	Liquid Crystal Display, displej z tekutých krystalů
LED .....	elektroluminiscenční světlo emitující dioda
M.....	mol/l, jednotka koncentrace
PE.....	polyethylen
UV .....	ultrafialové záření

## 10. Naměřená fluorescenční spektra roztoků

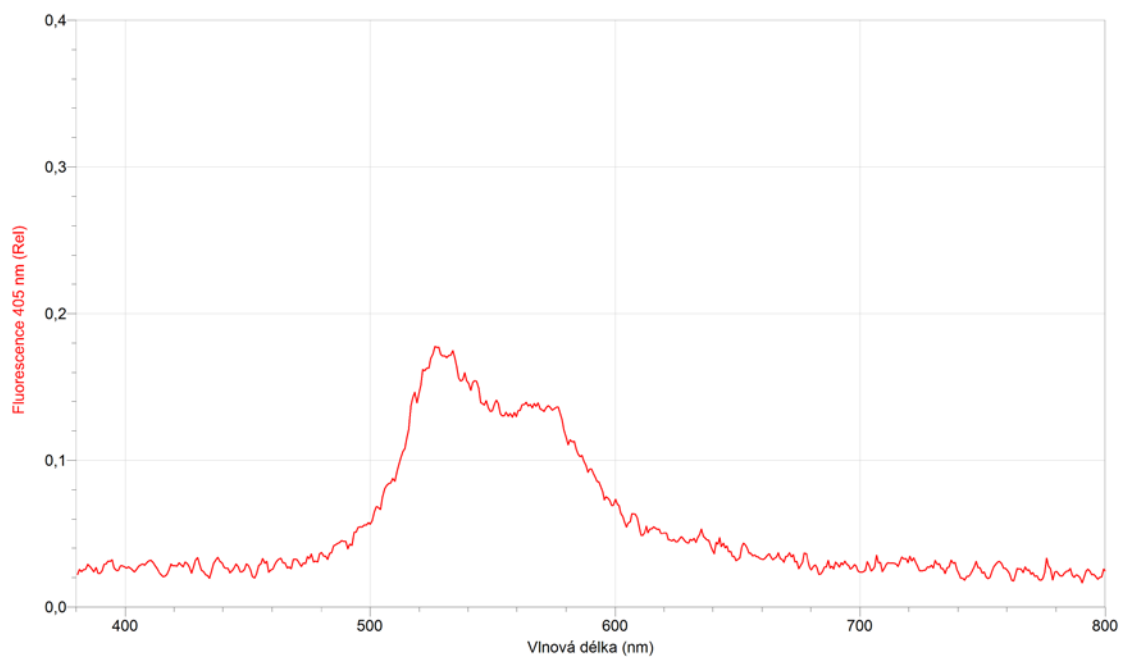
Následující text obsahuje výčet všech měřených látek spolu s jejich fluorescenčními spektry excitačními (tečkovaně) a emisními, seřazených podle abecedy. Měření probíhalo na fluorescenčním spektrometru Agilent Cary Eclipse na katedře organické chemie PřF UP Olomouc. Použitá rozpouštědla jsou uvedena v závorce za názvem látky. Pokud látka vykazovala dostatečnou intenzitu fluorescence, byla podrobena měření na školním spektrometru Vernier SpectroVis Plus. Doporučení i výsledné spektrum je pak uvedeno.

### Berberin hydrogensulfát (ethanol)



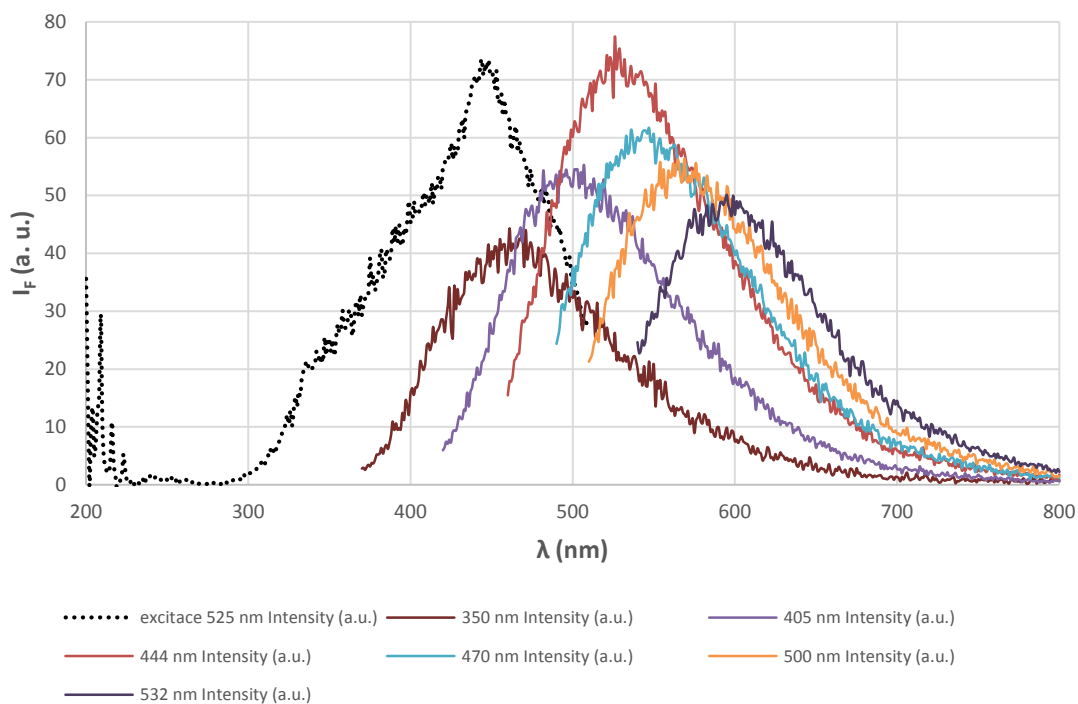
Látka je vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.





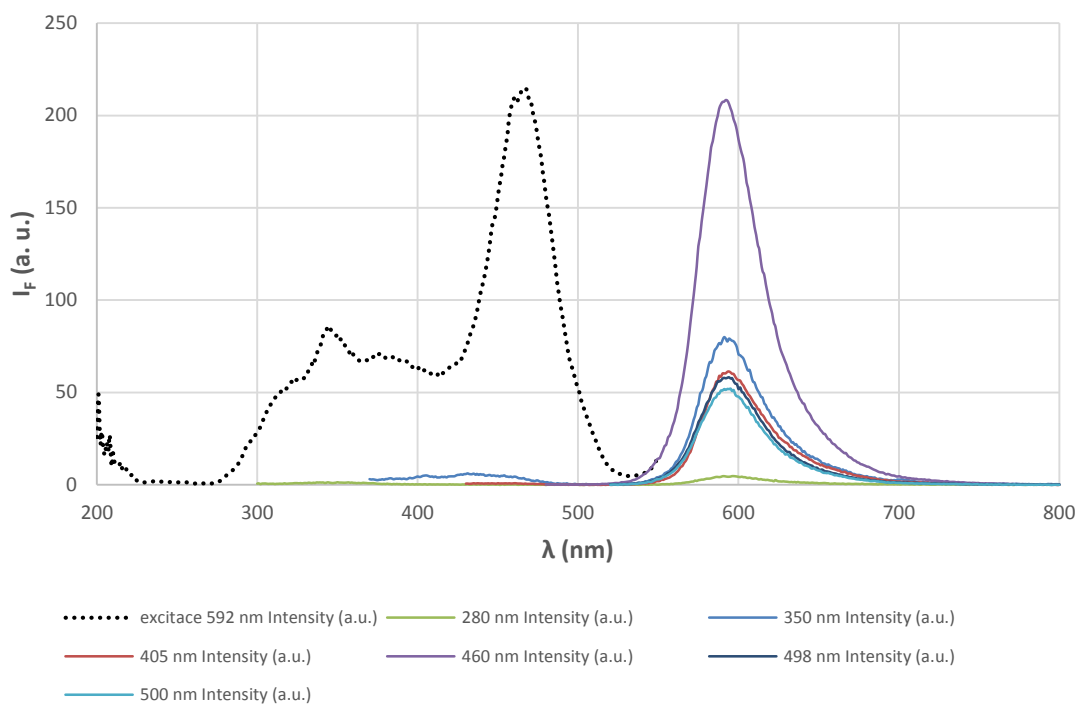
Vernier, vzorkovací čas 1000 ms

### CocaCola (klasická)



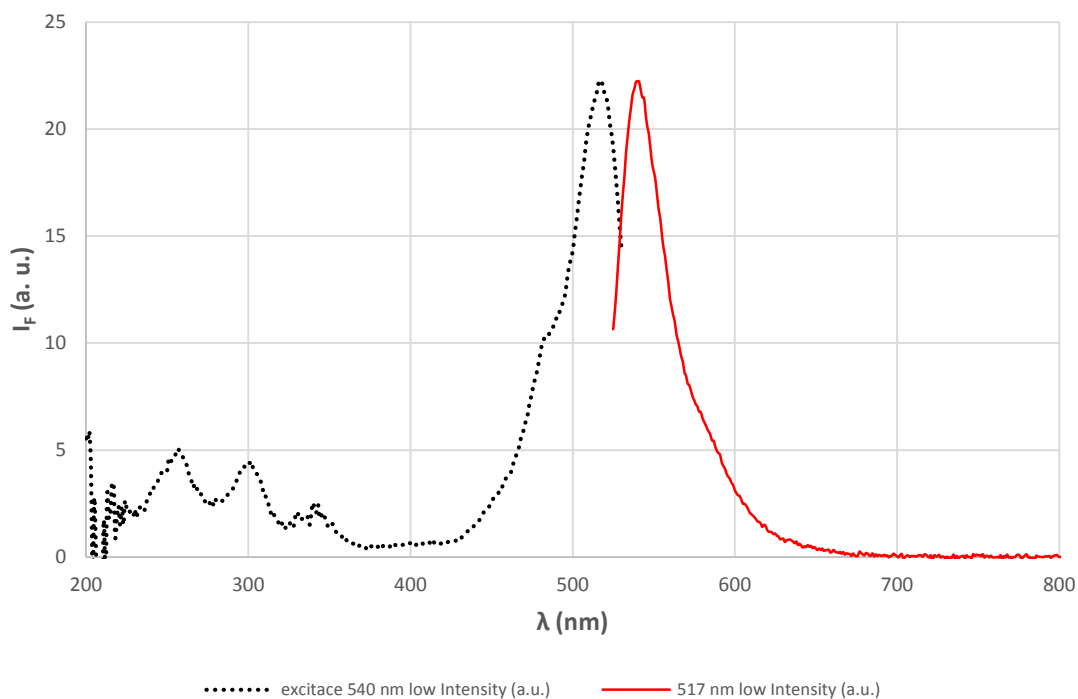
Nápoj je naprosto nevhodný pro jakákoli měření, spektrum vykazuje značné odchylky, neboť je přítomno větší množství velmi slabě fluoreskujících látek.

## Eosin B (ethanol)



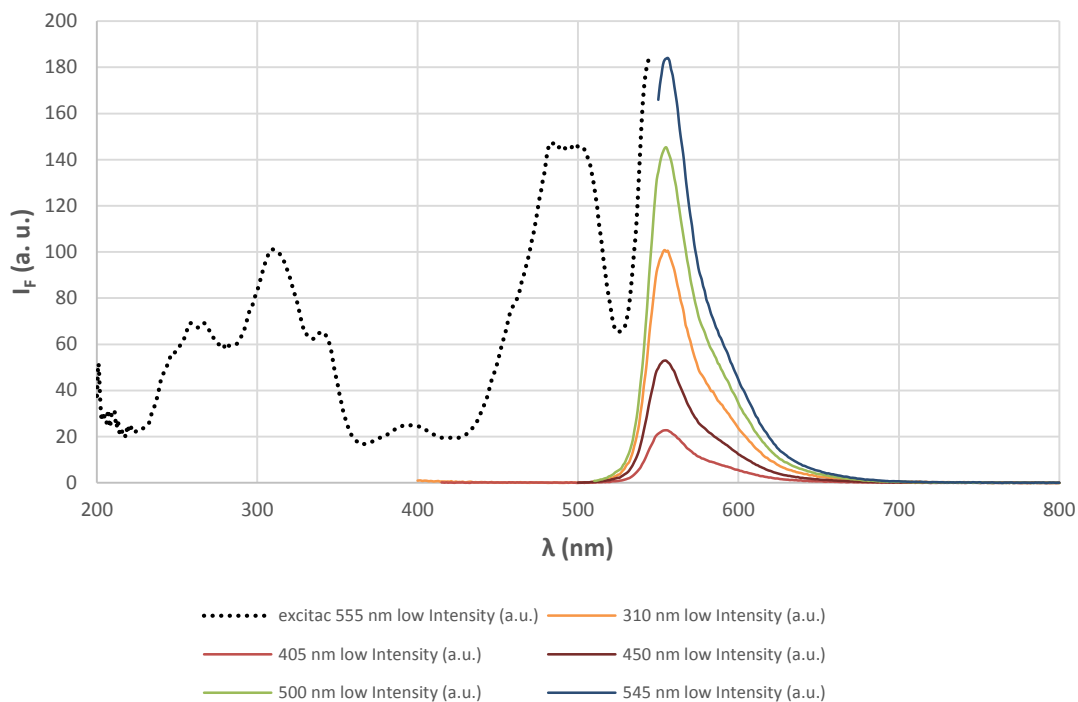
Látka je vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Eosin B (0,1M-KOH)

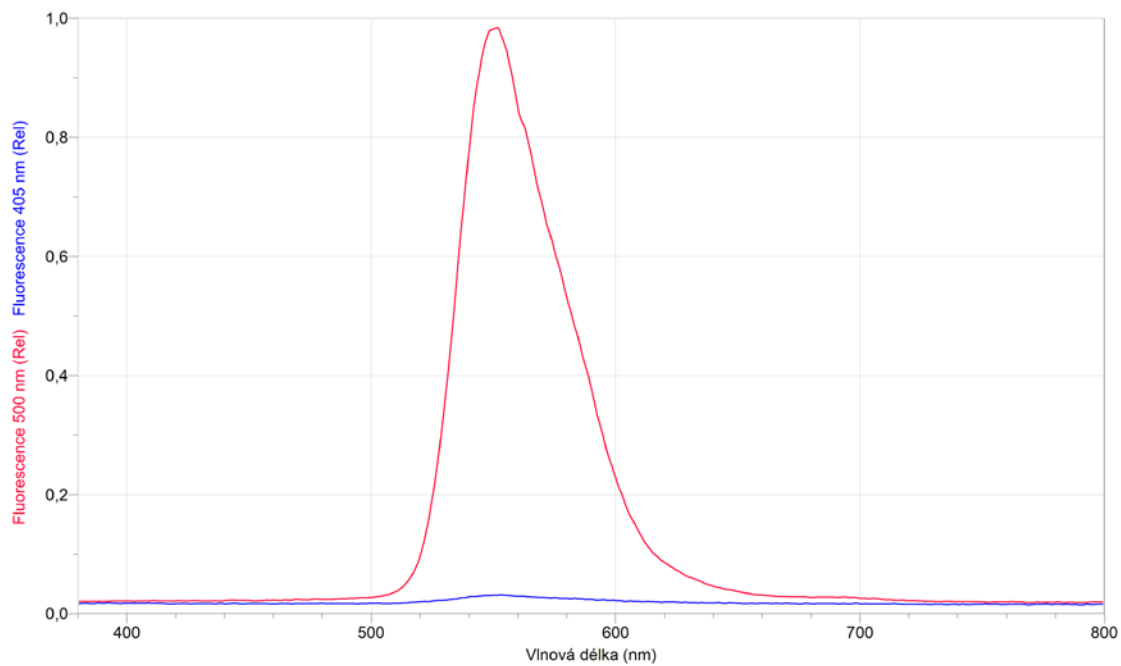


Látka je vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Eosin Y (ethanol)

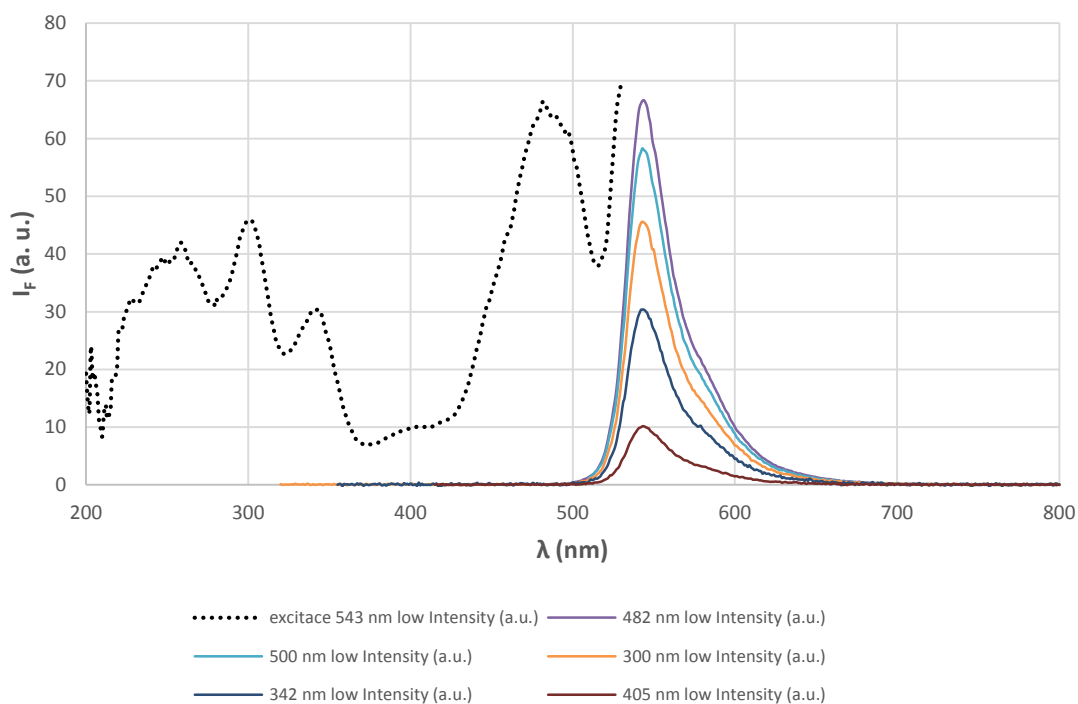


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



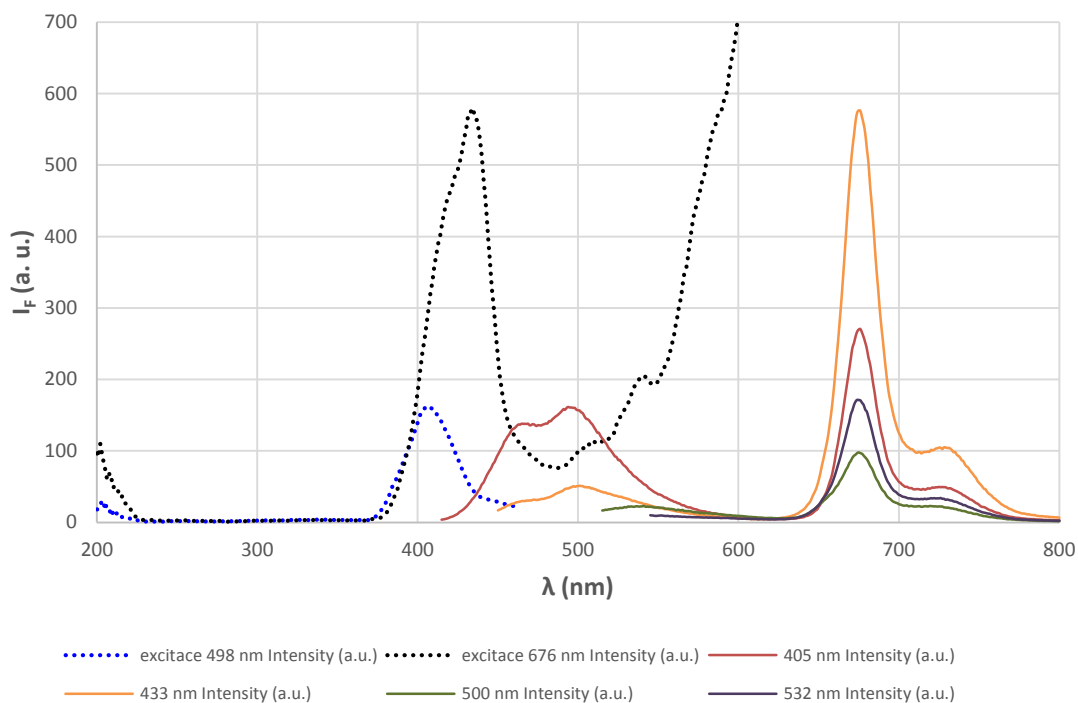
Vernier, vzorkovací čas 15 ms

## Eosin Y (0,1M-KOH)

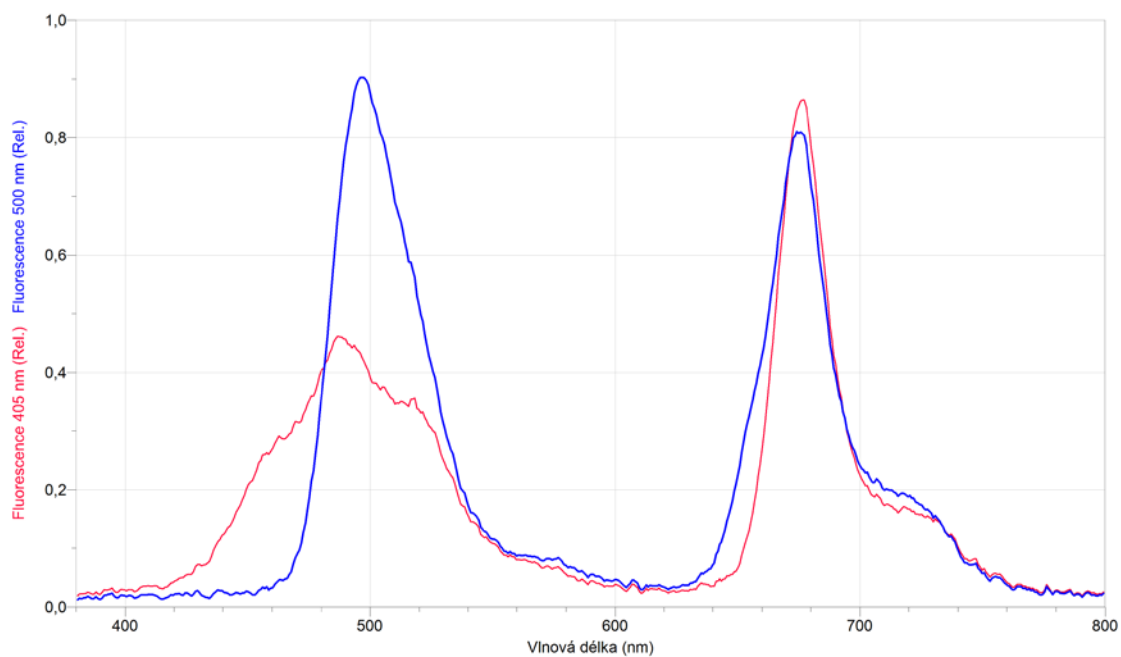


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Extrakt jírovce maďalu (ethanol)

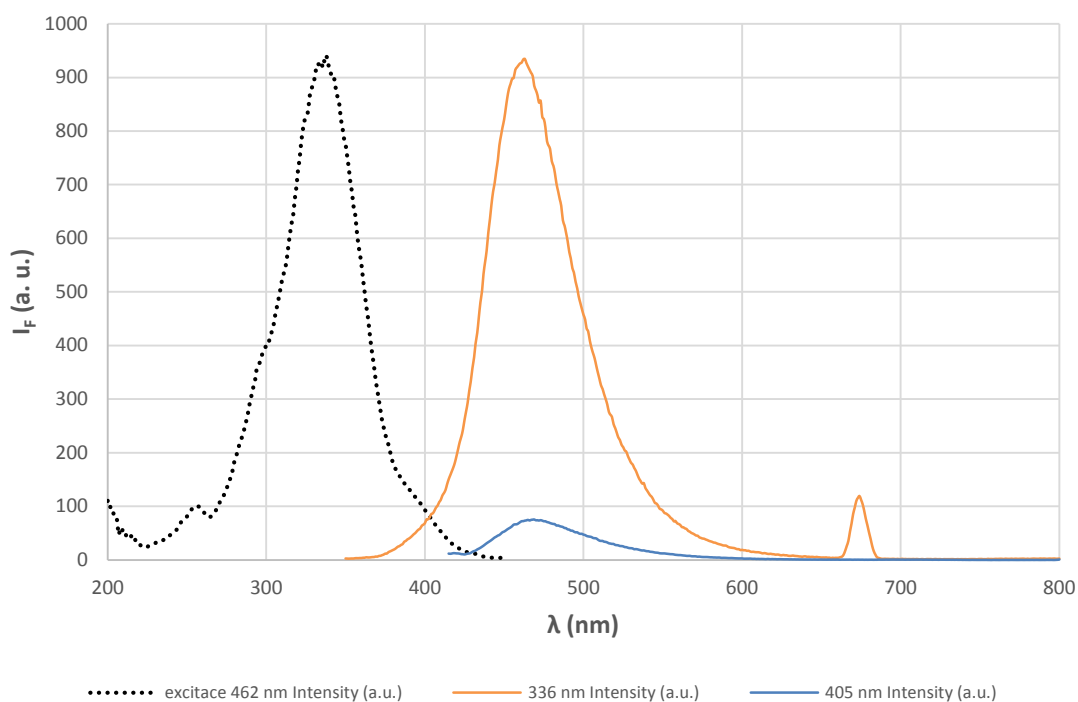


Látka je vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

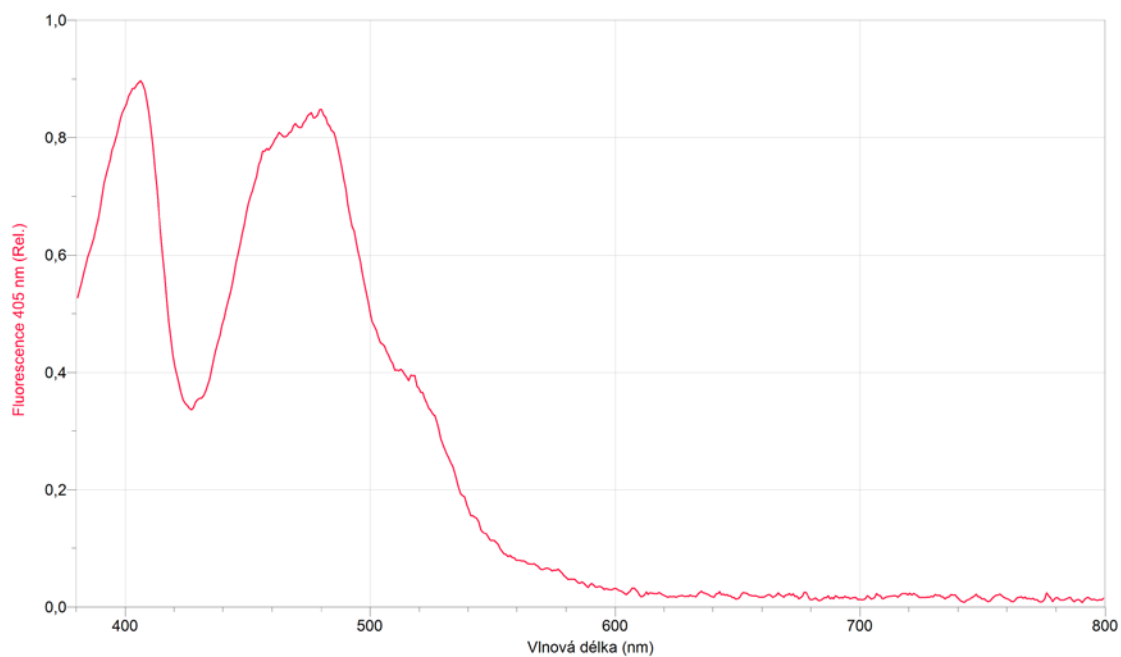


Vernier, vzorkovací čas pro 405 nm 900 ms, pro 500 nm 800 ms

### Extrakt jírovce maďalu – eskulin (destilovaná voda)

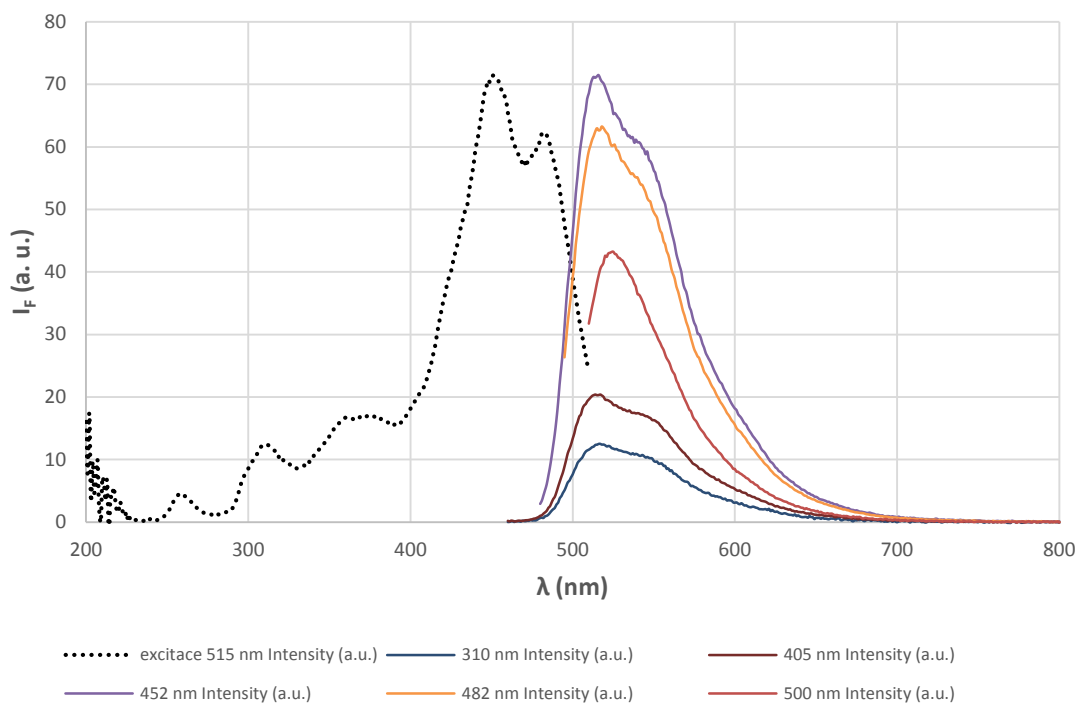


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

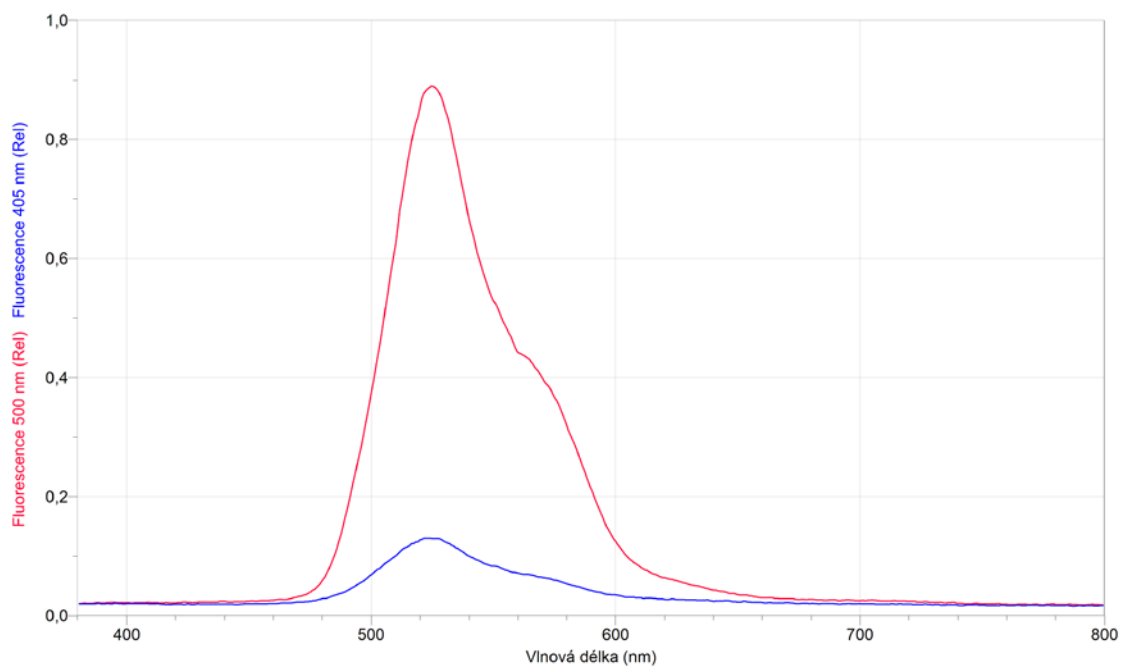


Vernier, vzorkovací čas 100 ms

### Fluorescein (ethanol)

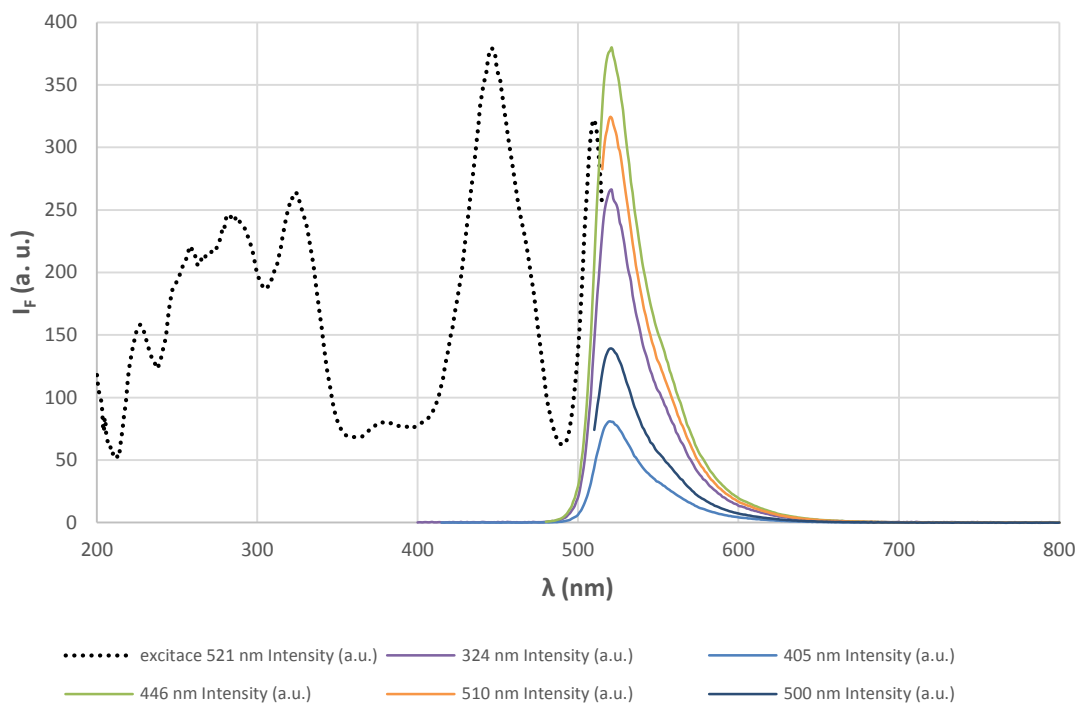


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

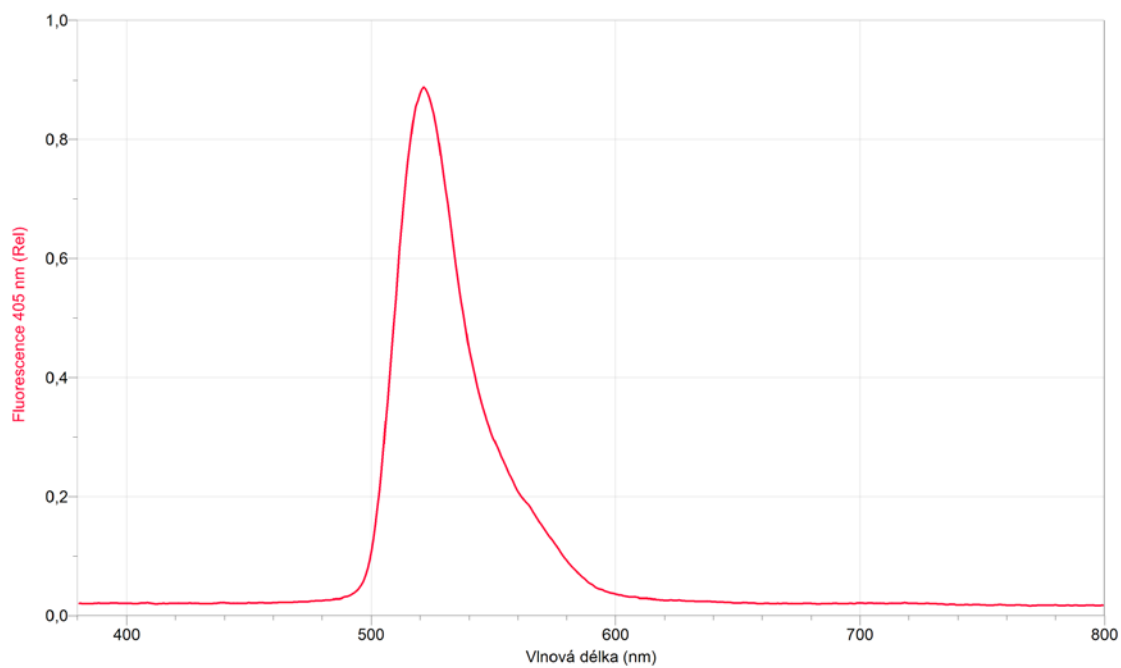


Vernier, vzorkovací čas 40 ms

### Fluorescein (0,1M-KOH)

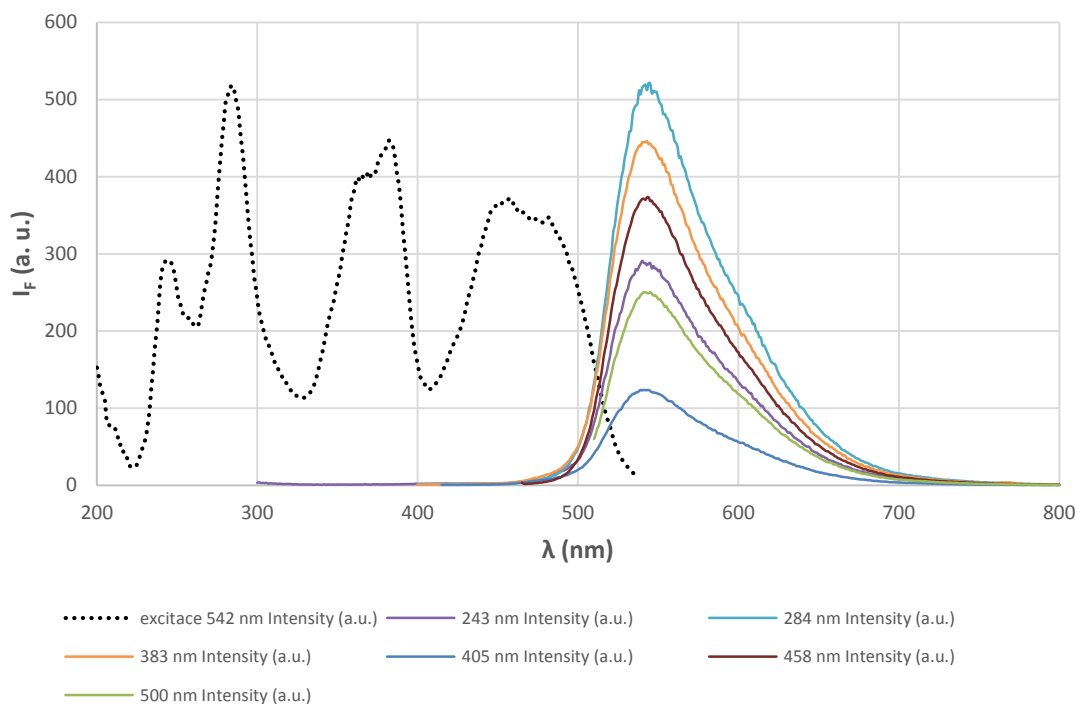


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



Vernier, vzorkovací čas 40 ms

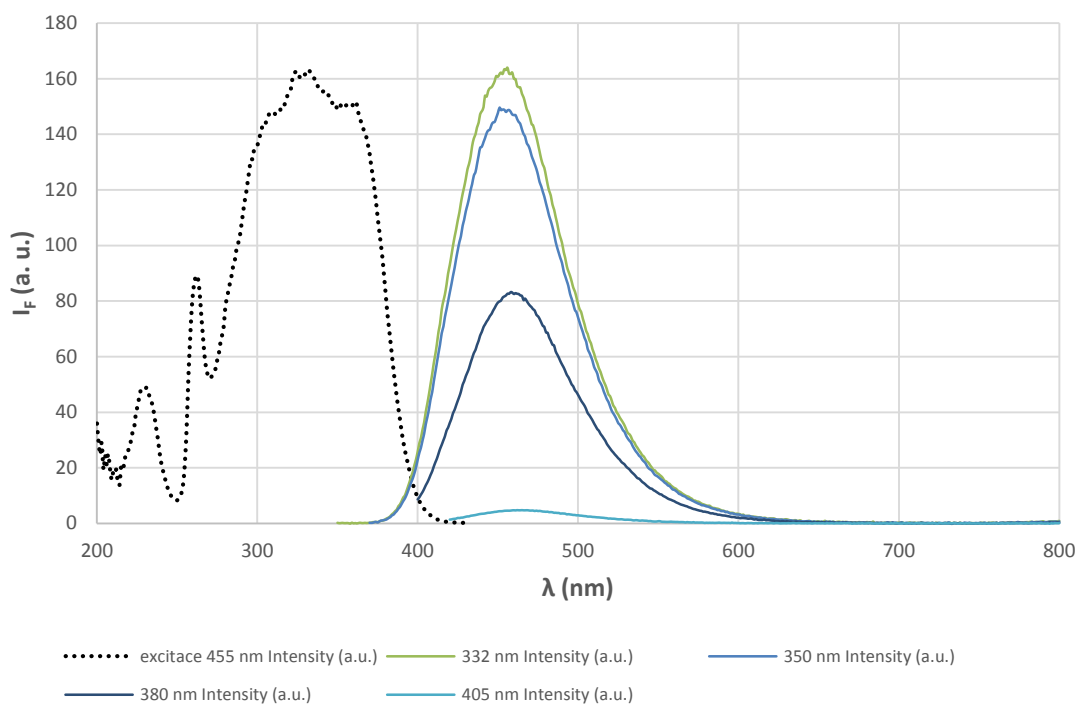
### Fuchsin bazický (0,1M-HCl)



Látka je vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

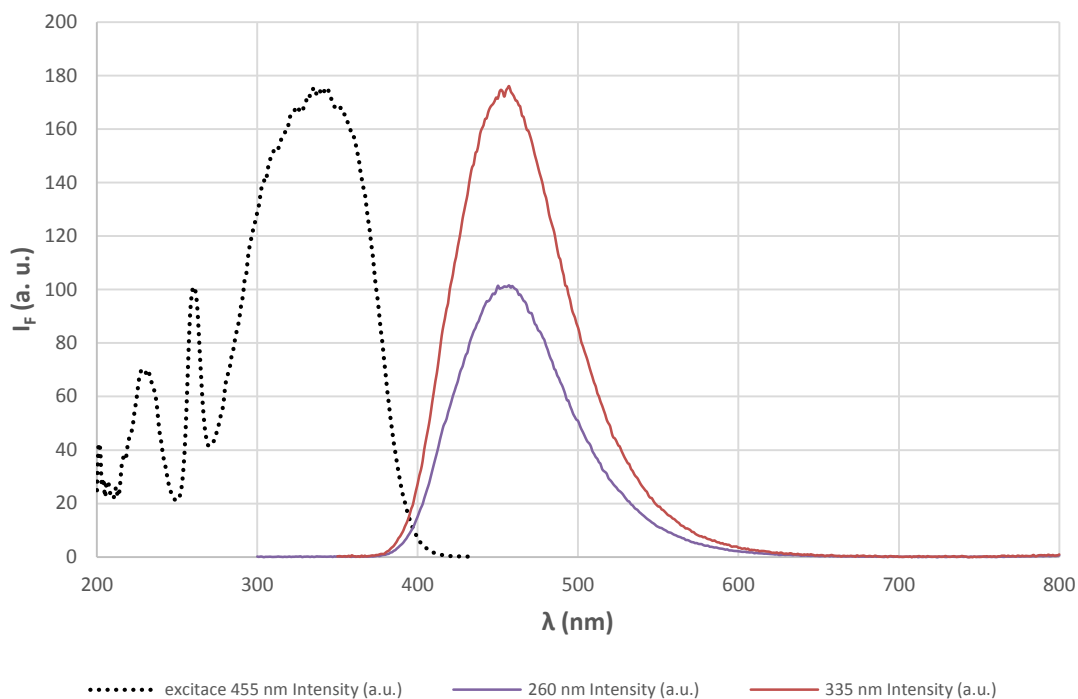


### Chinin hydrochlorid (0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

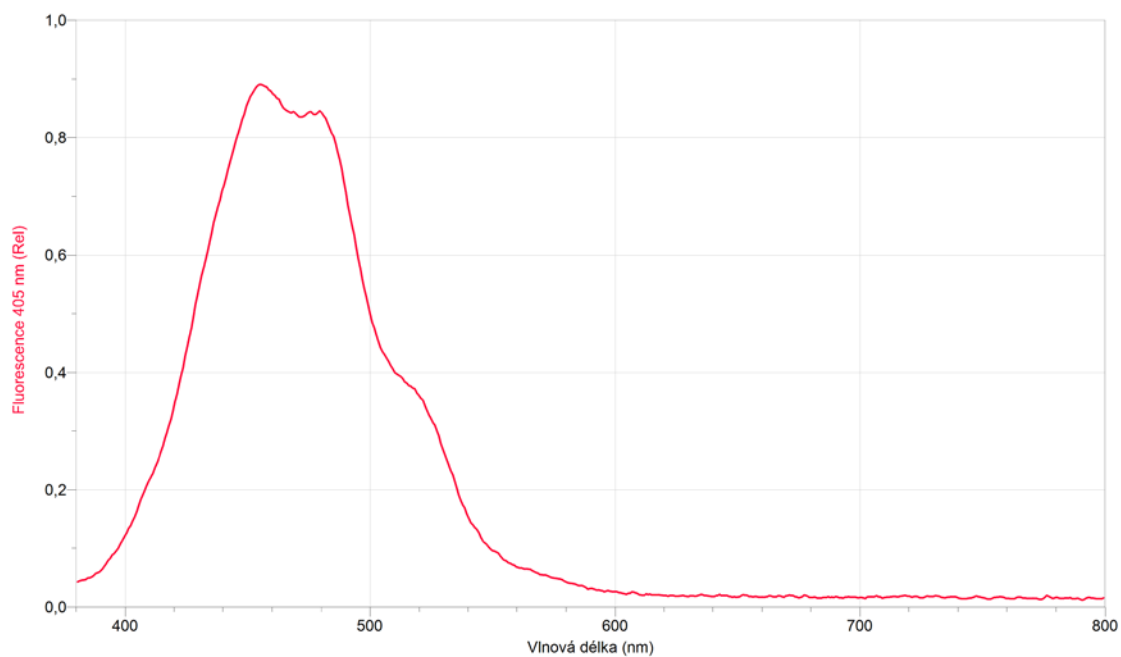


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

### Chininsulfát dihydrát (0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

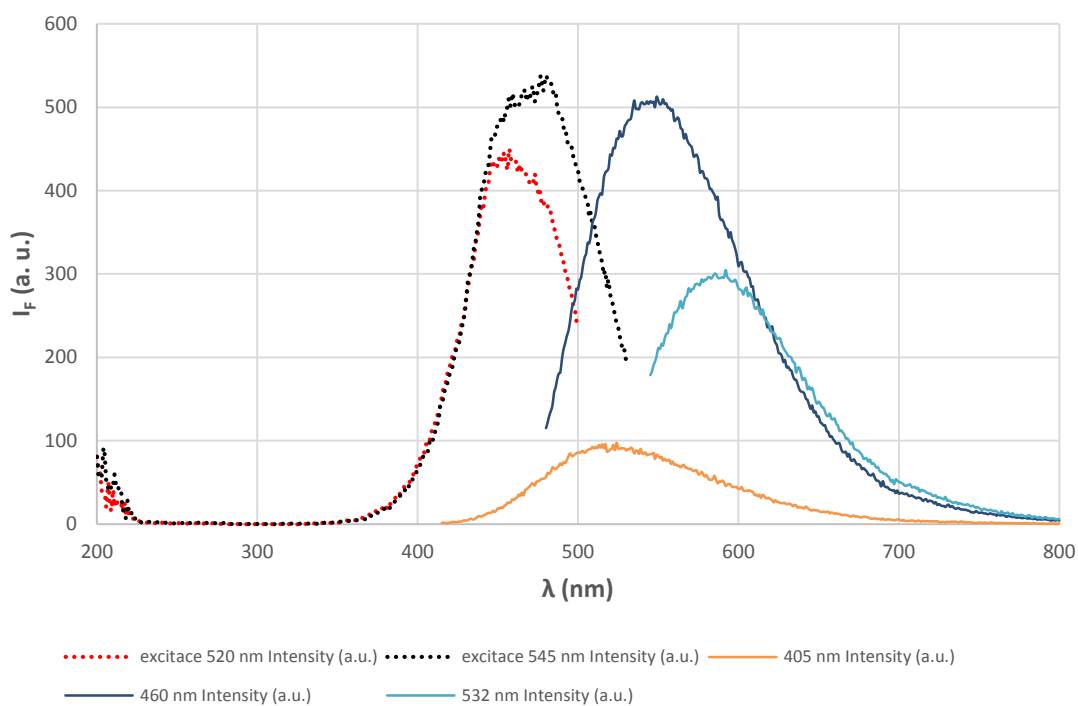


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

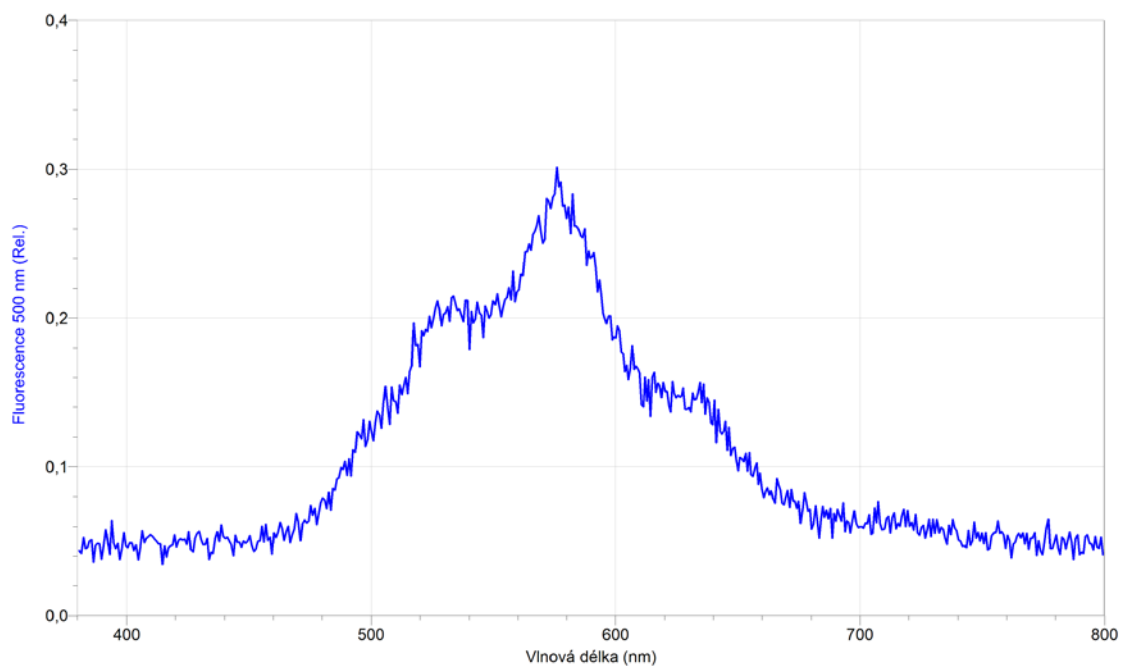


Vernier, vzorkovací čas 270 ms

### Karamel ze sacharózy (destilovaná voda)

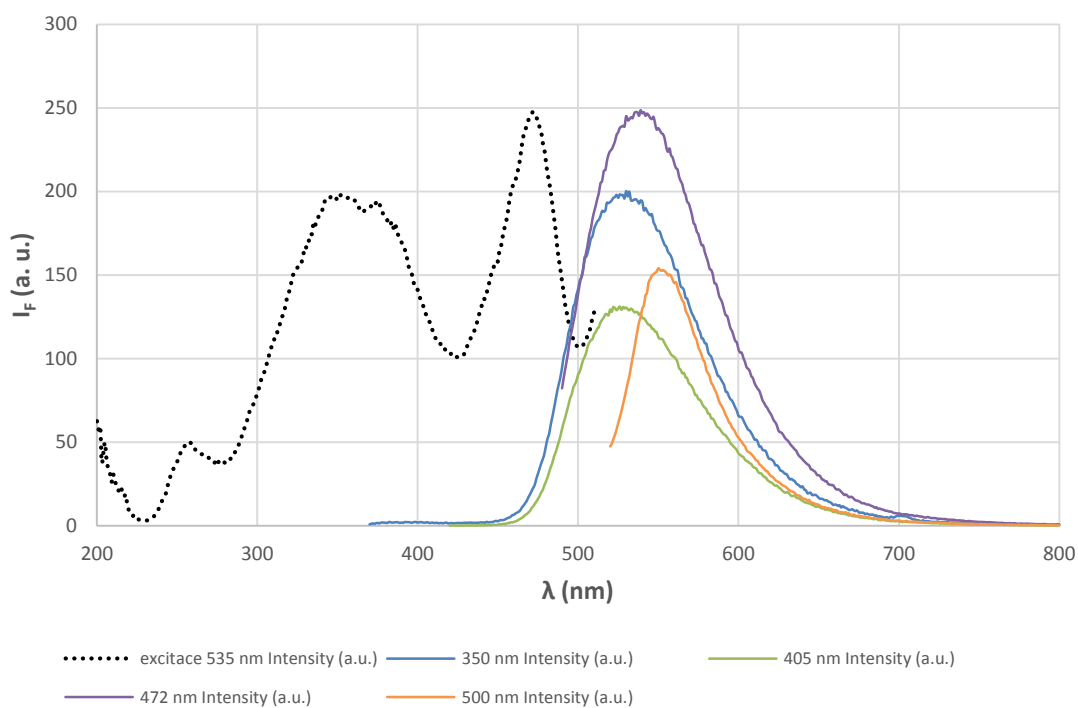


Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier, fluorescenční spektrum s velmi malou intenzitou lze však naměřit.

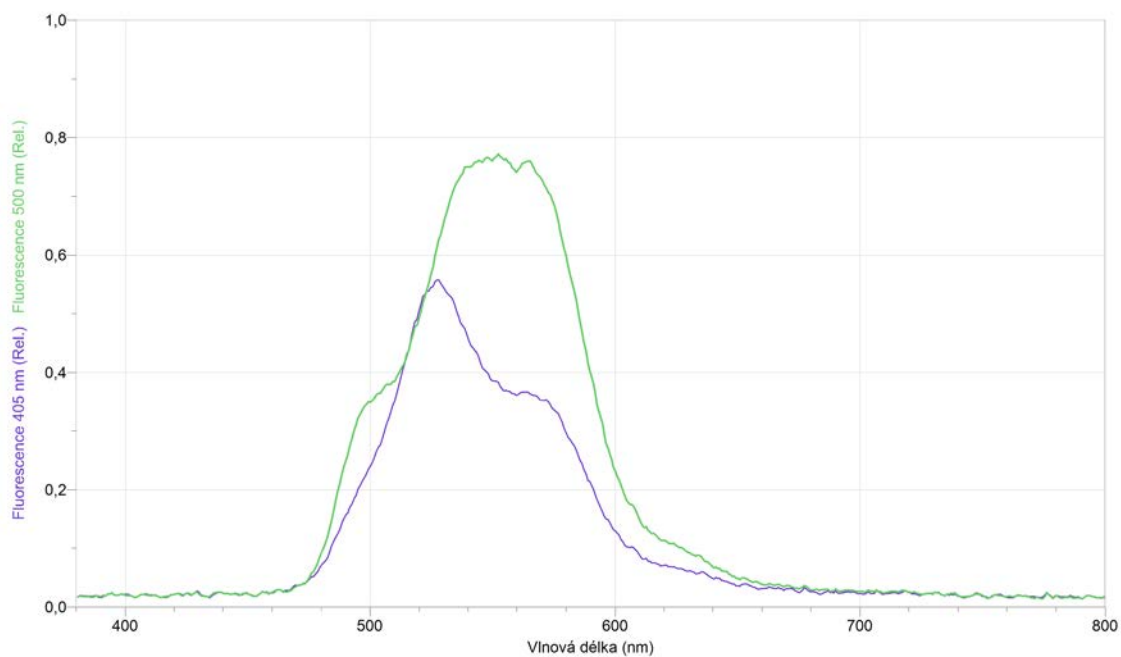


Vernier, vzorkovací čas 1000 ms

### Extrakt ze sušené kurkumy – kurkumin (ethanol)

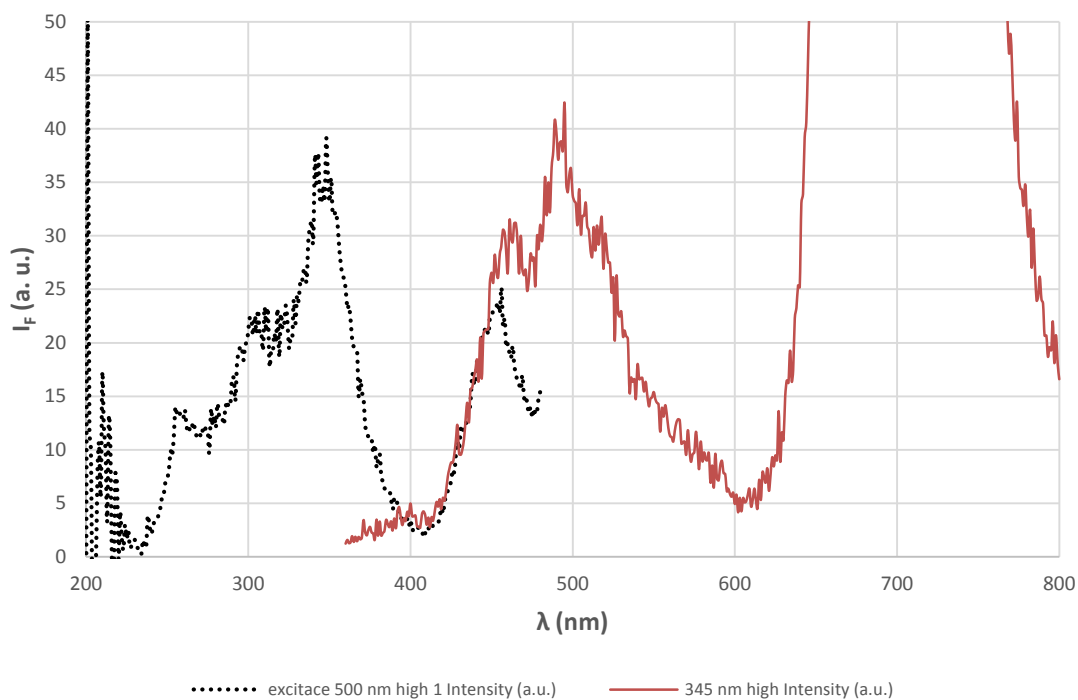


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



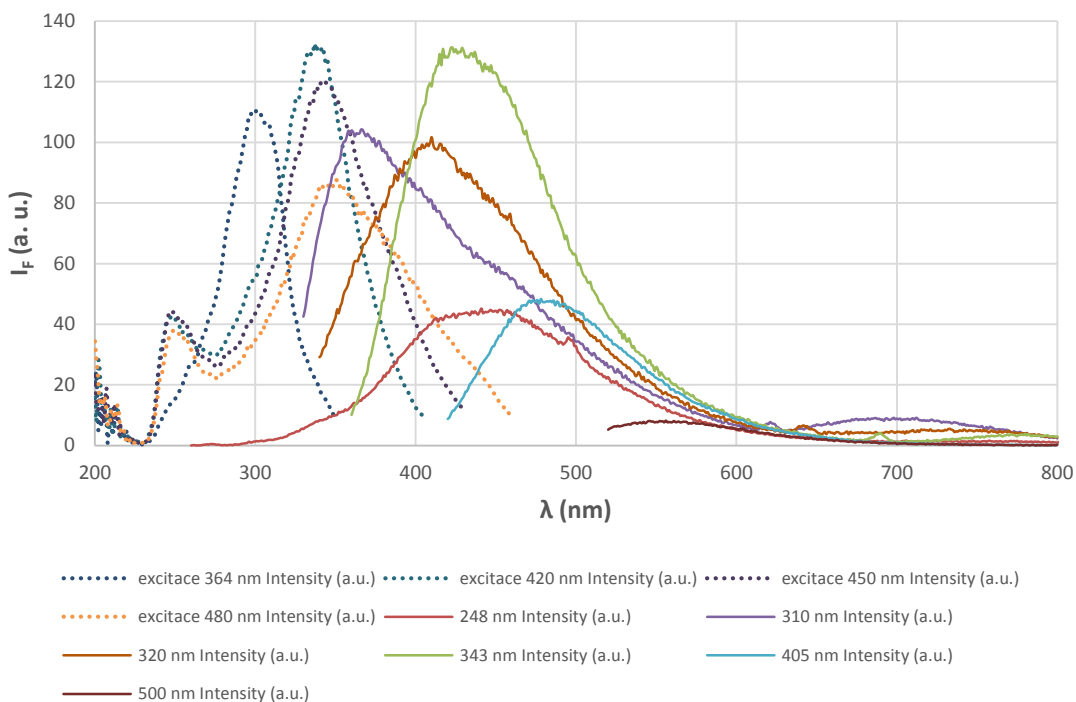
Vernier

### Extrakt sušené mařinky vonné (ethanol)



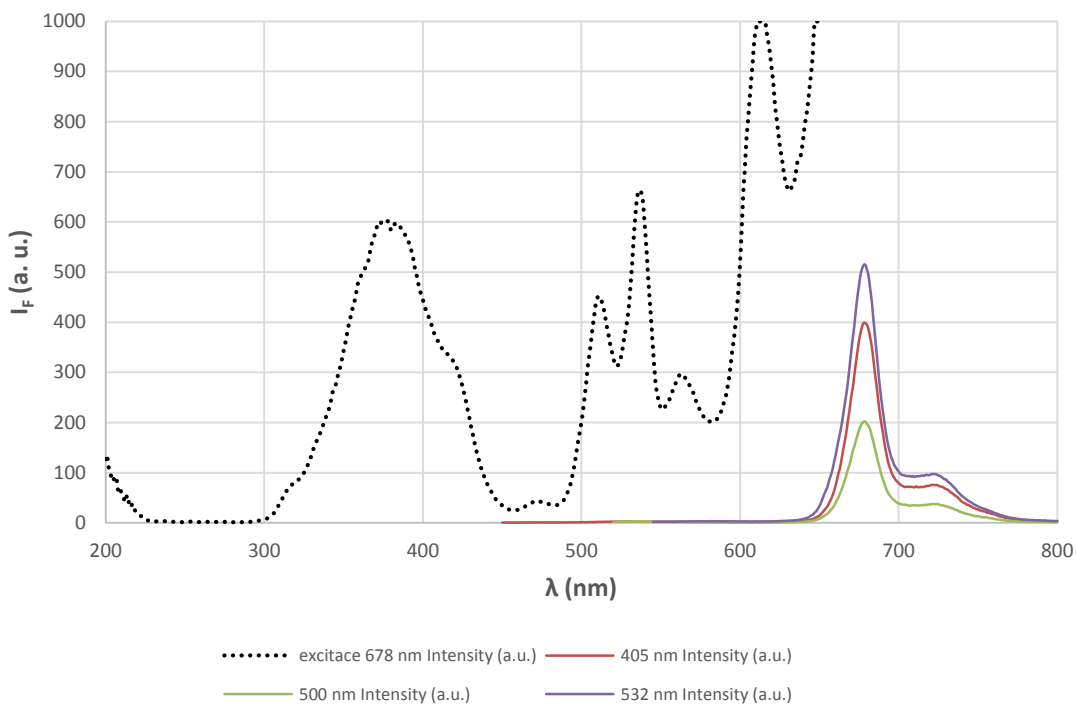
Látka je naprosto nevhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Ocet kvasný lihový 8%

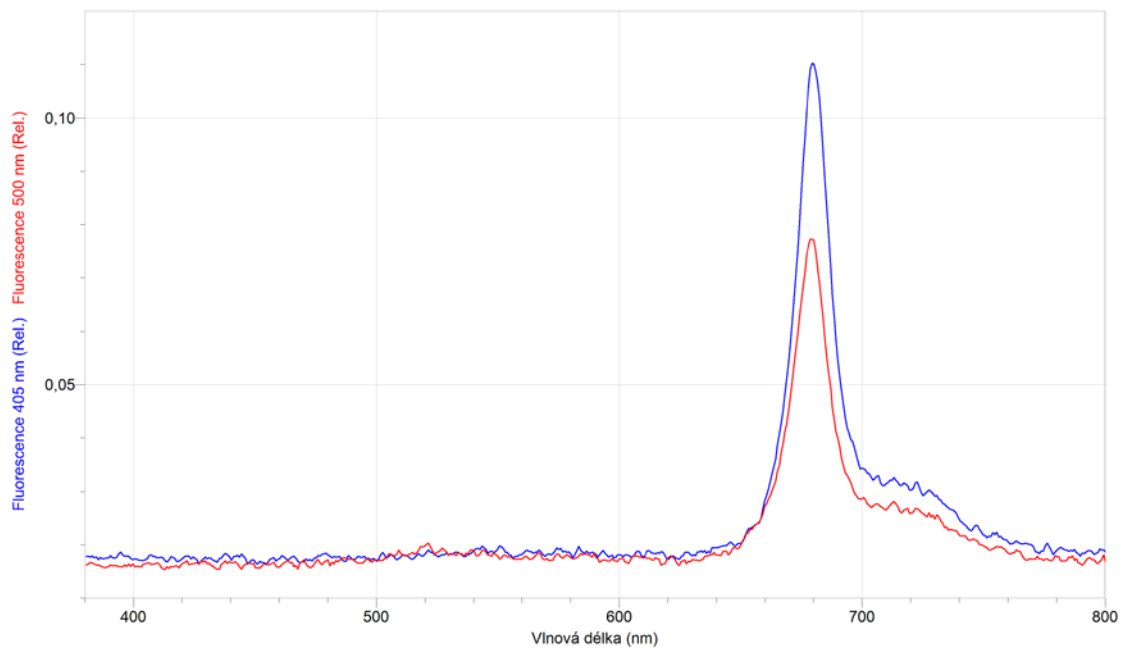


Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Olej olivový panenský

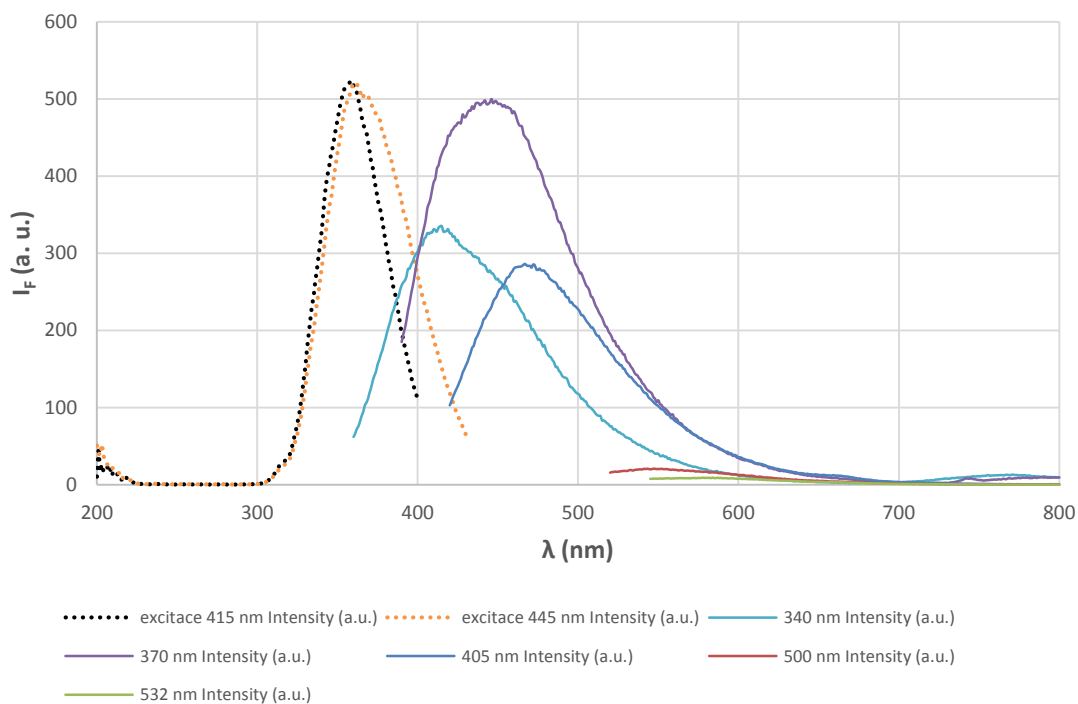


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



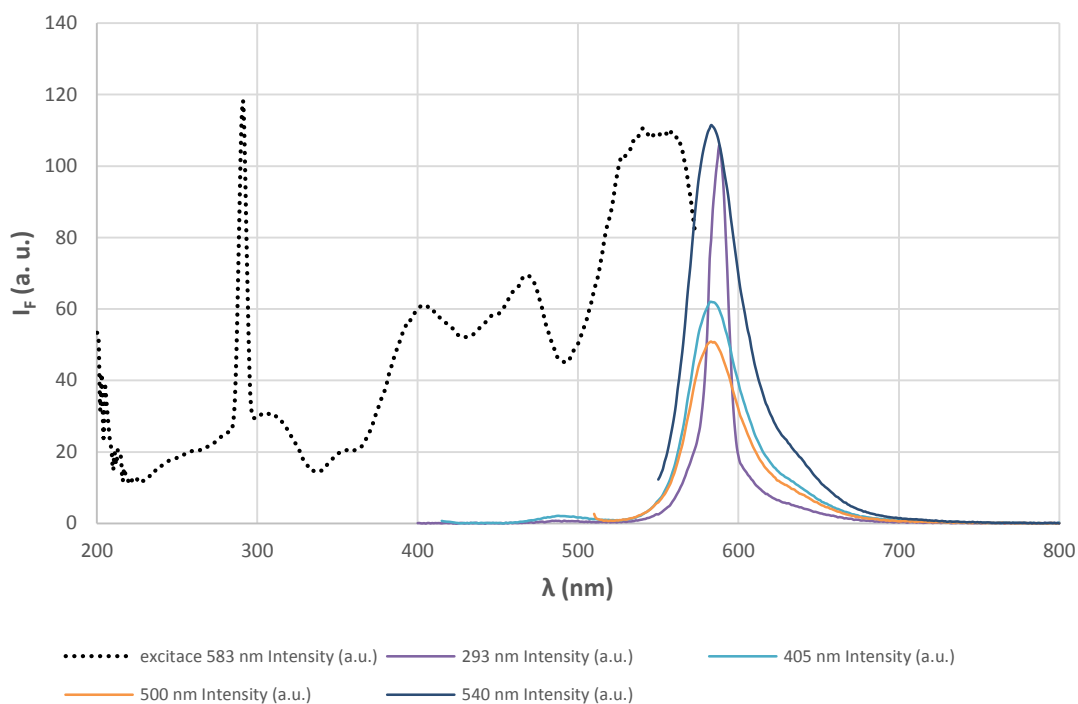
Vernier

### Olej slunečnicový



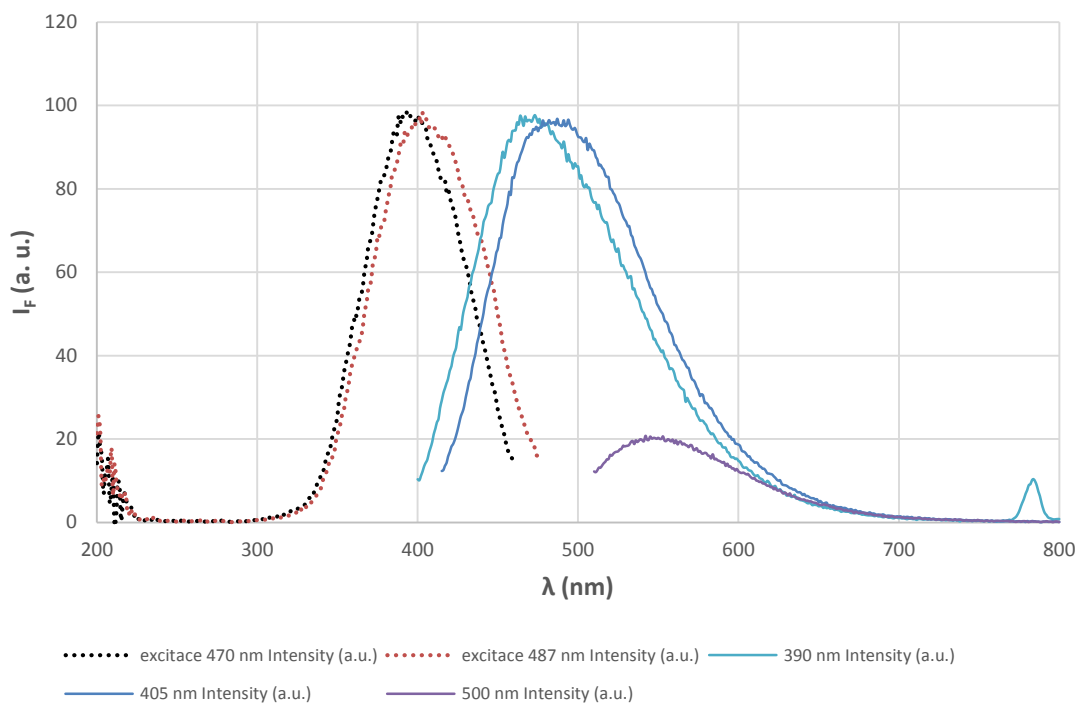
Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Oranžový zvýrazňovač (destilovaná voda)

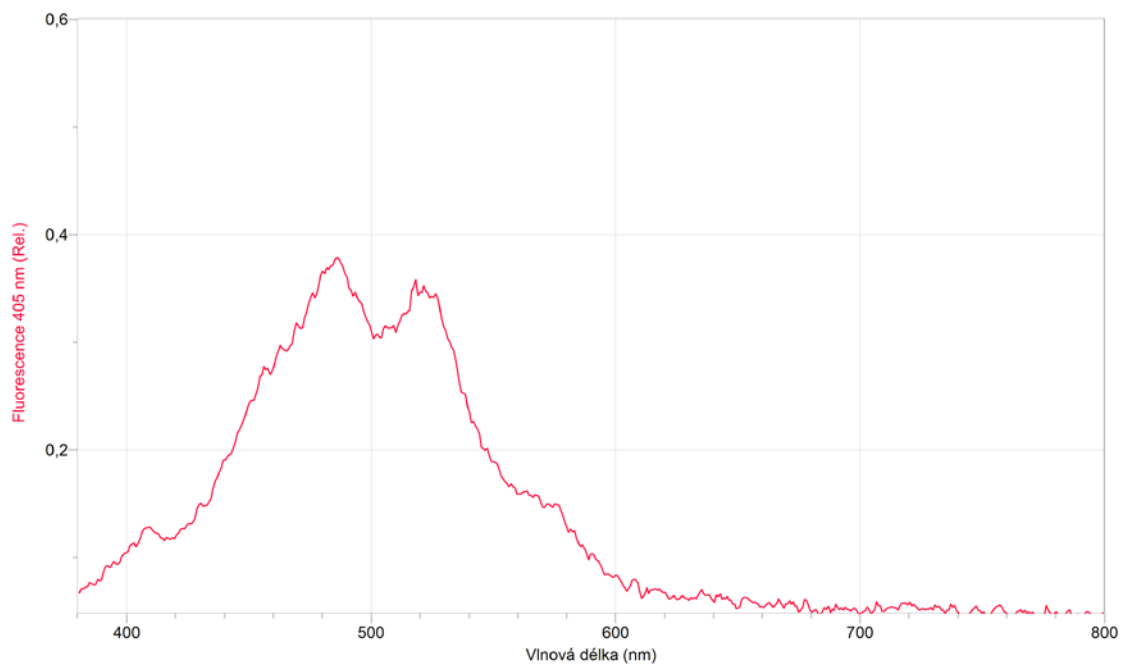


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Pivo Radegast Original

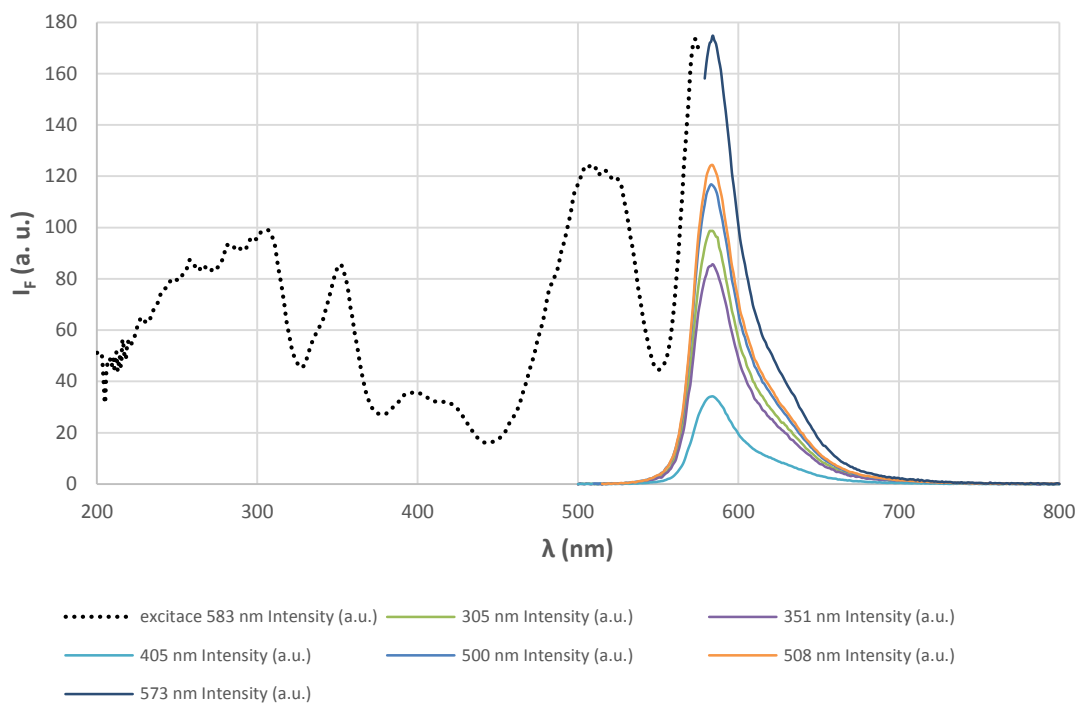


Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier, velmi málo intenzivní fluorescenční spektrum však lze naměřit.



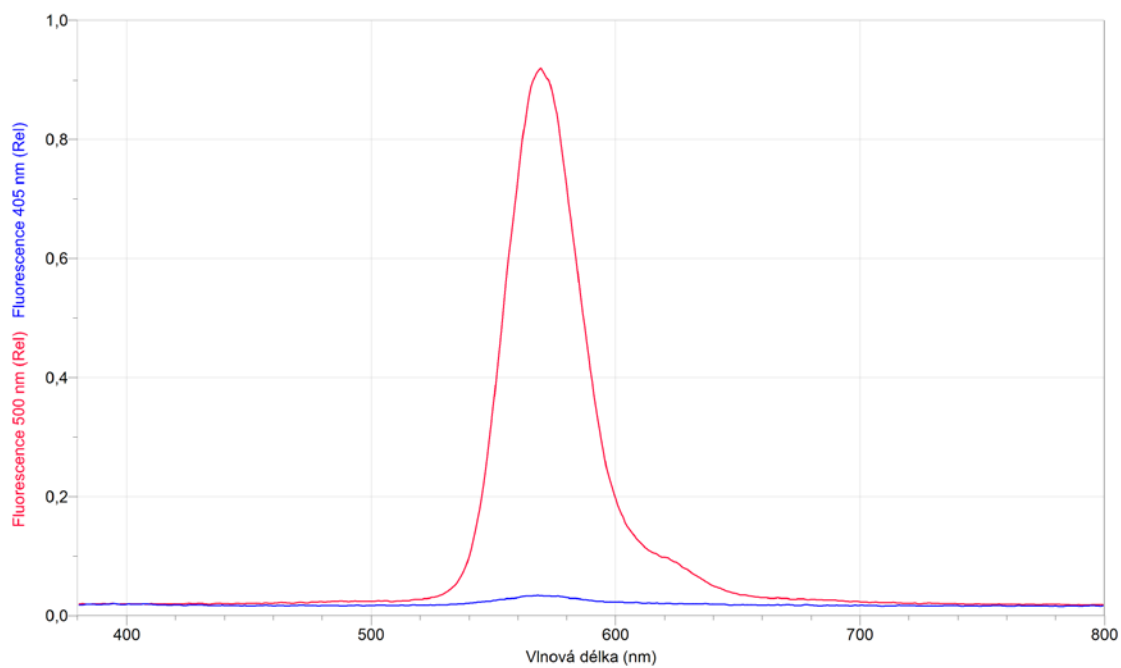
Vernier, vzorkovací čas 1000 ms

### Rhodamin B (ethanol)



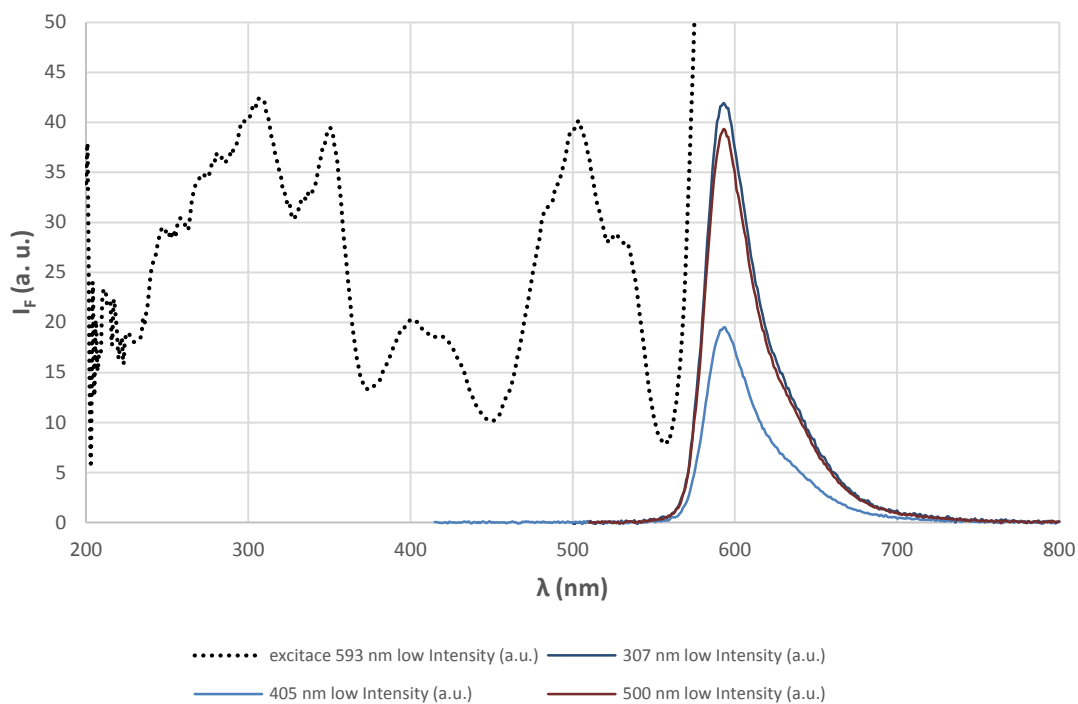
Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



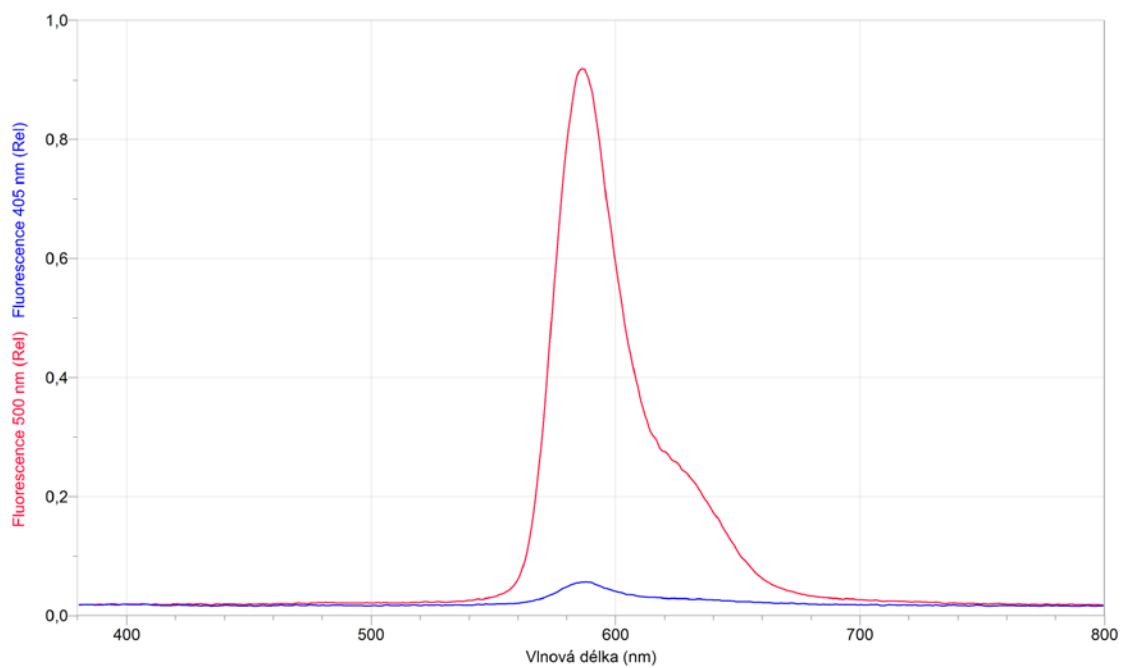


Vernier, vzorkovací čas 35 ms

### Rhodamin B (0,1M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

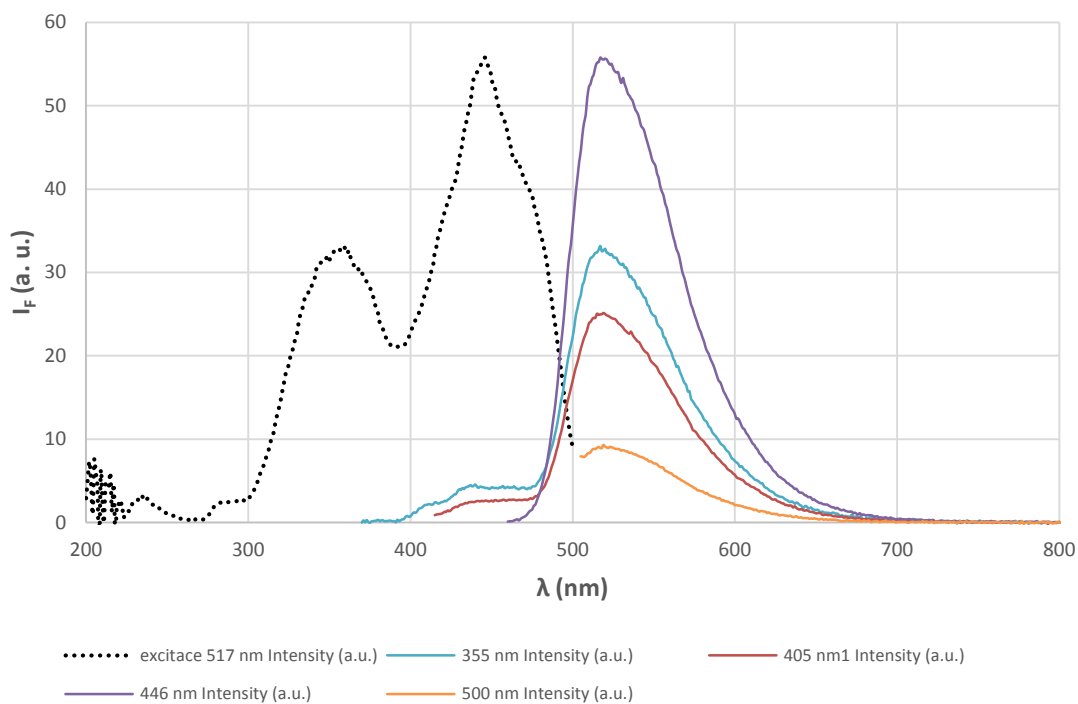


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



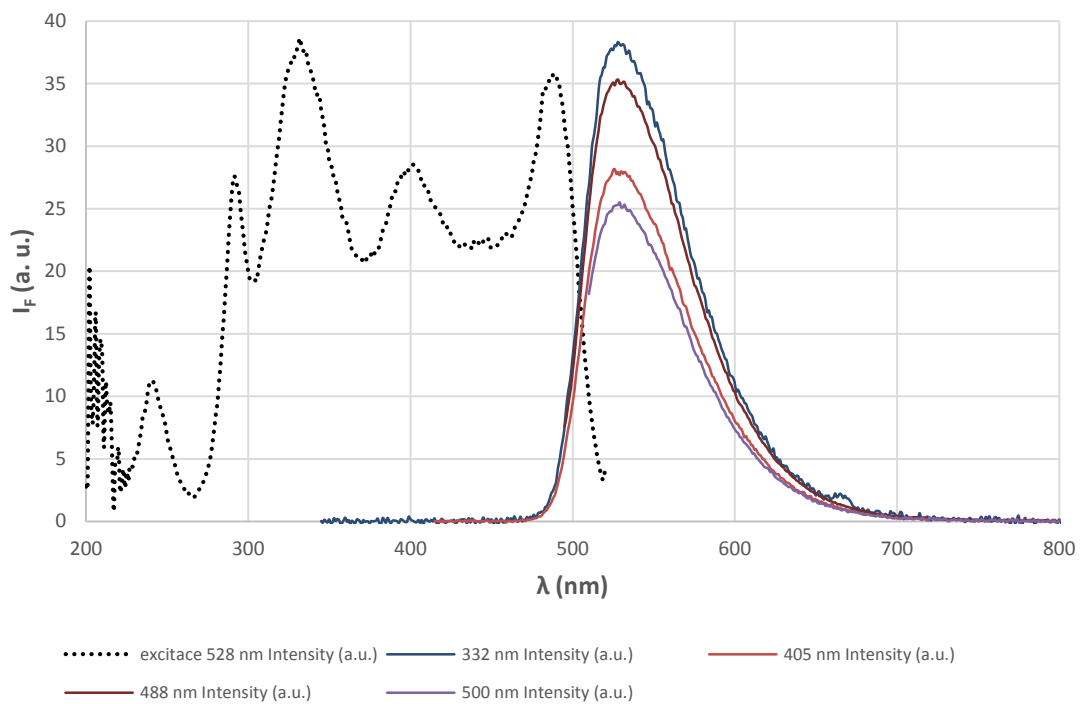
Vernier, vzorkovací čas 45 ms

### Riboflavin (ethanol)

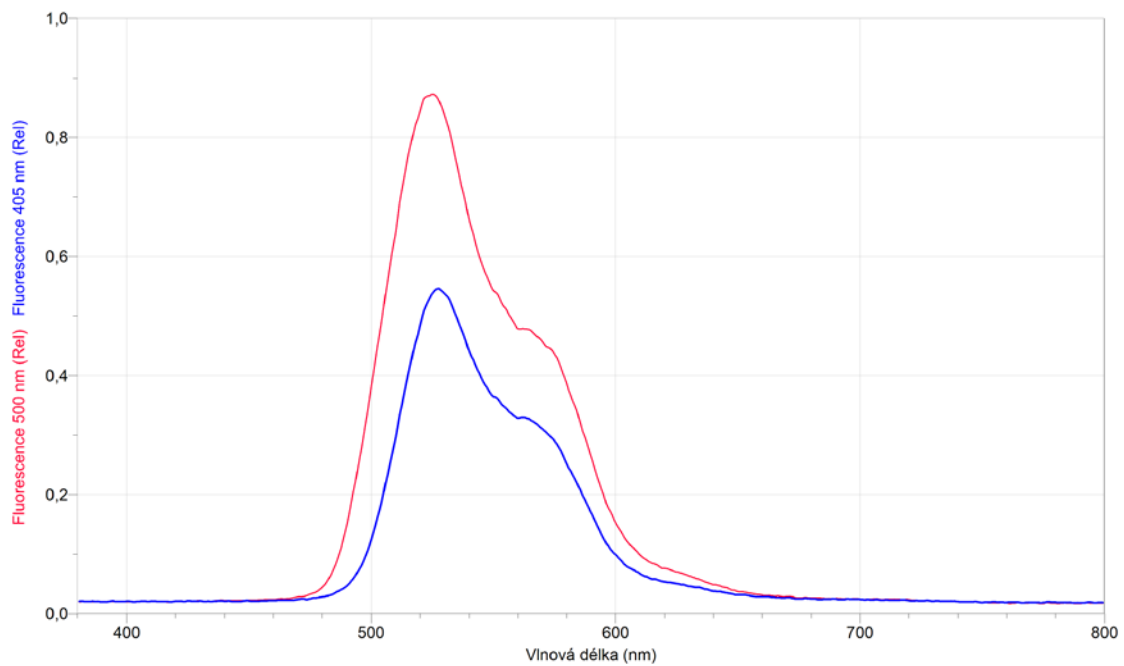


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Riboflavin (destilovaná voda)

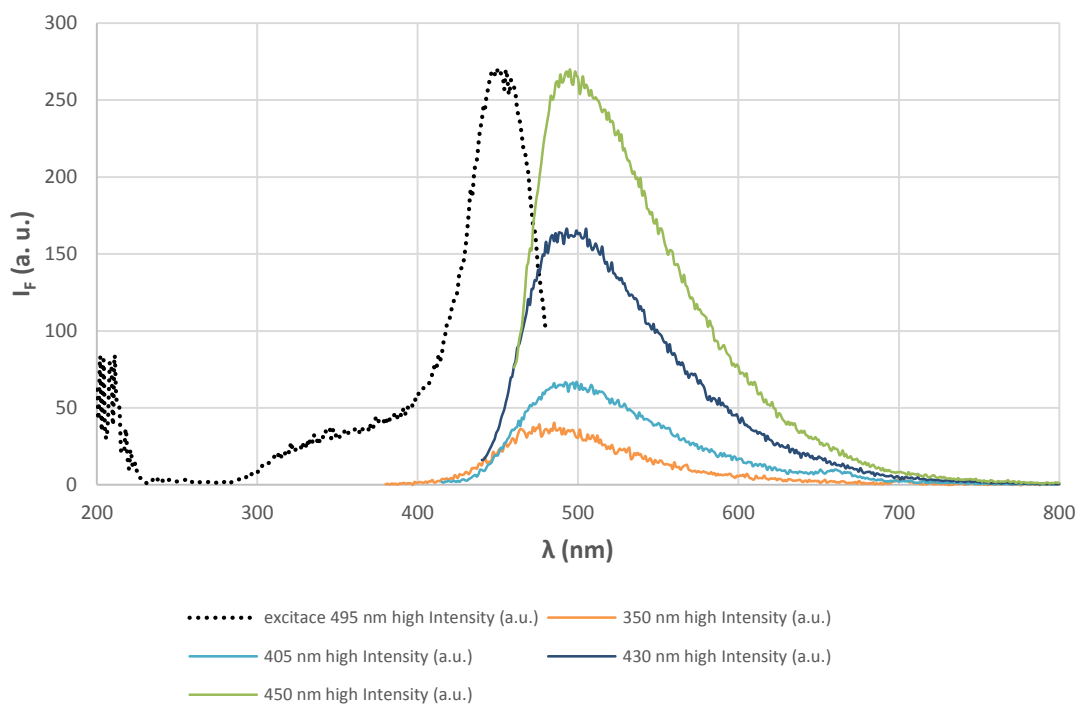


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



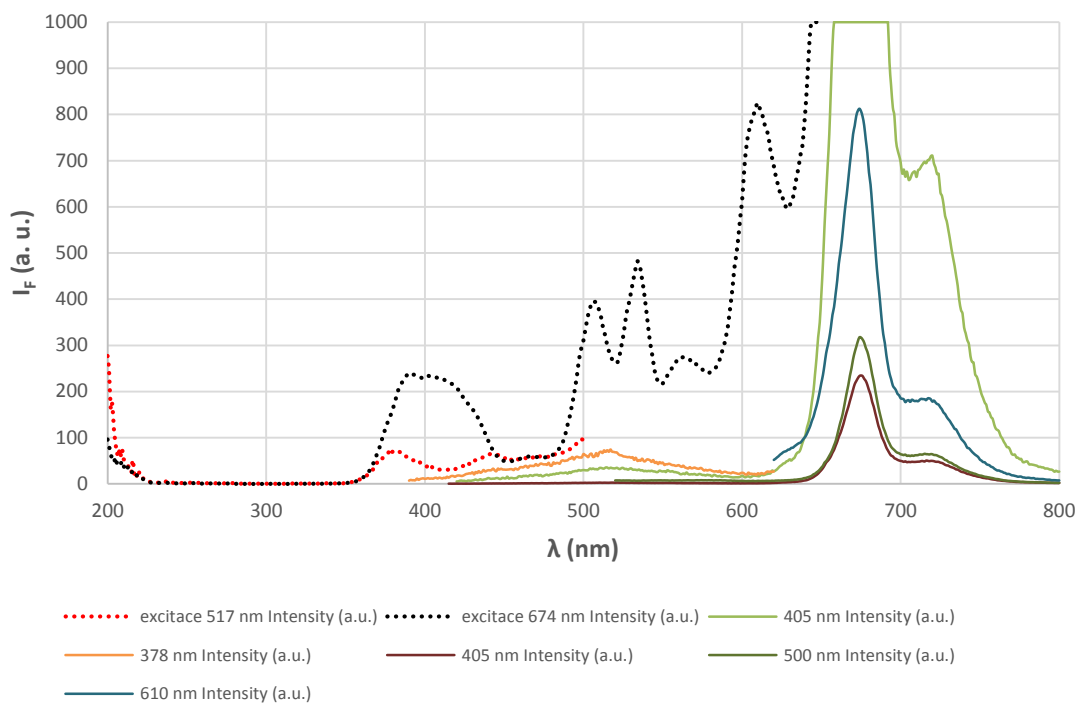
Vernier, vzorkovací čas 70 ms

### Extrakt ze sušeného rozmarýnu – apigenin (0,1M-KOH)



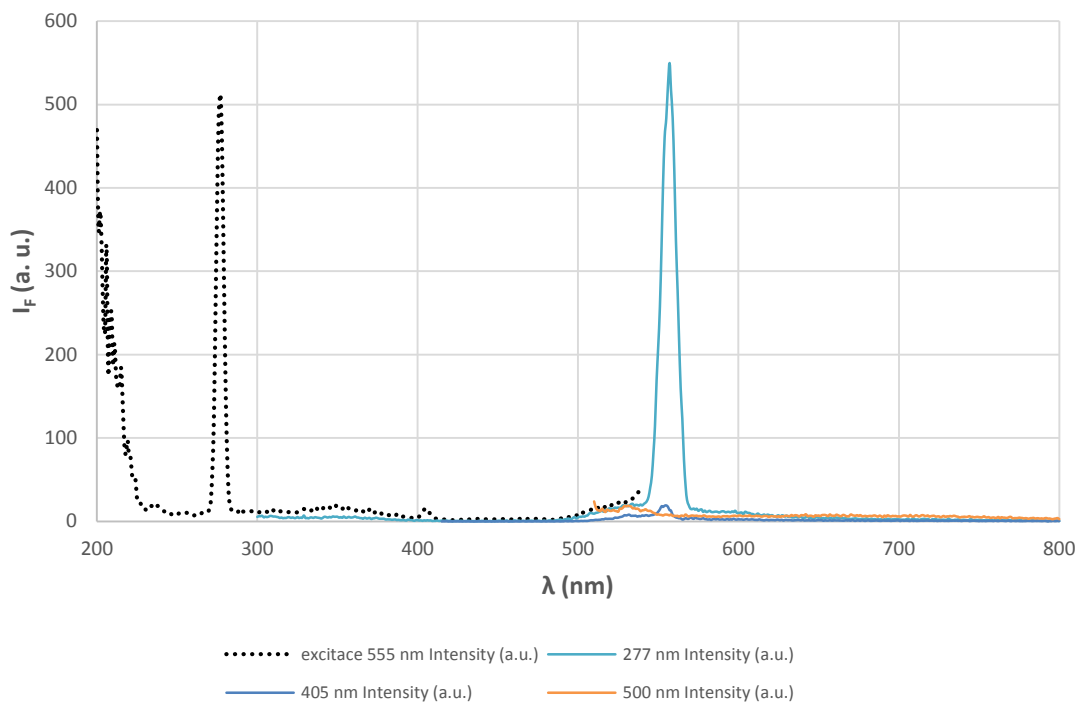
Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

### Extrakt ze sušeného rozmarýnu (aceton)



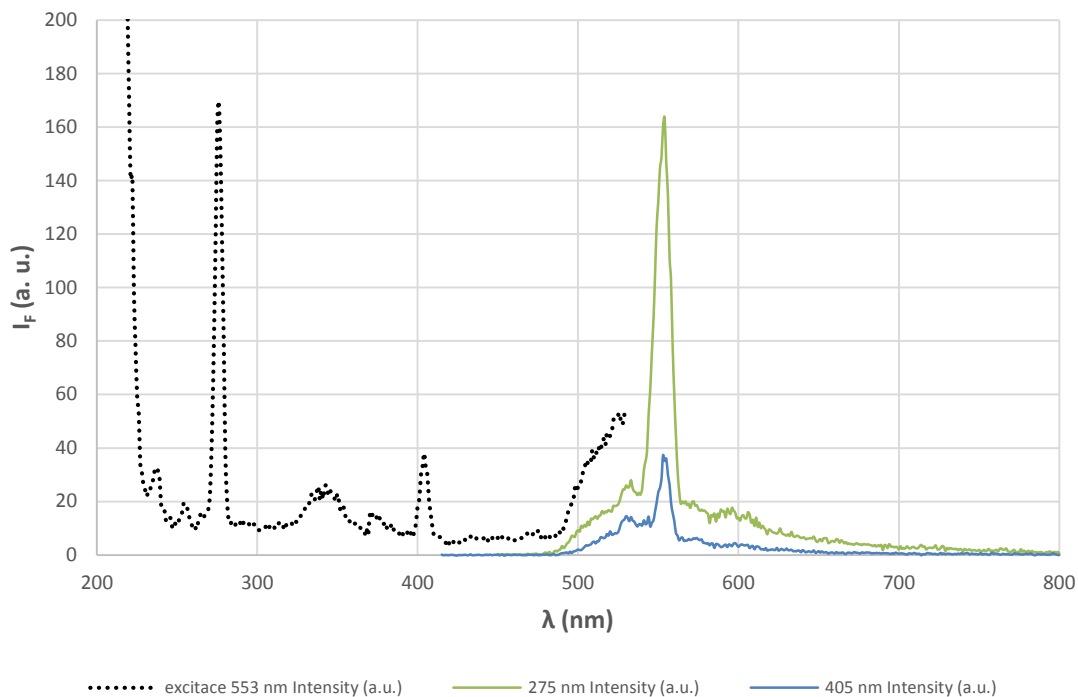
Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

### Extrakt ze šafránu setého (horká destilovaná voda)



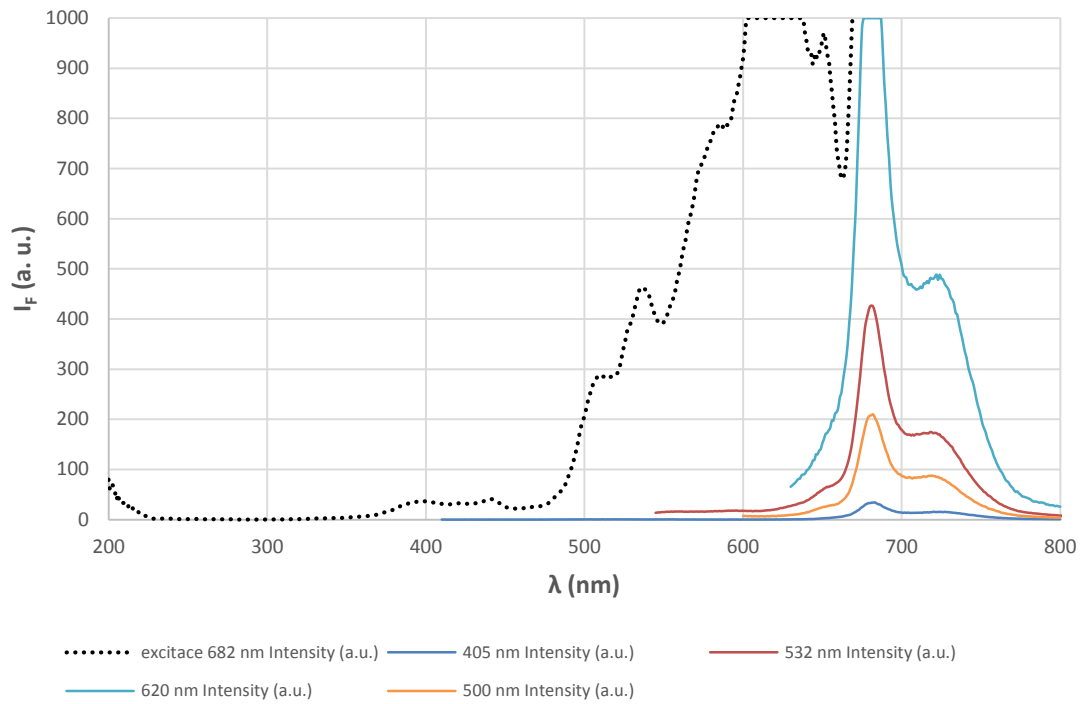
Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

### Extrakt ze šafránu setého (ethanol)

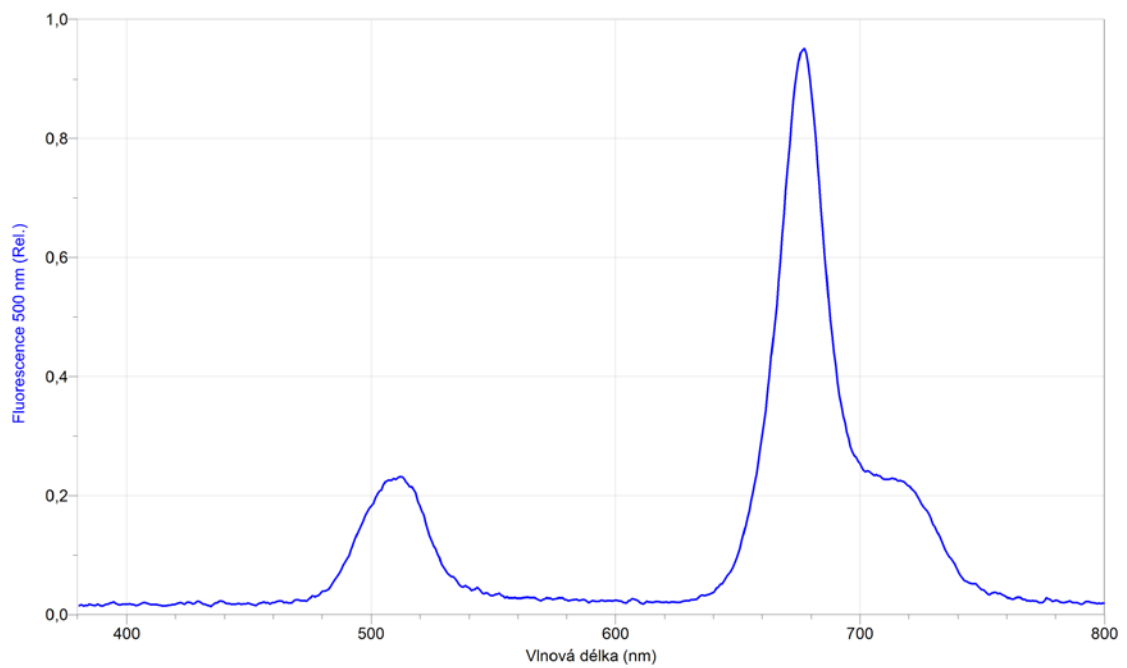


Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

## Extrakt ze špenátu (aceton)

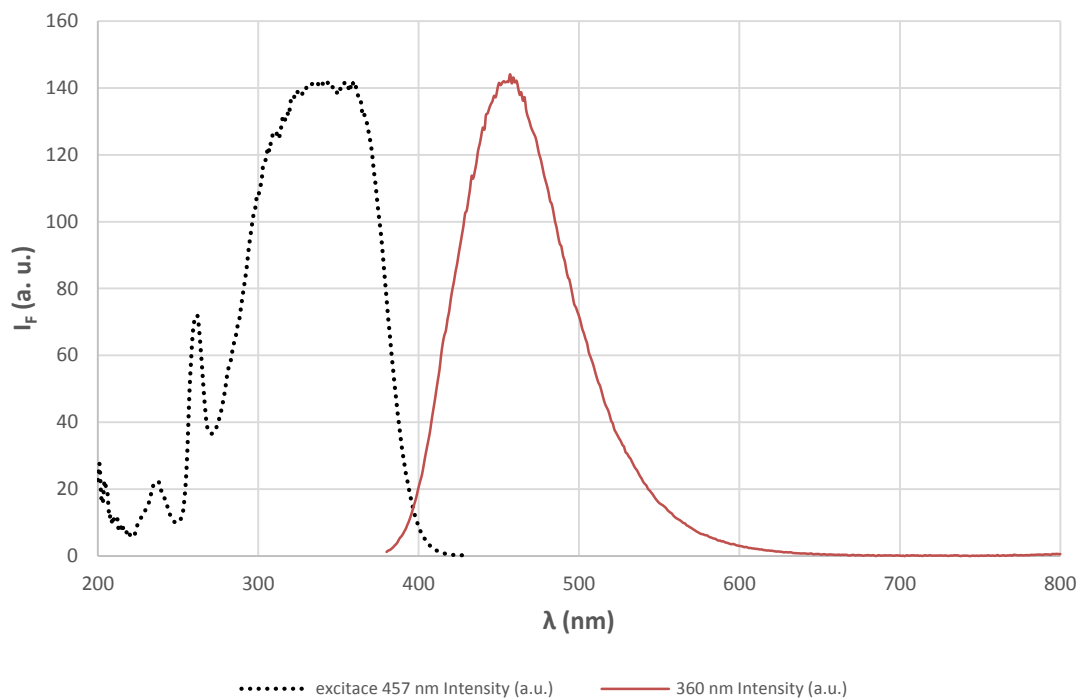


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

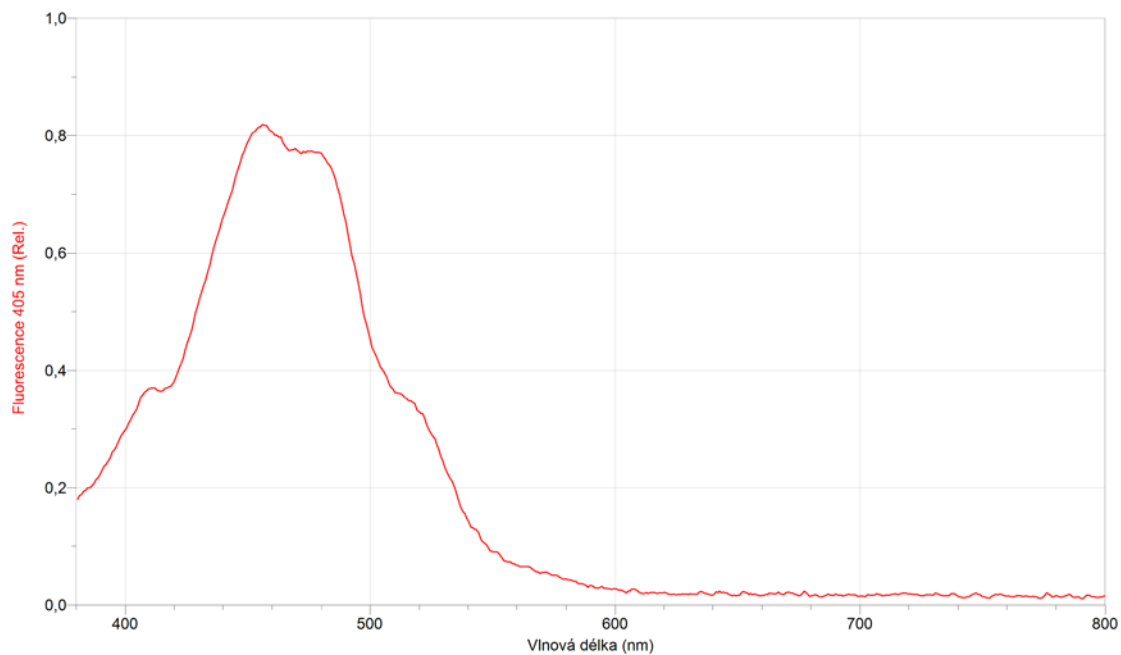


Vernier

## Limonáda tonik Schweppes – chinin

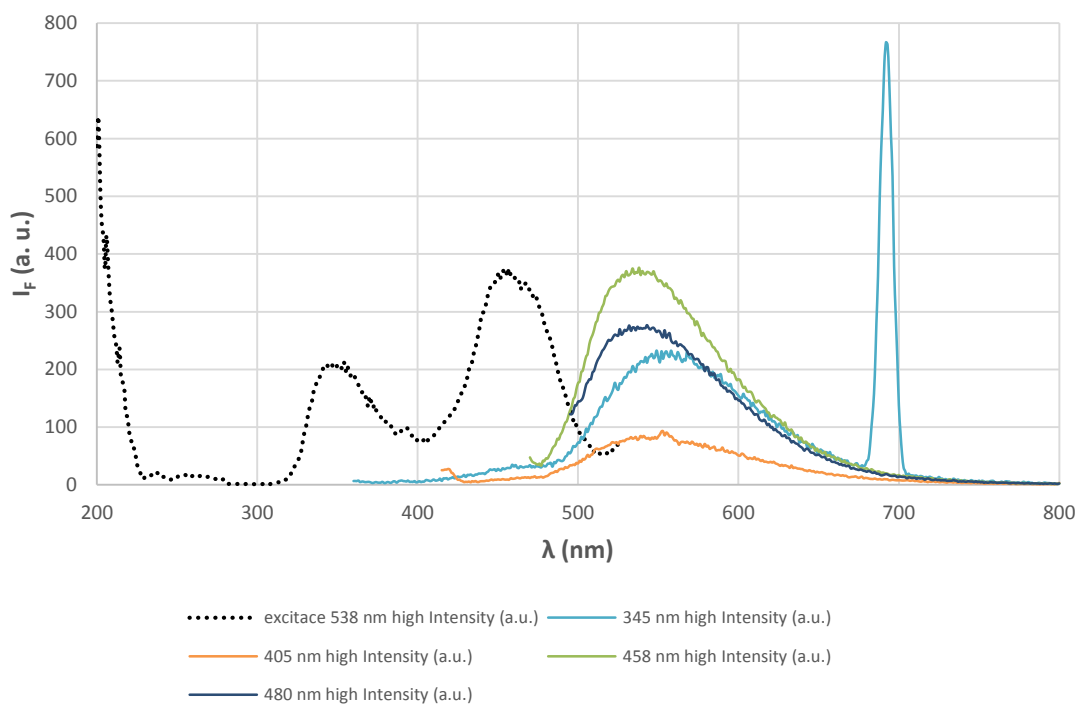


Nápoj je velmi vhodný k měření na školním spektrometru Vernier.



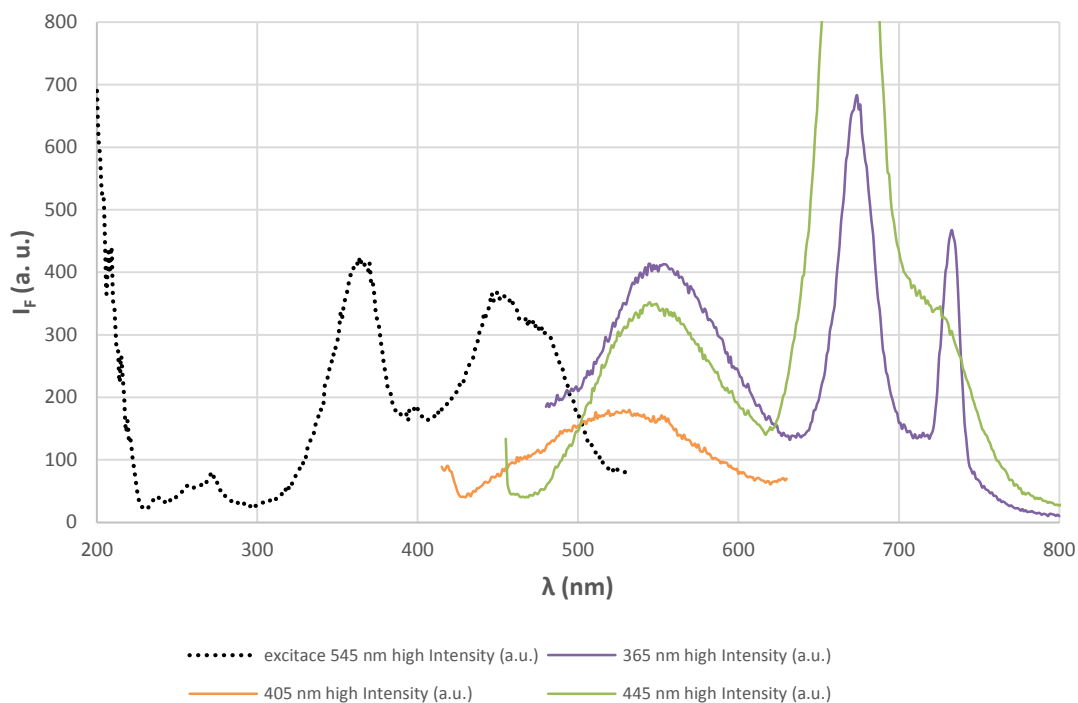
Vernier, vzorkovací čas 450 ms

### Vlaštovičník – mléko (destilovaná voda)



Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

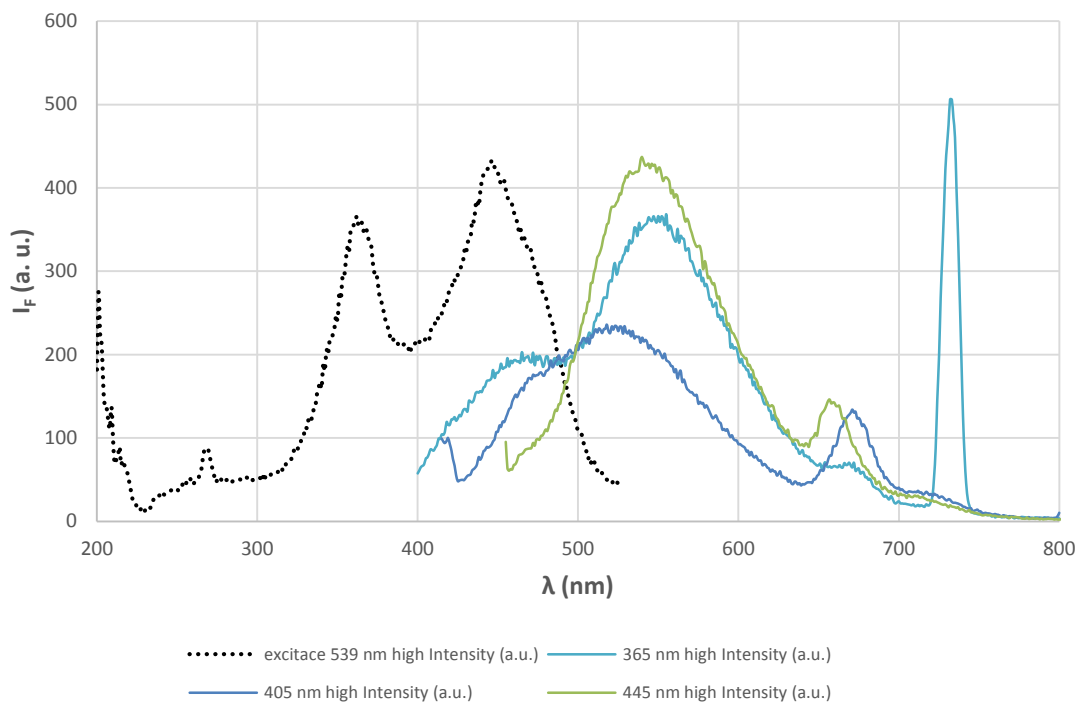
### Extrakt z vlaštovičníku (destilovaná voda + ethanol)



Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

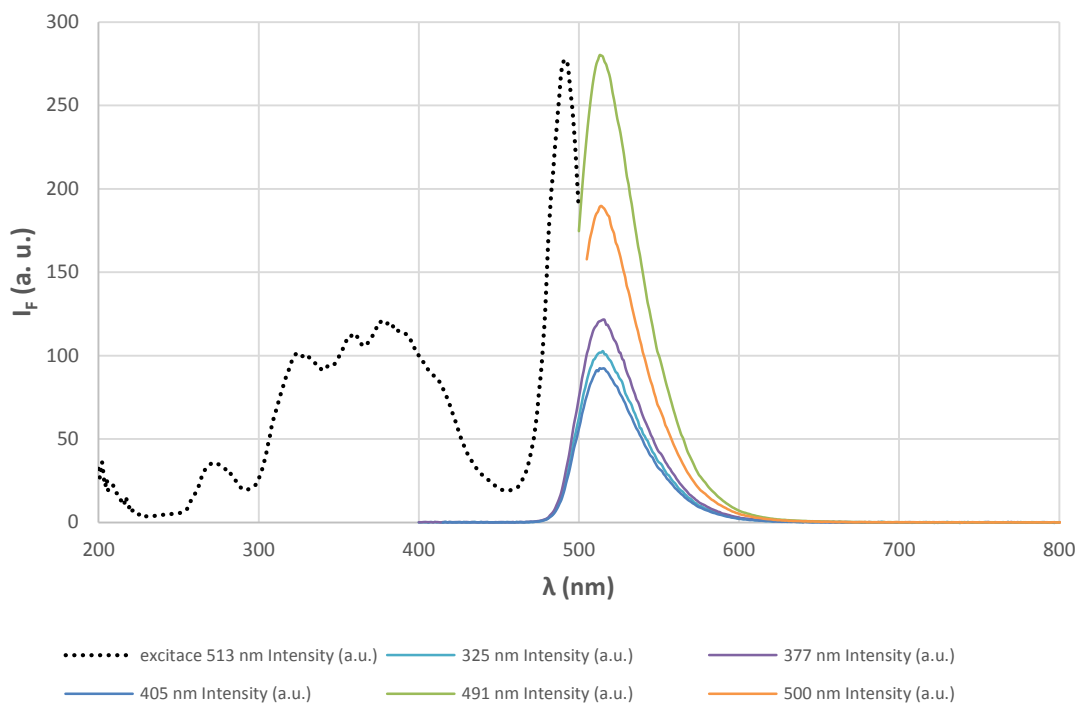


### Extrakt z vlašovičníku (destilovaná voda + methanol)

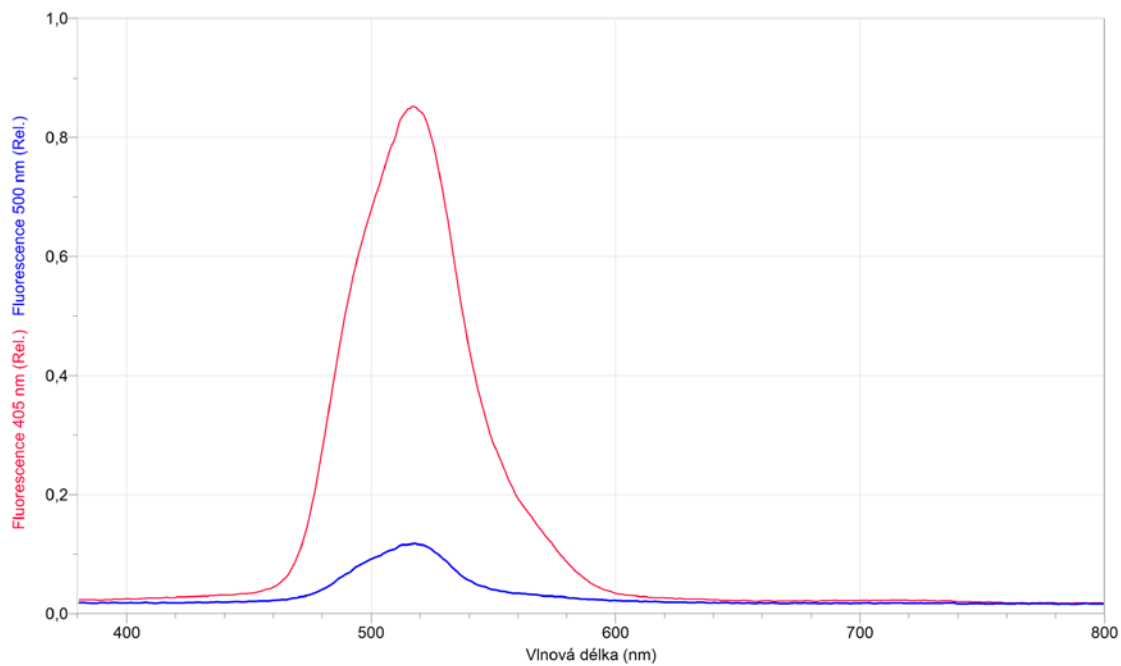


Látka není vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.

### Zelený zvýrazňovač (destilovaná voda)

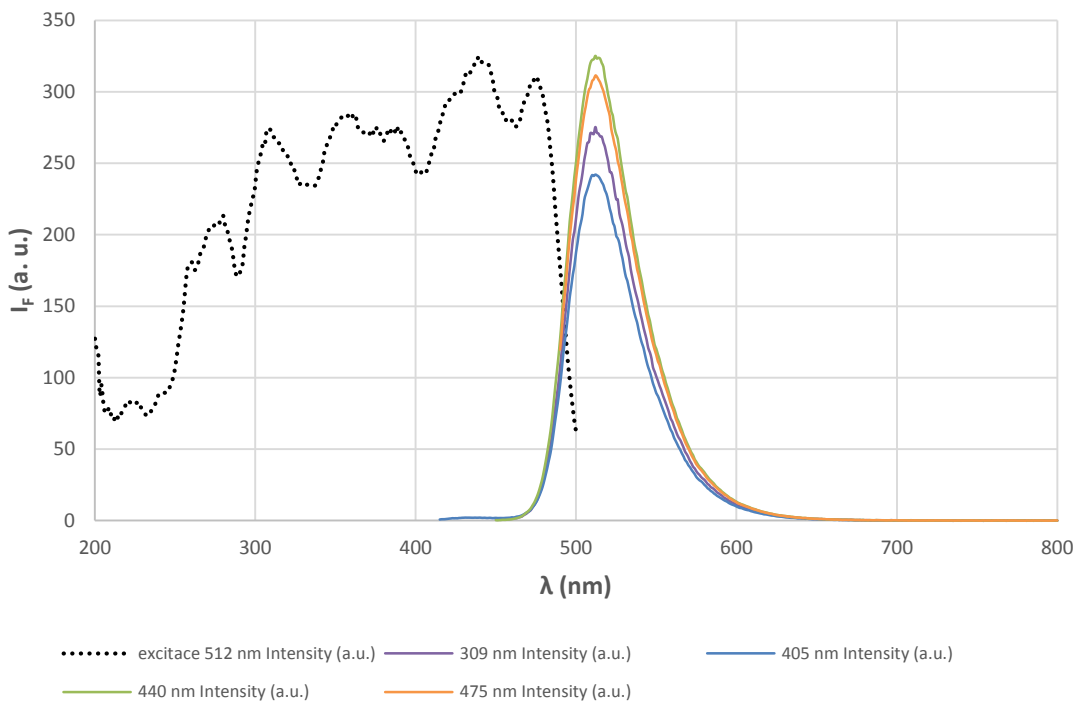


Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.



Vernier, vzorkovací čas 15 ms

**Žlutý zvyrazňovač (destilovaná voda)**



Látka je velmi vhodná k měření na školním spektrometru Vernier.