

**MASARYKOVA
UNIVERZITA**

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Luminiscenční experimenty ve výuce chemie

Bakalářská práce

MARTIN UCHNÁR

Vedoucí práce: Mgr. Jaromír Literák Ph.D.

Ústav chemie

Obor: Chemie se zaměřením na vzdělávání

Brno 2021



Bibliografický záznam

Autor:	Martin Uchnár Přírodovědecká fakulta Masarykova univerzita Ústav chemie
Název práce:	Luminiscenční experimenty ve výuce chemie
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Chemie se zaměřením na vzdělávání
Vedoucí práce:	Mgr. Jaromír Literák Ph.D.
Rok:	2021
Počet stran:	71
Klíčová slova:	Luminiscence, fluorescence, fosforescence, chemiluminiscence, bioluminiscence, školní experimenty

Bibliographic record

Author: Martin Uchnár
Faculty of Science
Masaryk University
Department of Chemistry

Title of Thesis: School experiments with luminescence

Degree Programme: Chemistry

Field of Study: Chemistry with view to Education, Biology with view to Education

Supervisor: Mgr. Jaromír Literák Ph.D.

Year: 2021

Number of Pages: 71

Keywords: Luminescence, phosphorescence, fluorescence, chemiluminescence, bioluminescence, school experiments

Anotace

Bakalářská práce se zabývá různými typy luminiscencí, se kterými je možné se běžně setkat, a jejich možným využitím ve výuce chemie. V teoretické části se práce zaměřuje na chemicko-fyzikální charakteristiku luminiscence a konkrétněji se zabývá triboluminiscencí, chemiluminiscencí, fosforescencí a fluorescencí. V praktické části se práce věnuje možnostem pozorování fluorescence různých organických látek v potravinách, přírodním materiálu nebo jiných běžně dostupných objektů. Tuto část doplňuje didaktické zpracování pokusů a experimentů ve formě návodů pro výuku ve školních laboratořích.

Abstract

This bachelor thesis describes the possibilities of using luminescence in chemical education. Chemical-physical characteristics of luminescence are mentioned, and some special properties of triboluminescence, fluorescence, and phosphorescence are mentioned in the theoretical part. The practical part contains a database of possible objects, which could be used for observing fluorescence in natural or industrial products, and procedures for luminescence experiments, which could be used in school laboratories.

ZADÁNÍ
BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2020/2021

Ústav:	Ústav chemie
Student:	Martin Uchnár
Program:	Chemie
Obor:	Chemie se zaměřením na vzdělávání Biologie se zaměřením na vzdělávání

Ředitel ústavu PFF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s názvem:

Název práce:	Luminiscenční experimenty ve výuce chemie
Název práce anglicky:	School experiments with luminescence
Jazyk závěrečné práce:	čeština

Oficiální zadání:

Experimenty a demonstrace, které jsou doprovázeny luminiscencí jsou často velmi efektní a mohou představovat prvek motivující ke studiu přírodních věd. Úkolem studenta bude provést rešerši na téma fyzikální podstaty luminiscenčních dějů, výskytu fluoreskujících látek v přírodě a potravinách a experimentů zahrnujících luminiscenci. Následně by student měl prakticky vyzkoušet vybrané experimenty, případně navrhnout experimenty nové, a napsat návody k experimentům včetně doprovodných metodických materiálů. Experimenty by měly být nenáročné a realizovatelné ve školních laboratořích nebo učebnách.

Literatura:

- Klán, Petr. Organická fotochemie. 1. vydání. Brno: Vydavatelství MU, 2001. 121 s. ISBN 80-210-2526-3.
- Duval, Romain; Duplais, Christophe. Fluorescent natural products as probes and tracers in biology. Nat. Prod. Rep., 2017, 34, 161-193. DOI: 10.1039/C6NP00111D
- Valeur, Bernard; Berberan-Santos, Mário N. A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory. J. Chem. Educ. 2011, 88, 6, 731–738. DOI: 10.1021/ed100182h

Vedoucí práce:	Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.
Datum zadání práce:	21. 2. 2021
V Brně dne:	13. 5. 2021

Zadání bylo schváleno prostřednictvím IS MU.

Martin Uchnár, 7. 5. 2021

Mgr. Jaromír Literák, Ph.D., 8. 5. 2021

doc. Mgr. Marek Nečas, Ph.D., 8. 5. 2021

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením vedoucího práce s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

V Brně 11. června 2021

.....
Martin Uchnár

Poděkování

Chtěl bych poděkovat panu doktoru Literákovi za vedení bakalářské práce, konzultaci jejího obsahu a pomoc při přípravě experimentů. Dále bych chtěl poděkovat paní doktorce Rotreklové za možnost zapůjčit si přenosnou UV lampu, díky které jsem mohl část fotografií nafotit mimo laboratoř.

Obsah

Seznam obrázků	15
Seznam pojmů a zkratk	17
1 Úvod	19
2 Luminiscence	21
2.1 Chemicko-fyzikální úvod	21
2.1.1 Světlo a jeho vlastnosti.....	21
2.1.2 Excitované molekuly	22
2.2 Fotoluminiscence.....	25
2.3 Chemiluminiscence	27
2.3.1 Bioluminiscence	28
2.4 Triboluminiscence.....	29
3 Pozorování luminiscence	30
3.1 Fluoreskující látky v přírodě a domácnosti.....	30
3.2 Instrumentace.....	35
3.3 Luminiscenční experimenty	36
4 Syntéza uhlíkových kvantových teček	40
5 Fluoreskující sklo	42
6 Chemiluminiscence singletového kyslíku	44
7 Tenkovrstvá chromatografie alkaloidů vlašovičníku většího	46
8 Pozorujeme luminiscenci doma, v přírodě i laboratoři	49
8.1 Luminiscence v přírodě.....	49
8.2 Luminiscence v potravinách a nápojích.....	54
8.3 Luminiscence v domácnosti	61
8.4 Luminiscence dalších látek.....	64

OBSAH

9 Závěr	65
Citovaná literatura	67

Seznam obrázků

Obr. 1: Znázornění základního a excitovaných stavů.....	23
Obr. 2: Jabloňského diagram.....	24
Obr. 3: Struktura aesculinu (vlevo) a skopoletinu (vpravo).....	31
Obr. 4: Struktura vybraných alkaloidů	32
Obr. 5: Struktura protoporphyrinu IX.....	33
Obr. 6: Struktura riboflavinu (vlevo) a tautomerních forem kurkuminu (vpravo).....	34
Obr. 7: Přenosná UV lampa použitá při některých experimentech	36
Obr. 8: Fluorescence CQD ve vodě.....	41
Obr. 9: Fluorescence fluoresceinu zataveného v kyselině při nasvícení UV lampou (vlevo) a její postupné dohasínání	43
Obr. 10: Pozorované vzorky při běžném osvětlení.....	43
Obr. 11: Chemiluminiscence singletového kyslíku generovaného reakcí.....	45
Obr. 12: Fluorescence látek vlašovičnicku většího – ethanolový extrakt (destička vlevo), alkaloidy extrahované do isopropylalkoholu (destička vpravo), extrakt z kořene (levý sloupec chromatogramu) a extrakt z listů (pravý sloupec).....	48
Obr. 13: Fluorescence aesculinu z jírovce maďalu ve vodě.....	49
Obr. 14: Fluorescence fraxinu z jasanu ztepilého ve vodě.....	50
Obr. 15: Pozorovaný lišejník a jeho fluorescence.....	50
Obr. 16: Pozorované plodnice hub	51
Obr. 17: Fluorescence plodnic hub.....	51
Obr. 18: Fluorescence alkaloidů z mléka vlašovičnicku většího – mléko z listů rostliny (vlevo) a mléko z kořene (vpravo).....	52
Obr. 19: Fluorescence chlorofylu v petroletherové vrstvě	53
Obr. 20: Fluorescence riboflavinu v energetickém nápoji	54
Obr. 21: Fluorescence doplňku stravy s obsahem riboflavinu ve vodném roztoku	55
Obr. 22: Fluorescence riboflavinu v mléce	55
Obr. 23: Fluorescence kurkuminu z kari v ethanolu	56
Obr. 24 Fluorescence kurkuminu ve vanilkové směsi v jogurtu	56
Obr. 25: Fluorescence protoporphyrinu IX ve vaječné skořápce.....	57
Obr. 26: Fluorescence banánové slupky	57
Obr. 27: Fluorescence hermelínu.....	58
Obr. 28: Fluorescence chininu v toniku.....	58
Obr. 29: Fluorescence olivového oleje	59
Obr. 30: Fluorescence chlorofylu (červeně fluoreskující oblast) a fraxinu a aesculinu (světle modrá fluorescence) v kiwi.....	59

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 31: Fluorescence kumarinů v bulvě celeru	60
Obr. 32: Fluorescence kumarinů v kořeni petržele	60
Obr. 33: Fluorescence zvýrazňovačů.....	61
Obr. 34: Fluorescence ochranných prvků na bankovce	62
Obr. 35: Fluorescence poštovní známky	62
Obr. 36: Luminiscence dětské hračky	63
Obr. 37: Fluorescence plastů na sešivačce	63
Obr. 38: Fluorescence zjasňovačů pracího prášku.....	64
Obr. 39: Fluorescence roztoku fluoresceinu v ethanolu	64

Seznam pojmů a zkratk

CQD	-	uhlíkové kvantové tečky (carbon quantum dots)
IC	-	vnitřní přeměna (internal conversion)
ISC	-	mezisystémový přechod (intersystem crossing)
TLC	-	tenkovrstvá chromatografie (thin-layer chromatography)
UV	-	ultrafialové (ultraviolet)
VR	-	vibrační relaxace (vibrational relaxation)

1 Úvod

Chemie je poměrně rozsáhlý vědní obor, kterému se studenti na základních, středních i vysokých školách snaží alespoň částečně porozumět, neboť lidské znalosti v této oblasti jsou již velice rozsáhlé a pro studenta nezapamatovatelné.

V dnešní době jsou důležitou součástí výuky chemie na všech stupních škol chemické pokusy, které mají ve výuce nenahraditelnou roli, protože mohou vhodně doplnit teoreticky probranou látku, dokážou studenty zaujmout a případně motivovat k dalšímu studiu chemie na vyšších stupních vzdělávací soustavy.

Jednou z oblastí, která je ještě poměrně často opomíjena řadou vyučujícími chemie, jsou experimenty z oblasti luminiscence. Většina experimentů, které byly v rámci bakalářské práce představeny, se zabývá hlavně fluorescencí, protože ji lze velice snadno pozorovat u přírodních materiálů a potravin.

Cílem práce je poskytnout teoretický úvod do problematiky luminiscence, ve kterém budou popsány základní fyzikálně-chemické principy luminiscenčních dějů a stručně charakterizovány vybrané typy luminiscence. V praktické části se práce bude zaměřovat na možnosti pozorování fluorescence přírodních látek a možnosti jejich extrakce. Tato pozorování jsou většinou časově nenáročná, a kromě nutnosti vlastnit zdroj UV záření nevyžadují žádné speciální vybavení, které by si kvůli vysoké ceně nemohla základní i střední škola dovolit zakoupit. Jako alternativní možnost budou představeny i další experimenty, ve kterých budou fluoreskující látky připraveny synteticky z relativně dostupných chemikálií. Ke zmíněným pokusům na téma fluorescence bude zpracováno i několik pokusů představujících další typy luminiscence, jako je například

Úvod

chemiluminiscence singletového kyslíku. Všechny provedené experimenty byly upraveny do formy návodů s optimalizovaným množstvím použitých chemikálií a případnými komentáři a doporučeními k jejich správnému provedení.

2 Luminiscence

Luminiscence je fyzikálně-chemický jev, při kterém dochází ke vzniku viditelného elektromagnetického záření. Samotný název luminiscence vznikl z latinského slova *lumen*, což v překladu znamená světlo. Na rozdíl od hoření, nedochází při luminiscenci ke vzniku tepla, proto bývá záření vzniklé luminiscencí nazýváno jako „studené světlo“. Některé z jevů, které se dnes řadí mezi luminiscence, byly známy již před několika stáletími, ale jejich mechanismus byl vysvětlen až v pozdějších stoletích (Valeur, a další, 2011).

2.1 Chemicko-fyzikální úvod

2.1.1 Světlo a jeho vlastnosti

Světlo označuje viditelnou část spektra elektromagnetického záření. Nejčastěji se tato oblast vymezuje pomocí vlnové délky (λ) a přibližně odpovídá rozsahu 400–700 nm. Záření o vlnové délce delší než 700 nm se označuje jako infračervené, zatímco záření s vlnovou délkou kratší než 400 nm se nazývá ultrafialové nebo zkráceně UV. Kromě vlnové délky je významná rychlost světla ve vakuu, která činí téměř $300\,000\,000\text{ m s}^{-1}$ a slouží jako fyzikální konstanta. Podobně jako ostatní elektromagnetická záření je i světlo tvořeno elektrickou a magnetickou složkou a vykazuje částicově-vlnový dualismus, což znamená, že za určitých okolností se světlo chová více jako vlnění a za odlišných podmínek jeho vlastnosti připomínají spíše tok částic, které se nazývají fotony. Existence fotonů byla experimentálně prokázána pomocí fotoelektrického jevu. Při tomto experimentu dochází k vyražení elektronů z kovu pomocí fotonů UV záření (Atkins, a další, 2013).

2.1.2 Excitované molekuly

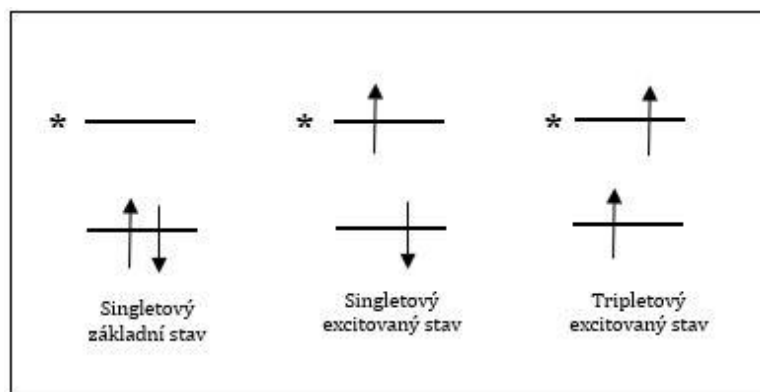
Společným dějem, který předchází všem luminiscenčním jevům, je přechod do excitovaného stavu, který má oproti základnímu stavu vyšší energii. Aby se do tohoto stavu mohla molekula dostat, potřebuje přijmout určité množství energie, například se může jednat o světelné kvantum, kdy dochází k absorpci energie fotonů. Po přijetí dostatečného množství energie se elektrony mohou přesunout z nižší energetické hladiny na nezaplněnou vyšší elektronovou hladinu a molekula se tak dostává do excitovaného stavu. Aby však k excitaci mohlo dojít, musí mít foton dostatečnou energii, která souvisí s vlnovou délkou záření. Pro tuto závislost platí následující vztah, kde E označuje energii fotonu, h je Planckova konstanta, c je rychlost světla ve vakuu a λ zastupuje vlnovou délku záření.

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Pro každou molekulu existuje více těchto stavů. Excitované elektronové stavy lze rozdělit podle jejich multiplicity na singletové a tripletové. Multiplicitu lze vypočítat podle následujícího vzorce, kde M označuje multiplicitu a písmeno S počet nespárovaných elektronových spinů.

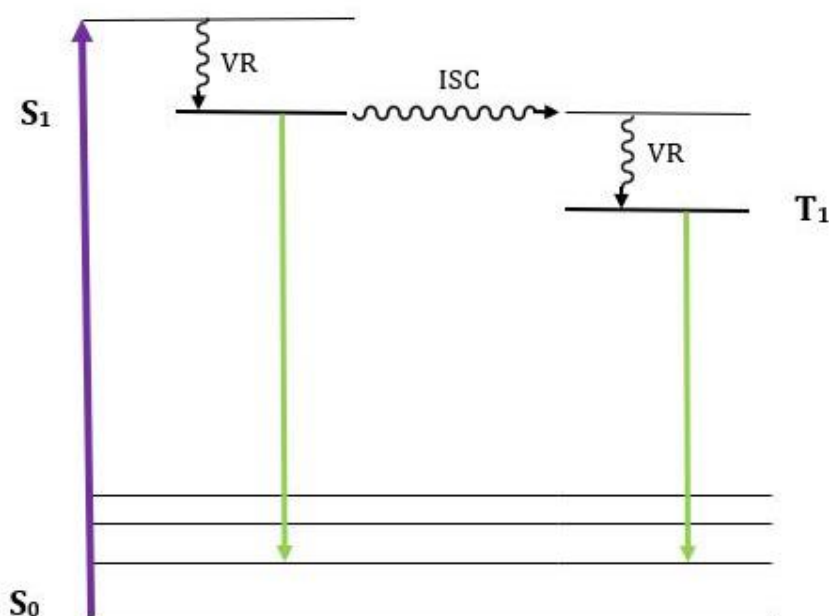
$$M = 2S + 1$$

V singletovém stavu jsou spiny všech elektronů antiparalelní a výsledná multiplicita je tedy rovna jedné. Oproti tomu tripletový stav má dva elektrony s nespárovaným spinem a jeho výsledná multiplicita je rovna třem. Tyto stavy jsou zjednodušeně znázorněny na následujícím obrázku.



Obr. 1: Znázornění základního a excitovaných stavů

Elektrony mohou mezi těmito stavy přecházet. Pokud dochází k přechodu mezi dvěma singletovými stavy, nebo dvěma tripletovými stavy, jedná se o přechod „povolený“. Pokud však dochází k přechodu ze singletového do tripletového stavu, multiplicita se mění a takový přechod je označován jako „zakázaný“. Přechody elektronu mezi jednotlivými energetickými stavy lze schematicky znázornit pomocí Jabloňského diagramu, který je zjednodušeně znázorněn na následujícím obrázku. Pokud dochází k nežádivému přechodu, je tato skutečnost v diagramu vlněnou šipkou. Mezi typy nežádivých přechodů patří vnitřní přeměna (IC – internal conversion), při které dochází k přechodu mezi stavy o stejné multiplicitě, mezisystémový přechod (ISC – intersystem crossing), který probíhá při přesunu mezi tripletovým a singletovým stavem, a vibrační relaxace (VR – vibrational relaxation), která označuje přesun elektronu z vyšších vibračních hladin do nižších (Klán, 2001). Žádivý přechod mezi excitovaným singletovým stavem a základním singletovým stavem je v diagramu vyznačen rovnou šipkou. Obdobně je vyznačen i zářivý přechod mezi tripletovým excitovaným stavem a základním singletovým stavem.



Obr. 2: Jabloňského diagram

Molekula nemůže setrvávat v excitovaném stavu neomezeně dlouhou dobu, jelikož pro ni není energeticky výhodný, a proto v krátké době dochází k některému z deaktivčních procesů. Molekula tak může nadbytečnou energii předat na jinou částici, nebo může dojít k fotochemické reakci, které jsou blíže studovány fotochemií (Klán, 2001). V neposlední řadě může dojít k deexcitaci pomocí emise elektromagnetického záření, která je vyznačena v již zmíněném Jabloňského diagramu.

V přírodě lze pozorovat celou řadu různých druhů luminiscenčních pochodů. Nejčastěji se pro jejich rozdělení využívá odlišnosti ve zdrojích energie pro excitaci, které se ve většině případů promítají i do jejich názvů. Podle tohoto kritéria lze vymezit chemiluminiscenci, fotoluminiscenci, která zahrnuje fluorescenci a fosforescenci, a triboluminiscenci. V literatuře se vyskytují i další typy luminiscence, jako je například

sonoluminiscence nebo galvanoluminiscence (Pátek, 1962). Tyto typy luminiscence by se však pro uplatnění ve výuce chemie příliš nehodily.

2.2 Fotoluminiscence

Při fotoluminiscenci dochází k vybuzení molekuly do excitovaného stavu pomocí elektromagnetického záření, dochází tedy k absorpci kvanta záření. U nasycených organických molekul při ozáření UV zářením k fotoluminiscenci nedochází, respektive pro excitaci takové molekuly je potřeba záření o vysoké energii (Klán, 2001). Naopak organické molekuly obsahující část řetězce s konjugovaným systémem dvojných vazeb, jsou schopny záření absorbovat záření v oblasti UV a viditelného světla a následně přejít do excitovaného stavu (Klán, 2001). Tyto části molekul se schopností absorpce se nazývají chromofory. Základním pravidlem pro tyto procesy je, že počet kvant záření, která byla absorbována, bude odpovídat počtu excitovaných molekul (Klán, 2001).

Ultrafialové záření se podle vlnové délky rozděluje na UV-A o vlnové délce 315-400 nm, UV-B o vlnové délce 280-315 nm a UV-C, které zahrnuje vlnové délky ultrafialové oblasti kratší než 280 nm. Pro fotoluminiscenci dále platí, že emitované záření má delší vlnovou délku než záření absorbované, proto lze u některých látek při ozařování ultrafialovým zářením pozorovat emisi viditelného světla o různých vlnových délkách. Tento jev je také znám pod názvem Stokesův posun. Při excitaci velmi často dochází k přesunu do některé z vyšších vibračních hladin, poté následuje postupná relaxace do nižších vibračních hladin až do dosažení nejnižší hladiny S_1 . Z této hladiny typicky probíhá zářivý přechod do některé z vibračních hladin základního stavu S_0 , ze které následně dochází k vibrační relaxaci na nejnižší hladinu. Energie spotřebovaná při

vibračních relaxacích způsobuje rozdíl ve vlnových délkách absorbovaného a emitovaného záření.

První pozorování fotoluminiscence zaznamenal v 16. století španělským vědec Nicolás Monardes, který si povšiml modrého zabarvení roztoku obsahujícího látky z vybraných mexických stromů (Valeur, a další, 2011). Značný posun v oblasti fotoluminiscence však nastal až v 19. století. Významný objev učinil skotský vědec David Brewster, který pozoroval červené zbarvení ethanolového extraktu z listů rostlin (Valeur, a další, 2011). Nejvýznamněji však k poznání fotoluminiscenčních jevů přispěl George Gabriel Stokes. Tento britský vědec pozoroval interakci různých složek spektra slunečního záření s roztokem obsahujícím chinin, zaznamenal, že při průchodu viditelných složek záření zůstává roztok zcela transparentní, ale při průchodu již neviditelné části spektra (odpovídající UV záření) mohl pozorovat emisi modrého světla (Valeur, a další, 2011). Díky tomuto experimentu se mu podařilo zjistit, že záření vystupující z roztoku má delší vlnovou délku než záření vstupující (Valeur, a další, 2011).

V praxi se fotoluminiscenční děje dělí na fluorescenci a fosforescenci. Pojem fluorescence poprvé použil již zmíněný G. G. Stokes (Valeur, a další, 2011). Tento fotochemický jev lze charakterizovat jako zářivý přechod mezi excitovaným a základním stavem, při kterém nedochází ke změně multiplicity. Jedná se však o děj velmi rychlý, proto v řádu nanosekund dochází k ukončení emise záření.

Aby však mohla daná látka poskytovat fluorescenci, musí být splněny určité podmínky. První podmínkou je, že molekula nesmí při ozáření disociovat, zároveň musí být potlačeny konkurenční procesy, jako je například přechod do tripletového stavu nebo fotochemická reakce. Značný vliv na fluorescenci má i geometrie molekuly (Klán, 2001).

Fluorescence má i v současné době velký význam. Velké uplatnění nachází v biologických oborech, kde se využívá k diagnostice fyziologického stavu rostlin a pro fluorescenční mikroskopii. V chemii našla fluorescence uplatnění například v rentgenové fluorescenční analýze.

Na rozdíl od fluorescence dochází před započítím fosforescence k mezisystémovému nezářivému přechodu ze singletového do tripletového excitovaného stavu. Při následné deexcitaci musí rovněž dojít ke změně multiplicity zpět na singletový základní stav. Tento proces je spojený s emisí světla, která po ukončení ozařování látky přetrvává několik sekund, což je důsledkem zákazu těchto přechodů, které probíhají pomaleji. Samotný název je mírně zavádějící, protože světélkování par bílého fosforu ve skutečnosti není fosforescence, ale jedná se o chemiluminiscenci (Valeur, a další, 2011).

2.3 Chemiluminiscence

V případě chemiluminiscence není do systému potřeba dodávat žádnou energii z vnějšího prostředí. Veškerá energie potřebná pro vytvoření excitovaného stavu a následné vyzáření viditelného světla pochází z chemické reakce. Nejčastěji se jedná o oxidaci. Tento jev se komerčně využívá například pro výrobu svítících tyčinek, které mohou být použity jako zdroje světla. Tyto tyčinky obsahují oddělené reaktanty, které při smísení poskytují chemickou reakci, při které dochází k emisi světla (O'Hara, a další, 2005).

Kromě již zmíněného světélkování bílého fosforu je známo i několik dalších experimentů poskytujících chemiluminiscenci. Jedním z takových experimentů je reakce luminolu (5-amino-2,3-dihydroftalazin-1,4-dion), která se využívá například při hledání stop krve při policejním

vyšetřování a forenzní analýze (O'Hara, a další, 2005). Dalším možným chemiluminiscenčním experimentem je příprava singletového kyslíku pomocí Trautz-Schoringinovy reakce (Panzarasa, a další, 2012). Dalším často využívaným postupem pro přípravu singletového kyslíku je zaváděním chlóru do alkalického vodného roztoku peroxidu vodíku (Shakhashiri, a další, 1976).

2.3.1 Bioluminescence

Bioluminescence je specifickým případem chemiluminiscence, protože i zde je pro excitaci a následný vznik viditelného záření využita chemická reakce. V tomto případě se jedná o reakci v živém organismu. V České republice se s tímto typem luminiscence můžeme setkat například u světlušek. Světélkování tohoto druhu hmyzu vzniká oxidací luciferinu na oxy-luciferin s využitím enzymu luciferasy.

Světlušky však nejsou jediným organismem, u kterého byla pozorována bioluminescence. V taxonu máloštětinatců (*Oligochaeta*) je možné narazit na žížalu s latinským názvem *Diplocardia longa*, která má také schopnost bioluminescence (Wampler, a další, 1980). Mezi další známé organismy se schopností emitovat světlo patří mořské obrněnky například *Noctiluca scintillans*. V mořích a oceánech je však možné nalézt i celou řadu dalších živočichů, kteří mohou vytvářet světlo pomocí bioluminescence a nemusí se jednat pouze o bezobratlé. Mezi rybami disponuje touto schopností například mořský d'as (*Lophius piscatorius*), u kterého je luminiscence vytvářena ve specializovaném výběžku.

2.4 Triboluminescence

Triboluminescence je jedním z méně známých druhů luminiscence, se kterým je možné setkat se v odborné literatuře. Tento jev byl pozorován již na počátku 17. století. K emisi viditelného záření dochází při drcení krystalické mřížky některých látek, ale konkrétnější mechanismus této luminiscence není zatím zcela znám (O'Hara, a další, 2005). Příkladem látky poskytující triboluminiscenci při drcení může být například kostkový cukr. Vznikající záření je nezbytné pozorovat ve tmě, jelikož na denním světle je obtížné zaznamenat jej lidským okem.

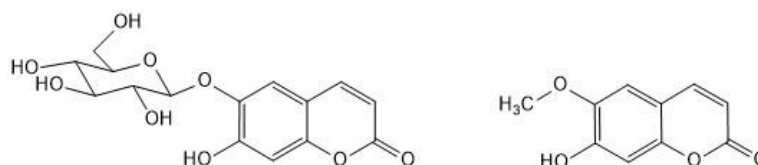
3 Pozorování luminiscence

Tato část práce je věnována konkrétním možnostem využití luminiscence ve výuce chemie. První část je zaměřena na pozorování fluoreskujících látek, které jsou stručně charakterizovány v textové části, a jejich fotografie se nacházejí v příloze bakalářské práce. Následující část je věnována experimentům, které byly v rámci praktické části vyzkoušeny.

3.1 Fluoreskující látky v přírodě a domácnosti

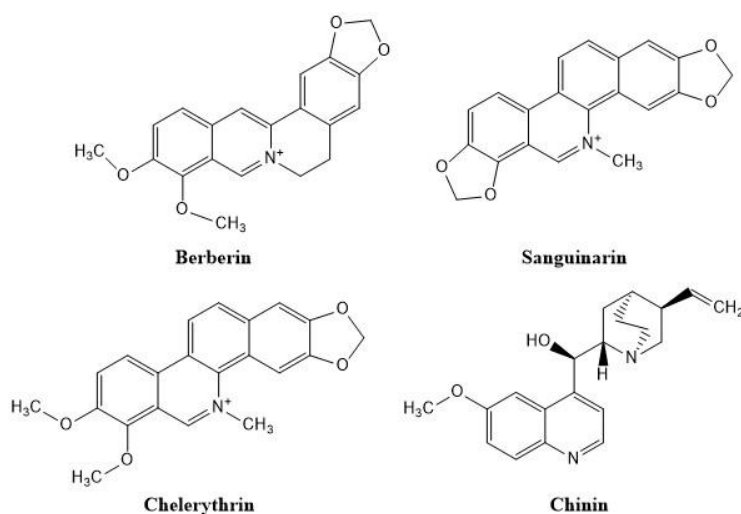
Rostliny jsou významnými producenty fluoreskujících látek. Významnými skupinami těchto látek jsou deriváty kumarinu, některé látky ze skupiny alkaloidů a chlorofyly. Mezi nejdostupnější deriváty kumarinů patří glykosid aeskulin, který se vyskytuje například u jírovce maďalu (Sethna, a další, 1945). Tato látka se nachází pod kůrou mladých větví a velice snadno se uvolňuje po vložení čerstvě ustřižené větve nebo odřezků kůry do vody. Aeskulin s dalším glykosidem fraxinem je možné rovněž pozorovat například u plodu kiwi (Hirsch, a další, 2002), ve kterém se vyskytují v oblasti bílého středu a jeho okolí, případně v okolí černých jadérek. Podobná látka se vyskytuje u platanu javorolistého (*Platanus x acerifolia*), která se nazývá skopoletin (Wharton, a další, 2018). Pro obě výše jmenované látky je typická světle modrá fluorescence. Struktura obou zmíněných látek je znázorněna na následujícím obrázku. Mezi další rostliny, u kterých můžeme pozorovat fluorescenci kumarinů, jsou některé rostliny patřící do čeledi miříkovité (*Apiaceae*), mezi které patří například miřík celer nebo petržel. U této čeledi se mimo jiné vyskytuje i zvláštní skupina derivátů kumarinu s názvem furanokumariny (Afek, a další, 1995).

Existence kumarinů byla prokázána i mimo rostlinnou říši. Přítomnost jednoho z derivátů kumarinu byla potvrzena i u živočichů. Látka s názvem 4-methylumbelliferon se vyskytuje v krunýřích asijského štíra známého pod latinským názvem *Mesobuthus martensii*, jehož krunýř po nasvícení UV-A modře fluoreskuje (Duval, a další, 2017).



Obr. 3: Struktura aeskulinu (vlevo) a skopoletinu (vpravo)

Řadu fluoreskujících látek můžeme najít také mezi alkaloidy. Tato velice rozmanitá skupina látek zahrnuje mimo jiné drogy, jedy i léčiva. Mléko vlašovičnicku většího, které vytéká z poraněných nadzemních částí a kořene, obsahuje mnoho rozdílných alkaloidů a některé z nich po nasvícení UV zářením fluoreskují. Mezi hlavní alkaloidy vlašovičnicku patří například berberin, chelerythrin a sanguinarin (Gaňán, a další, 2016). Tato směs alkaloidů poskytuje žlutou až oranžovou fluorescenci. Při realizaci tohoto pozorování byla využita čerstvá rostlina, ale jelikož byl již počátek prosince, z rostliny oranžové mléko téměř nevytékalo. Dalším příkladem fluoreskující látky z této skupiny je známé antimalarikum chinin, který je jedním z hlavních alkaloidů obsažených v chininovníku (*Cinchona* sp.) (Duval, a další, 2017). Tato látka je běžnou součástí toniku a jemu podobných nápojů, kterým poskytuje jejich specifickou příchuť. Jeho fluorescence je světle modrá. Strukturní vzorce vybraných alkaloidů jsou znázorněny na dalším obrázku.

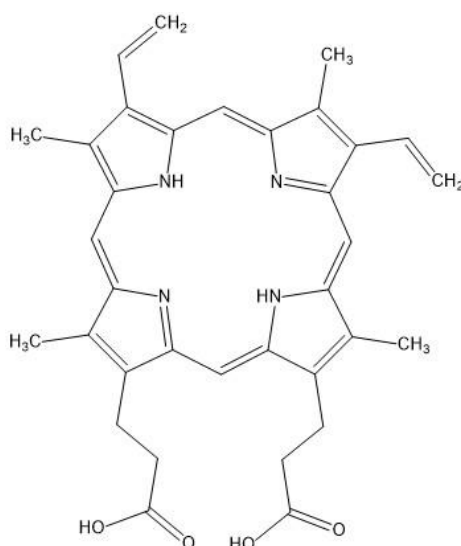


Obr. 4: Struktura vybraných alkaloidů

Dalšími látkami, které jsou schopny fluorescence, jsou deriváty porfyrinu. Nejrozšířenějšími sloučeninami obsahující porfyrinový kruh jsou již zmíněné chlorofyly, které fungují jako fotosyntetická asimilační barviva. U vyšších rostlin se jedná o chlorofyl a a chlorofyl b, které se od sebe liší funkčními skupinami. Další typy chlorofylu se vyskytují u některých druhů řas a sinic. Fluorescence chlorofylu v živé rostlině je však v domácích podmínkách nepozorovatelná, protože energie zachyceného záření je velice rychle zpracována fotosyntetickým aparátem a dochází k přechodu molekuly zpět do základního stavu (Šípal, a další, 1992). Z tohoto důvodu je nezbytné chlorofyl z rostlinného materiálu extrahovat, například rozetřením části zeleného listu ve třecí misce s přídavkem acetonu, nebo ethanolu. Takto připravený extrakt už poskytuje červenou fluorescenci, nicméně obsahuje i mnoho dalších látek. Pro získání čistšího roztoku chlorofylového extraktu lze využít odlišné rozpustnosti barviv v petroletheru (Hlubinková).

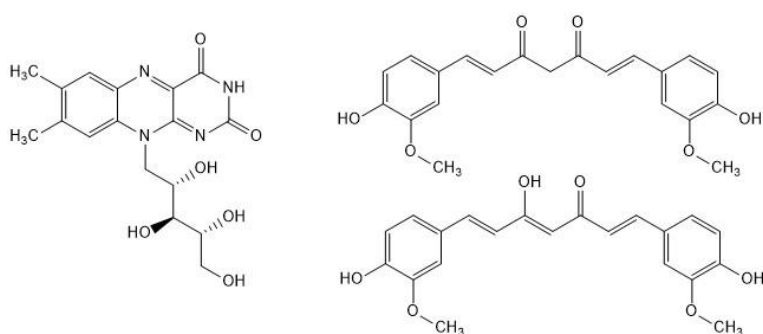
Chlorofyl však není jedinou dostupnou sloučeninou obsahující porfyrinový kruh. V hnědých vaječných skořápkách můžeme nalézt

protoporfyrin IX (Dean, a další, 2011). Tato látka způsobuje červenou fluorescenci vnějšího povrchu skořápky. Její struktura je znázorněna na obrázku číslo 5.



Obr. 5: Struktura protoporfyrinu IX

Další dvojici látek, se kterou se můžeme setkat především v potravinách, je kurkumin, a riboflavin, který je taktéž známý jako vitamín B₂. Obě látky jsou typické svým žlutým zbarvením, které se využívá pro vylepšení barvnosti potravinářských produktů, které jsou pak označeny příslušným kódem použité látky. Pro kurkumin se používá označení E100 a pro riboflavin E101. U látek samotných i potravin obsahujících tyto látky lze pozorovat výraznou žlutozelenou fluorescenci. V případě, že není dostupná mletá kurkuma, je vhodným a dostupným kuchyňským zdrojem kurkuminu je koření kari (Muyskens, a další, 2011). Vitamín B₂ lze zakoupit ve formě vitamínového přípravku, ale je obsažen i v některých energetických nápojích nebo mléce. Struktury obou látek jsou zakresleny strukturními vzorci na obrázku číslo 6.



Obr. 6: Struktura riboflavínu (vlevo) a tautomerních forem kurkumínu (vpravo)

Některé fluoreskující látky vznikají také katabolismem jiných látek. Příkladem tohoto děje je fluorescence slupky zralého banánu. Zde dochází ke rozkladu chlorofylu, jehož produkty při nasvícení slupky UV zářením následně způsobují modrou fluorescenci banánu, která je nejintenzivnější v okolí černých skvrnek, v jejichž okolí tak vytváří fluoreskující prstence (Moser, a další, 2009). Je však nezbytné podotknout, že intenzita fluorescence jednotlivých banánů se může lišit, a tak se může stát, že fluorescence nebude v některých případech příliš intenzivní. Při pozorování zrajícího banánu a jeho fluorescence bylo zjištěno, že nezralé banány fluoreskují méně, nicméně po dosažení určité zralosti banánu dochází k postupnému vytrácení fluorescence (Moser, a další, 2008). Další fluorescence související s katabolismem organických látek byla pozorována u některých organismů. Zde je fluorescence způsobena produkty katabolismu tryptofanu, které vznikají u starých a umírajících jedinců (Duval, a další, 2017).

Zvláštní kapitolou v oblasti fluoreskujících objektů tvoří některé druhy hub. Fluorescenci u nich je možné pozorovat nejvýrazněji v oblasti lupenů nacházejících se na spodní straně klobouku, zbytek plodnice už fluorescenci nevykazoval, což však mohlo být způsobeno delší dobou skladování plodnic. V případě ušlechtilé plísně na hermelínu byla světle modrá fluorescence patrná těsně pod plísní porostlým povrchem sýru.

Fluorescence byla pozorována i u jednoho druhu lišejníku, který fluoreskoval výrazně oranžově. Konkrétní látky způsobující fluorescenci však u těchto taxonomických skupin nejsou zatím detailněji prozkoumány.

Další oblastí, kde se lze setkat s fluorescencí v domácím prostředí, je ochrana bankovek a poštovních známek proti falšování pomocí fluorescenčních prvků. Fluorescenční látky se také přidávají do některých barev, pracích prášků, plastů nebo zvýrazňovačů.

3.2 Instrumentace

V experimentech byla uvedena celá řada chemikálií a byly používány v podobě dodané výrobcí, bez dodatečných úprav a čištění. Pro přípravu vodných roztoků byla použita demineralizovaná voda. V experimentu s CQD byla použita močovina a kyselina citronová. Pro extrakci alkaloidů byl použit ethanol a izopropylalkohol a pro přípravu mobilní fáze byl použit tentýž isopropylalkohol a koncentovaná kyselina mravenčí. Fluoreskující sklo bylo připravováno z kyseliny borité a fluoresceinu. Při přípravě singletového kyslíku byl použit roztok formaldehydu o koncentraci 36 %, peroxid vodíku o koncentraci 30 %, uhličitán vápenatý a kyselina askorbová. Pro kontrolu pH byl použit univerzální indikátorový papírek s rozsahem 0 až 12. U dalších fluoreskujících látek, které bylo nutné převést do roztoku byl použit ethanol, nebo demineralizovaná voda.

Pro pořizování fotografií fluoreskujících látek se nejvíce osvědčilo pořizování snímků pomocí mobilního telefonu značky Huawei model Nova 5T. U digitálního fotoaparátu docházelo k výrazně většímu rozostření fotografií vlivem nepříznivých světelných podmínek, za kterých je fluorescence pozorovatelná, a také nezkušenost autora této práce

s používáním fotoaparátu mohla ovlivnit kvalitu takto pořízených fotografií. Je však nutné podotknout, že pořízené fotografie se v některých případech mírně liší odstínem a intenzitou emitovaného záření v porovnání s pozorováním lidským okem.

K vyvolání fluorescence v domácích podmínkách byla použita přenosná UV lampa na baterie poskytující záření v oblasti UV-A (viz následující obrázek), která se běžně používá pro kontrolu pravosti bankovek, a je možné ji proto sehnat v některém z internetových obchodů. V době dokončování této práce se cena obdobného typu UV lampy pohybovala okolo 300 až 400 Kč. U experimentů, které se podařilo provést v laboratoři, byl použit jiný typ UV lampy napájený z elektrické sítě, konkrétněji se jednalo o lampu od výrobce Herolab s označením typ 4.



Obr. 7: Přenosná UV lampa použitá při některých experimentech

3.3 Luminiscenční experimenty

Vzhledem k tomu, že jakýkoliv typ luminiscence je za běžného denního světla prakticky nepozorovatelný, bylo pro každé pozorování nutné omezit množství světla v místnosti, nebo alternativně vyčkat do večera. Pro lepší zachycení luminiscence se osvědčilo fotografovat připravené roztoky fluoreskujících látek podložené černým papírem.

V rámci bakalářské práce byly realizovány čtyři laboratorní experimenty týkající se luminiscence. Na základě získaných informací z literatury byly navrženy postupy jednotlivých experimentů, které přímo vycházejí z originálních návodů publikovaných ve vědeckých časopisech, nebo jsou vytvořeny na základě inspirace z vědeckých článků. Vzhledem k tomu, že experimenty jsou primárně určené pro použití ve školních laboratořích, bylo v některých případech nezbytné trochu upravit originální postupy. Všechny provedené úpravy a vylepšení jsou popsány v následujícím textu.

Náplní prvního experimentu byla syntéza uhlíkových kvantových teček (CQD). Cílem experimentu bylo ověřit možnosti přípravy CQD z močoviny a kyseliny citronové hydrotermální syntézou a reakcí za bezvodých podmínek. Pro provedení experimentu byla zvolena směs kyseliny citronové a močoviny v poměru látkových množství 1 : 5 (Strauss, a další, 2020). Při pokusu využívajícím cestu hydrotermální syntézy bylo nutné nechat odpařit roztok uvedených látek téměř o sucha, aby byla fluorescence produktu při rozpuštění v malém množství vody pozorovatelná. Pokud nebyl roztok dostatečně dlouho zahříván a výsledný odpařek roztoku nedosáhl medovité konzistence, byla fluorescence CQD lidským okem nepozorovatelná. Oproti této přípravě vedlo zahřívání obdobné směsi kyseliny citronové a močoviny v žíhacím kelímku bez přidané vody k získání produktu v mnohem kratším čase. Výsledné produkty obou možných syntéz byly viskózní kapaliny zbarvené od medově žluté až po hnědočernou, které se krom svých zbarvení odlišovaly také barvou fluorescence. U žlutého produktu byla pozorována světle modrá fluorescence, zatímco u hnědočerného produktu byla fluorescence spíše zelenomodrá. Barva produktu a jeho fluorescence pravděpodobně závisí na délce a intenzitě zahřívání směsi. Na základě vědeckého článku lze

tvrdit, že při přípravě CQD dochází ke vzniku různých látek, jejichž zastoupení ve směsi se v závislosti na teplotě může měnit (Strauss, a další, 2020).

Druhý experiment se zaměřil na přípravu fluoreskujícího skla z H_3BO_3 a fluoresceinu, které poskytuje fluorescenci s dlouhým dosvitem. Experiment bylo nutné optimalizovat pro získání nejvíce efektivního výsledku, neboť nebyla u některých z připravených vzorků skla pozorována žádná, nebo jen minimální fluorescence. Pro vylepšení bylo provedeno několik experimentů zaměřených na množství daných látek a způsob zahřívání. Pro přípravu fluoreskujícího skla ve zkumavce se neosvědčilo použití větších množství látek, jelikož se s příliš velkým množstvím směsi ve zkumavce nebylo možné dostatečně míchat, což způsobilo nedostatečné tání směsi. K nejlepšímu výsledku vedlo použití 1 g H_3BO_3 s velmi malým množstvím fluoresceinu (přibližně 0,001 g) v běžné zkumavce o průměru cca 1,5 cm v kombinaci s rozlitím tající směsi do tenké vrstvy. Takto připravené vzorky poskytovaly prodlouženou fluorescenci po několik sekund.

Třetím experimentem byla příprava a pozorování emise singletového kyslíku s využitím polyfenolů ze zeleného čaje. V porovnání s originálním návodem nebyl k dispozici paraformaldehyd, proto byl nahrazen formálem (36%) a místo zředěného H_2O_2 byl použit koncentrovaný roztok (30%). Oproti původnímu postupu byla při opakování experimentu k pozorování chemiluminiscence použita menší kádinka, než byla doporučena originálním návodem, protože ve velké kádince byla při prvním provedení experimentu emise záření málo patrná. I přes tyto změny proběhl experiment podle očekávání a byla pozorována červená chemiluminiscence.

Posledním realizovaným experimentem byla tenkovrstvá chromatografie alkaloidů vlašovičníku většího. Pro experiment byly použity usušené části rostliny (kořen a listy) sebrané v podzimních měsících. Při přípravě extraktů byla otestována extrakce alkaloidů do ethanolu a do isopropylalkoholu. Zvlášť byly ve třecích miskách připraveny extrakty z kořene a listů usušené rostliny. Jako mobilní fáze byla použita směs obsahující isopropylalkohol, vodu a kyselinu mravenčí v poměru 90 : 9 : 1 (Gaňán, a další, 2016). Po nanesení všech vzorků extraktů na silufolovou destičku, byl chromatogram několik desítek minut ve vyvíjecí komoře. Mezi extrakty s odlišnými rozpouštědly se po provedení TLC neobjevil žádný patrný rozdíl. Dle očekávání byly dobře patrné žluté a zelené zóny patřící alkaloidům u extraktu z listů. U extraktu z kořene nebylo rozdělení alkaloidů rozpoznatelné.

4 Syntéza uhlíkových kvantových teček

(Strauss, a další, 2020)

Uhlíkové kvantové tečky (zkráceně CQD) jsou nanočástice, které se v posledních desetiletích dostávají do středu pozornosti vědecké komunity. Jejich struktura jim poskytuje řadu specifických vlastností, například i schopnost fluorescence. V současné době se pracuje na možnostech jejich uplatnění v praxi. Pro jejich přípravu je možné zvolit několik různých postupů, pro využití ve školní laboratoři je ale nejvhodnější syntéza z kyseliny citronové a močoviny. Tyto CQD je možné připravit hydrotermální syntézou, nebo můžete zvolit suchou cestu spočívající zahřívání směsi v žíhacím kelímku.

Chemikálie:

Kyselina citronová, močovina, voda

Pomůcky:

Kahan/vaříč, váhy, keramický žíhací kelímek, tyčinka, špachtle, kádinka, UV lampa

Postupy:

Do malých kádinek si navažte přibližně 3,28 g kyseliny citronové a 4,72 g močoviny (množství složek lze upravit za předpokladu, že látková množství složek v poměru 1 : 3 až 1 : 5). Obě látky sesypejte do jedné nádoby a důkladně promíchejte. Pokud připravujete CQD hydrotermální syntézou, rozpustěte směs látek ve 20 ml vody. Směs zahřívejte pomocí vaříče a za občasného promíchávání udržujte okolo bodu varu, než se vypaří většina rozpouštědla (přibližně 20 minut). Při přípravě v žíhacím kelímku pouze vsypte do porcelánového kelímku směs chemikálií a kelímek zahřívejte mírným plamenem. Cílovým produktem v obou možných syntéz je žlutá substance připomínající svou viskozitou med. V tuto chvíli

je vhodné produkt přestat zahřívat. Pro pozorování fluorescence odeberte pomocí špachtličky vzorek produktu, který rozpustíte v malém množství vody. Takto připravený roztok CQD by měl fluoreskovat světle modře.

Pokud budete dále zahřívat získanou žlutou taveninu, časem dojde k jejímu ztmavnutí. V takovém případě je nezbytné produkt intenzivně míchat, aby nedošlo k jeho připečení k nádobě. I u tohoto produktu lze pozorovat fluorescenci, která je narozdíl od předchozí směsi spíše modrozelená.



Obr. 8: Fluorescence CQD ve vodě

5 Fluoreskující sklo

(Kramer, a další, 1984)

Jednou z charakteristických vlastností fluorescence je velmi krátký do-
svit po ukončení ozařování UV zářením. V roztoku tak fluorescence za-
niká v řádech nanosekund až mikrosekund. Pokud se fluoreskující látka
bude nacházet v rigidním prostředí, tato doba se může značně prodloužit
a výsledná fluorescence může přetrvávat i několik sekund po zhasnutí
zdroje UV záření. Pro pozorování prodloužené fluorescence lze využít
například zatavení fluoresceinu do skla z kyseliny borité. Součástí ná-
vodu jsou i fotografie experimentu a připravených vzorků, u kterých byla
prodloužená fluorescence pozorována.

Chemikálie:

Fluorescein, kyselina boritá

Pomůcky:

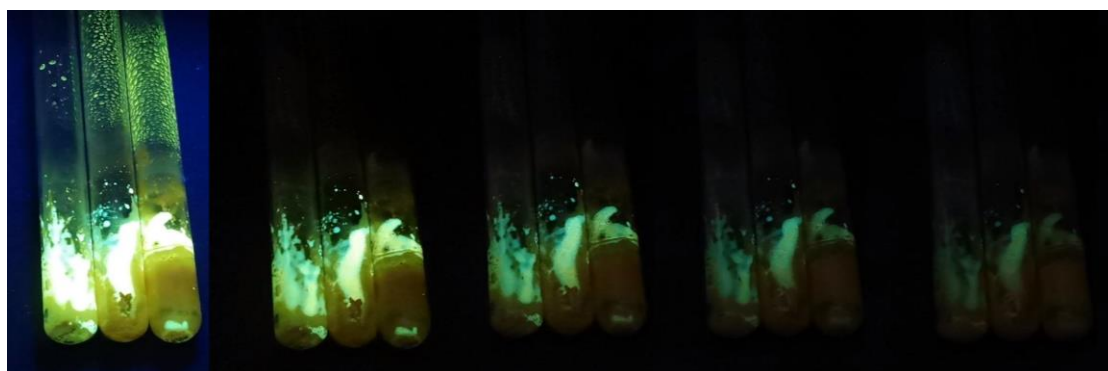
Zkumavka, váhy, lodičky, plynový kahan, špachtle, UV lampa

Postup:

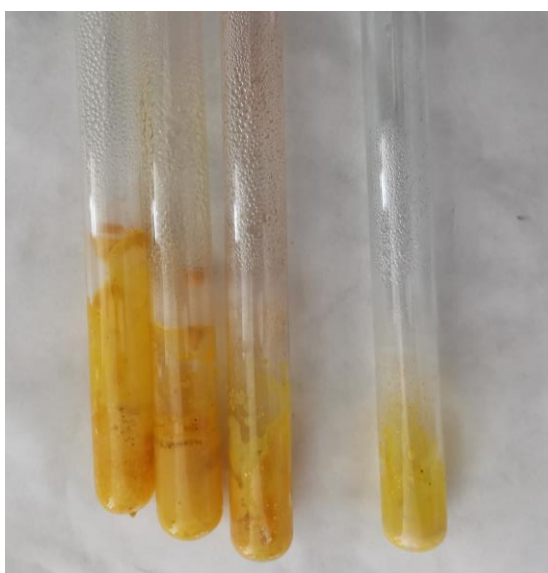
Na lodičku navažte přibližně 0,8 g až 1,1 g kyseliny borité a na další lo-
dičce navažte na analytických vahách 0,0010 g až 0,0025 g fluoresceinu,
které přibližně odpovídá množství na špičce špachtličky. Chemikálie z lo-
diček vyškrabejte pomocí špachtle do zkumavky a obsah promíchejte.
Směs by měla po zamíchání obou složek být lehce narůžovělá. Pomocí
kahanu mírně zahřívejte obsah zkumavky. zkumavkou otáčejte a snažte
se směs udržovat ve velmi tenké vrstvě. Směs by měla postupně žlout-
nout v důsledku zahřívání a rozpouštění. Obsah zkumavky by neměl být
sypký, proto vždy zkuste zkumavku mírně naklopit, abyste se ujistili že
je už směs dostatečně roztavená. Při zahřívání se mohou vytvářet na hor-
ním okraji zkumavky kapičky vody. V případě, že se vám podaří vytvořit

světle žlutou tekutou směs, pokuste se ji rozlít po stěně zkumavky (obvykle je tato tekutá směs po zatuhnutí pro pozorování nejvhodnější).

Pokud budete zahřívat příliš intenzivně, směs postupně přejde ze žluté barvy na tmavě oranžovou. V takovém případě hrozí, že by mohlo dojít znehodnocení experimentu a připravená směs by nefluoreskovala. Při extrémním zahřátí by mohlo dojít k prasknutí zkumavky. Poté nechte zkumavku vychladnout a následně můžete pozorovat prodlouženou fluorescenci fluoresceinu zataveného v kyselině borité.



Obr. 9: Fluorescence fluoresceinu zataveného v kyselině při nasvícení UV lampou (vlevo) a její postupné dohasínání



Obr. 10: Pozorované vzorky při běžném osvětlení

6 Chemiluminiscence singletového kyslíku

(Panzarasa, a další, 2012)

Jako singletový kyslík je označována excitovaná forma molekulárního kyslíku, která je i více reaktivní. Další zajímavou vlastností je jeho schopnost chemiluminiscence. Jedním z možných postupů pro přípravu singletového kyslíku je reakce polyfenolů s H_2O_2 v přítomnosti formaldehydu v bazickém prostředí. Jako přírodní zdroj polyfenolů může posloužit zelený čaj. Některé látky mají schopnost zabránit vzniku singletového kyslíku. Jednou z takových látek je například kyselina askorbová, která je běžně označována jako vitamín C. Schopnost zhášet chemiluminiscenci singletového kyslíku souvisí s její funkcí v lidském těle. Tato látka kromě jiných funkcí slouží jako antioxidant, proto je nezbytnou složkou potravy.

Chemikálie:

Zelený čaj, roztok formaldehydu (36%), peroxid vodíku (30%), uhličitan sodný, kyselina askorbová

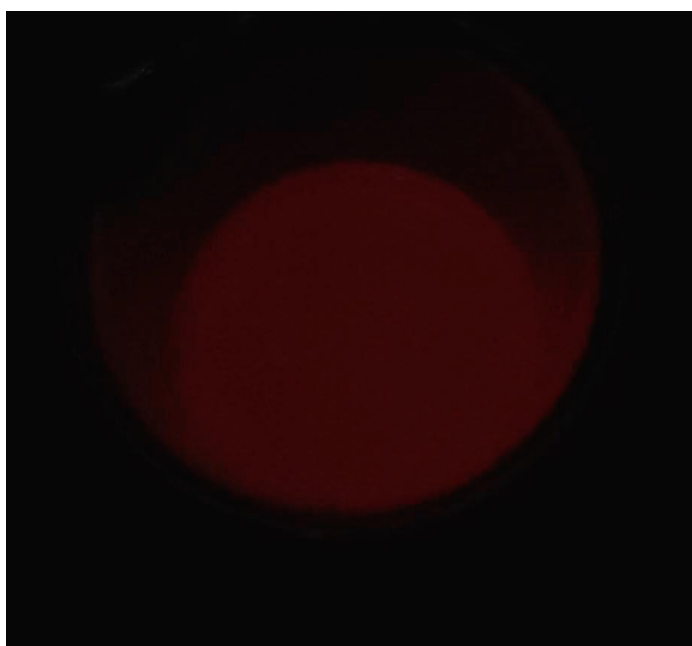
Pomůcky:

Kádinky, vaříč, tyčinka, indikátorový pH papírek

Postup:

Do kádinky o objemu 400 ml dejte zahřát 250 ml vody na teplotu 100 °C. Do ohřáté vody vhod'te sáček zeleného čaje, nebo můžete odvážit přibližně 2,5 g sypaného zeleného čaje. Nechte čaj louhovat alespoň asi 5 minut a po uplynutí této doby odstraňte čajový sáček, nebo v případě sypaného čaje roztok zbavte lístků filtrací, nebo dekantací. Do připraveného čaje přidejte 21 ml roztoku formaldehydu (36%) a 20 g Na_2CO_3 . Směs nechte za stálého míchání vychladnout na teplotu laboratoře a po vyhladnutí zkontrolujte hodnotu pH pomocí indikátorového papírku. Hodnota pH by neměla být nižší než 11. Do dvou kádinek (objem 250 ml)

odlijte asi 50 ml připraveného roztoku a do jedné kádinky přidejte malé množství kyseliny askorbové. Přesuňte kádinky s roztoky tmavé místnosti a přidejte do každého vzorku 5 ml H_2O_2 (30%). Roztoky po přidavku peroxidu pečlivě pozorujte, chemiluminiscence by se měla projevit během několika sekund slabým červeným zářením (viz obrázek), které přetrvává několik sekund.



Obr. 11: Chemiluminiscence singletového kyslíku generovaného reakcí

7 Tenkovrstvá chromatografie alkaloidů vlaštovičnicku většního

(Gaňán, a další, 2016)

Vlaštovičnick větší (*Chelidonium majus*) je cévnatá rostlina z čeledi mákovitých, která je v jarních měsících poměrně hojná v České republice. Kromě žlutého květu je pro tento druh typické žlutooranžové mléko, které vytéká při poranění libovolného rostlinného orgánu. Jednou z jeho významných složek jsou alkaloidy, které způsobují jedovatost rostliny. V minulosti bylo mléko vlaštovičnicku používáno na léčbu bradavic. Jednou z mnoha vlastností je schopnost fluoreskovat při ozáření zářením z oblasti UV-A.

Pro analýzu látek obsažených v rostlině lze využít tenkovrstvou chromatografii (TLC). Tato separační metoda spočívá v interakci analyzované látky se stacionární fází, která má podobu destičky pokryté například vrstvou silikagelu smíchaného s pojivem. Analyzované látky jsou unášeny mobilní fází, která je v tomto případě složena z isopropylalkoholu, vody a kyseliny mravenčí v poměru 90 : 9 : 1 (Gaňán, a další, 2016), vzhůru po destičce se stacionární fází. Jednotlivé látky se budou na povrchu stacionární fáze různě zdržovat. Důsledkem toho bude rozdělení jednotlivých látek na povrchu stacionární fáze a po dokončení vyvíjení chromatogramu bude možné odečíst jejich retenční faktory. Retenční faktor se stanovuje dle následujícího vzorce, kde R_f je retenční faktor, A je vzdálenost skvrny od místa nanesení (START) a B je vzdálenost mezi startem a čelem (místo, kam vystoupala mobilní fáze při ukončení vyvíjení chromatogramu).

$$R_f = \frac{A}{B}$$

U vlaštovičníku je výsledný chromatogram poměrně pestrý, pokud jej pozorujeme pod UV lampou, zvláště v případě, když je použit extrakt z listu. Může se tak stát, že se ve výsledném chromatogramu objeví i některé jiné látky než alkaloidy (například při použití zelených částí rostliny se nabízí červeně fluoreskující chlorofyl). Fotografie barevného složení chromatogramu pod UV je součástí protokolu.

Rostlinný materiál:

Sušené listy a kořeny vlaštovičníku

Chemikálie:

Ethanol, isopropylalkohol, kyselina mravenčí, voda

Pomůcky:

Třecí miska s tloučkem, filtrační nálevka, filtrační kruh, filtrační papír, stojan, kádinky, vyvíjecí komora na TLC, silufolová destička, skleněná kapilára, pinzeta, UV lampa

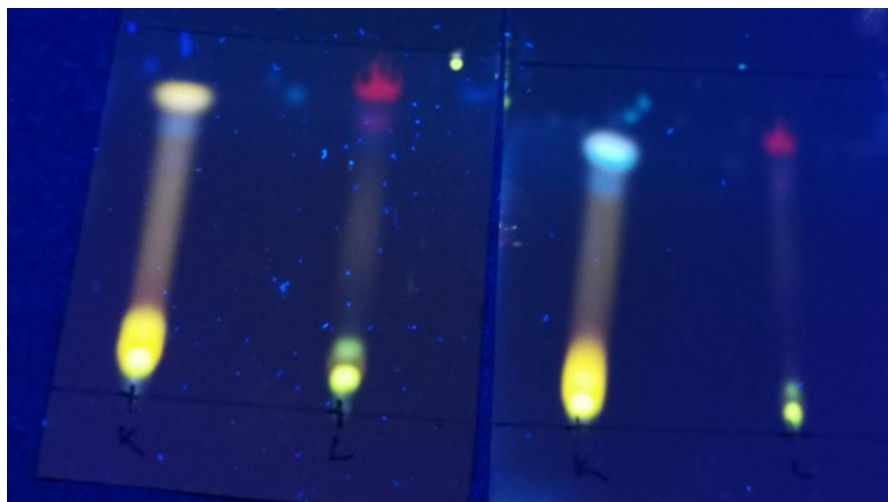
Postup:

Do kádinky připravte směs isopropanolu, vody a kyseliny mravenčí v objemovém poměru 90 : 9 : 1. Mále množství směsi nalijte do vyvíjecí komory (do výšky 0,5 cm) a pro lepší nasycení parami mobilní fáze vložte kus filtračního papíru. Komoru uzavřete a nechte alespoň 10 až 15 minut stát.

Rostlinný materiál natrhejte na malé kousky, které rozetřete v třecí misce s malým množstvím ethanolu. Získaný extrakt zbavte zbytků rostliny filtrací. Na silufolovou destičku s vyznačeným startem naneste pomocí kapiláry několik kapek připravených extraktů a nechte nanesené vzorky zaschnout. Do připravené komory vložte destičku se vzorky a nechte chromatogram vyvíjet do doby, než se mobilní fáze dostane asi 1 cm pod horní okraj destičky. Poté destičku vyjměte a vyznačte čelo mobilní

TENKOVSTVÁ CHROMATOGRRAFIE ALKALOIDŮ VLAŠTOVIČNÍKU VĚTŠÍHO

fáze. Získaný chromatogram pozorujte pod UV lampou s vlnovou délkou 366 nm a zaznamenejte své pozorování.



Obr. 12: Fluorescence látek vlaštovičnicku většího – ethanolový extrakt (destička vlevo), alkaloidy extrahované do isopropylalkoholu (destička vpravo), extrakt z kořene (levý sloupec chromatogramu) a extrakt z listů (pravý sloupec)

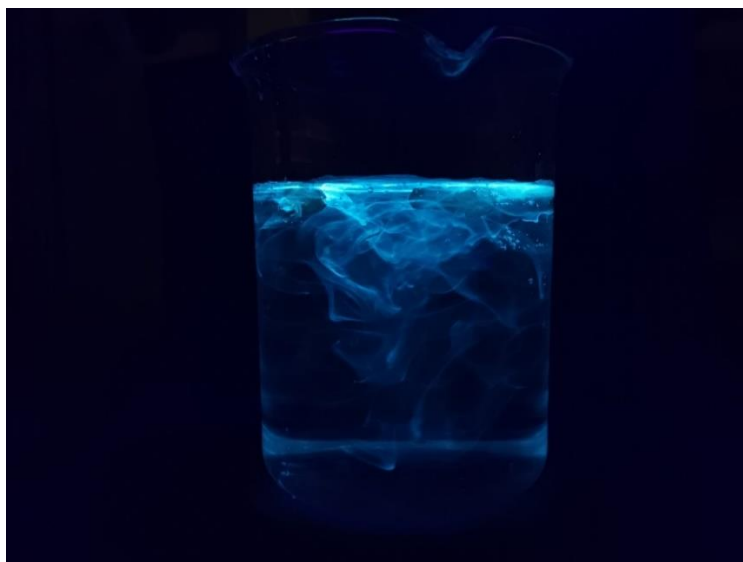
8 Pozorujeme luminiscenci doma, v přírodě i laboratoři

Pro pozorování luminiscence si připravte pouze UV lampu, ideálně černý papír a podle typu pozorované látky (objektu) další potřebné pomůcky (skleněnou nádobu, nůž, rozpouštědlo – voda, ethanol, aceton, petrolether).

8.1 Luminiscence v přírodě

Pozorování fluorescence glykosidů kumarinů u dřevin

Z našich běžných dřevin lze pozorovat glykosidy fraxin u jasanu ztepilého a aesculin u jírovce maďalu. Pro pozorování fluorescence ustříhněte mladou větvičku výše uvedených dřevin, kterou následně ponoříte ustříženým koncem do vody, nebo můžete svrchní vrstvu kůry mírně seříznou nožem pro rychlejší uvolnění látky.



Obr. 13: Fluorescence aesculinu z jírovce maďalu ve vodě



Obr. 14: Fluorescence fraxinu z jasanu ztepilého ve vodě

Pozorování fluorescence lišejníků

Fluorescence byla pozorována u lišejníku s nápadným žlutým zbarvením. Pokud takový lišejník najdete, stačí jej pouze nasvítit UV lampou.



Obr. 15: Pozorovaný lišejník a jeho fluorescence

Fluorescence hub

Fluoreskují i některé druhy hub. Zde lze pouze doporučit sebrat co nejširší spektrum hub, které poté vyzkoušejte nasvítit ze všech možných úhlů. Autorovi práce se podařilo nalézt dvě plodnice, u kterých byla pozorovatelná fluorescence v oblasti lupenů.



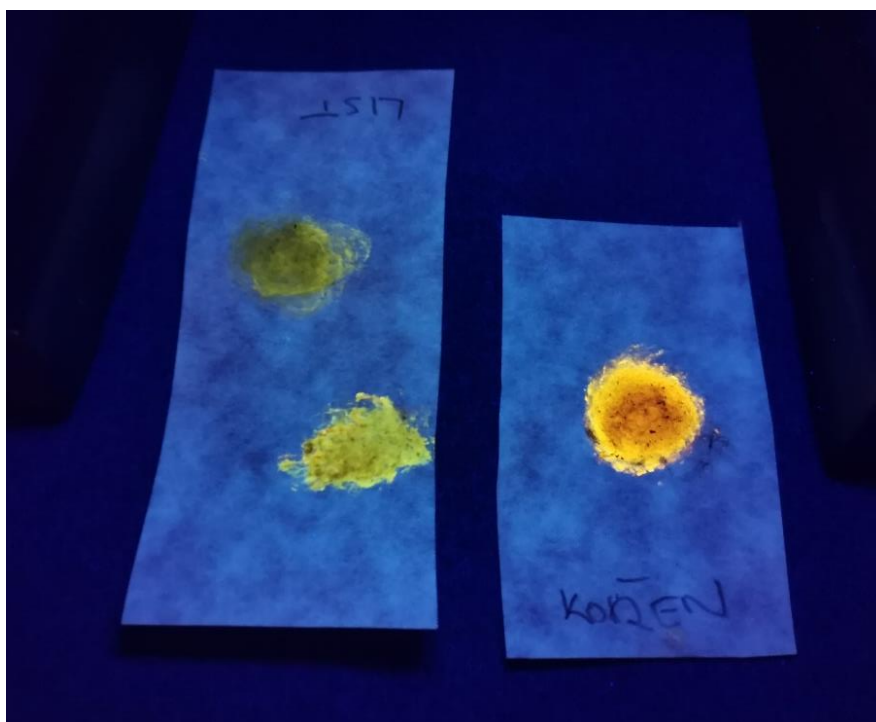
Obr. 16: Pozorované plodnice hub



Obr. 17: Fluorescence plodnic hub

Fluorescence mléka vlašovičníku většího

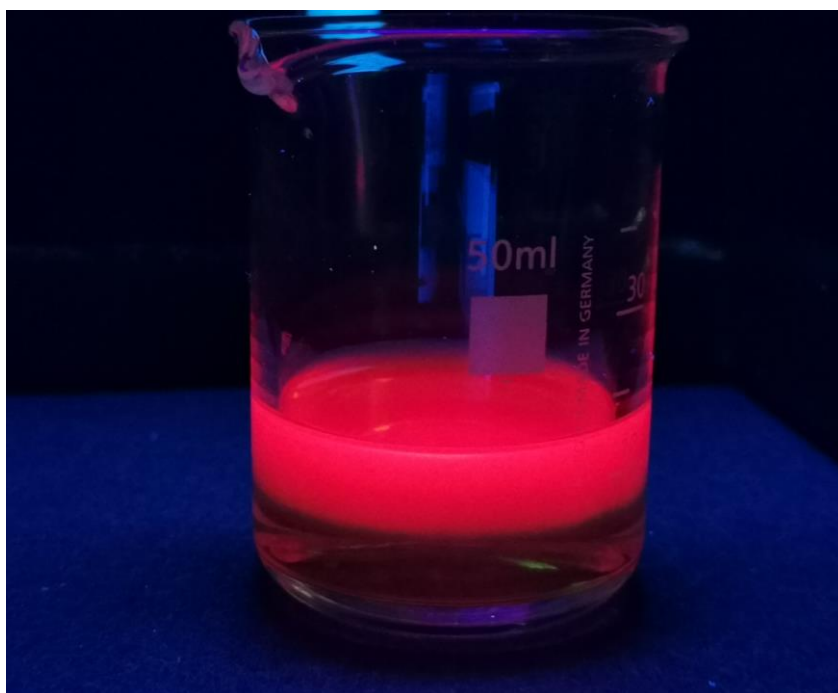
Vlašovičník větší patří mezi hojně rozšířené rostliny v České republice. Je to vytrvalá bylina se žlutými květy se čtyřmi okvětními lístky. Zvláště typický je pro ni výtok žlutooranžového mléka z poraněných částí rostliny. Toto mléko obsahuje alkaloidy, které způsobují jedovatost celé rostliny. Pro pozorování poraňte libovolnou část rostliny a vytékající mléko naneste na filtrační papír.



Obr. 18: Fluorescence alkaloidů z mléka vlašovičníku většího – mléko z listů rostliny (vlevo) a mléko z kořene (vpravo)

Fluorescence chlorofylu

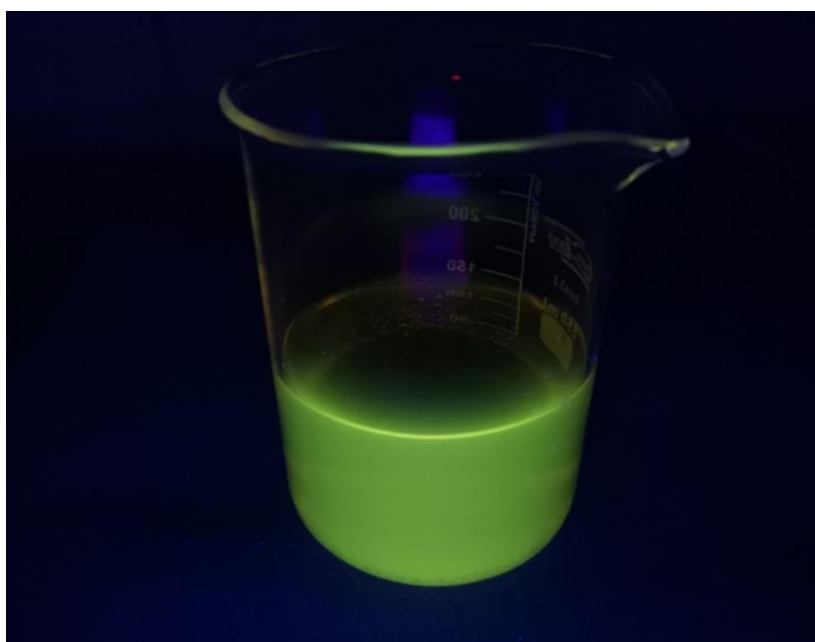
Chlorofyl je velice významnou látkou v biologii. Jedná se totiž o důležitý asimilační pigment, který rostlinám umožňuje fotosyntézu. Lze jej tedy velice snadno získat ze zelených částí rostliny. Zelené rostlinné orgány stačí jen natrhat na jemné kousky a rozetřít je s trochou rozpouštědla (ethanol, nebo aceton). Od části dalších rostlinných barviv lze chlorofyl separovat například pomocí přídavku petroletheru. Pokud nedochází k zřetelnému oddělení fází, přidejte malé množství vody.



Obr. 19: Fluorescence chlorofylu v petroletherové vrstvě

8.2 Luminiscence v potravinách a nápojích

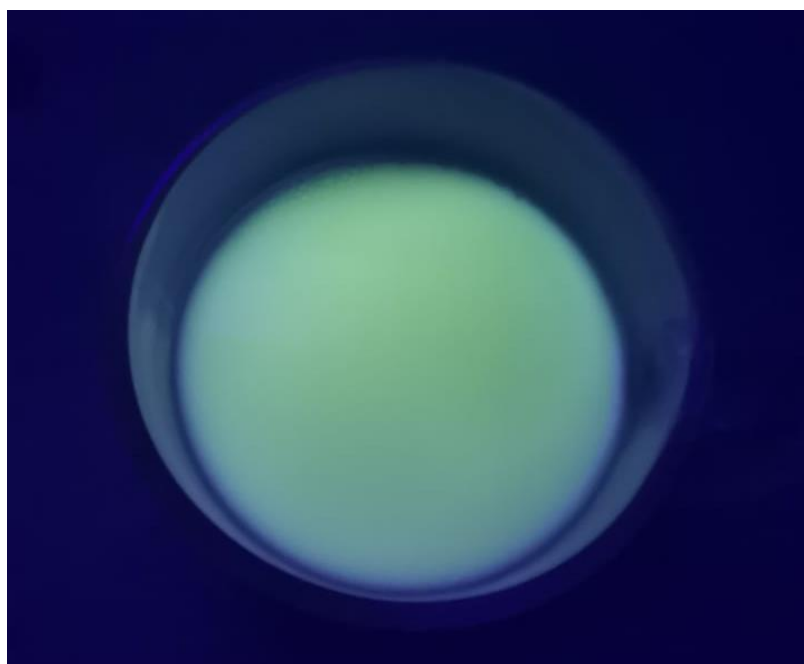
Pozorovat luminiscenci můžeme i u některých vybraných potravin. Některé potraviny není třeba nijak upravovat (mléko, energetický nápoj, olivový olej, banánová slupka...), nebo je stačí pouze rozkrojit (hermelín, kiwi, petržel, celer). Některé látky je však potřeba nejdříve rozpustit ve vhodném rozpouštědle, aby bylo možné pozorovat jejich fluorescenci.



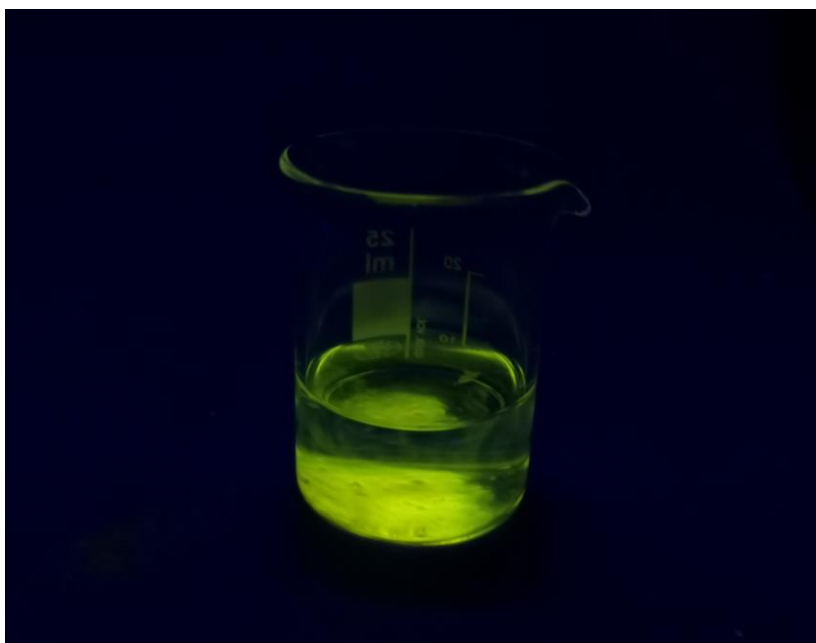
Obr. 20: Fluorescence riboflavínu v energetickém nápoji



Obr. 21: Fluorescence doplňku stravy s obsahem riboflavinu ve vodném roztoku



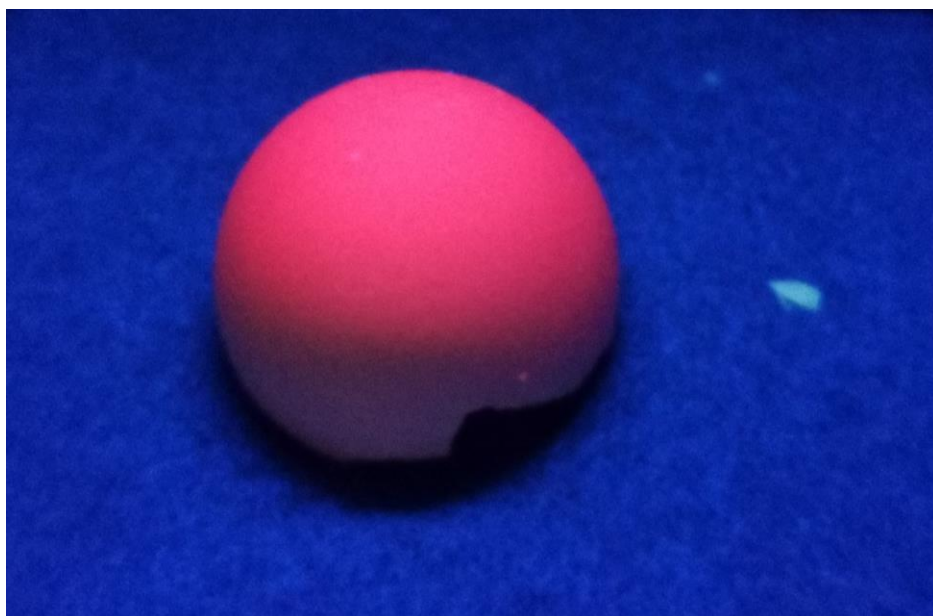
Obr. 22: Fluorescence riboflavinu v mléce



Obr. 23: Fluorescence kurkuminu z kari v ethanolu



Obr. 24 Fluorescence kurkuminu ve vanilkové směsi v jogurtu



Obr. 25: Fluorescence protoporphyrinu IX ve vaječné skořápce



Obr. 26: Fluorescence banánové slupky



Obr. 27: Fluorescence hermelínu



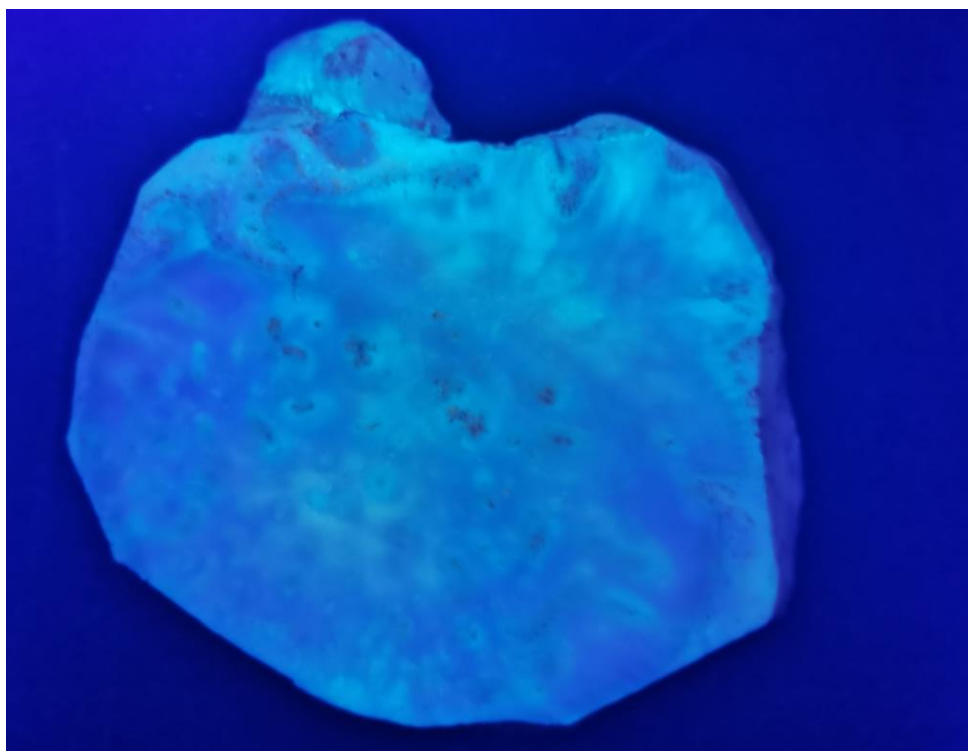
Obr. 28: Fluorescence chininu v toniku



Obr. 29: Fluorescence olivového oleje



Obr. 30: Fluorescence chlorofylu (červeně fluoreskující oblast) a fraxinu a aesculinu (světle modrá fluorescence) v kiwi



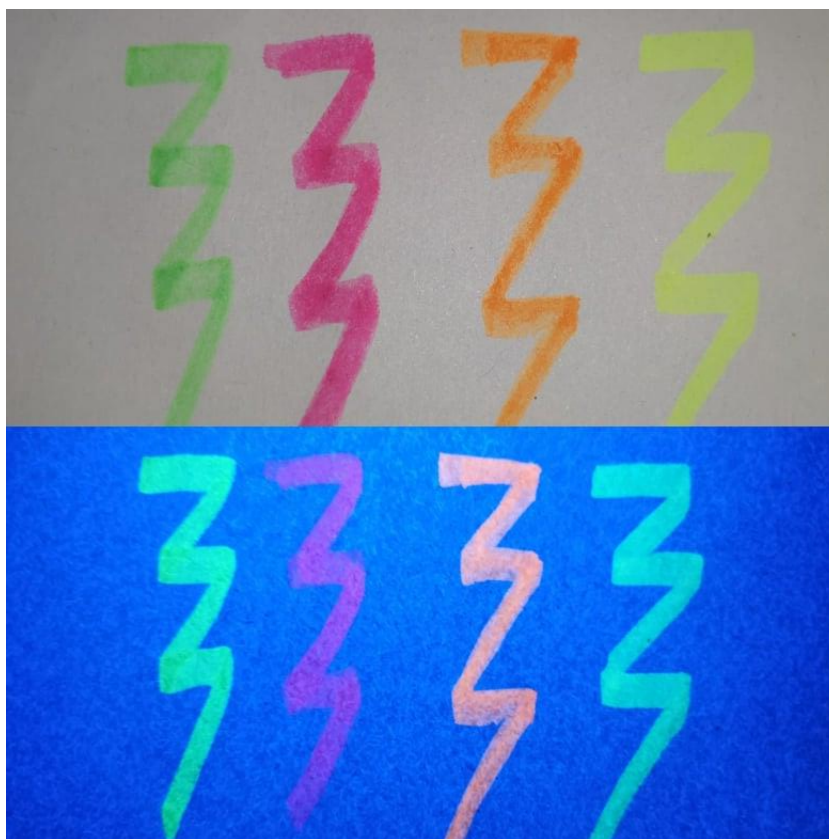
Obr. 31: Fluorescence kumarinů v bulvě celeru



Obr. 32: Fluorescence kumarinů v kořeni petržele

8.3 Luminiscence v domácnosti

Kromě přírodnin v okolí svého obydlí a potravin ze spíže nebo ledničky, je možné narazit na luminiscenci u mnoha průmyslových produktů, které se nacházejí v lidských obydlích. Může se jednat o plastové výrobky, zjasňovače přítomné v pracím prášku (nerozpouštějte jej ve vodě), nebo bankovky a další ceniny. Pozor si ale dejte u fluorescence zvýrazňovačů, neboť je potřeba pro pozorování fluorescence vybrat papír bez přidaných optických zjasňovačů.



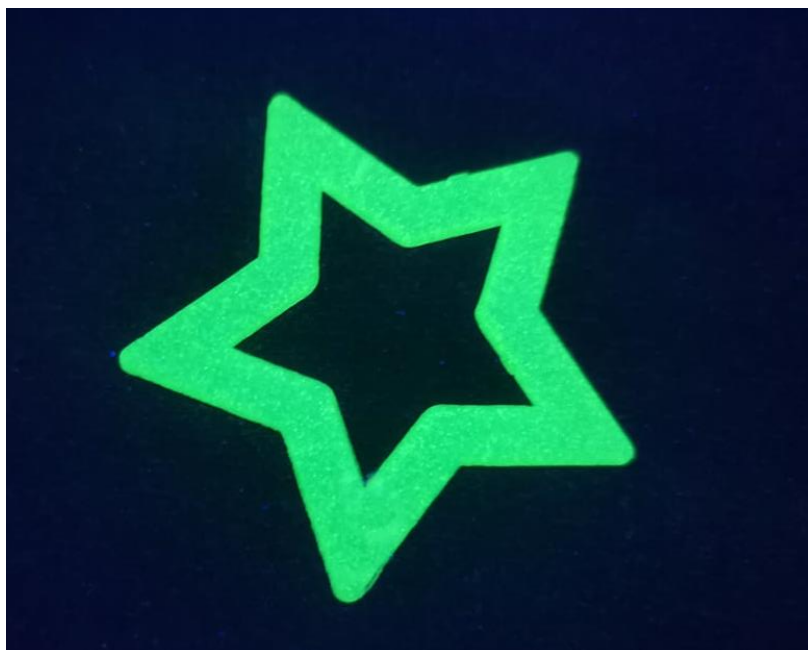
Obr. 33: Fluorescence zvýrazňovačů



Obr. 34: Fluorescence ochranných prvků na bankovce



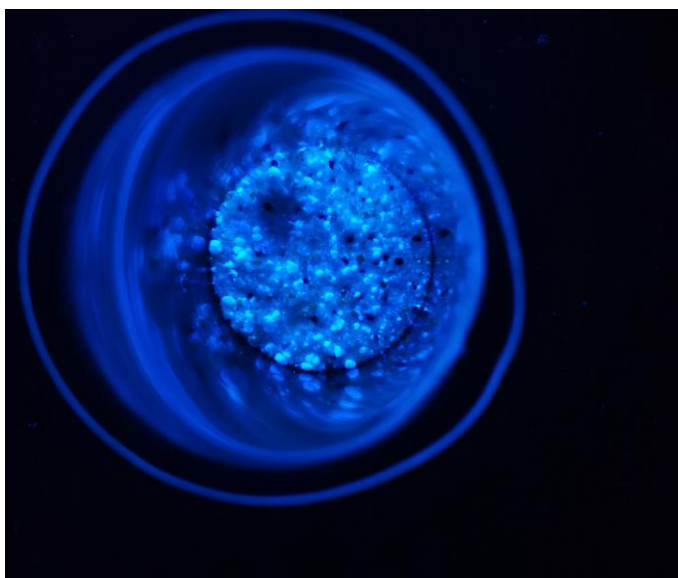
Obr. 35: Fluorescence poštovní známky



Obr. 36: Luminiscence dětské hračky



Obr. 37: Fluorescence plastů na sešíváče

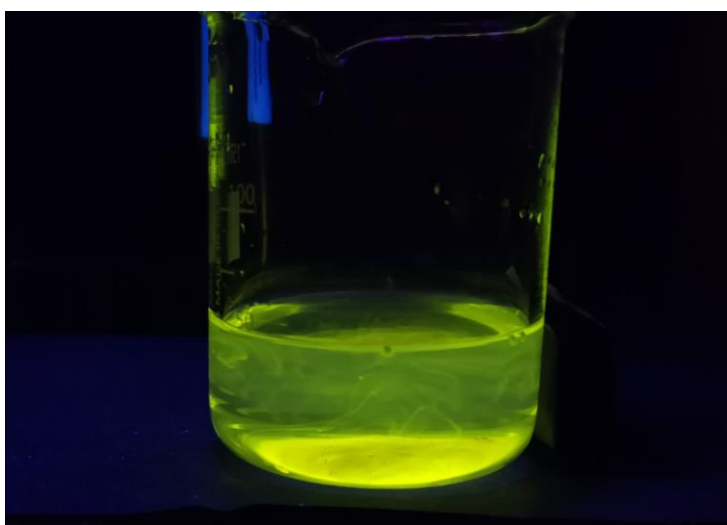


Obr. 38: Fluorescence zjasňovačů pracího prášku

8.4 Luminiscence dalších látek

Fluorescence fluoresceinu

Jak už název látky napovídá, fluorescein je jednou z běžně dostupných chemikálií, které v roztoku fluoreskují. Stačí jej tedy rozpustit například v malém množství ethanolu.



Obr. 39: Fluorescence roztoku fluoresceinu v ethanolu

9 Závěr

Cílem práce bylo představit čtenáři základní poznatky z oblasti luminiscence na základě aktuálních zdrojů informací. Teoretická část práce popisuje základní fyzikálně-chemické principy luminiscence. Stěžejní částí práce je rešerše zaměřená na hledání běžných objektů, u kterých je možné pozorovat luminiscenci. Celkem bylo pozorováno a vyfotografováno 26 objektů dostupných v chemické laboratoři, přírodě nebo supermarketu. V některých případech se však nepodařilo zjistit, jaká látka způsobuje fluorescenci. V experimentální části byly prakticky vyzkoušeny a zde jsou prezentovány experimenty z oblasti fluorescence a chemiluminiscence na základě publikovaných vědeckých článků, které by měly být realizovatelné ve školních laboratořích. Některé experimenty bylo nezbytné podrobit úpravám.

Z původně pěti plánovaných experimentů se podařilo úspěšně realizovat čtyři. Pokusy s fluorescencí alkaloidů vlašovičnicku, syntézou CQD a skla z kyseliny borité a fluoresceinu jsou poměrně nenáročné na vybavení a chemikálie, a zároveň nejsou příliš časově náročné. Jediným speciálním vybavením nezbytným pro pozorování těchto a dalších fluoreskujících látek je UV lampa. Z oblasti chemiluminiscence byla představena a prakticky vyzkoušena příprava singletového kyslíku. Zásadní výhodou této metody je vynechání práce s chlórem, který se klasicky zavádí do bazického roztoku peroxidu vodíku. Tento experiment lze provést s běžnými chemikáliemi. Původně byl plánován i experiment s chemiluminiscencí při krystalizaci horkého roztoku síranů. Při tomto pokusu nebyla luminiscence pozorována i přes to, že byl dodržován postup uvedený v návodech, a důvody neúspěchu se nepodařilo odhalit.

ZÁVĚR

Práce může poskytnout budoucím i současným vyučujícím chemie širokou nabídku nových nápadů na zatraktivnění výuky a motivaci studentů k dalšímu studiu přírodních věd.

Citovaná literatura

- Afek, Uzi, Carmeli, Shmuel a Aharoni, Nehemia. 1995.** Columbianetin, a phytoalexin associated with celery resistance to pathogens during storage. *Phytochemistry*. 1995, 6, stránky 1347-1350.
- Atkins, P. W. a De Paula, Julio. 2013.** *Fyzikální chemie*. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. ISBN 978-80-7080-830-6.
- Dean, Michelle L., Miller, Tyson A. a Brückner, Christian. 2011.** Egg-Citing! Isolation of Protoporphyrin IX from Brown Eggshells and Its Detection by Optical Spectroscopy and Chemiluminescence. *Journal of Chemical Education*. 2011, 6, stránky 788-792.
- Duval, Romain a Duplais, Christophe. 2017.** Fluorescent natural products as probes and tracers in biology. *Natural Product Reports*. 2017, 2, stránky 161-193.
- Gañán, Nicolás A., a další. 2016.** Alkaloids from *Chelidonium majus* L.: Fractionated supercritical CO₂. *Separation and Purification Technology*. 2016, stránky 199-207.
- Hirsch, Anne-Marie, Arlette Longeon, Arlette a Guyot, Michèle. 2002.** Fraxin and esculin: two coumarins specific to *Actinidia chinensis* and *A. deliciosa* (kiwifruit). *Biochemical Systematics and Ecology*. 2002, 1, stránky 55-60.
- Hlubinková, Lucie.** Detection of dyes in leaves. *ChemBAM*. [Online] [Citace: 29. květen 2021.] <https://chembam.com/online-resources/a-level-resources/detection-of-dyes-in-leaves/>.
- Klán, Petr. 2001.** *Organická fotochemie*. Brno : Masarykova univerzita, 2001. ISBN 80-210-2526-3.
- Kramer, Mark A., a další. 1984.** Nonlinear optical properties of fluorescein in boric-acid glass. *Journal of Luminescence*. 1984, stránky 789-791.

- Moser, Simone, a další. 2008.** Blue Luminescence of Ripening Bananas. *Angewandte Chemie International Edition*. 2008, 46, stránky 8954-8957.
- Moser, Simone, a další. 2009.** Fluorescent chlorophyll catabolites in bananas light up blue halos of cell death. *PNAS*. 2009, 37, stránky 15538-15543.
- Muyskens, Mark A. a Stewart, Maurica S. 2011.** Getting Students of All Ages Excited about Fluorescence. *Journal of Chemical Education*. 2011, 3, stránky 259-260.
- O'Hara, Patricia B., Peter, Wayne St. a Engelson, Carol. 2005.** Turning on the Light: Lessons from Luminescence. *Journal of Chemical Education*. 2005, 1, stránky 49-52.
- Panzarasa, Guido a Sparnacci, Katia. 2012.** Glowing Teacup Demonstration: Trautz–Schorigin Reaction of Natural Polyphenols. *Journal of Chemical Education*. 2012, 10, stránky 1297-1300.
- Pátek, Karel. 1962.** *Luminiscence: fyzikální poznatky a technické aplikace*. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1962.
- Sethna, Suresh M. a Shah, Narsinh M. 1945.** The Chemistry of Coumarins. *Chemical Reviews*. 1945, 1, stránky 1-62.
- Shakhashiri, Bassam Z. a Williams, Lloyd G. . 1976.** Singlet oxygen in aqueous solution: A lecture demonstration. *Journal of Chemical Education*. 1976, 6, stránky 358-361.
- Strauss, Volker, a další. 2020.** Carbon nanodots revised: the thermal citric acid/urea reaction. *Chemical Science*. 2020, 31, stránky 8256-8266.
- Šípál, Zdeněk, a další. 1992.** *Biochemie*. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1992. ISBN 80-04-21736-2.
- Valeur, Bernard a Berberan-Santos, Mário N. 2011.** A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory. *Journal of Chemical Education*. 2011, 6, stránky 731-738.

Wampler, John E. a Jamieson, B.G.M. . 1980. Earthworm bioluminescence: Comparative physiology and biochemistry. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 1980, 1, stránky 43-50.

Wharton, Janice, a další. 2018. Hands-On Demonstration of Natural Substance Fluorescence in Simple Tree Extracts: Sycamore. *Journal of Chemical Education*. 2018, 4, stránky 615-619.