

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA EXPERIMENTÁLNÍ FYZIKY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Luminiscence ve středoškolské laboratoři



Autor:	Bc. Jan Pokorný
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

Obsah

Slovo úvodem.....	8
Teoretická část.....	9
1. Co je to luminiscence	9
2. Druhy luminiscence.....	9
2.1 Bioluminiscence	9
2.2 Chemiluminiscence	9
2.3 Katodoluminiscence.....	9
2.4 Fotoluminiscence	9
2.5 Elektroluminiscence.....	9
2.6 Termoluminiscence	9
2.7 Další druhy luminiscence.....	9
2.7.1 Mechanoluminiscence.....	9
2.7.2 Triboluminiscence	9
2.7.3 Sonoluminiscence	9
3. Metodika měření	9
3.1 Vernier SpectroVis Plus	9
3.2 Vernier SpectroVis Optical Fiber.....	10
Experimentální část	11
4. Výběr luminoforů a měření jejich spekter.....	11
5. Pokusy z fotoluminiscence.....	14
5.1 Luminiscenční duha.....	14
5.2 Difuze fluoresceinu ve vodě	16
5.3 Model zářivky, fosforescence	17
5.4 Fotoluminiscence minerálů.....	19
5.5 Fotoluminiscence rostlin.....	19
5.6 Difuze eskulinu ve vodě.....	21
5.7 Fotoluminiscence předmětů a výrobků okolo nás	22

5.8	Fotoluminiscence buzená laserovými ukazovátky.....	23
5.9	Měření fluorescenčních spekter roztoků	24
5.9.1	Přírodní fluorescenční barviva	25
5.9.2	Syntetická fluorescenční barviva.....	25
5.10	Fluorescenční stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik.....	25
6.	Pokusy z chemiluminiscence.....	39
6.1	Chemiluminiscence luminolu	39
6.1.1	Barevná chemiluminiscence luminolu	41
6.2	Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku	42
6.3	Chemiluminiscence směsi formaldehydu a pyrogallolu.....	43
6.4	Luminiscence při krystalizaci	45
6.5	Fosforescence bílého fosforu	46
7.	Pokusy z mechanoluminiscence.....	47
7.1	Drcení krystalového cukru	47
8.	Zhodnocení práce učiteli	47
Slovo závěrem		48
Použitá literatura.....		49
Přílohy		50
9.	Seznam natočených pokusů na DVD	50
10.	Spektra.....	50

Experimentální část

4. Výběr luminoforů a měření jejich spekter

V této části práce probíhalo hledání významných fotoluminiscenčních látek v literatuře, jejich následný výběr a testování na dostatečnou intenzitu fluorescence. Jedná se především o čisté chemikálie, 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. 1). Roztoky s vysokou intenzitou fluorescence byly následně testovány na dostatečnou odezvu pro běžná středoškolská laboratorní měření na 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. 1: Fluorescenční spektrometr Cary Eclipse na katedře organické chemie PřF UP.

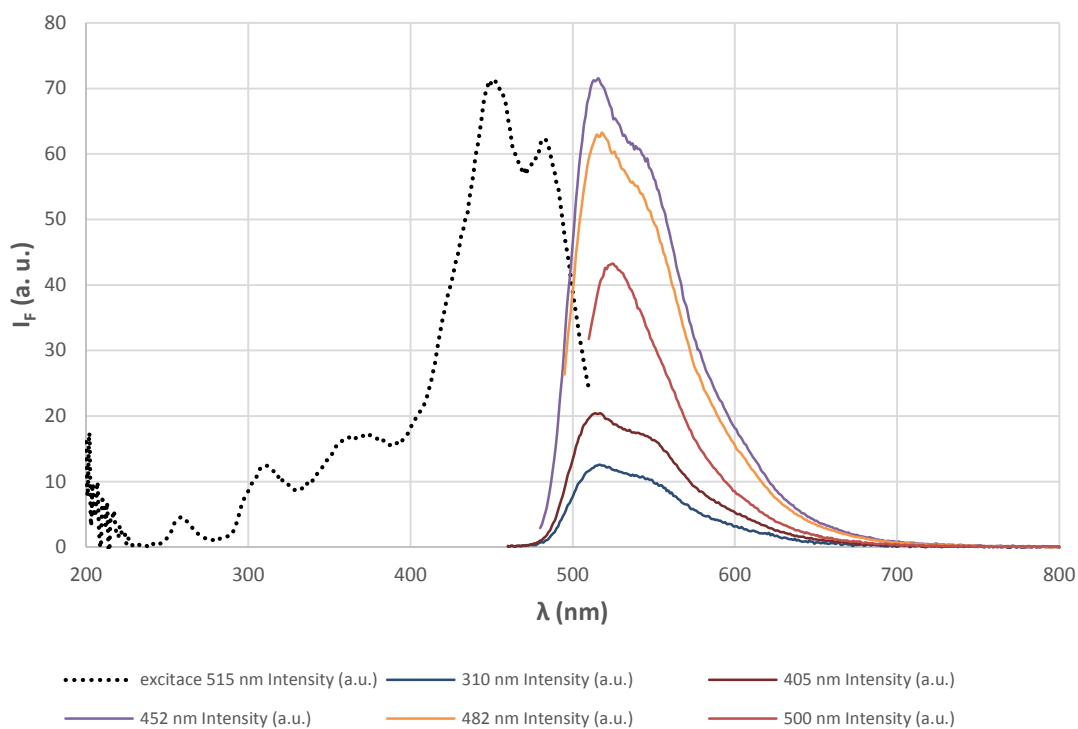
Tab. 1: Testovaná syntetická fluorescenční barviva.

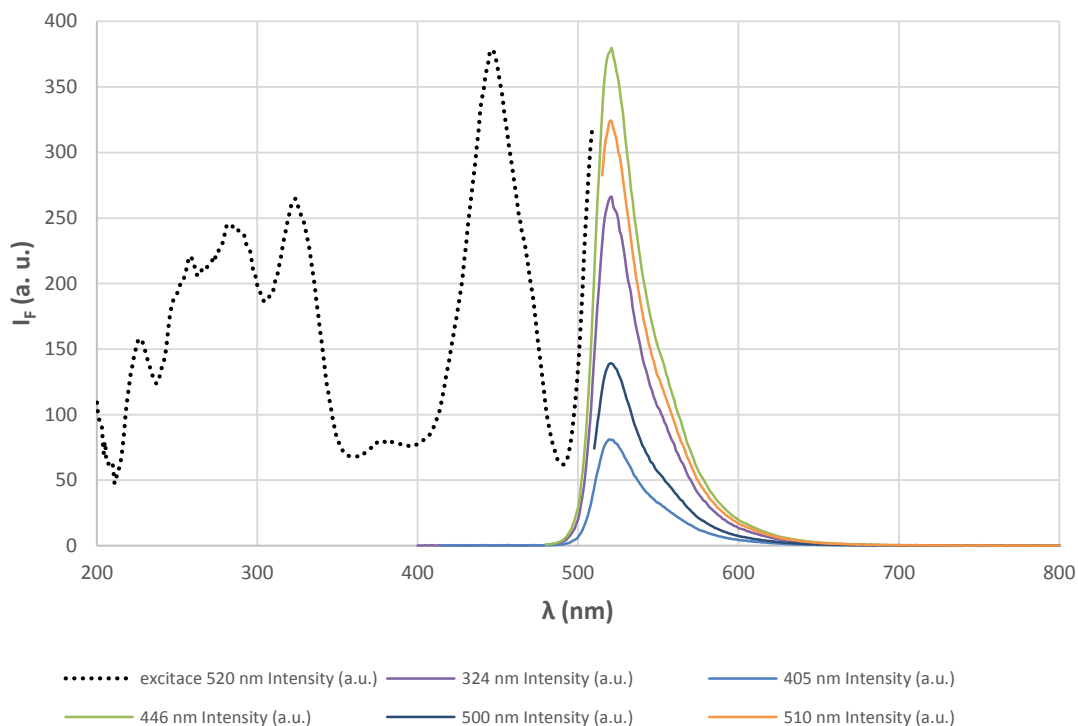
Fluorescenční látka	Vhodná rozpouštědla	Barva roztoku pod UV
fluorescein	ethanol, 0,1M-NaOH	žlutozelená
eosin Y	ethanol, voda	oranžová
eosin B	ethanol, voda	červenooranžová (málo intenzivní)
rhodamin B	ethanol, 0,1M-H ₂ SO ₄ , voda	růžová
chinin	0,1M-H ₂ SO ₄	modrá
berberin	ethanol	žlutá
fuchsin	0,1M-HCl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

Tab. 2: Testované extrakty z rostlin.

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

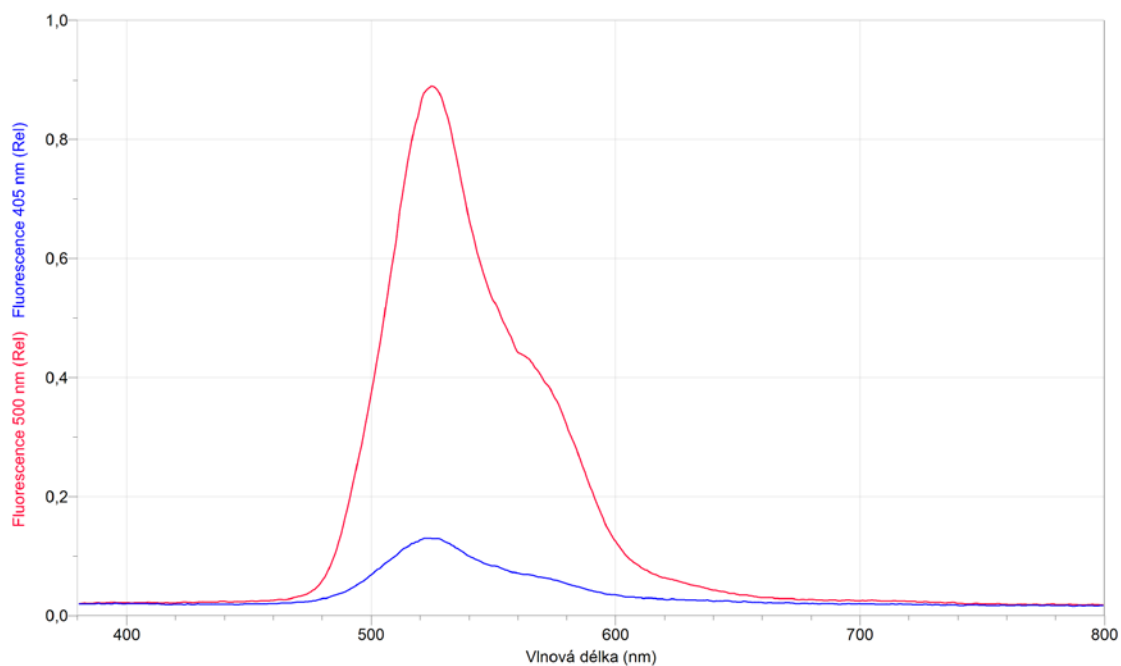
**Obr. 2:** Excitační (tečkovaně) a emisní spektrum roztoku fluoresceinu v ethanolu (Agilent Cary Eclipse).



Obr. 3: Excitační (tečkovaně) a emisní spektrum roztoku fluoresceinu v 0,1M-KOH (Agilent Cary Eclipse).

Z naměřených spekter jasně plyne závislost měřeného signálu na použitém rozpouštědle – rozpouštědlo má vliv na tvar fluorescenčních spekter.

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 daleko méně přesná. Pro školní účely však spektrometr bohatě postačuje. Naměřené spektrum fluoresceinu ukazuje obrázek ?.



Obr. 4: Fluorescenční spektrum roztoku fluoresceinu v ethanolu (Vernier SpectroVis Plus, vzorkovací čas 40 ms).

Spektra dalších měřených látek jsou uvedena v příloze ?.

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 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, H_2SO_4 , NaOH, destilovaná voda

Časová náročnost: 10 minut

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-H₂SO₄. Fialovou barvu lze získat smícháním roztoku rhodaminu B a chininsulfát dihydrátu, tmavě červenou barvu pod UV zářivkou vytvoří roztok rhodaminu B v 0,1M-H₂SO₄.

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.

❶ *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 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. Pohlčená energie je pak částečně vyzářena zpátky v podobě luminiscence o delších vlnových délkách. To vše se navíc děje za pokojové teploty. Jeden z možných výsledků experimentu znázorňuje obrázek ?.



Obr. 5: 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-H₂SO₄).

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 zajímavé ukázce luminiscence.

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.

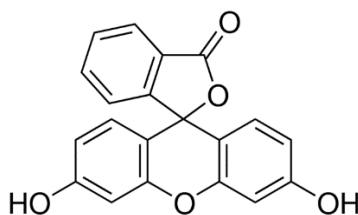
❶ *Poznámka:*

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

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 (viz obr. ?) na hladinu alkalického roztoku sledujeme pod UV zářivkou pomalé rozpouštění a difuzi látky do celého objemu kádinky, přičemž vznikající roztok výrazně žlutozeleně luminiskuje (viz obr. ?). Pokud tento experiment provedeme na začátku vyučovací hodiny, můžeme nechat difuzi probíhat celou vyučovací hodinu a na konci výuky ukázat, že se luminofor rovnoměrně rozprostřel v celém objemu – vznikl homogenní roztok. Pokud porovnáváme dvě kádinky vedle sebe s rozdílnou teplotou vody, je jasné 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 rozprostření luminoforu do celého objemu roztoku.



Obr. 6: Fluorescein (převzato z [SigmaAldrich]).

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

foto

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. [Krist]

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 třetí 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 uchováme v prachovnici.

Dvě až tři lžičky směsi vsypeme do zkumavky, zkumavku uchytíme 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 dírký na zastrčení kontaktů UV diody a LED následně k zátce připevníme tak, aby směřovala dovnitř zkumavky. Po zašpuntování připojíme ke kontaktům diody vodiče (pozor na správnou polaritu) propojené se zdrojem stejnosměrného napětí a diodu rozsvítíme. Nesmíme překročit určitou hodnotu napětí, udávanou výrobcem, abychom „nespálili“ PN přechod. Pozorujeme fotoluminiscenci borité vrstvičky. Poté diodu zhasneme a sledujeme fosforescenci.

Závěr:

Po rozsvícení UV diody pozorujeme žlutou fotoluminiscenci boritého skla, viz obr. 7. 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 fosforescenci.

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 nanесena vrstvička vhodného luminoforu, který po absorpci UV záření luminiskuje ve viditelné oblasti spektra. Složením fotoluminiscence luminoforu s modrozelenou emisí rtuťových par, která proniká stěnami trubice, vzniká odstín podobný bílému dennímu světlu.

[Pelant, Valenta]

foto

Obr. 7: Fotoluminiscence boritého skla – model zářivky.

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

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 uhlovodíků ve struktuře minerálu. Tyto oblasti luminiskují různými barvami, jak je vidět na obrázcích ? a ?

foto
foto

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 [zdroj]. Koncentrace těchto látek je však často tak nízká, že se nám luminiscenci v laboratorních podmínkách nepodaří prokázat. Z tohoto důvodu jsou v experimentu uvedeny pouze rostliny, které zaručeně fungují. Významným fotoluminiscenčním barvivem je rovněž chlorofyl. Poněvadž jeho luminiscence nelze dobře pozorovat na samotných zelených částech rostlin, je potřeba jej vyextrahovat do rozpouštědla. Tento postup je uveden níže v experimentu 5.9.

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

Chemikálie: nejsou potřeba

Časová náročnost: 10 minut

Postup:

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

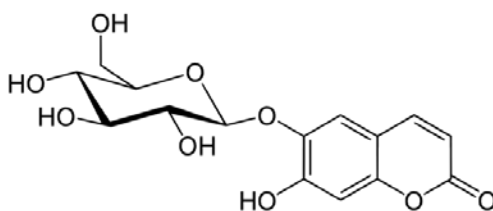
Mléko vytékající z odtržené části vlašovičníku většího pozorujeme pod UV zářivkou a kreslíme jím po filtračním papíře.

☞ Možné nezdary:

Z vlastní zkušenosti je docela těžké najít místa s větší koncentrací chininu ve vrbových větvičkách. Je dobré loupat kůru nebo řezat celou větvičku pod UV zářivkou tak dlouho, dokud na oblast s modrou luminiscencí nenarazíte.

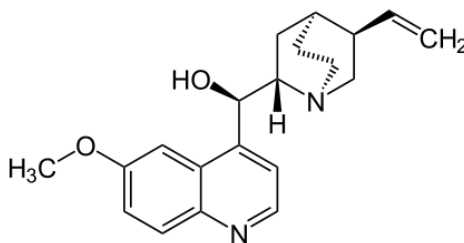
Závěr:

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



Obr. 8: Eskulin (převzato z [wiki]).

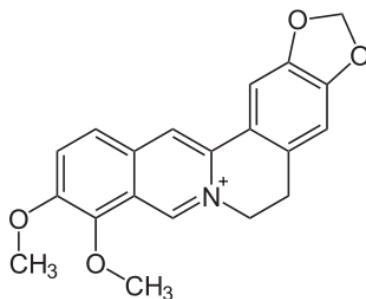
Vrbová kůra obsahuje kromě jiných, významných látek také malé množství chininu (viz obr. ?), který pod UV zářivkou luminiskuje rovněž modrou barvou. Oblasti s výskytem chininu jsou patrné na obrázku ?.



Obr. 9: Chinin (převzato z [wiki]).

Celá rostlina vlašovičníku 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. Mléko obsahuje celou řadu alkaloidů, z nichž nejvýznamnější berberin 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 ?.



Obr. 10: Berberin (převzato z [wiki]).

foto
foto
foto

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.

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

Chemikálie: ethanol, destilovaná voda

Časová náročnost: 15 minut

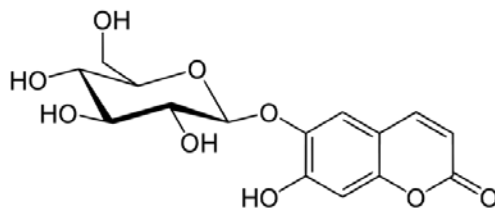
Postup:

Do dvou Petriho misek nařezeme kousky větvičky nebo pupenu 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:

Vložením nařezaných kousků větvičky nebo pupenů jírovce maďalu do Petriho misky s vodou, popř. ethanolom dojde k difuzi modře luminiskujícího eskulinu (aesculinu) do objemu rozpouštědla. Tento přírodní glykosid, obsahující sacharidovou složku a derivát kumarinu, je znázorněn na obrázku ?. Je lépe rozpustný ve

vodě, proto miska s ethanolem svítí o něco méně. Výsledek pokusu je vidět na obrázku ?.



Obr. 11: Eskulin (převzato z wiki).

foto

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

5.7 Fotoluminiscence předmětů a výrobků okolo nás

Tento velmi jednoduchý experiment, kterým lze proniknout do světa luminiscence všude okolo nás, se dá zařadit jako demonstrační, lépe však vynikne, pokud jej žáci mají možnost provádět samostatně.

Pomůcky: bílý oděv, zvýrazňovače, kancelářský a filtrační papír, bankovky, jízdenky, doklady, cukr, prací prášek, fosforeskující hračky a předměty

Chemikálie: nejsou potřeba

Postup:

Pod UV zářivkou zkoumáme, které předměty denní potřeby vykazují luminiscenci, popř. fosforescenci.

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
- bankovky
- osobní doklady
- jízdenky, stravenky atd.
- prací prášek

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. zjas-ňovače, aby „bílá bílá byla“ [zdroj].

Náplně zvýrazňovačů obsahují celou řadu syntetických luminoforů. Jmenujme třeba křiklavě žlutý pyranin, fluorescein, tzv. „acid blue 9“ z řady trifenylnmetha-nových barviv s modrou barvou, jejich kombinací dostaneme barvu křiklavě zele-nou; dále se smícháním xanthenových a kumarinových derivátů vyrábí luminofory oranžového odstínu, růžový zvýrazňovač obsahuje například rhodamin B atd. [Compound Interests]. Nejinak tomu bude v případě samotných plastových obalů zvýrazňovačů nebo malých barevných poznámkových bločků.

foto

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 [PubMed].

foto

5.8 Fotoluminiscence buzená laserovými ukazo-vátkami

Tímto zajímavým experimentem lze rychle, snadno a efektivně zkoumat přítomnost luminiscenčních látek v kapalinách. Pokus se přímo nabízí do laboratorního cvičení, jedinou nevýhodou je potřeba většího množství laserových ukazovátek, které nejsou nejlevnější záležitostí. Navíc ve spojení se školním spektrometrem Vernier Spectro-Vis Plus a volitelným doplňkem Vernier Optical Fibre lze měřit vlnovou délku luminiscence.

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

Chemikálie: roztoky luminoforů (nejsou potřeba)

Časová náročnost: 10 minut

Postup:

Do malých kádinek nalijeme připravené kapaliny a svítíme na ně laserovými uka-zovátka všech tří barev. Pozorujeme, zda dochází ke změně barvy laserového pa-prsku. Porovnáme vedle sebe kádinky se slunečnicovým a olivovým olejem, které prosvítíme naskrz jedním paprskem.

Pokud máme k dispozici spektrometr Vernier a světelné vlákno, připojíme spektrometr k počítači, spustíme program Logger Pro, změníme jednotky na Intenzitu (viz **teoretická část**) a světelné vlákno zasuneme do držáku kyvet. Druhý konec přidržujeme u kádinky kolmo na procházející paprsek tak, aby do vlákna vstupovalo luminiscenční záření roztoku. Sledujeme výsledné spektrum.

Závěr:

Laserový paprsek o určité vlnové délce funguje jako excitační zdroj. Po absorpci záření roztokem dochází v přítomnosti luminoforu k jeho luminiscenci o vyšší vlnové délce, než měl excitační zdroj.

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

foto

Červené zabarvení paprsků v případě olivového oleje je způsobeno přítomností chlorofylů, které luminiskují v červené oblasti viditelného spektra. Slunečnicový olej chlorofyl neobsahuje, z toho důvodu tuto změnu nepozorujeme. Přítomnost vitaminu E však způsobí změnu barvy modrého ukazovátka ve světle modrozelené.

Obdobným způsobem lze zkoumat roztoky syntetických luminoforů i extrakty z přírodních látek. K měření luminiscenčních spekter roztoků však lépe poslouží následující experiment **5.9**.

5.9 Měření fluorescenčních spekter roztoků

Tento experiment je analogií předchozího pokusu **5.8**. Odlišnost spočívá v excitačním zdroji – místo laserových ukazovátek použijeme diody zabudované ve spektrometru SpectroVis Plus, určené k měření luminiscenčních spekter roztoků.

5.9.1 Přírodní fluorescenční barviva

5.9.2 Syntetická fluorescenční barviva

5.10 Fluorescenční stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik

Chinin je přírodní alkaloid nacházející se v kůře stromu chininovníku. 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 pomocí školního spektrometru Vernier SpectroVis Plus. Emisní 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 kalibrační křivky. Pokus je z časových důvodů vhodný pouze do laboratorního cvičení.

Pomůcky: 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), 2×100 ml odměrná baňka se zátkou, 5 ml pipeta, pipetovací balonek, analytické váhy, váženka, špachtle, skleněná nálevka, stříčka, 10×25 ml kádinka (nebo zkumavky se zátkami ve stojánku), 150 ml kádinka, 250 ml kádinka, papírové ubrousky, elektrický vaříč, 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 100 ml 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 H_2SO_4 o koncentraci 0,2 mol/l

Do 100ml odměrné baňky nalejeme asi 50 ml destilované vody a odpipetujeme přesně 1,1 ml 96% H_2SO_4 . Destilovanou vodou ze stříčky doplníme odměrnou baňku po rysku a dobře promícháme.

3) Příprava roztoků kalibrační řady

Nachystáme si devět 25ml kádinek a popíšeme je čísly 1–9. Do každé kádinky odpipetujeme 5,0 ml 0,2M- H_2SO_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 jsme připravili kalibrační řadu roztoků chininu o rostoucí koncentraci 10 mg/l až 50 mg/l.

Tab. 3: Ředění kalibrační řady.

Kádinka	$\frac{c \text{ (chinin)}}{\text{mg/l}}$	$\frac{V \text{ (standard)}}{\text{ml}}$	$\frac{V \text{ (0,2M-}\text{H}_2\text{SO}_4\text{)}}{\text{ml}}$	$\frac{V \text{ (H}_2\text{O)}}{\text{ml}}$
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	-

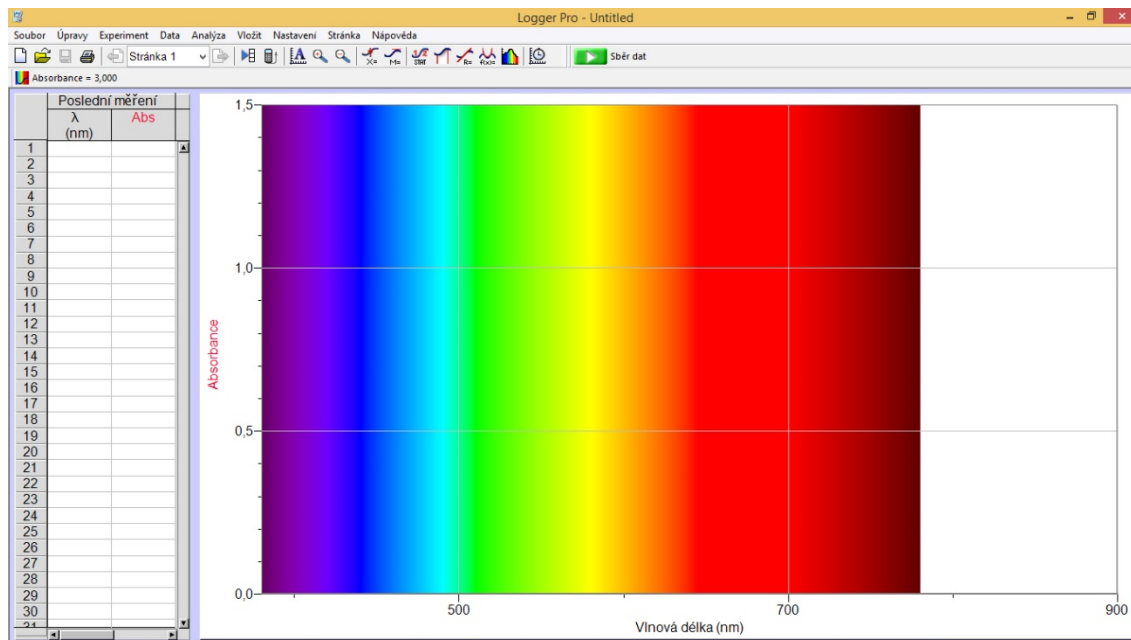
4) Příprava vzorků

Do 150ml kádinky odlejeme cca 50 ml toniku. Pokud je nápoj silně perlivý, umístíme kádinku na elektrický vaříč a chvíli pozvolna zahříváme, abychom vytěsnili z nápoje bublinky oxidu uhličitého. Nevaříme! Po vychladnutí odpipetujeme do 25ml kádinky 5,0 ml vzorku a přidáme 5,0 ml 0,2M- H_2SO_4 . Takto jsme připravili 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. Ve výchozím stavu by prostředí programu mělo vypadat jako na obrázku ?.



Obr. 12: Prostředí programu Logger Pro po připojení spektrometru.

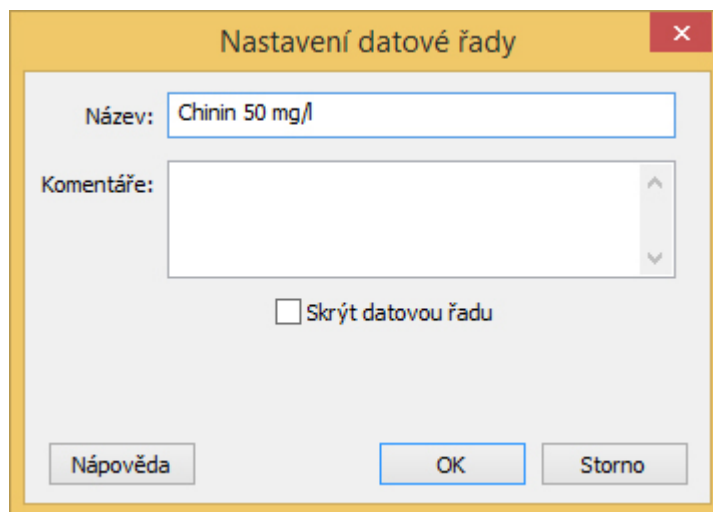
Program automaticky nastavuje režim spektrometru na měření absorbance, což signalizuje popisek u ypsilonové osy. My však v tomto experimentu absorbanci měřit nebudeme, ale přepneme spektrometr do režimu měření fluorescenčních spekter. V hlavní nabídce klikneme na položku Experiment ► Změnit jednotky ► Spectrometer: 1 ► Fluorescence 405 nm. U ypsilonové osy se poté objeví nápis Fluorescence 405 nm (Rel). Následně ještě upravíme parametry měření: klikneme na tlačítko  vlevo pod nástrojovou lištou (nebo 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. ?, a okno křížkem zavřeme.



Obr. 13: Nastavení parametrů spektrometru pro měření.

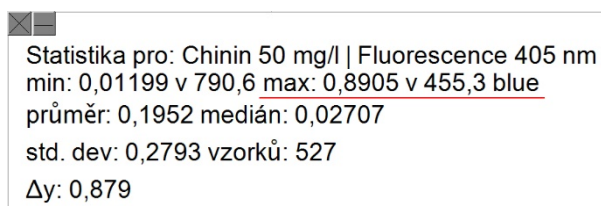
Následně nalijeme do kyvety asi 2,5 ml standardu z kádinky č. 9 o nejvyšší koncentraci chininu 50 mg/l, kyvetu umístíme do spektrometru, zakryjeme jej krabicí¹ a zahájíme měření stiskem zeleného tlačítka  Sběr dat. Jakmile se nám zobrazí emisní spektrum chininu, měření ukončíme červeným tlačítkem  Zastavit. Nalevo v tabulce s daty poklepeme na název datové řady (konkrétně na Poslední měření; taktéž Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném okně (viz obr. ) přepíšeme položku Název např. na Chinin 50 mg/l, poté klikneme na OK.

¹ Pokud do kyvety necháme pronikat okolní světlo, např. ze stropních zářivek, dojde ke zkreslení naměřeného spektra.



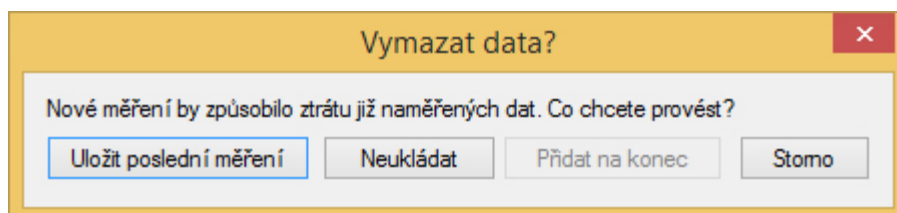
Obr. 14: Změna názvu datové řady.

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



Obr. 15: Údaje v tabulce Statistika s vyznačeným fluorescenčním maximem.

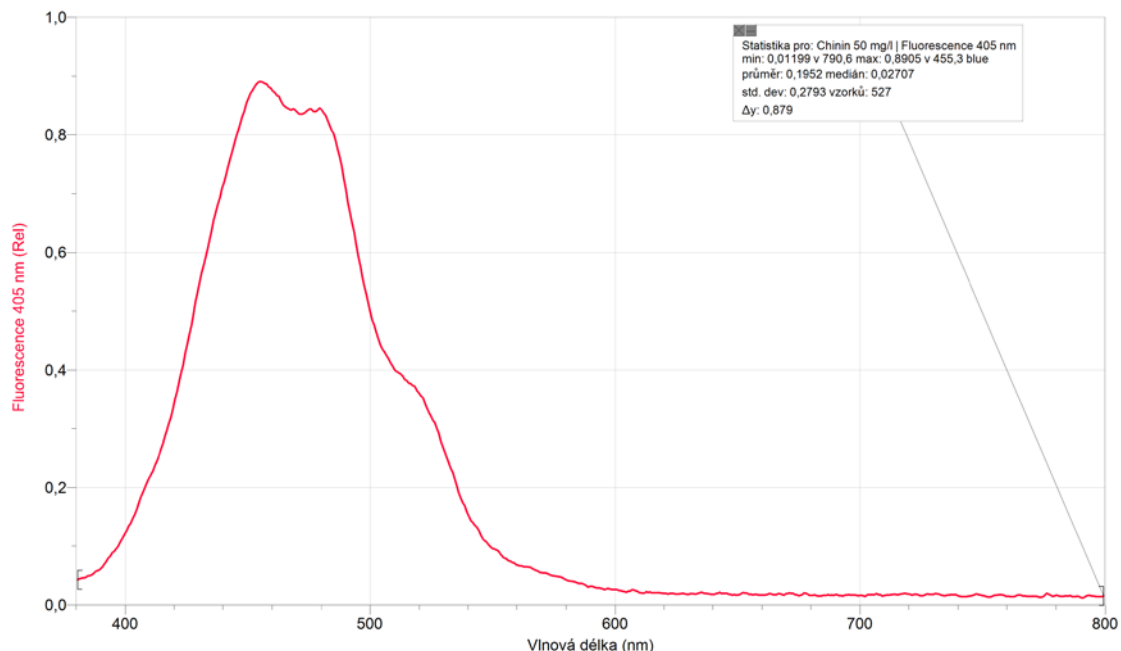
Maximum by se mělo pohybovat kolem vlnové délky 455 nm s intenzitou okolo 0,9 Rel. Pokud je intenzita fluorescence nižší, popř. vyšší, otevřeme okno s parametry měření a prodloužíme, popř. zkrátíme vzorkovací čas tak, aby se maximální intenzita píku přiblížila hodnotě 0,9 relativních jednotek. Po úpravě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



Obr. 16: Dialog tážající se na vymazání naměřených dat.

Jakmile se pohybuje maximum píku kolem hodnoty 0,9 relativních jednotek, můžeme přistoupit k dalšímu kroku měření. Naměřené spektrum ještě před tím

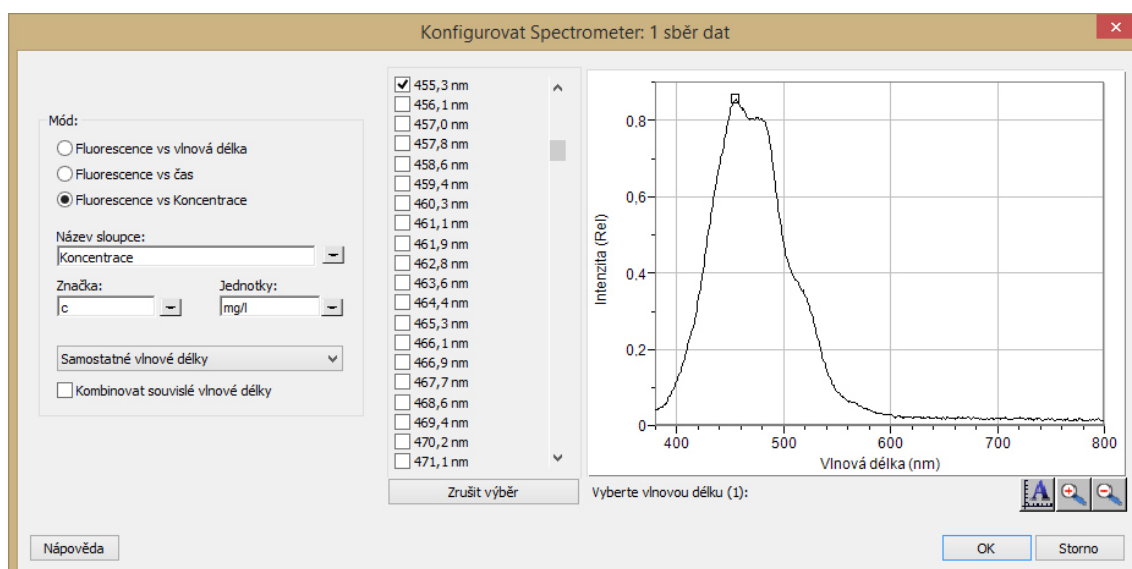
uložíme: Soubor ► Uložit jako, soubor pojmenujeme a nabídnutý formát necháme na výchozím nastavení *.cmbl. Pro následné použití naměřených dat v programu MS Office Excel zvolíme Soubor ► Exportovat jako ► CSV... a soubor opět libovolně pojmenujeme a uložíme. Výsledek měření by se měl podobat spektru na obrázku ?.



Obr. 17: Emisní spektrum standardu chininu o koncentraci 50 mg/l (vzorkovací čas 270 ms).

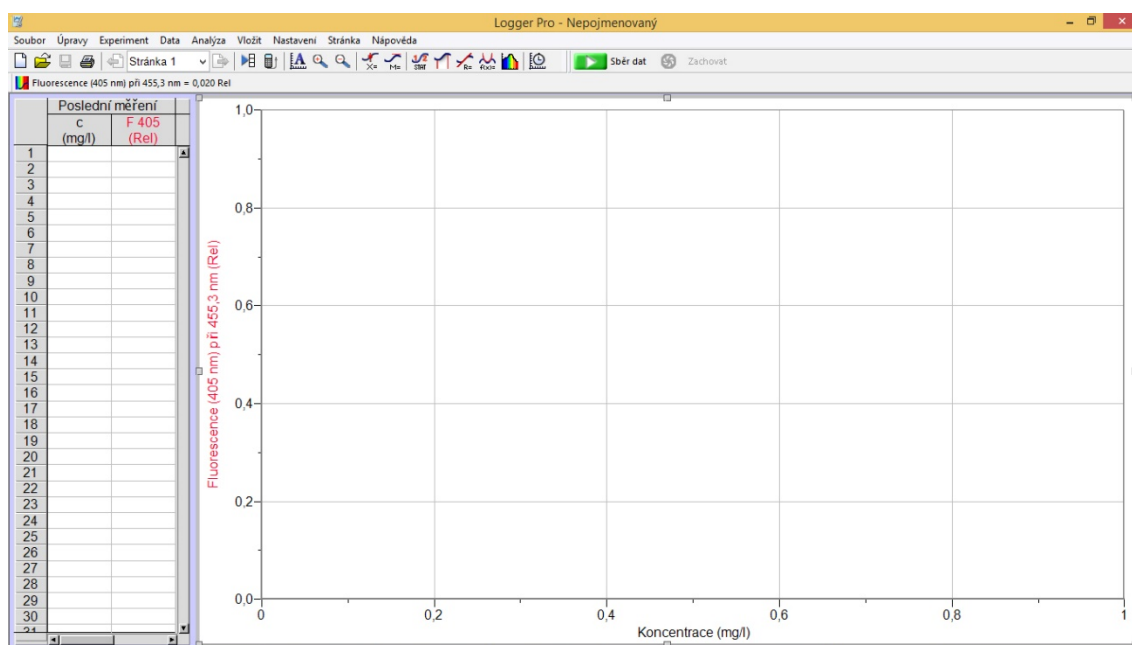
6) Proměření kalibrační řady

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. ?).



Obr. 18: Nastavení módu měření pro kalibrační řadu.

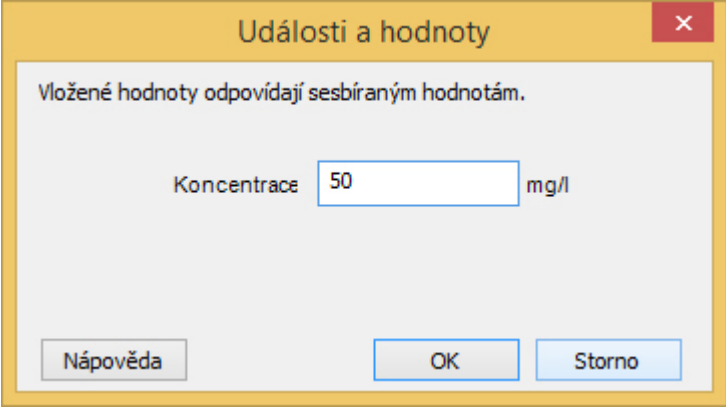
Zkontrolujeme, jestli je zatrhnuto políčko u správné vlnové délky (popř. provedeme korekci, lze vybrat i více vlnových délek), a klikneme na tlačítko OK. Program se dotáže na uložení posledního měření – klikneme na Ne. Následně se změní prostředí programu, což znázorňuje obrázek ?. Pokud zůstane v oblasti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



Obr. 19: Prostředí programu po změně měřicího módu.

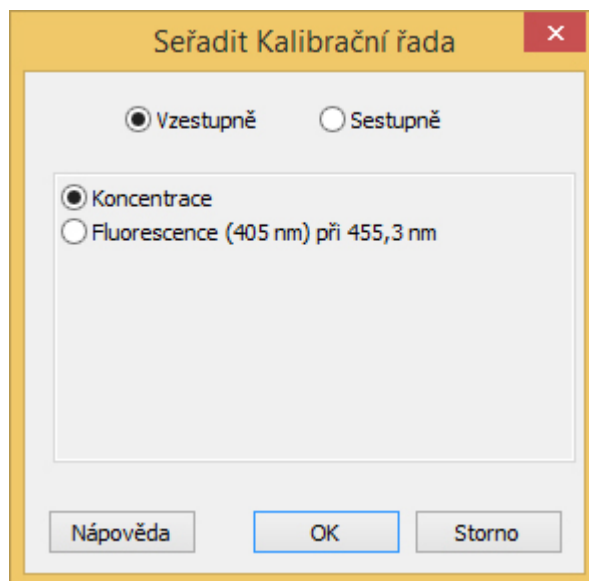
Nyní nalevo v datové tabulce poklepeme na název datové řady (konkrétně na Poslední měření; také Experiment ► Nastavení měření ► Poslední měření) a v zobrazeném okně změníme Název na Kalibrační řada; potvrdíme tlačítkem OK.

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 a do zobrazeného okna vepíšeme aktuální koncentraci chininu (tedy 50 mg/l), poté klikneme na OK, viz obrázek . 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.



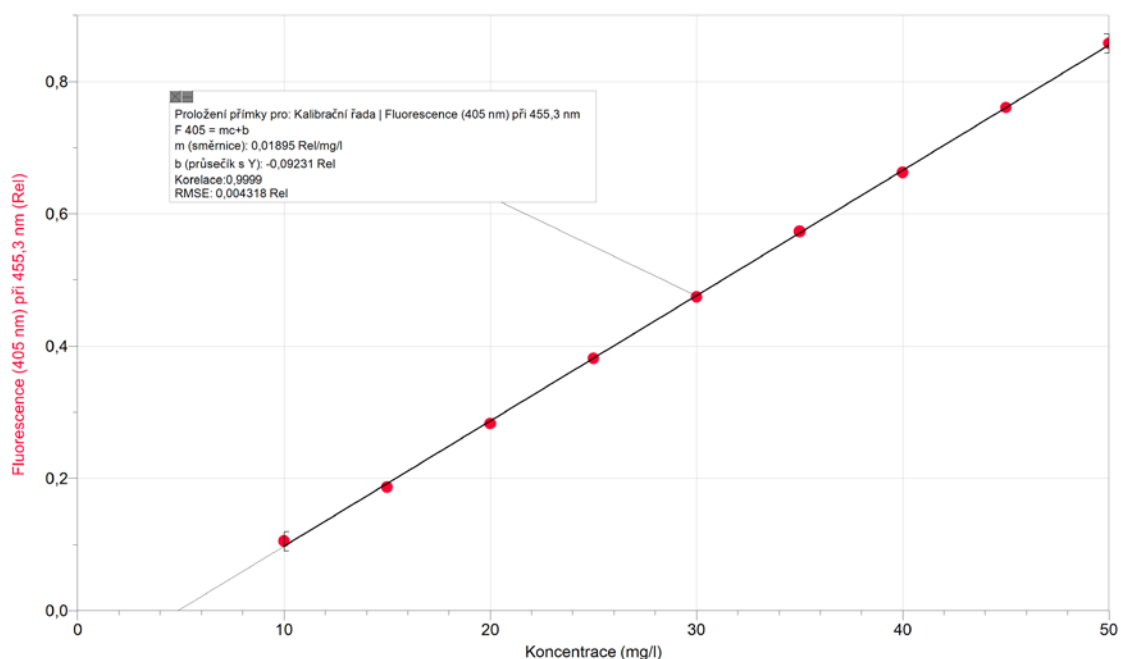
Obr. 20: Zadání aktuální koncentrace měřeného vzorku po stisknutí tlačítka Zachovat.

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. .



Obr. 21: 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 přímky i hodnotu spolehlivosti (korelace). Kalibrační křivka je znázorněna na obrázku ?.

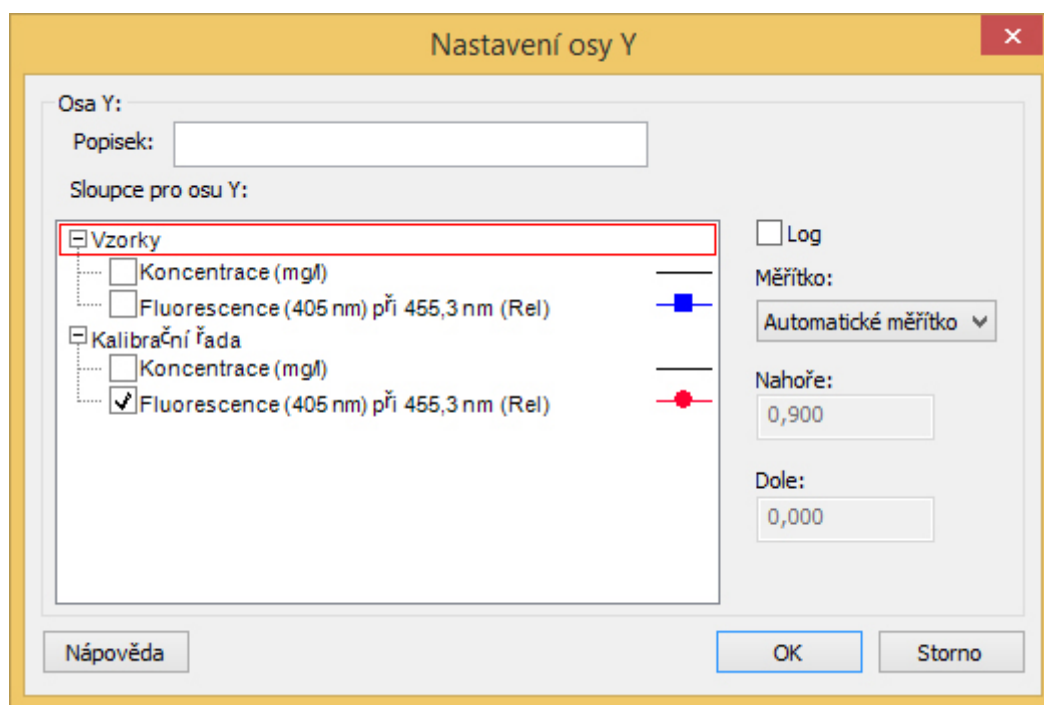


Obr. 22: Naměřená kalibrační křivka chininu.

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). Vrátime 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) a v zobrazeném okně přepíšeme položku Název na Vzorky; klikneme na OK. V grafu klepneme na název ypsilonové souřadnice, zvolíme Další... a v zobrazeném okně zatrhneme políčko Fluorescence (405 nm) při 455,3 nm² (Rel) pouze u Kalibrační řady, viz obr. 22. Po kliknutí na tlačítko OK body naměřených vzorků z grafu zmizí, čehož jsme chtěli docílit. Tímto posledním krokem jsme dokončili celé měření, spektrometr můžeme od PC odpojit.



Obr. 23: Nastavení zobrazení ypsilonové osy.

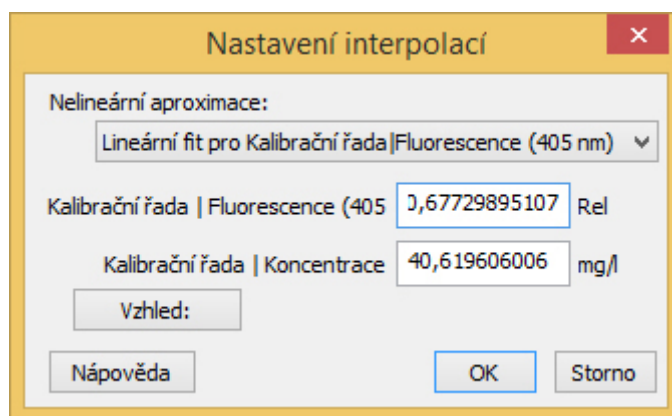
8) Zpracování výsledků

Normálně bychom na tomto místě už jen vyexportovali naměřená data pro tabulkový editor, např. MS Office Excel, a dál již pokračovali analýzou a výpočtem

² Vlnová délka se může lišit podle nastavených parametrů měření.

výsledků. Protože však program Logger Pro disponuje poměrně slušnými analytickými nástroji, lze výslednou koncentraci vzorků zjistit velmi rychle a jednoduše přímo v něm ihned po dokončení měření.

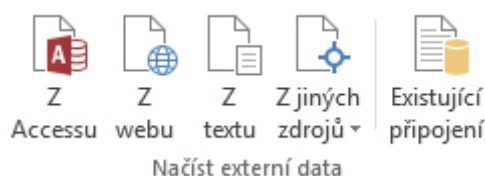
Nalevo v tabulce s daty klikneme pravým tlačítkem do políčka s naměřenou intenzitou fluorescence u prvního vzorku toniku a zvolíme Kopírovat (Ctrl + C). Následně vybereme v hlavní nabídce položku Analýza ► Interpolace (tato možnost je v nabídce dvakrát, vybereme spodní pod položkou Model...), v zobrazeném okně klepneme do horního prázdného políčka pravým tlačítkem a zvolíme Vložit (Ctrl + V). Ihned po vložení se do spodního políčka automaticky dopočítá koncentrace, viz obr. 24. Klepneme na OK a do grafu se zanese vypočítaná koncentrace aktuálního vzorku ve formě tabulky na kalibrační přímce. Poněvadž vzorky jsme ředili v poměru 1 : 1, je vypočítaná koncentrace právě poloviční.



Obr. 24: Automatický výpočet koncentrace vzorku nástrojem Interpolace.

Stejným postupem dopočítáme koncentrace všech měřených vzorků. Poté si celé měření uložíme: Soubor ► Uložit jako..., pojmenujeme a necháme výchozí nabídnutý formát *.cmbl. Nakonec ještě provedeme export pro tabulkový editor: Soubor ► Exportovat jako ► CSV..., pojmenujeme a uložíme.

Další práce s naměřenými daty bude popsána pro program MS Office Excel 2013. Protože není možné vyexportované soubory ve formátu *.csv rovnou otevřít a upravovat, je potřeba je do tabulkového editoru nejprve naimportovat (otevřít je lze, došlo by však k nesprávnému formátování dat vlivem odlišného kódování). Otevřeme 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. 25). 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 OK. Tímto krokem je import dat dokončen.



Obr. 25: Nástroje pro import dat v programu MS Office Excel 2013.

S naimportovanými daty již pracujeme dle vlastního uvážení, vytvoříme pomocí nástroje Grafy 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 budou uvedeny níže.

Na tomto místě je nutné podotknout, že grafy lze z programu Logger Pro přímo kopírovat a vkládat v dobré tiskové kvalitě do textového editoru. Např. u naměřeného spektra tak stačí kliknout pravým tlačítkem do oblasti grafu a zvolit možnost kopírovat (Ctrl + C), poté se přesunout do otevřeného dokumentu a příslušnou položku vložit. Pokud nechceme, aby bylo v pozadí spektra zobrazeno barevně viditelné spektrum, stačí přes pravé tlačítko přejít do nastavení grafu a odškrtnout možnost Zobrazit viditelné spektrum (grafy s vlnovou délkou). Výsledek je zobrazen výše na obr. ?.

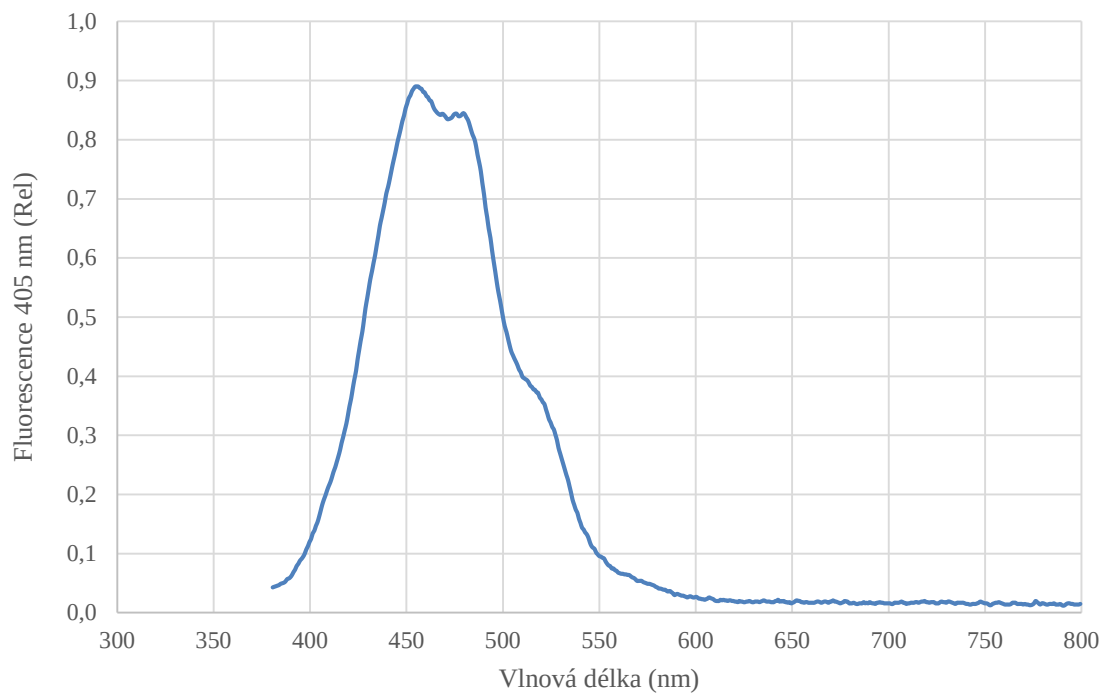
Výsledky měření:

Množství chininu v toniku jsem měřil 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. ?.

foto

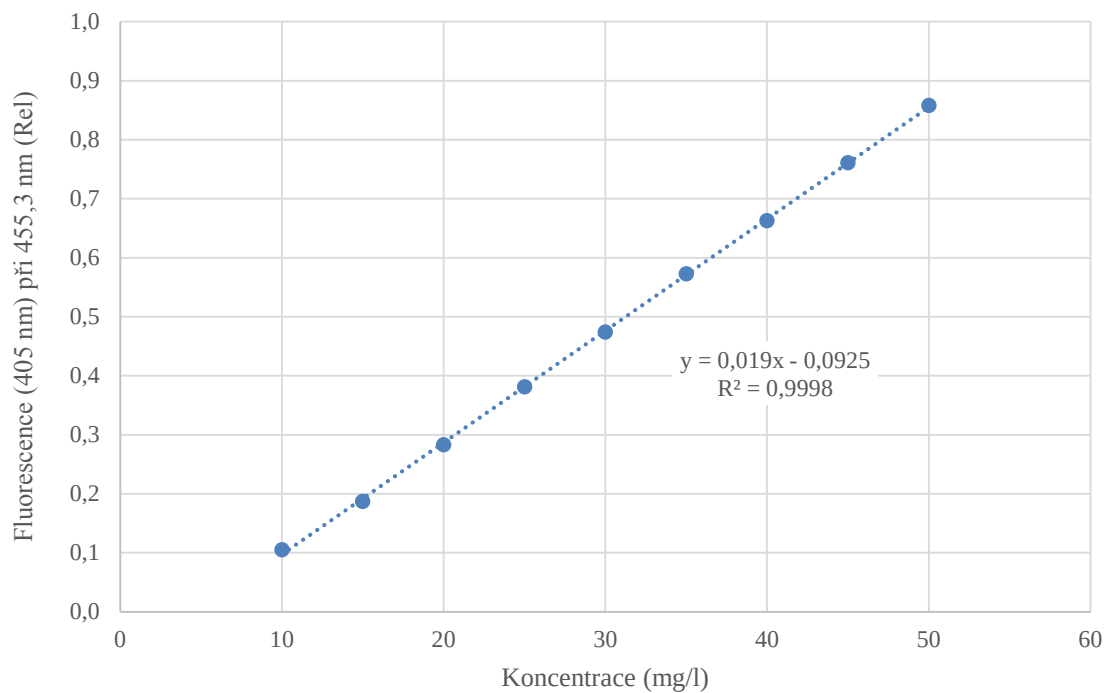
Obr. 26: Měřené nápoje tonik.

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. ?. Naměřená data jsem poté naimportoval do programu Excel, aby bylo možné spektrum vytvořit i běžným postupem – nástrojem Grafy. Výsledek je na obrázku ?. Tímto způsobem by měli postupovat i žáci při zpracování protokolu, aby se naučili v programu efektivně pracovat a vytvářet nej-různější podoby grafů.



Obr. 27: Spektrum standardního roztoku chininu o koncentraci 50 mg/l.

Po změření kalibrační řady jsem proměřil připravené vzorky zředěné v poměru 1 : 1. Výsledná kalibrační přímka z programu Logger Pro je zobrazena výše na obr. ?. Kalibrační přímka vytvořená v programu Excel spolu s rovnicí přímky je na obr. ?.



Obr. 28: Kalibrační křivka pro stanovení koncentrace chininu v nápojích tonik.

Rovnici přímky z grafu si přepíšeme na tvar

$$F = 0,019c - 0,0925, \quad (1)$$

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

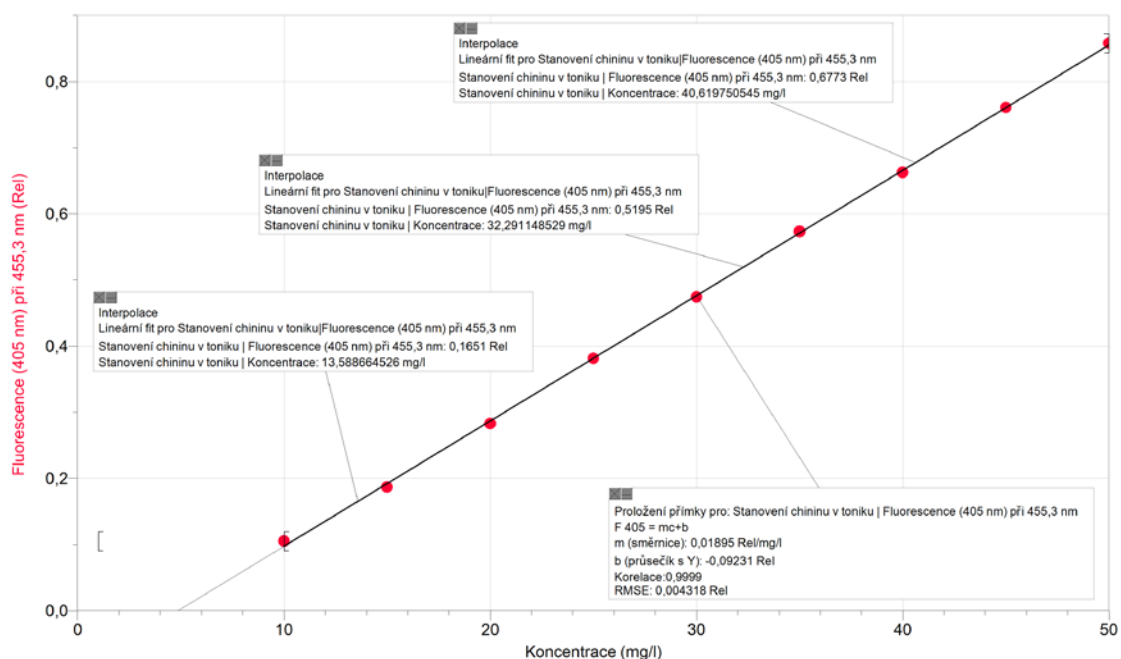
$$c = \frac{F + 0,0925}{0,019}. \quad (2)$$

Podle vztahu ? jsem vypočítal koncentrace měřených vzorků, které byly zředěny v poměru 1 : 1. Skutečná koncentrace chininu v nápoji byla tedy dvojnásobná. Výsledky výpočtů shrnuje tabulka ?.

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 ?. 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 ?.



Obr. 29: 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 přídavkem chininu. Najdou se však i limonády, které chinin neobsahují, 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, uvedený na etiketě výrobku. Je potřeba si uvědomit, že přesnost naměřených výsledků závisí hlavně na přesnosti pipetování. Proto vypočtené výsledky zaokrouhlujeme na celá čísla.

6. Pokusy z chemiluminiscence

6.1 Chemiluminiscence luminolu

Pomůcky: 2× 600ml kádinka, 1000ml kádinka, 2× skleněná tyčinka, pipeta, pipetovací balonek, váhy, lihový fix (volitelné: spirálový chladič, stojan, svorka a držák, skleněná nálevka)

Chemikálie: luminol, NaOH, $K_3[Fe(CN)_6]$, 30% H_2O_2 , destilovaná voda

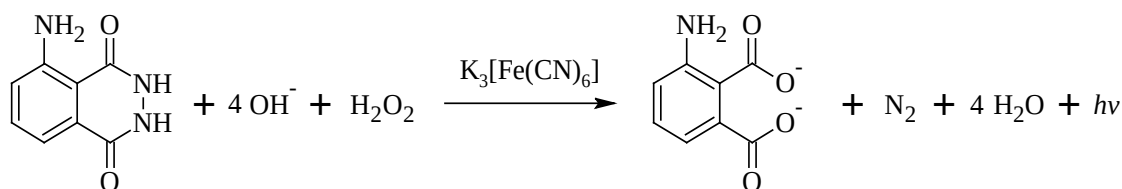
❗ Poznámka:

Spirálový chladič není k provedení pokusu nutný. Reakci lze uskutečnit pouze ve velké, alespoň litrové kádince, do které slijeme oba 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 0,2 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 500 ml a dobře promícháme. Takto máme připraveny reakční roztoky.

V zatemněné místnosti oba roztoky slejeme do prostorné, alespoň litrové kádinky a pozorujeme chemiluminiscenci. Pro větší efektivnost pokusu si připravíme spirálový chladič uchycený ke stojanu, pod jehož ústí umístíme kádinku nebo baňku. Nahoru do chladiče vložíme skleněnou nálevku. Po zatemnění oba roztoky sléváme do nálevky v poměru 1 : 1. Smísením roztoků dochází k chemické reakci mezi luminolem a peroxidem vodíku (viz obr. ?), což se projeví chemiluminiscencí protékajícího roztoku.



Obr. 30: Reakční schéma chemiluminiscence luminolu.

Jinou variantou pokusu, kterou lze nalézt v literatuře [?] 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 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ a 0,4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. 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.

Obdobně je uvedena taktéž varianta o celkovém objemu 1000 ml roztoku A i B s použitím stejných chemikálií v mírně odlišném poměru. Jako nejlepší katalyzátor reakcí s luminolem jsou uvedeny kobaltnaté ionty.

Závěr:

Obr. 31: Připravená aparatura.

Obr. 32: Chemiluminiscence luminolu.

Odkaz na videa: https://youtu.be/Y_3Gc3frq6Y
<https://youtu.be/IOMU3R0JiBk>
<https://youtu.be/kMIZzOwIOvM>
<https://youtu.be/Ul0DGyya2xA>

6.1.1 Barevná chemiluminiscence luminolu

Tento experiment je modifikací předchozího popsaného pokusu a liší se pouze přidavkem dalšího luminiscenčního barviva do roztoku luminolu.

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

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

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. Tuto připravenou sadu roztoků rozlejeme po 100 ml do 150 ml kádinek, které taktéž popíšeme písmeny A a B. Barvu reakce lze v určité míře ovlivnit přidavkem fluoresceinu pro žlutozelenou, rhodaminu B pro fialovou a eosinu Y pro oranžovou barvu. Malé množství barviva, asi třetinu chemické lžičky, přidáme do kádinky A k alkalickému roztoku luminolu. Před slíváním roztoků je dobře promícháme.

Připravíme si spirálový chladič uchycený ke stojanu, pod jehož ústí umístíme 500ml baňku. Nahoru do chladiče vložíme skleněnou nálevku. Po zatemnění oba roztoky sléváme do nálevky v poměru 1 : 1. Smísením roztoků dochází k chemické reakci mezi luminolem a peroxidem vodíku, což se projeví chemiluminiscencí protékajícího roztoku. Přidané luminiscenční barvivo mění barvu vyzařovaného světla. Reakční schéma je uvedeno výše na obr. ?.

❶ Poznámka:

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

Závěr:

Obr. 33: Připravená aparatura.

Obr. 34: Chemiluminiscence luminolu.

6.2 Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku

Singletový kyslík 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, KMnO_4 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, MnO_2), 30% H_2O_2

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% H_2O_2 dáme kádinku do lednice nebo mrazáku vychladit do druhého dne, kdy budeme provádět experiment.

V digestoři sestavíme aparaturu na vyvíjení chloru podle obr. 35. Do frakční baňky, uchycené ke stojanu, nasypeme alespoň 5 vrchovatých lžiček 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.

foto

Obr. 35: 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.

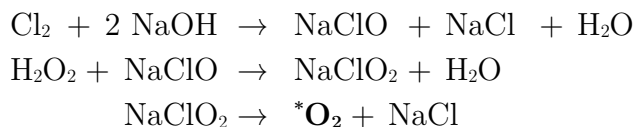
❗ Poznámka:

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.

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. 36. Během reakce dochází k pění a silnému zahřívání směsi, 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.

foto

Obr. 36: Chemiluminiscence singletového stavu kyslíku.

Odkaz na video: https://youtu.be/-etZe6_wcyc

6.3 Chemiluminiscence směsi formaldehydu a pyrogallolu

Poměrně nebezpečná reakce – reakční směs znenadání prudce vzkypí, nutno provádět ve velmi prostorné nádobě v digestoři.

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

Postup – varianta A:

Do dvou 50ml kádinek nalejeme 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% H_2O_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 K_2CO_3 a poté 4 g pyrogallolu. Směs v nádobě mícháme alespoň 5 minut, pozorujeme postupné tmavnutí a vznik sraženiny. Část směsi odlejeme do zkumavky na výšku asi 1 cm. Poté nádobu umístíme do digestoře, podložíme filtračním papírem, zatemníme a přilijeme maximálně 15 ml 30% H_2O_2 . Stejný pokus provedeme i ve zkumavce – přidáme do ní pipetou asi 0,5 ml 30% H_2O_2 .

Závěr:

Varianta A má mírnější průběh reakce, avšak chemiluminiscence je viditelná pouze v dobře zatemněné místnosti, 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, nicméně hrozí 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. ?). 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, která trvá přibližně jednu až pět sekund ihned po přidavku peroxidu vodíku. Reakce produkuje také velké množství tepla – jedná se tedy o exotermickou reakci, během níž směs vzkypí a značně pění. Proto 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/qMLNJwxdXW4>

6.4 Luminiscence při krystalizaci

Tento zvláštní typ luminiscence je pozorovatelný v dobře zatemněné místnosti během krystalování roztoku.

Pomůcky: 1000ml kádinka, skleněná tyčinka, elektrický vaříč

Chemikálie: Na₂SO₄, K₂SO₄, destilovaná voda

Postup:

Do litrové kádinky nalejeme asi 300 ml destilované vody a dáme ji vařit na elektrický vaříč. Než se voda ohřeje, navážíme si 100 g K₂SO₄ a 40,8 g Na₂SO₄ (ekvimolární množství), které v kádince na vaříči 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 vařícího roztoku začnou zpět 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 1 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 po umístění kádinky na vaříč.

Závěr:

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



foto

Odkaz na video: https://youtu.be/j_vdWiDv1Pc

6.5 Fosforescence bílého fosforu

Bílý fosfor je nutno uchovávat pod vodou. Nikdy jej nebereme do rukou – způsobuje popáleniny a navíc je prudce jedovatý! Všechny manipulace s ním provádíme pod vodou včetně jeho 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 spálíme 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. HNO_3

Postup:

Ze zásobní lahve vytáhneme větší kousek bílého fosforu a ihned jej přeneseme do porcelánové misky s destilovanou vodou, kde pomocí nože uřezeme malý kousek velikosti hrachu. Tento kousek rozpustíme asi ve 4 ml sirouhlíku, který odlejeme do kádinky. Nad železnou miskou roztokem polijeme kousek filtračního papíru, 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 nalejeme 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, poté se filtrační papír náhle vznítí.

foto

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

7. Pokusy z mechanoluminiscence

7.1 Drcení krystalového cukru

Tento typ luminiscence je vyvolán mechanickým působením – třením a drcením krystalů. Nazývá se triboluminiscence.

Pomůcky: 2× skleněná tabulka, cukr krystal

Postup:

V místnosti, kde je možné dostatečně dobře zatemnit, nasypeme do středu podložní skleněné tabulky lžičku krystalového cukru. Druhou tabulku položíme na nasypanou hromádku, zatemníme a vyčkáme nejméně 5 minut, až si oči dostatečně 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:

Během drcení krystalků cukru lze pozorovat slabou modrou luminiscenci. Je důležité mít oči přizpůsobené úplné tmě, jinak luminiscenci nepostřehneme. Tento pokus je velmi jednoduchý a lze jej provést jako domácí – všechny potřebné pomůcky lze najít v každé běžné domácnosti.

foto