

»Mladi za napredek Maribora 2017«

34. srečanje

**UPORABA HIDROKINONSKIH NANODELCEV PRI
RAZVOJU FLUORESCENTNEGA NANOSENZORJA ZA
DETEKCIJO NIZKIH KONCENTRACIJ Pb²⁺ IONOV**

Kemija in kemijska tehnologija

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO

Avtor: NIKA ŽURGA, EVA KERČMAR

Mentor: ZDENKA KEUC

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

2017, Maribor

»Mladi za napredek Maribora 2017«

34. srečanje

**UPORABA HIDROKINONSKIH NANODELCEV PRI
RAZVOJU FLUORESCENTNEGA NANOSENZORJA ZA
DETEKCIJO NIZKIH KONCENTRACIJ Pb²⁺ IONOV**

Kemija in kemijska tehnologija

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO

2017, Maribor

POVZETEK

Namen najine raziskovalne naloge je bil preučiti, ali so nanodelci, sintetizirani iz difenolnih spojin primeren indikatorski sistem za merjenje koncentracije svinčevih (Pb^{2+}) ionov v vodnih raztopinah. Zanimala naju je učinkovitost sinteze nanodelcev s pomočjo mikrovalovne pečice ter vpliv različnih pogojev na uspešnost sinteze (razmerja reaktantov, čas in moč segrevanja, vrsta organskega prekursorja, vpliv tiouree), z namenom, da bi v prihodnje razvili nano senzor za detekcijo ionov težkih kovin v nizkih koncentracijah. Rezultati so pokazali, da so fluorescentni hidrokinaonski nanodelci obetaven senzorski sistem, ki ga je potrebno še optimizirati in preveriti njegovo okoljsko sprejemljivost.

Število besed: 93

Ključne besede: ogljikovi nanodelci, indikatorski sistem, Pb^{2+} ioni

Uporabljene okrajšave:

ND - nanodelci

NMR - nuklearna magnetna resonanca

CNT – *carbon nanotubes*; ogljikove nanocevke

ONP – ogljikove nano pike

Zahvala

Iskreno se zahvaljujema najini mentorici za strokovno vodenje in vso pomoč pri izdelavi raziskovalne naloge ter pri pridobivanju literature. Predvsem pa se zahvaljujema za njeno usmerjanje k izpolnitvi zastavljenih ciljev in vztrajanju na tej poti. Obe sva se pri tem veliko naučili, pridobljeno znanje pa bova s pridom uporabljali tudi v prihodnje.

VSEBINA

Povzetek	3
1 UVOD	8
1.1 Raziskovalno vprašanje	9
1.2 Hipoteze in njihova razlaga	9
2 PREGLED LITERATURE	12
2.1 Vrste nanodelcev	12
2.2 Sinteza ogljikovih nanodelcev	12
2.2.1 Sinteza ogljikovih nano pik	14
2.3 Karakterizacija nanodelcev	16
2.3.1 TEM – transmissijska elektronska mikroskopija in (SEM) – vrstična elektronska mikroskopija	17
2.3.2 XRD (X-Ray Diffraction) ali metoda odklona X žarkov	18
2.3.3 UV-VIS analiza	18
2.4 Merjenje fluorescence	18
2.5 Ogljikove nano pike kot senzorski sistemi	19
3 OKOLJSKE IN ZDRAVSTVENE TEŽAVE S SVINČEVIMI IONI	21
4 PRAKTIČNI DEL	24
4.1 Materiali in pripomočki	25
4.2 Karbonizacije hidrokinona	25
4.2.1 Sinteza ONP s hidrokinonom in tioureo	28
4.3 Sinteza ONP z resorcinolom	33
4.3.1 Sinteza ONP z resorcinolom in tioureo	35
4.4 Sinteza ogljikovih nano pik iz hidrokinona (2. poskus)	35
4.5 Priprava umeritvenih premic	37
4.5.2 Umeritvena premica s fluorescinom	38
4.6 Priprava modelnih raztopin Pb^{2+} ionov	40
4.7 Detekcija Pb^{2+} ionov z uporabo raztopine fluorescentnih hidrokinonskih nanodelcev	40
4.8 Testiranje zanesljivosti meritev	43
5 RAZPRAVA Z ZAKLJUČKI	45
6 DRUŽBENA ODGOVORNOST	49
7 ZAKLJUČEK	50
8 VIRI IN LITERATURA	51
8.1 Spletni viri	52

8.2 Viri slik.....	54
8.3 Viri preglednic.....	55
Priloga 1 – Ocena napak meritev	56
Priloga 2 - Umeritvena premica z rodaminom B.....	57

Kazalo slik

Slika 1: Vstop nanodelcev v celico (Wiley Online Library, 1999-2017).....	11
Slika 2: Sinteza ogljikovih kvantnih pik z bottom-up in top-down metodologijami (Marin, 2016).....	14
Slika 3: Shematski prikaz funkcionalizacije ogljikovih nanopik (Royal Society of Chemistry, 2013)	15
Slika 4: Shematski prikaz priprave ogljikovih nanopik preko pirolize organskega prekursorja v nanoreaktorju (Royal Society of Chemistry, 2012).....	15
Slika 5: Shematski prikaz detekcije fosfatov (PI) s fluorescenčnim detektorjem, ki ima vgrajene Eu^{3+} ione (Zhai et al., 2012)	20
Slika 6: A) Ogljikovi nanodelci na dnevni svetlobi (levo zgoraj) in pod UV lučjo (desno zgoraj) B) UV-VIS spekter nano delcev C) povezava med velikostjo delcev in njihovo fotoluminiscentno aktivnostjo (Wang, 2014).....	20
Slika 7: Strukturni formuli resorcinola in hidrokinona (Patent Images, 2006)	24
Slika 8: Vzorci produktov hidrokinona po karbonizaciji in dodatku etanola (vir: lasten)	27
Slika 9: Fluorescenca vzorcev s hidrokinonom (vir: lasten)	27
Slika 10: FT-IR spektra za čisti hidrokinon (črno) in vzorec. št 2 (rdeče) (vir: lasten).....	28
Slika 11. Vzorci s hidrokinonom in tioureo (vir: lasten).....	29
Slika 12: Spremembe barv vzorca št. 8 (vir: lasten).....	30
Slika 13: FT-IR spekter oborine vzorca št. 5 (vir: lasten)	31
Slika 14: Nastanek rdečega kompleksa pri reakciji fenola z anhidridom ftalne kisline (Practical Organic Chemistry, 2016)	32
Slika 15: Sinteza benzokinona iz hidrokinona (Practical Organic Chemistry, 2016)	32
Slika 16: Strukturna formula indofenola (Practical Organic Chemistry, 2016)	33
Slika 17: Vzorci z resorcinolom (vir: lasten)	34
Slika 18: FT-IR spektra čistega resorcinola (črno) in vzorca št. 2 (rdeče) (vir: lasten)	34
Slika 19: Vzorec a in njegova fluorescenca (vir: lasten).....	37
Slika 20: Strukturna formula fluorescina (la croix, 2010).....	38
Slika 21: (Levo) fluorescenca hidrokinonskih nanodelcev pri vzbujanju z 405 nm; (desno) uv absorpcijski spekter hidrokinonskih nanodelcev (vir: lasten)	43
Slika 22: Spektrofotometer PF-11 (vir: lasten)	44
Slika 23: Strukturna formula rodamina B (Rhodamine,2016)	57

Kazalo preglednic

Preglednica 1: Prednosti in slabosti metod, s katerimi opišemo nanodelce (Monteiro-Riviere, 2007).	16
Preglednica 2: Količine reagentov v vzorcih s hidrokinonom, moč in čas segrevanja (vir: lasten)	26
Preglednica 3: Fluorescenca vzorcev s hidrokinonom (vir: lasten)	27
Preglednica 4: Količine reagentov v vzorcih s hidrokinonom in tioureo ter čas segrevanja (vir: lasten)	28
Preglednica 5: Absorbanca vzorcev s hidrokinonom in tioureo pri 394,6 nm (vir: lasten)	31
Preglednica 6: Količine reagentov v vzorcih z resorcinolom, moč in čas segrevanja (vir: lasten)	33
Preglednica 7: Fluorescenca vzorcev z resorcinolom (vir: lasten)	34
Preglednica 8: Količine reagentov v vzorcih z resorcinolom in tioureo ter čas segrevanja (vir: lasten)	35
Preglednica 9: Količine reagentov v vzorcih s hidrokinonom ter čas segrevanja (vir: lasten)	36
Preglednica 10: Fluorescenca raztopin z različnimi koncentracijami fluorescina (vir: lasten)	38
Preglednica 11: Fluorescenca vzorcev z različnimi koncentracijami Pb^{2+} ionov (vir: lasten)	41
Preglednica 12: Izračunane koncentracije nanodelcev v vzorcih in dušenje fluorescence (vir: lasten)	42
Preglednica 13: Testiranje zanesljivosti meritev (vir: lasten)	44
Preglednica 14: Izračunane koncentracije Pb^{2+} ionov glede na umeritveno premico (vir: lasten)	56
Preglednica 15: Merske napake pri vzorcih z različnimi koncentracijami Pb^{2+} ionov (vir: lasten)	56
Preglednica 16: Izračunane koncentracije Pb^{2+} ionov v raztopinah z upoštevanjem merske napake (vir: lasten)	57
Preglednica 17: Fluorescenca raztopin z različnimi koncentracijami rodamina B (vir: lasten)	58

Kazalo grafov

Graf 1: Absorbanca vzorcev s hidrokinonom in tioureo v VIS spektru (vir: lasten)	30
Graf 2: Fluorescenca vzorca A 24 ur po sintezi (vir: lasten)	37
Graf 3: Fluorescenca standardnih raztopin fluorescina v celotnem barvnem spektru (vir: lasten)	39
Graf 4: Umeritvena premica s fluorescinom (vir: lasten)	39
Graf 5: Dušenje fluorescence hidrokinonskih nanodelcev z različnimi koncentracijami Pb^{2+} ionov (vir: lasten)	41
Graf 6: Fluorescenca vzorcev pri 511,7 nm v odvisnosti od koncentracije Pb^{2+} ionov (vir: lasten)	42
Graf 7: Umeritvena premica za določitev koncentracije svinčevih ionov na osnovi znižanja fluorescence (vir: lasten)	43
Graf 8: Fluorescenca standardnih raztopin rodamina B v vis spektru (vir: lasten)	58
Graf 9: Umeritvena premica z rodaminom B (vir: lasten)	59

Kazalo organigramov

Organigram 1: Načrt prvega dela sinteze (vir: lasten)	24
---	----

1 UVOD

Nanomateriali so zelo širok pojem, ki po definiciji Evropske komisije pomenijo »inženirsko proizvedene delce, v obliki posameznih delcev, agregatov ali aglomeratov, kjer ima vsaj 50 % delcev eno dimenzijo v velikostnem rangju 1-100 nm« (Jemec in Drobne, 2016). Pojma »nanomateriali in nanodelci« se pogosto uporabljata kot sinonima, čeprav so dejansko nanodelci le eni izmed vrste tipov nanomaterialov.

»Nano« je nevidni sestavni del našega okolja. Na eni strani gre za delce, ki se naravno pojavljajo npr. v zunanjem zraku (prav tako v notranjem) ali pa so posledica antropogenih dejavnosti, saj gre za načrtno proizvedene materiale oziroma nanostrukture (nanotehnologijo). Komercialno dostopni industrijski nanodelci (ND), s katerimi lahko ljudje pridemo v stik, se večinoma uporabljajo v predelavi hrane, kozmetiki in tekstilu (npr. TiO_2 , Ag , ZnO , SiO_2). Danes so v uporabi tudi že številne biomedicinske formulacije nanodelcev, ki se uporablja za dostavo učinkovin (npr. liposomi) ali kot kontrastna sredstva za nuklearno magnetno resonanco (NMR) (Pavlin, 2016). Vsak dan je vse več tudi novih materialov, ki nastanejo z uporabo nanotehnologije in vsebujejo nanodelce, ker ti izboljšujejo njihove lastnosti (Golja et al., 2016). Najdemo jih v izdelkih za otroke, živilih in materialih v stiku z živili, izdelkih za dom in vrt, izdelkih za prosti čas, tekstilu in obutvi, kozmetiki in čistilih. Uporabljajo se v gradbeništvu, avtomobilski industriji, za izboljšavo sončnih celic in baterij, filtracijo vode, ter v obetavnih novih zdravilih, implantih ter za diagnostiko različnih bolezni. Nanomateriali prinašajo veliko koristi, vendar tudi veliko tveganja.¹ O dolgoročnih učinkih nanodelcev na zdravje ter o dejanski izpostavljenosti nanodelcem še ni dovolj informacij, zato sva se pri raziskavi odločili, da se bova v celoti izogibali neposrednemu stiku z nanodelci in bova vse reakcije izvajali v raztopinah ter strogo upoštevali pravila varnega laboratorijskega dela.

V raziskavi sva želeli raziskati področje, ki ga je prva odprla medicina, in sicer uporabo nanodelcev v t.i. »*bioimaging*«, torej njihovi uporabi kot kontrastna sredstva, ki so lahko v pomoč pri diagnostiki (NMR) ali pa pri preučevanju delovanja zdravilnih učinkovin oziroma njihovi distribuciji v organizem. Pri tem znanstveniki izkoriščajo predvsem eno lastnost ND –

¹ Tveganje za zdravje je lahko prisotno, saj se netopni biološko obstojni nanodelci v telesu lahko akumulirajo in povzročajo oksidativni stres, poškodbe DNK, lipidov celične membrane, beljakovin in lahko vplivajo na nastanek različnih bolezni. Epidemiološke študije so pokazale vplive nanodelcev na respiratorni sistem, kardiovaskularni sistem, živčni in imunski sistem (Golja et al., 2016). Nekatere študije so tudi pokazale, da obstaja možnost škodljivega vpliva na embrionalni razvoj in razvoj diabetesa.

njihovo fluorescenco. Redke spojine v trdnem, tekočem ali plinastem agregatnem stanju imajo lastnost, da pod vplivom UV-svetlobe ali kratkovalovne vidne svetlobe emitirajo svetlobo. Nanodelci so lahko takšne strukture in to njihovo lastnost lahko izkoristimo za merjenje njihove koncentracije ali oceno delovanja nekega redoks sistema. Valovna dolžina svetlobe, ki jo določene snovi oddajajo, je daljša od valovne dolžine svetlobe s katero vzbujamo molekulo². Predvidevali sva, da bi lahko nanodelec pri tem, ko »išče« ustreznega prejemnika elektronov, le-te oddal oksidantu, ki je v raztopini, pri čemer se ta reducira, fluorescenca pa temu ustrezno zniža (t.i. inducirano gašenje fluorescence). Tak sistem bi lahko deloval tudi kot indikatorski sistem za ugotavljanje prisotnosti kovinskih ionov. Ker so v slovenskem prostoru zaradi intenzivnega rudarjenja v preteklosti med najbolj problematičnimi svinčevi ioni, sva idejo želeli preizkusiti na njih. Zato naloga predstavlja prvo fazo v razvoju senzorja za detekcijo težkih kovin, ki deluje na osnovi ogljikovih nanodelcev.

1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Ali so nanodelci, sintetizirani iz dihidroksi benzenovih spojin primeren indikatorski sistem za merjenje koncentracije svinčevih (Pb^{2+}) ionov v vodnih raztopinah?

1.2 HIPOTEZE IN NJIHOVA RAZLAGA

H1: Hidrokinon (1,4-dihidroksi benzen) in resorcinol (1,3-dihidroksi benzen) sta zaradi svoje simetrične in stabilne strukture primerna substrata za sintezo ogljikovih nanodelcev.

H2: Sinteza nanodelcev s pomočjo mikrovalovne pečice je hitra, učinkovita, okoljsko sprejemljiva, cenena in dosegljiva širšemu krogu potencialnih uporabnikov.

H3: Sinteza nanodelcev s pomočjo mikrovalovne pečice bo zaradi načina mikrovalov povzročala težave s kontrolo velikosti delcev.

² Vzrok fluorescence je postopno vračanje vzbujenih elektronov preko več energetskih nivojev v nižja energetska stanja. Fluorescirajoča snov odda svetlobo druge valovne dolžine takoj po obsevanju, to je v nekaj mikrosekundah. Ko prenehamo z obsevanjem, fluorescirajoča snov preneha fluorescirati.

H4: Dodatek močne kisline (konc. H_2SO_4), ki deluje kot oksidant, bo povzročil karbonizacijo difenolov – hidrokinona (1,4-dihidroksi benzen) in resorcinola (1,3-dihidroksi benzen) – v material, ki ga bodo mikrovalovi razbili na raven nanodelcev.

H5: Hidrokinonski in rezorcinolski nanodelci bodo fluorescirali. Jakost in stabilnost fluorescence bo omogočala njihovo uporabo v indikatorske namene.

H6. Nanodelci/nanopike se bodo z dušenjem fluorescence odzvali na prisotnost nizkih koncentracij Pb^{2+} ionov. Opazna bo korelacija med koncentracijo svinca(II) in nižanjem fluorescence.

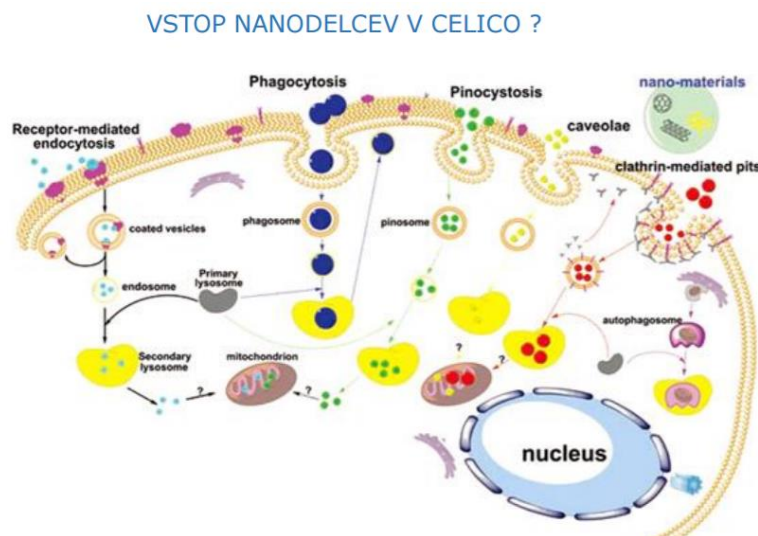
Ker želimo sintetizirati nanodelce le na osnovi ogljikovih spojin, bomo kot medij, v katerem poteka karbonizacija, uporabili vodo. V literaturi so opisani primeri sinteze s saharozo, kjer je kot medij uporabljen glikol, vendar je eksitacija (fluorescenca) vidna le v UV delu spektra (320-380 nm), kar pomeni, da z opremo, ki jo imamo v laboratoriju tega ne moremo izmeriti. Poleg tega je glikol okoljsko manj sprejemljiv kot voda. Predvidevali smo, da bi uporaba dihidroksi benzenovih spojin (fenolov), ki imajo v osnovni strukturi že vezani dve elektron donorski skupini, povzročila premik k daljšim valovnim dolžinam, torej v vidni del (VIS) spektra. Vsak substituent, ki bi bil dodatno vezan na strukturo osnovne molekule, bi razširil konjugacijo, kar pomeni, da bi oceno uspešnosti sinteze in njeno sposobnost fluorescence lahko ocenili že preko obarvanosti produkta.

Vemo, da molekula v vzbujenem stanju lahko odda energijo preko neradiacijskih prehodov, kar zaznamo kot toploto, emisije radiacije (fluorescenca ali fosforescenca) ali preko fotokemičnih reakcij. Ker želimo, da bi naši nanodelci fluorescirali, moramo izbrati kot izhodiščne molekule s čim bolj togo strukturo, pri katerih se energija iz vzbujenega stanja ne more porazgubiti s torzijskimi vibracijami, ampak samo preko fluorescence. To je bil glavni razlog, da smo za sintezo izbrali 1,4-dihidroksi benzen (hidrokinon) in 1,3 dihidroksi benzen (resorcinol). Obe spojini sta namreč toksični. Za hidrokinon velja, da do akutne zastrupitve pri človeku pride pri odmerku 5,67g/kg. Za rezorcionol je odmerek akutne zastrupitve določen pri 3,36 g/kg (za zajce) (Chemical & Laboratory Equipment, 2013). Tretji položajni izomer, katehol (1,2 – dihidroksi benzen) ima še nižji odmerek akutne zastrupitve, to je 0,8 g/kg, zato smo ga takoj izločili iz raziskave.

V primeru uspešne sinteze nameravamo nanodelce uporabiti za ionsko zaznavo. Občutljiva in selektivna detekcija kovinskih ionov je zelo zaželena, tako v okoljskih kot tudi biomedicinskih merjenjih. Konvencionalne metode imajo omejitve predvsem zaradi visokih stroškov in praviloma neprenosljivih aparatov (primer: atomska absorpcijska spektroskopija). Namen te naloge je razviti senzorski sistem za detekcijo nizkih koncentracij svinca v vodnem mediju, ki bo stroškovno učinkovit, enostaven za uporabo, zanesljiv in natančen. Najvišja dovoljena koncentracija svinca v vodi je $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ (Lenntech, 1998 - 2017).

Da sva se odločili za sintezo ogljikovih nanodelcev (in ne anorganskih ali kovinskih) je veliko prispevalo tudi dejstvo, da zadnje raziskave kažejo, da se ogljikove nanopike ali ogljikovi nanodelci lahko uspešno presnovljeni s t.i. C6 gliomskimi celicami in kažejo zelo nizko toksičnost (Zhai s sod., 2012). Kot vidimo na *Sliki 1*, je pri neposrednem stiku nanodelcev s celicami možnih več načinov odgovorov. Prevladujejo:

- fagocitoza
- pinocitoza
- endocitoza



SLIKA 1. VSTOP NANODELCEV V CELICO (WILEY ONLINE LIBRARY, 1999-2017)

2 PREGLED LITERATURE

2.1 VRSTE NANONDELCEV

Nanodelce lahko klasificiramo glede na:

- ✓ izvor (biogeni, atmosferski, geogeni in antropogeni),
- ✓ homogenost (homogeni ali heterogeni nanodelci),
- ✓ sestavo (kovinski, anorganski, organski, magnetni itd.),
- ✓ dimenzionalnost (oblika in velikost).

Razdelitev glede na dimenzionalnost delcev razdeli delce na tiste, ki so večji od 100 nm, kamor uvrščamo nanostrukturne materiale, fulerene, ogljikove nanocevice ipd., ter delce, ki so manjši od 100 nm (ogljikove nanopike, nanonožice...). Obe klasifikaciji sta medsebojno izključujoči in tesno povezani, čeprav lahko najdemo izjeme za specifične nanodelce, ki imajo različne dimenzije v obeh klasifikacijah (Marin, 2016).

2.2 SINTEZA OGLJIKOVIH NANONDELCEV

Ogljik je edinstven v konfiguraciji, ki jo tvori z drugim ogljikovimi atomi oziroma drugimi elementi. Razlog tiči v načinu vezave (sp^3 , sp^2 in sp hibridizirane spojine); molekule so lahko razvejane ali nerazvejane, kratke ali dolge več milijonov ogljikovih atomov. Ogljikova matrika lahko tvori velike molekule (npr. fulerene), enodimenzionalne strukture (npr. nanocevice), in vlakna (uporabljajo se za izdelavo sestavljenih materialov). Ker je element prisoten v mnogih strukturah, ga obravnavamo kot enega najpomembnejših materialov, tako znanstveno kot tudi tehnološko (Schwarz s sod., 2004). Odkritje nanocevk, fulerenov in grafena je revolucioniralo sodobne raziskave in elektronsko industrijo (Royal Society of Chemistry, 2016).

Sredi 20. stoletja je svet poznal le tri vrste ogljika: diamant, grafit in amorfni ogljik (saje, premog). V 60-ih letih so v ostankih meteoritov odkrili ogljik s heksagonalno kristalno strukturo, ki so ga poimenovali heksagonalni diamant. V 80-ih letih so odkrili fulerene, v 90-ih pa ogljikove nanocevice (Royal Society of Chemistry, 2016).

»Fulereni« je splošno ime za skupino ogljikovih molekul, ki imajo kletkasto strukturo. Tudi ogljikove nanocevice imajo tako strukturo, zato jih mnogi prištevajo med fulerene. Vendar pa s

tem izrazom največkrat opisujemo ogljik v obliki popolne kroglice s 60 atomi. Ogljik v krogličasti obliki je prvi napovedal E. Osawa leta 1970. Njegov obstoj so dokazali leta 1985, leta 1996 pa so odkritelji prejeli Nobelovo nagrado. Pogosto mu pravimo tudi Buckminsterfulleren ali skrajšano buckyball³ (Huskić, 2014). Najprej so odkrili fuleren 60, ki je kroglica s 60 atomi ogljika, v obliki nogometne žoge. Atomi so med seboj povezani v obliki 6-kotnikov (20) in 5-kotnikov (12). Sledilo je odkritje fulerena 70, ki ima obliko ragbijske žoge, nato pa še cele vrste drugih fulerenov (C₂₀, C₂₆, C₇₆, C₈₄, C₅₇₀) (Huskić, 2014).

V začetku 21. stoletja so postale zanimive ogljikove nanocevkke (CNT – *carbon nanotubes*). Obstoj CNT sta že leta 1952 objavila ruska raziskovalca L. V. Radushkevich in V. M. Lukyanovich. Ker je bil članek objavljen v ruski reviji, je to širši javnosti ostalo neznano. Leta 1987 je Tennent celo patentiral način izdelave nanocevk. Vendar velja za izumitelja CNT japonski raziskovalec Sumio Iijima, kajti šele njegova predstavitev je nanocevkke postavila na svetovni zemljevid (Huskić, 2014). Ogljikove nanocevkke so takoj vzbudile široko paleto napovedi glede njihove uporabe, saj so kazale odlične natezne trdnosti ter električne, mehanske in toplotne lastnosti. Raziskave so posrkale ogromna finančna sredstva in pritegnil na tisoče znanstvenikov.⁴ Nobelov nagrajenec dr. Richard E. Smalley je napovedal, da bo proizvodnja ogljikovih nanocevk do leta 2007 šla v milijone ton, kar se ni uresničilo. Zaradi specifične nitkaste oblike nanocevk so se kmalu pojavila tudi ugibanja o morebitni toksičnosti in rezultati prvih testiranj niso bili spodbudni (Remškar, 2009).

Sprva so zelo velik pomen pripisovali velikosti nanodelcev (ND). Predvidevali so, da imajo majhni delci večji (negativen) učinek kot večji delci. Vendar so številne študije pokazale, da povezava med učinkom in velikostjo ni tako enoznačna. Velikost delcev namreč vpliva tudi na njihove druge lastnosti, kot so npr. raztapljanje in vedenje v okolju (Jemec in Drobne, 2016).

³ To ime je dobil po arhitektu R. Buckminster Fullerju, ki je znan po kupolah podobne strukture (geodezične strukture).

⁴ Ameriški predsednik Clinton je leta 2000 odobril ustanovitev Nacionalne nanotehnološke iniciative z glavnim poudarkom na razvoju materialov, ki bi bili 10-krat močnejši kot jeklo, toda bistveno lažji, in iz katerih bi se dalo narediti različna vozila, tako kopenska, zračna, pomorska in celo vesoljska, z nižjo maso in večjo učinkovitostjo porabe goriv.

2.2.1 SINTEZA OGLJIKOVIH NANO PIK

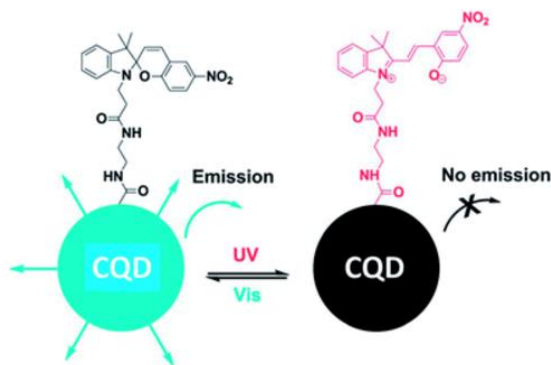
Ogljikove nano pike lahko sintetiziramo na različne načine (Marin, 2016):

1. z »od spodaj navzgor« (*bottom-up*) metodo, pri kateri uporabljamo kot molekularni prekurzor glicerol, etilen glikol, (mikrokristalinično) celulozo;
2. z »od zgoraj navzdol« (*top-down*) metodo, kjer kot vir ogljika uporabljamo ogljikove nanocevke in fullerene.



SLIKA 2: SINTEZA OGLJIKOVIH KVANTNIH PIK Z BOTTOM-UP IN TOP-DOWN METODOLOGIJAMI (MARIN, 2016)

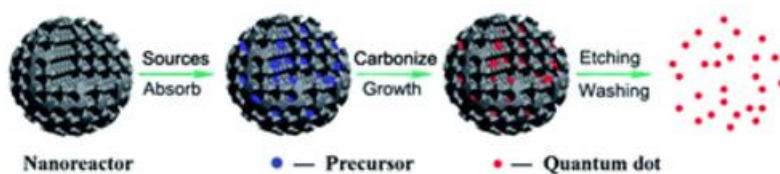
Ogljikove kvantne pike so druga vrsta nano pik, ki temeljijo na ogljiku in kažejo prostorsko konfiguracijo in kristalinično strukturo, podobno kot grafit (sp^2 ogljik). Ko sintetiziramo ogljikove kvantne pike po metodi *top-down*, se v nekaterih primerih zgodi, da po sintezi dobimo nanopike z nizko fotoluminiscenco, zato sta potrebni pasivacija ali funkcionalizacija, da se spodbudijo njihove fluorescenčne značilnosti. Pri pasivaciji je pomembno, da aktiviramo oz. povečamo fotoluminiscenco ONP, na način da dezaktiviramo nečistoče in površinske defekte. Čiščenje nanodelcev poteka preko filtriranja, centrifugiranja, dialize, kolonske kromatografije in gelske elektroforeze. S funkcionalizacijo lahko nanodelce obdamo z elektronsko bogatimi skupinami ali ovojem (preko tvorbe kovalentnih vezi, koordiantivne vezi, π - π interakcij ali sol-gel tehnologije) (Dong et al., 2012). Pri *bottom-up* metodi je pomembno, da izberemo metodo, ki omogoča razbitje velikih molekulskih struktur na manjše in čim bolj uspešno deaktiviramo vse nečistoče. Največ sta v uporabi piroliza in karbonizacija.



SLIKA 3. SHEMTASKI PRIKAZ FUNKCIONALIZACIJE OGLJIKOVIH NANOPIK (ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 2013)

V obeh primerih je pomembno, da kontroliramo velikost delcev. V ta namen so razvili t. i. nanoreaktorje, v katerih teče sinteza nanodelcev preko treh stopenj (Cayuela et al., 2016):

1. absorpcije organskega prekursorja v nanoreaktor (preko kapilarnega efekta),
2. sledi piroliza in karbonizacija organskega prekursorja in
3. spiranje nanodelcev iz nanoreaktorja.



SLIKA 4. SHEMATSKI PRIKAZ PRIPRAVE OGLJIKOVIH NANOPIK PREKO PIROLIZE ORGANSKEGA PREKURZORJA V NANOREAKTORJU (ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 2012)

2.3 KARAKTERIZACIJA NANODELCEV

Če želimo vedeti, kakšne lastnosti imajo določeni nanodelci, moramo poznati nekaj značilnosti, ki te lastnosti določajo. To so: njihova velikost, oblika, kemijska sestava, razmerje med površino in prostornino itd. V ta namen se uporabljajo različne metode, saj ene metode, s katero bi pridobili informacije o vseh naštetih lastnostih delcev, ni. Pogosto se posamezne metode tudi združujejo. Zbir metod z zapisom njihovih prednosti ter pomanjkljivosti je zbran v *Preglednici 1* (Monteiro-Riviere, 2007):

PREGLEDNICA 1: PREDNOSTI IN SLABOSTI METOD, S KATERIMI OPIŠEMO NANODELCE (MONTEIRO-RIVIERE, 2007)

Metoda	Prednosti	Slabosti
<i>Velikost delcev in porazdelitev po velikosti</i>		
DLS (Dynamic light scattering) Dinamično razprševanje svetlobe	Meri velikost in porazdelitev po velikosti. Razpon ločljivosti od 0,6nm do 6000nm.	Težka interpretacija podatkov zaradi razpršenosti vzorca. Ni podatkov o tipu obliki in kemijski sestavi delca. Meritev je lahko odvisna od velikosti in koncentracije.
AFM (Atomic Force Microscope) Mikroskop na atomsko silo	Določi obliko in velikost delca.	Ne da kemijske sestave. Delec mora biti nanešen na določeno površino.
TEM (Transmission Electron Microscope) Transmisijski elektronski mikroskop	Direktno slikanje velikosti in oblike. S primernimi detektorji lahko poda informacijo o kemijski sestavi.	Zahteva osušen vzorec, ki lahko agregira, zaradi česar se lahko pojavijo drugačni vzorci, kot je željeno.
DMA (Differential Mobility Analyzer) Diferencialni analizator mobilnosti	Meri delce v plinski fazi. Enostavno in poceni.	Zahteva nizko koncentracijo delcev ($< 10^8/m^3$). Ne podaja informacije o strukturi in kemijski sestavi.
<i>Oblika</i>		
TEM	Opis zgoraj	Opis zgoraj
AFM	Opis zgoraj	Opis zgoraj
TEM z EDS (Transmission Electron Microscope with Energy Dispersive X-Ray Detection)	Poda informacijo o kemijski sestavi na določenem delu na delcu.	Zgolj delno kvantitativna metoda v večini primerov.
ICP-MS ali AES (Inductively coupled Plasma - Mass Spectrometer). Masni spektrometer na induktivno sklopljeno plazmo	Poda kemijsko sestavo za delec.	Meri masivne delce in ne poda informacije o strukturi. Metoda je uniči vzorec.
XPS X-Ray Photoelectron spectroscopy	Poda površinsko kemijsko sestavo in oksidacijsko stanje.	Metoda v vakuumu in običajno delno kvantitativna. Ne poda informacije o obliki in velikosti.
XRD (X-Ray Diffraction)	Določi kristalno fazo. Indirektno lahko meri velikost kristala v delcu.	Nizka občutljivost. Prekrivajoči se vrhovi v zapletenih vzorcih otežujejo prepoznavanje.
<i>Površinski naboj</i>		
Electroporetic mobility Elektroforetična mobilnost	Omogoča izračun površinskega (zeta) potenciala.	Vrednost zeta potenciala je odvisna od modela uporabljenega za pretvorbo EM v zeta potencial. Ni informacije o velikosti, obliki in kemijski sestavi.
<i>Specifična površina</i>		
N_2 -BET	Preprosta meritev, ki poda specifično površino, do katere lahko pride N_2	Ni informacije o velikosti, obliki in kemijski sestavi. Zahteva osušen vzorec in mogoče ni reprezentativna v vodi ali bioloških sistemih.

Optična karakterizacija temelji na dejstvu, da so ONP razvrščene po njihovi fluorescenci (emisija svetlobe, ki jo oddaja snov, ki absorbira svetlobo ali drugo elektromagnetno radiacijo).

Večina ONP absorbira radiacijo v UV delu spektra, vendar pa oddaja svetlobo v vidnem spektru (okoli 370 – 390 nm, odvisno od vrste ogljikovih pik). Življenjska doba teh nanodelcev variira med 3 in 4 ns. Poleg tega pri večini ONP velja, da je emisija fluorescence odvisna od valovne dolžine vzbujanja (Marin, 2016).

Značilnosti površine nanodelcev in nano pik lahko preverimo z IR spektroskopijo, s katero lahko z infrardečim delom elektromagnetnega spektra identificiramo različne funkcionalne skupine na površini nano pik. Večina spektrov ogljikovih kvantnih in nano pik kažejo močan vrh okoli 1500 cm^{-1} in 1700 cm^{-1} (vibriranje C=C in C=O), druge značilnosti pa so specifične za posamezne skupine ogljikovih pik (Marin, 2016).

Povprečna velikost različnih ogljikovih pik je lahko izračunana z metodami, kot so TEM⁵, AFM ali DLS. Pri ogljikovih kvantnih pikah težko razberemo značilnosti ogljika zaradi slabega kontrasta, povprečna velikost za vse ogljikove kvantne pike pa je 3 nm. Ogljikove nano pike kažejo na sferično obliko s povprečno velikostjo 4,7 nm (Marin, 2016).

2.3.1 TEM – TRANSMISIJSKA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA IN (SEM) – VRSTIČNA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Pri vrstičnem elektronskem mikroskopu (ang. *Scanning electron microscope - SEM*) mora biti vzorec pri zelo nizkem tlaku, njegova površina mora biti prevodna, vzorec pa mora biti tudi odporen proti lokalnemu segrevanju. Na vzorec pošljemo ozek curek elektronov, ki so pospešeni z visoko napetostjo (500 – 40000 V). Na površini pride do različnih interakcij z elektroni. Analiza teh povratnih informacij omogoča ločljivost tudi do 1 nm (SEM) (Plušec, 2015).

Transmisijski elektronski mikroskop – TEM (ang. *Transmission electron microscope*) deluje na principu opazovanja elektronov, ki jih vzorec prepusti. Snop elektronov prek sistema leč pošljemo na vzorec. Del elektronov delec prepusti. Prepuščene elektrone se prek leč usmeri na površino, kjer nastane slika (ločljivost pod 0,1 nm). STEM je mikroskop, ki lahko združuje SEM in TEM (Luther, 2004).

⁵ Metode so opisane v *Preglednici 1*.

2.3.2 XRD (X-RAY DIFFRACTION) ALI METODA ODKLONA X ŽARKOV

XRD (*ang. X-Ray Diffraction*) ali metoda odklona X žarkov temelji na uporabi Braggovega zakona, ki povezuje razdalje med mrežnimi ravninami atomov d in kotom θ glede na ravnino, pod katerim sipana rentgenska svetloba z valovno dolžino λ interferira na zaslonu (Luther, 2004).

$$n\lambda = 2d \sin \theta.$$

2.3.3 UV-VIS ANALIZA

UV-VIS analiza oziroma ultravijolična spektroskopija je metoda absorpcijske/reflektivne spektroskopije v ultravijoličnem in vidnem spektru svetlobe. Absorpcija v vidnem spektru svetlobe vpliva na barvo raztopine, ki jo preverjamo. Velja, da vidimo predmet v komplementarni barvi absorbirane svetlobe (po barvnem krogu komplementarnih barv). Merilo za intenzivnost absorpcije v vidnem in ultravijoličnem delu spektra je največkrat absorbanca (Savec, 2008). Absorpcijo svetlobe skozi neprozorno snov/raztopino opisuje Beer-Lambertov zakon. V enačbah so I_0 vpadni svetlobni tok, I prepuščeni svetlobni tok, c koncentracija snovi, l dolžina optične poti žarka vzorca, faktor ϵ pa imenujemo molski absorpcijski koeficient in je značilen za preiskovano snov.

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \epsilon lc$$

2.4 MERJENJE FLUORESCENCE

Merjenje fluorescence je 1000-krat do 10000-krat bolj občutljivo od absorbimetričnih metod, saj merimo emitirano svetlobo točno določene valove dolžine, ki jo izoliramo iz spektra fluorescirajoče svetlobe. Tudi pri fluorimetričnih analizah lahko razvijemo enačbo, ki kaže razmerje med fluorescenco in koncentracijo snovi, vendar na fluorescenco vpliva toliko faktorjev, da je bolje odčitati rezultate iz umeritvene krivulje. V primeru zelo razredčenih raztopin, ki imajo vrednost absorbance pod 0,05, je odnos med fluorescenco in koncentracijo linearen. Takrat velja enačba (Pivk, 2011):

$$F = K * c$$

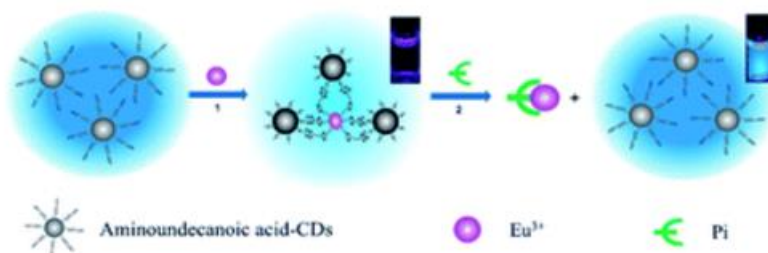
kjer so: F fluorescenca, c koncentracija in K korelacijski faktor.

Če spremljamo fluorescenco ND oz. njen delež, lahko dobimo informacijo o učinkovitosti fotokemičnih reakcij in o toplotnih izgubah (Taiz in Zeiger, 1998). Za reakcijske centre, ki lahko absorbirajo energijo, pravimo, da so odprti. Fluorescentni signal takšnih centrov imenujemo osnovna fluorescenca (tudi minimalna fluorescenca) in jo označimo jo z F_0 . Ko osvetlimo preučevano strukturo, se reakcijski centri zaprejo. Tako opazimo v manj kot 1 s po osvetlitvi močno povečanje fluorescence in povečan fluorescentni signal imenujemo maksimalna fluorescenca in jo označujemo jo s F_m . Razliko med F_m in F_0 imenujemo variabilna fluorescenca (F_v). F_v nam daje informacijo o obsegu redukcije kinonov. Razmerje F_v/F_m je merilo potencialne oz. maksimalne fotokemične učinkovitosti. Polovični čas ($t_{1/2}$), ki je potreben za porast signala od F_0 do F_m , nam označuje, koliko prejemnikov elektrona je na voljo v elektronski verigi (bazen kinonov). Krajši je $t_{1/2}$, manj je teh prejemnikov. Po tem, ko fluorescenca doseže maksimalno vrednost, se začne s časom zmanjševati. Govorimo o dušenju fluorescence, ki ga pojasnjujemo z odvajanjem elektronov zaradi fotokemičnega dušenja in oddajanja energije v obliki toplote (nefotokemično dušenje) (Deng, 2013).

2.5 OGLJIKOVE NANO PIKE KOT SENZORSKI SISTEMI

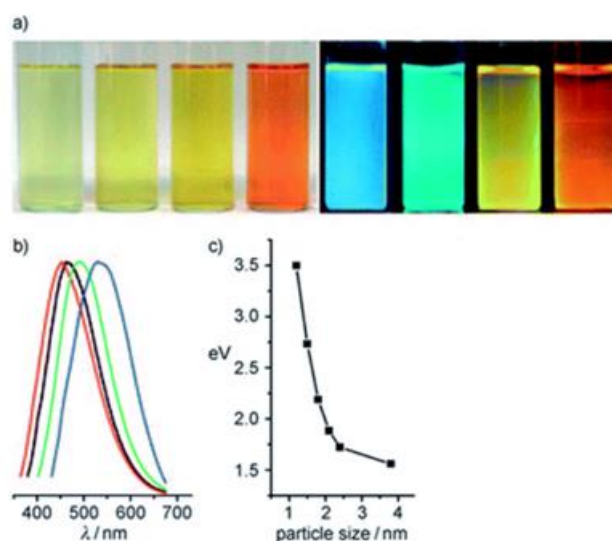
Razvoj nizkocenovnih fotoluminiscenčnih nanomaterialov v zadnjih desetletjih eksponentno raste. Od odkritja ogljikovih nano pik (s tehniko čiščenja ogljikovih nanocevok) leta 2004 so ti materiali v znanstvenikih prebudili zanimanje. Glavni krivec je fotoluminiscenčna sposobnost. Najvišjo luminiscenco imajo najmanjše ogljikove nanopike (Marin, 2016).

Nekaj analitičnih aplikacij za karbonizirane nanomateriale je v literaturi že opisanih. Avtorji so se osredotočali na razvoj aplikacij za detekcijo $Hg(II)$, $joda$, PO_4^{3-} , DNA , Cu^{2+} , $glukoze$, $nitritov$ (Wang, 2014) in izkoriščanje zmožnosti ogljikovih pik, da donirajo oz. sprejmejo elektrone v vodnih raztopinah (Marin, 2016).



SLIKA 5. SHEMATSKI PRIKAZ DETEKCIJE FOSFATOV (PI) S FLUORESCENČNIM DETEKTORJEM, KI IMA VGRAJENE EU³⁺ IONE (ZHAI ET AL. , 2012)

Ena od najbolj navdušujočih lastnosti ONP je fluorescenca. Obstaja močna povezava med valovno dolžino vzbujane svetlobe in emisijo ter intenziteto oddane svetlobe. Še vedno ni povsem pojasnjeno, ali gre tukaj samo za kvantni učinek ali so prisotni še kakšni drugi mehanizmi. Zato je tudi razumevanje pasivizacije OND slabo. Prevladuje mnenje, da je pojav povezan z uniformno velikostjo delcev in reakcijami, ki se odvijajo na površini teh delcev (Wang, 2014).



SLIKA 6. A) OGLJIKOVI NANODELCI NA DNEVNI SVETLOBI (LEVO ZGORAJ) IN POD UV LUČJO (DESNO ZGORAJ) B) UV-VIS SPEKTER NANO DELCEV C) POVEZAVA MED VELIKOSTJO DELCEV IN NJIHOVO FOTOLUMINISCENČNO AKTIVNOSTJO (WANG, 2014)

3 OKOLJSKE IN ZDRAVSTVENE TEŽAVE S SVINČEVIMI IONI

Ena od najbolj prizadetih lokacij s strani rudarske industrije v Sloveniji je Mežiška dolina, kjer je rudarjenje trajalo kar 329 let (Gluhar, 2015). Potencialno nevarne kovine iz tal in ozračja prehajajo v rastline, živali in ljudi. Največje tveganje za izpostavljenost so predstavljali prašni delci (Finžgar in Leštan, 2008).

Svinec spada v skupino štirih kovin, ki človeškemu telesu najbolj škodujejo. V telo lahko pride z vnosom hrane (do 65 %), vode (do 20 %) in iz zraka (do 15 %) (Lenntech, 1998 - 2017). Sadje, zelenjava, meso, žitarice, morska hrana, sladkane pijače in vino lahko vsebuje znatno količino svinca, prav tako pa tudi cigaretni dim. Do zdaj še ni bilo odkrito, da bi imel svinec v človeškem telesu kakršnokoli pozitivno vlogo. Nasprotno: zavira biosintezo hemoglobina, povzroča anemijo, zvišuje krvni tlak, škoduje ledvicam, povzroči poškodbe na nerojenih otrocih⁶, škodi možganom, zmanjšuje plodnost pri moških, zmanjšuje zmožnosti učenja pri otrocih, povzroča pa lahko tudi kot agresijo, impulzivno obnašanje in hiperaktivnost (Lenntech, 1998 - 2017).

Visoke koncentracije svinca vplivajo na vse organe in organske sisteme. Predvsem so prizadeti centralni in periferni živčni sistem, ledvice in krvotvorni organi. Svinec lahko deluje akutno in kronično nevrotoksično. Skupina z največ tveganja so otroci stari do 7 let. Otroci absorbirajo 40–50 % zaužitega svinca, medtem ko ga odrasli zgolj 10 %. Otroci v telesu zadržijo tudi do 30 % absorbiranega svinca, medtem ko ga odrasli zgolj 1 %. Toksična raven svinca v krvi za otroke je 10 $\mu\text{g dL}^{-1}$ ali več, čeprav raziskave kažejo, da tudi nižja raven svinca že škoduje razvoju in kognitivnim funkcijam otroka, zato se danes nagibajo k vzpostavitvi meje 5 $\mu\text{g dL}^{-1}$. Vodilni zdravstveni inštitut v Združenih državah Amerike je že leta 2012 priporočal znižanje meje koncentracije svinca v krvi na 5 $\mu\text{g dL}^{-1}$, saj so njihove raziskave pokazale, da praktično ni mogoče določiti neke meje, pri kateri koncentracija svinca v otrokovi krvi ne bi škodovala otrokovemu zdravju. Mielke et al. (2011) so odkrili povezavo med izpostavljenostjo otrok svincu ter njihovim učnim sposobnostim. Povečana absorpcija svinca v otrocih je posledica hitre rasti in hitrega razvoja možganov v času odraščanja, zato je v času odraščanja otrok zelo pomembno, da so otroci čim manj izpostavljeni svincu. Posebej je pomembno obdobje nosečnosti, saj so koncentracije svinca v krvi matere enake koncentraciji svinca v krvi otroka.

⁶ Svinec lahko pride tudi do zarodka skozi placento in poškoduje njegov živčni sistem in možgane.

Zavedati se moramo tudi, da nam količina svınca v krvi pove zgolj, kakšna je bila izpostavljenost svınca pred kratkim časom, šele meritve svınca v kosteh nam lahko povedo, kakšna je bila dejanska dolgotrajna izpostavljenost svincu. In ker vemo, da se v nosečnosti poveča odstranjevanje svınca iz kosti matere in se tako koncentracije v krvi povečajo, so pomembne za zdravje otrok tudi prejšnje dolgotrajne izpostavljenosti svincu (Gluhar, 2015).

Glavna pot vstopa svınca v telo je sicer požiranje onesnažene zemlje in prahu. Večina svınca (od 95 do 99 %), ki vstopi skozi prebavni trakt, se v telesu veže na eritrocite in se razprši po mehkih tkivih in kosteh, lahko pa ga najdemo tudi v laseh in nohtih. Glavni mehanizem shranjevanja svınca v kosteh je podoben mehanizmu kalcija. V krvi svinec ostane do 30 dni, potem pa se izloči z urinom, medtem ko lahko v kosteh ostane tudi več kot 20 let in se ob pojavu osteoporoze začne ponovno sproščati v kri (Gluhar, 2015).

Svinec lahko iz tal prehaja v rastline in se v njih koncentrira. Pri rastlinah je večino svınca prisotnega na njihovi površini kot posledica delcev, ki se nanje posedejo iz ozračja, nekaj svınca pa je prisotnega tudi v notranjih rastlinskih tkivih. Glavni mehanizem vstopa svınca v notranja tkiva rastline je skozi koreninski sistem. Sama absorpcija svınca v rastlino je močno odvisna od lastnosti tal (velikost talnih delcev, katinska izmenjevalna kapaciteta tal) in seveda lastnosti rastline (velikost korenin, koreninski izločki, mikorizacija korenin, hitrost transpiracije). Svinec se v zemlji nahaja kot šibka Lewisova kislina, ki tvori ionske ali kovalentne vezi v tleh ali rastlini. Posledica tega je tudi, da je navadno v tleh močno vezan na organske ali koloidne delce ali pa je prisoten kot oborina. Vse te lastnosti svınca zmanjšujejo možnosti za večji prenos svınca v korenine (Gluhar, 2015).

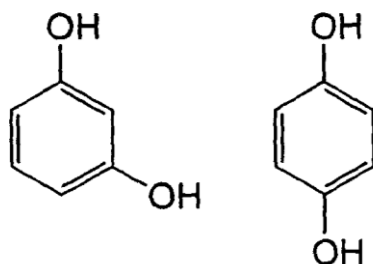
Okolje, ki je zaradi rudniške in talilne industrije onesnaženo s svincem, je škodljivo tudi za živali, ki lahko svinec pridobijo preko prehranskih verig ali s požiranjem onesnaženih tal. Določanje okoljskih kriterijev za dovoljene koncentracije svınca, ki še ne bi škodile organizmu, je težko zaradi različnih poti vstopa svınca v telo živali ter različne občutljivosti nanj. Okoljsko tveganje za prostoživeče živali tako temelji na določanju sprejemljivega odmerka svınca, ki ga žival še lahko zaužije. Ta temelji na laboratorijskih toksikoloških študijah in modelih, ki določajo, kakšna je možna izpostavljenost živali preko prehranjevalne verige. Za razliko od človeka, kjer je pri določanju nevarne koncentracije v krvi pomemben predvsem nevrolški razvoj, je pri prostoživečih živalih pomemben zgolj vpliv na razmnoževanje in rast.

Tako je za sesalce določena meja koncentracije svinca v krvi pri 35 $\mu\text{g}/\text{dL}$, za ptice pa kar 50-100 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (Gluhar, 2015).

Običajno se meritve kovinskih ionov izvajajo z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (AAS). To je spektro-analitična metoda, s katero je mogoče kvantitativno določiti prisotnost elementov. Za analizo so primerni tako tekoči, kot tudi vzorci v trdnem stanju. Za določitev koncentracije so potrebni standardi z znano vsebnostjo analita, da lahko preko umeritvene premice določimo koncentracijo svinca v vzorcu (Beer-Lambertov zakon).

4 PRAKTIČNI DEL

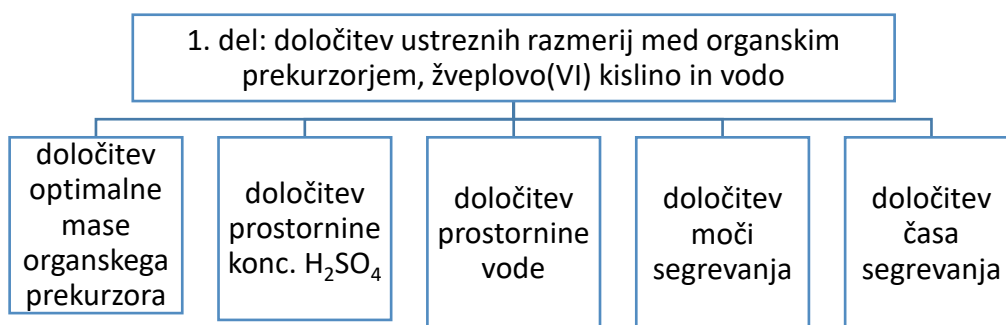
Kot substrat, iz katerega smo želeli pridobiti ONP, smo uporabili hidrokinon in resorcinol, položajna izomera dihidroksibenzena. Razlog za njuno izbiro je bila rigidna struktura molekul; aromatski obroči tvorijo koplanarno strukturo, hidroksilna skupina pa izboljša topnost v polarnih topilih.



SLIKA 7: STRUKTURNI FORMULI RESORCINOLA IN HIDROKINONA (PATENT IMAGES, 2006)

Obe spojini sta pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju in sta bele barve. Oba položajna izomera sta topna tako v vodi, kot tudi v alkoholu. Zaradi prisotnosti OH skupin močno aktivirata benzenovo jedro za nadaljnje elektrofilne substitucije.

V ločenih poskusih bomo obe molekuli izpostavili karbonizaciji s konc. H_2SO_4 in preko mikrovalov pretvorili karbonizirane delce v nanodelce. Pasivacijo bomo izvedli z dodatkom etanola ter centrifugiranjem raztopine in kasnejšim dodatkom deionizirane vode. V *Organigramu 1* je predstavljen potek dela.



ORGANIGRAM 1: NAČRT PRVEGA DELA SINTEZE (VIR: LASTEN)

4.1 MATERIALI IN PRIPOMOČKI

V nalogi smo uporabili:

- hidrokinon (*p*-C₆H₆O₂; Fluka Analytical; p.a. ≥ 99,0 %)
- resorcinol (*m*-C₆H₆O₂; Sigma-Aldrich; 98,5-100,5 %)
- žveplova(VI) kislina (H₂SO₄; Sigma-Aldrich; 95,0-97,0 %)
- deionizirana voda (šolski laboratorij)
- tiourea (CH₄N₂S; Merck)
- etanol (C₂H₆O; Sigma-Aldrich; p.a. 99,8 %)
- butanol (C₄H₁₀O; Sigma-Aldrich; p.a. 99,9 %)
- erlenmajerice (50 ml)
- merilni valj (50 mL)
- analitska tehtnica (Kern, 3xA250L, ± 0,0001 g)
- mikrovalovna pečica (Orva, 1200 W)
- centrifuga (tehtnica Železniki, LC-321)
- FT-IR spektrometer (SpectrumTwo, PerkinElmer)
- UV spektrometer (LambdaBio+, PerkinElmer)
- UV-VIS spektrofotometer/fluorometer VisPlus (Vernier) in pripadajoče kivete
- program LoggerPro (4.10.1)

Zaradi toksičnosti organskih prekurzorjev smo se odločili, da bodo vse sinteze delane s čim manjšimi masami izhodnih snovi; sinteza (karbonizacija) je potekla v zaprti mikrovalovni pečici. Pri analizi produktov smo skrbeli za varno delo in dobro zračenje prostorov.

4.2 KARBONIZACIJA HIDROKINONA

V 50 mL erlenmajerice smo natehtali 1,000 g (± 0,0001) hidrokinona. Nato smo dodali različne količine koncentrirane žveplove(VI) kisline in deionizirane vode (*Preglednica 2*) in pazili, da so bili pogoji sinteze primerljivi in ponovljivi.

Mešanico smo segrevali v mikrovalovni pečici pri dveh različnih močeh – 400 W in 800 W, različno dolgo. Podatki so zbrani v *Preglednici 2*.

PREGLEDNICA 2. KOLIČINE REAGENTOV V VZORCIH S HIDROKINONOM, MOČ IN ČAS SEGREVANJA (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	$m_{\text{(hidrokinon)}} [\text{g}]; \pm 0,0001\text{g}$	$V_{\text{(H}_2\text{SO}_4)} [\text{mL}]; \pm 0,1 \text{ mL}$	$V_{\text{(deionizirana voda)}} [\text{mL}]; \pm 0,1 \text{ mL}$	Moč segrevanja	Čas segrevanja [s]; $\pm 1 \text{ s}$
1	0,9999	0,1	2,0	800 W	20
2	1,0001	0,2	4,0	800 W	40
3	0,9961	0,2	4,0	400 W	80
6	0,9994	0,2	4,0	800 W	40
7	1,0004	0,2	4,0	800 W	40

Pri prvem vzorcu smo opazili, da se po 10 s segrevanja hidrokinon raztopi, po 20 s pa se že tvorijo delci v trdnem stanju. Sklepali smo, da je voda v tem času popolnoma izparela, spremembe barve, ki bi nakazovala nastanek ND, nismo opazili. Zato smo pri nadaljnjih poskusih povečali količino vode in žveplove(VI) kisline.

Drugi vzorec se je 20 s segrevanja obarval rumeno in po 40 s popolnoma karboniziral (pooglenel). Zato smo v poskusu 3 za polovico znižali temperaturo in podaljšali čas segrevanja. Produkt se je ponovno obarval rumeno, vendar ni bil povsem karboniziran.

Takoj, ko smo vsako erlenmajerico vzeli iz mikrovalovne pečice, smo ji dodali 50 mL etanola. Vsem produktom smo izmerili fluorescenco. Vzorce smo vzbujali pri 405 nm (vijolična svetloba) in merili absorbanco pri 450,8 nm (*Preglednica 3*). Rumeni produkti sinteze, kjer smo nanodelce uspešno sintetizirali, so modro ali vijolično fluorescirali, kar vidimo iz *Slike 9*. Na osnovi najvišjih izmerjenih absorbanco smo zaključili, da so pogoji v poskusu 2 dali najboljše rezultate, zato smo poskus ponovili, z namenom preveriti ponovljivost dobljenih rezultatov (poskus 6 in 7).



SLIKA 8. VZORCI PRODUKTOV HIDROKINONA PO KARBONIZACIJI IN DODATKU ETANOLA (VIR: LASTEN)

PREGLEDNICA 3. FLUORESCENCA VZORCEV S HIDROKINONOM (VIR: LASTEN)

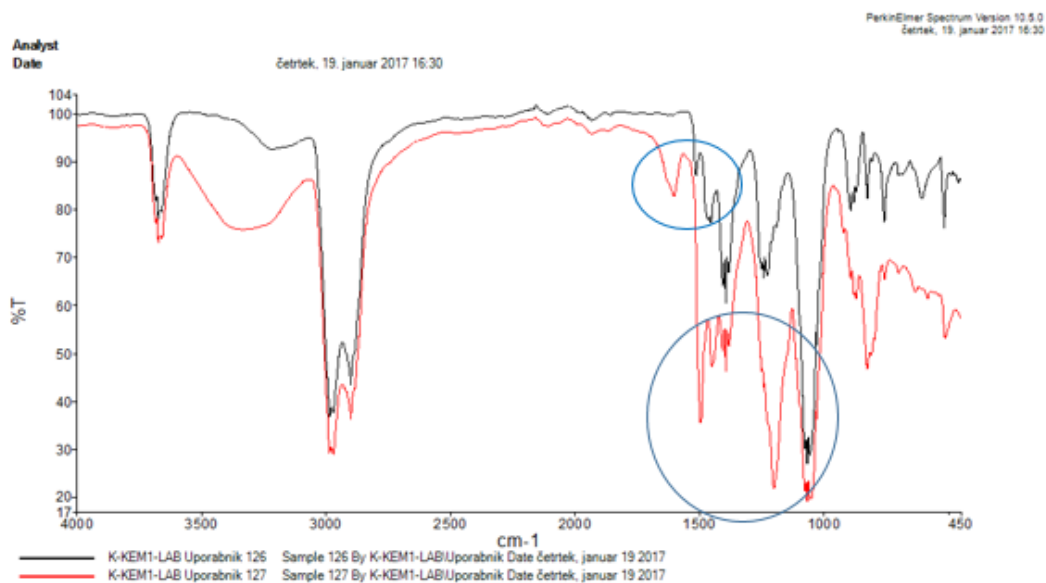
Št. vzorca	Fluorescenca [rel. enote]	Barva
1	0,018	vijolična
2	0,131	modra
3	0,019	modro-vijolična
6	0,018	modra
7	0,129	modra



SLIKA 9: FLUORESCENCA VZORCEV S HIDROKINONOM (VIR: LASTEN)

Fluorescenca v modri barvi nakazuje, da smo sintetizirali nanodelce majhnih velikosti, ki bi lahko predstavljali nanopike. Njihova relativna fluorescenca je bila zadovoljiva.

Čistemu hidrokinonu in vzorcu št. 2 smo izmerili FT-IR spekter (*Slika 10*). Opazimo podobnost nekaterih vrhov, ki ustrezajo vibracijam C-H vezi (okrog 3000 cm^{-1}). Marin (2016) navaja, da večina spektrov ogljikovih kvantnih in nano pik kaže močan vrh okoli 1500 cm^{-1} in 1700 cm^{-1} (vibriranje $C=C$ in $C=O$), druge značilnosti pa so specifične za posamezne skupine ogljikovih pik. V spektru na *Sliki 10* vidimo, da kaže IR spekter za nano pike vse značilne vrhove in strukturno specifične razlike od 1500 cm^{-1} navzdol proti 400 cm^{-1} .



SLIKA 10: FT-IR SPEKTRA ZA ČISTI HIDROKINON (ČRNO) IN VZOREC. ŠT 2 (RDEČE) (VIR: LASTEN)

4.2.1 SINTEZA ONP S HIDROKINONOM IN TIOUREO

V drugi seriji poskusov smo preizkusili ali bi karbonizacija lahko potekla brez dodatka žveplove(VI) kisline, pasivacija pa bi bila narejena s tioureo. Xu et al. (2014) navaja, da služita urea in tiourea predvsem kot odličen vir elektronsko bogatih skupin na površini ogljikovih nanodelcev.

Iz *Preglednice 4* vidimo, da so mase hidrokinona in tiouree pri vseh vzorcih enake (≈ 1 g), prav tako količina deionizirane vode (5 mL). Spreminjali smo le čas segrevanja, potrebnega za karbonizacijo. Vzorce smo segrevali v mikrovalovni pečici z močjo 800 W, kot je zapisano v *Preglednici 4*.

PREGLEDNICA 4. KOLIČINE REAGENTOV V VZORCIH S HIDROKINONOM IN TIOUREO TER ČAS SEGREVANJA (VIR: LASTEN)

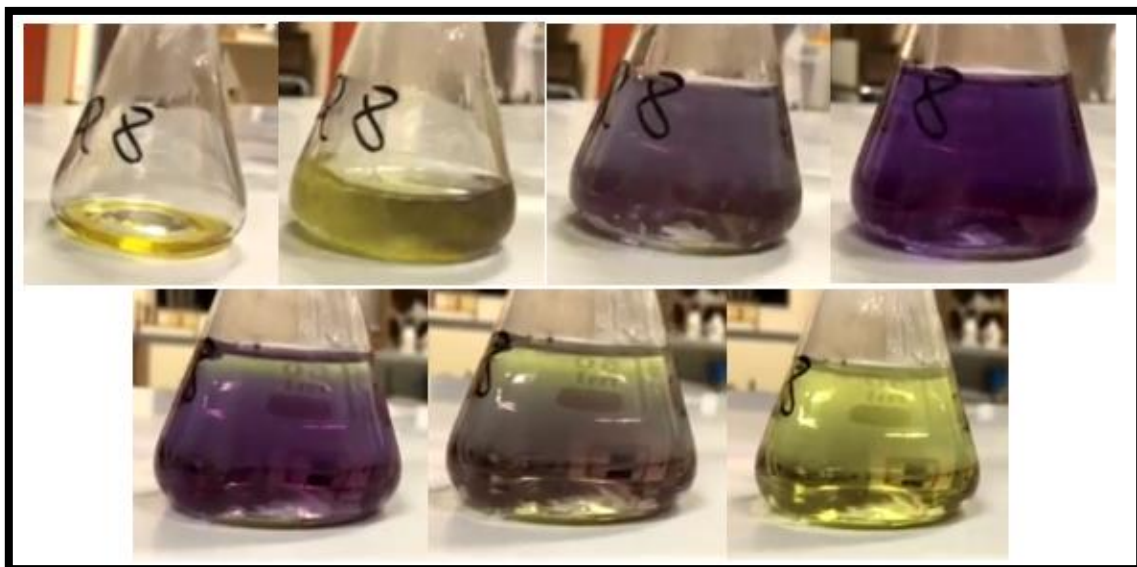
Št. vzorca	$m_{\text{(hidrokinon)}} [\text{g}]; \pm 0,0001\text{g}$	$m_{\text{(tiourea)}} [\text{g}]; \pm 0,0001\text{g}$	$V_{\text{(deionizirana voda)}} [\text{mL}]; \pm 0,1 \text{ mL}$	Čas segrevanja [s]; $\pm 1 \text{ s}$
4	1,0004	1,0002	5,0	200
5	1,0004	0,9998	5,0	135
8	1,0000	1,0001	5,0	150
9	1,0000	1,0003	5,0	180



SLIKA 11. VZORCI S HIDROKINONOM IN TIOUREO (VIR: LASTEN)

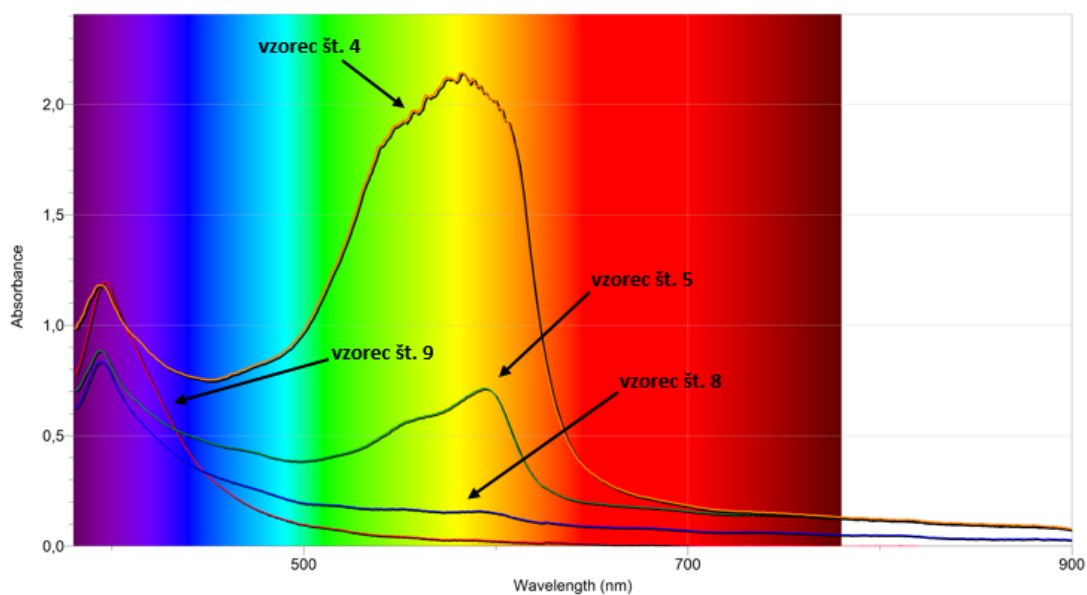
Po segrevanju smo vzorcem dodali 50 mL deionizirane vode in jih izmerili fluorescenco. Po dodatku vode se je barva raztopin zelo hitro spreminjala od svetlo rumene, preko modre, rdeče do vijolične, in v primeru 8. vzorca tudi nazaj v rumeno (*Slika 11*). Tudi te produkte smo vzbujali s svetlobo valovne dolžine 405 nm, in merili eksitacijo pri valovni dolžini 450,8 nm. Naše navdušenje nad izjemno spektakularnim spreminjanjem barv je hitro pošlo, saj noben vzorec ni fluoresciral. Spremembe barv so nakazovale tvorbo nanodelcev, vendar očitno zelo različnih velikosti. Predvidevamo, da je dodatek vode sprožil kemijsko reakcijo, ki je povzročila aglomeracijo nanodelcev.

Če nanodelci tvorijo rumeno raztopino, je absorpcija v komplementarni modri barvi; spreminjane barv preko rdeče do vijolične nakazuje, da je prišlo do pomika k daljšim valovnim dolžinam (možna konjugacija preko dvojnih vezi in delna polimerizacija), zato smo sklepali, da so te raztopine ONP zelo nestabilne in za nadaljnje delo manj primerne. Zagotovo pa so vredne raziskovalne pozornosti, sploh vzorec 8, kjer se je zdelo, da smo opazovali oscilacijsko reakcijo na ravni nanodelcev. Tukaj je bil čas segrevanja 150 sekund.



SLIKA 12: SPREMEMBE BARV VZORCA ŠT. 8 (VIR: LASTEN)

Vsem raztopinam smo izmerili absorbanco (*Graf 1*) in ugotovili, da imajo vse značilen absorpcijski vrh pri 394,6 nm, pri vzorcih 4 in 5 pa se pojavi še dodaten vrh pri ≈ 590 nm.



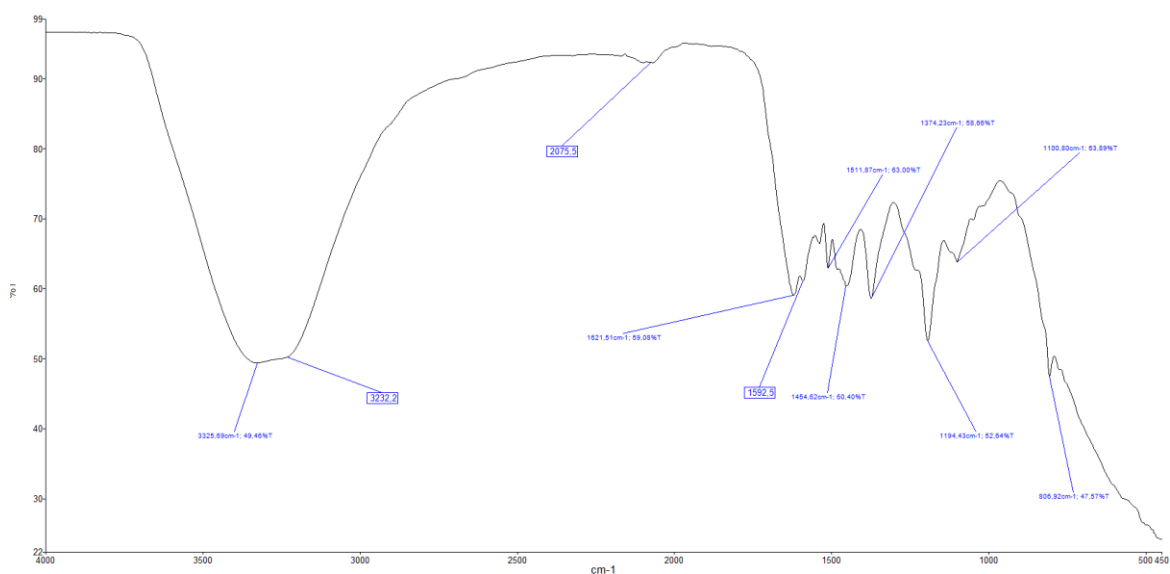
GRAF 1: ABSORBANCA VZORCEV S HIDROKINONOM IN TIOUREO V VIS SPEKTRU (VIR: LASTEN)

PREGLEDNICA 5: ABSORBANCA VZORCEV S HIDROKINONOM IN TIOUREO PRI 394,6 NM (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	Absorbanca pri 394,6 nm
4	1,181
5	0,885
8	0,835
9	1,184

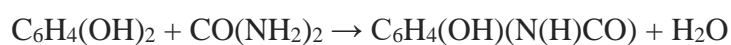
Tudi podatki VIS spektrov kažejo, da je bilo zelo težko nadzorovati sintezo in, da čas segrevanja ne kaže trendov. Predvidevali smo, da so različni rezultati bolj posledica nihajočega polja mikrovalov v pečici, kot česarkoli drugega.

Oborini 5. vzorca smo izmerili FT-IR spekter in dobili naslednje rezultate (*Slika 13*): izstopata dva vrha pri naslednjih valovnih številih: 3232 cm^{-1} ter 3225 cm^{-1} , ki ustrezata vibracijam O-H vezi. Če spekter primerjamo s spektrom čistega hidrokinona, opazimo velike razlike. Manjka močan signal okoli 1500 cm^{-1} in 1700 cm^{-1} (vibriranje $C=C$ in $C=O$), kar je pomenilo, da sintezni produkt ni (več) vseboval nanodelcev.

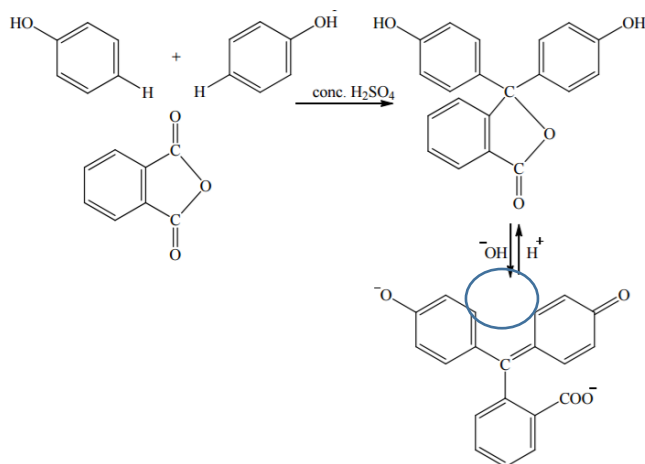


SLIKA 13: FT-IR SPEKTER OBORINE VZORCA ŠT. 5 (VIR: LASTEN)

Predvidevamo, da je med hidrokinonom in ureo (tioureo) potekla naslednja reakcija:

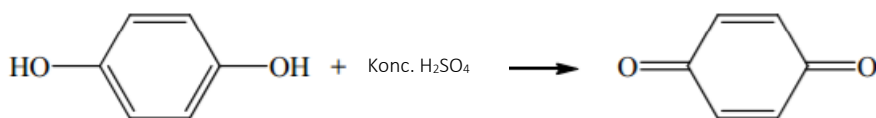


Rdeča barva bi lahko bila tudi dokaz oksidiranih produktov hidrokinona, ki ga poznamo pri ftaleinskem testu s fenoli, ko jim dodamo koncentrirano žveplovo(VI) kislino ter anhidrid ftalne kisline (Practical organic chemistry, 2016).



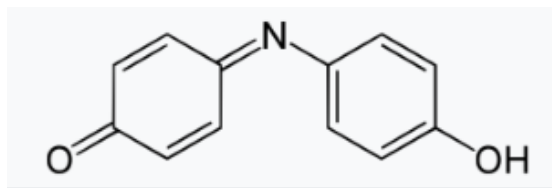
SLIKA 14: NASTANEK RDEČEGA KOMPLEKSA PRI REAKCIJI FENOLA Z ANHIDRIDOM FTALNE KISLINE (PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY, 2016)

Zaradi konjugacije je kompleks intenzivno obarvan, vendar v delu, ki je označen, ni dovolj toge strukture, da bi fluoresciral. Nastanek ftalne kisline iz 1,4–dihidroksibenzena je manj verjeten, zagotovo pa lahko v kislem okolju nastane benzokinon (Practical organic chemistry, 2016).



SLIKA 15. SINTEZA BENZOKINONA IZ HIDROKINONA (PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY, 2016)

Tako rezorcionol, ki smo ga uporabili v nadaljevanju, kot hidrokinon sta v vodi topni snovi. Reakcijo hidrokinona v prisotnosti tiouree je precej težje nadzorovati. Predvidevamo, da se v raztopini spreminja tudi pH, kar vodi do različnih končnih produktov. Fenoli v kislem zelo radi reagirajo do t.i. indofenolov, ki so značilno rdeče obarvani. Če se pH spremeni na bolj alkalno, se njihova barva spremeni na modro ali zeleno, zaradi tvorbe naftolov, ki pa imajo sposobnost fluorescence (Practical organic chemistry, 2016).



SLIKA 16. STRUKTURNA FORMULA INDOFENOLA (PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY, 2016)

4.3 SINTEZA ONP Z RESORCINOLOM

Postopek priprave ONP z resorcinolom je bil enak kot pri hidrokinonu. Podatki za sintezo so zbrani v *Preglednici 6*. Kontrolirano smo spreminjali količino žveplove(VI) kisline, vode, čas ter moč segrevanja.

PREGLEDNICA 6. KOLIČINE REAGENTOV V VZORCIH Z RESORCINOLOM, MOČ IN ČAS SEGREVANJA (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	$m_{\text{(resorcinol)}}$ [g]; $\pm 0,0001\text{g}$	$V_{\text{(H}_2\text{SO}_4)}$ [mL]; $\pm 0,1\text{ mL}$	$V_{\text{(deionizirana voda)}}$ [mL]; $\pm 0,1\text{ mL}$	Moč segrevanja	Čas segrevanja [s]; $\pm 1\text{ s}$
1	1,00	0,1	2,0	400 W	30
2	1,00	0,1	2,0	400 W	40
3	1,00	0,2	4,0	400 W	60
4	1,00	0,2	4,0	400 W	70
5	1,00	0,2	4,0	800 W	40
6	1,01	0,2	4,0	800 W	80
7	1,01	0,2	4,0	800 W	180
8	1,01	0,2	4,0	400 W	40
9	1,01	0,2	4,0	400 W	40
10	1,00	0,1	2,0	400 W	30

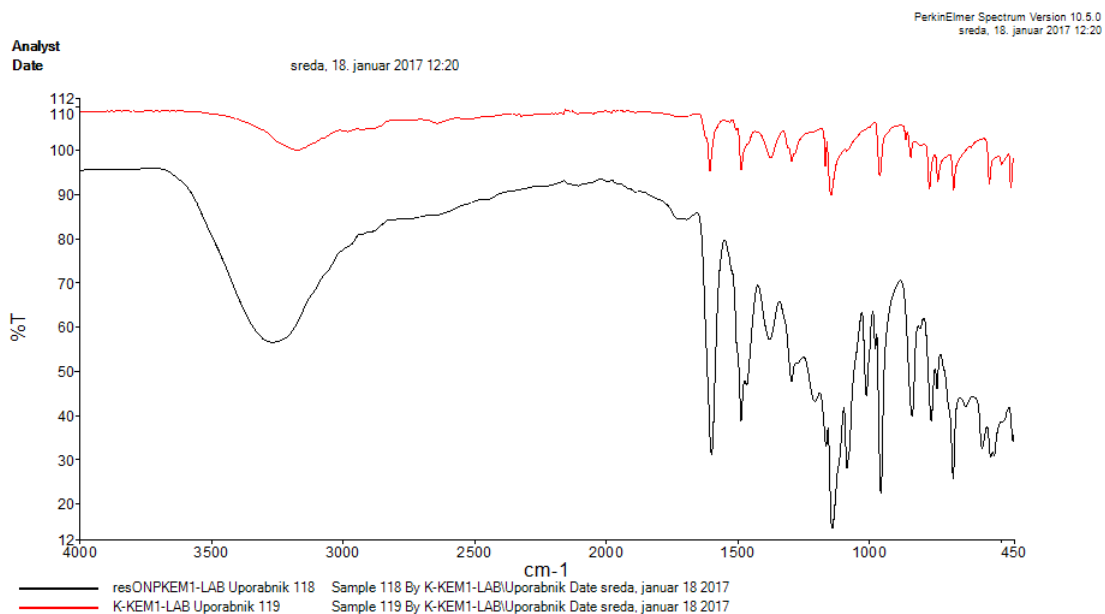
Vzorci št. 2-7 ter 9 so po segrevanju postali vinsko rdeče barve. Vzorci 1, 8 in 10 so ostali brezbarvni, oziroma rahlo rumenkasti. Pri vzorcih 6 in 7 je med segrevanjem prišlo do popolne karbonizacije. Po segrevanju smo vzorcem dodali 50 mL alkohola in izmerili fluorescenco, z vzbujanjem pri 405 nm in meritvami absorbance pri 450,8 nm (*Preglednica 7*). Izmerjene fluorescence so bile zelo nizke.

PREGLEDNICA 7. FLUORESCENCA VZORCEV Z RESORCINOLOM (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	Fluorescenca [rel. enote]	Barva
1	0,018	vijolična
2	0,017	vinsko rdeča
3	0,017	vinsko rdeča
4	0,016	rdeča barva
5	0,018	vinsko rdeča
6	0,017	vinsko rdeča
7	0,016	vinsko rdeča
8	0,018	vijolična
9	0,017	vinsko rdeča
10	0,016	vijolična



SLIKA 17: VZORCI Z RESORCINOLOM (VIR: LASTEN)



SLIKA 18: FT-IR SPEKTRA ČISTEGA RESORCINOLA (ČRNO) IN VZORCA ŠT. 2 (RDEČE) (VIR: LASTEN)

Opazimo, da postanejo po karbonizaciji vzorca vsi vrhovi znatno manjši oz. manj intenzivni. Vrh pri približno 3300 cm^{-1} pripada vibracijam O-H vezi in je delno ohranjen tudi po karbonizaciji vzorca. Signala okoli 1500 cm^{-1} in 1700 cm^{-1} (vibriranje C=C in C=O), se pojavljata zelo šibko, kar pomeni, da je karbonizacija ni uspela.

4.3.1 SINTEZA ONP Z RESORCINOLOM IN TIOUREO

Ponovili smo postopek dela opisan pod 4.2.1. Sintezni pogoji so predstavljeni v *Preglednici 8*.

PREGLEDNICA 8. KOLIČINE REAGENTOV V VZORCIH Z RESORCINOLOM IN TIOUREO TER ČAS SEGREVANJA (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	$m_{(\text{rezorcinol})}$ [g]; $\pm 0,0001\text{g}$	$m_{(\text{tiourea})}$ [g]; $\pm 0,0001\text{g}$	$V_{(\text{deionizirana voda})}$ [mL]; $\pm 0,1\text{ mL}$	Čas segrevanja [s]; $\pm 1\text{ s}$
11	1,00	1,00	5,0	140
12	1,00	1,02	5,0	120
13	1,00	1,00	5,0	120
14	1,00	1,02	5,0	90

Vzorca 11 in 12 smo segrevali pri 400 W in vzorca 13 in 14 pri 800 W. Po segrevanju smo vzorcem dodali 50 mL deionizirane vode in jih izmerili fluorescenco (vzbujanje s 405 nm). Ta je bila pri vseh vzorcih (spet) zelo nizka, zato s poskusi v tej smeri nismo več nadaljevali.

Na osnovi preliminarnih poskusov smo se odločili, da bomo ONP sintetizirali iz hidrokinona, na način popolne karbonizacije spojine, z uporabo konc. žveplove(VI) kisline in etanola za pasivacijo.

4.4 SINTEZA OGLJIKOVIH NANO PIK IZ HIDROKINONA (2. POSKUS)

Glede na rezultate preliminarnih poskusov smo za nadaljevanje raziskave kot organski substrat izbrali hidrokinon. Ker sta najboljše rezultate dala vzorca št. 2 in 7, smo ju najprej ponovili. To pomeni, da smo odtehtali 1.0000 g ($\pm 0,0001\text{ g}$) hidrokinona, dodali $0,2\text{ mL}$ žveplove(VI) kisline in $4,0\text{ mL}$ vode, nato pa vzorec segrevali v mikrovalovni pečici pri 800 W, 40 s. Po segrevanju smo vzorcem dodali 50 mL etanola in poskus 5x ponovili, z namenom pridobiti večjo prostornino raztopine ONP.

PREGLEDNICA 9. KOLIČINE REAGENTOV V VZORCIH S HIDROKINONOM TER ČAS SEGREVANJA (VIR: LASTEN)

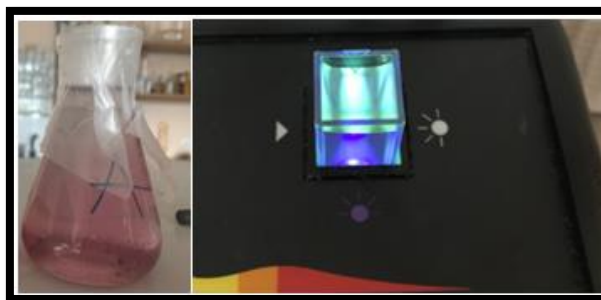
	$m_{\text{(hidrokinon)}} [\text{g}]; \pm$ 0,0001 g	$V_{\text{(H}_2\text{SO}_4)} [\text{mL}]; \pm$ 0,1 mL	$V_{\text{(deionizirana voda)}} [\text{mL}];$ 0,1 mL	Čas segrevanja [s]; \pm 1 s
A	0,9998	0,2	4,0	40
B	1,0000	0,2	4,0	40
C	0,9999	0,2	4,0	40
D	1,0000	0,2	4,0	40
E	1,0001	0,2	4,0	40

Vse produkte smo po končanem segrevanju centrifugirali (tehtnica Železniki, LC-321) 10 min pri 3000 obratih na minuto. Supernatant smo dekantirali in ga shranili za 24 ur na 4 °C (hladilnik) za nadaljnje meritve. Čez 24 ur je vzbujanje vzorcev z vijolično svetlobo (405 nm) absorpcijski vrh iz 450,8 nm premaknilo na daljše valovne dolžine, kar je pomenilo, da se je velikost nanodelcev v raztopini spremenila ali so delci nase vezali nove funkcionalne skupine, ki so absorbirale pri daljših valovnih dolžinah.

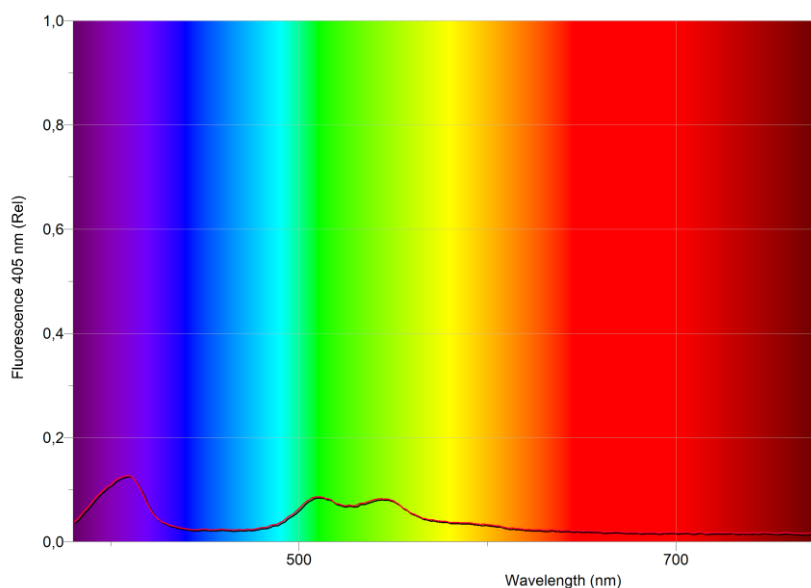
Omeniti je treba, da je dal rezultate samo vzorec A, vzorci B-E niso fluorescirali.

Sprememba vrha je vzbudila našo pozornost: pri prejšnjih meritvah smo opazili, da so, ko smo trdovratno (zažgane) karbonizirane erlenmajerice pustili, da se čez noč namakajo v vodi, naslednji dan vzorci fluorescirali in vidno spremenili barvo (iz prozorne preko rumene do rdeče). Sklepali smo, da premik proti daljšim valovnim dolžinam lahko povzročijo substituenti, ki so donorji ali akceptorji elektronskih parov, torej delci, ki so v trdnem delu produkta. Supernatant je sicer prečiščena tekočina, vendar je delež nanodelcev v njem, ki lahko fluorescira, zelo majhen in fluorescenca se hitro zaduši. Če je v karboniziranem delu (dno erlenmajerice) ostala večina sintetiziranih ND, je bilo logično, da so raztopine fluorescirale.

Produkti, ki po 24 h še fluorescirajo, fluorescirajo pri daljših valovnih dolžinah, kar pomeni, da je eksitirana energija manjša. Iz *Grafa 2* vidimo, da se pojavi en vrh pri 409,9 nm, nato pa dva precej simetrična pri 509,0 in 544,1 nm. Iz tega bi lahko sklepali, da je struktura delca, ki fluorescira, simetrična.



SLIKA 19: VZOREC A IN NJEGOVA FLUORESCENCA (VIR: LASTEN)



GRAF 2: FLUORESCENCA VZORCA A 24 UR PO SINTEZI (VIR: LASTEN)

Fluorescence niso bile močne, vendar so bile stabilne. Zato smo se odločili, da si s pomočjo referenčnih molekul pripravimo umeritveno premico. Izbrali smo dve fluorescirajoči snovi, in sicer fluorescein ter rodamin B.

4. 5 PRIPRAVA UMERITVENIH PREMICE

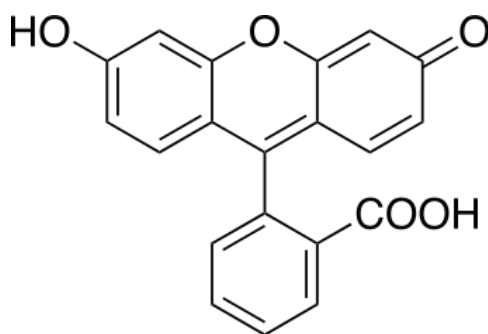
Ker nismo vedeli, ali se bo fluorescenca sintetiziranih ONP po 24 h še spreminjala, smo si pripravili dve umeritveni premici. Prva je z rodaminom B, ki ima pri vzburjanju z 405 nm eksitira pri 581,9 nm in druga s fluoresceinom, ki pri vzburjanju s 405 nm odda energijo pri 511,0 nm. Obe spojini se uporabljata v biotehnologiji pri fluorescenčni mikroskopiji in sta topni v vodi, vendar tudi precej strupeni ($LD_{50}(\text{oralno, podgane}) = 400 \text{ mg/kg}$ za Rodamin B (Chemical & Laboratory Equipment, 2013); $LD_{50}(\text{oralno, podgane}) = 6,7 \text{ mg/kg}$ za fluorescein (McMillan, J.,

2014)). Ker se je kasneje v nalogi izkazalo, da je za nadaljnje delo uporabna le umeritvena premica s fluoresceinom, je umeritvena premica za rodamin B v *Prilogi 2*.

4.5.2 UMERITVENA PREMICA S FLUORESCINOM

Materiali in pripomočki:

- fluorescein ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$; Sigma-Aldrich)
- deionizirana voda (šolski laboratorij)
- merilne bučke (100 mL)
- UV-VIS spektrofotometer in fluorometer VisPlus (Vernier) ter pripadajoče kivete
- program LoggerPro (4.10.1)

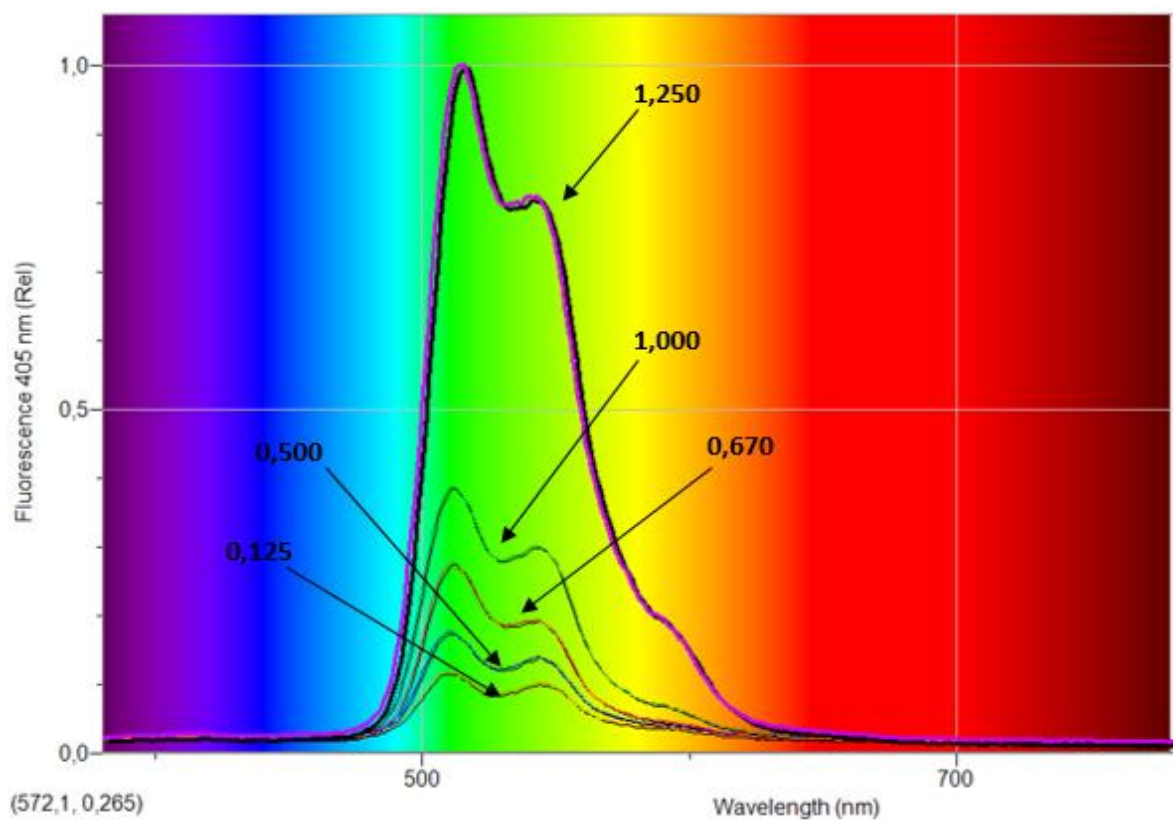


SLIKA 20: STRUKTURNA FORMULA FLUORESCINA (LA CROIX, 2010)

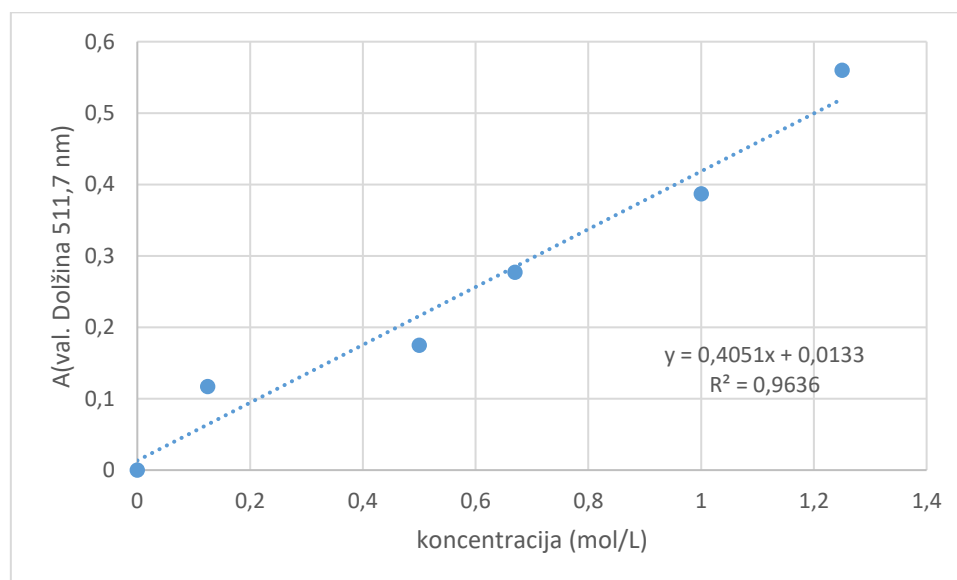
Za Fluorescein smo pripravili koncentracije, ki so zapisane v *Preglednici 10*.

PREGLEDNICA 10: FLUORESCENCA RAZTOPIN Z RAZLIČNIMI KONCENTRACIJAMI FLUORESCINA (VIR: LASTEN)

Koncentracija [mol/L]	Fluorescenca pri 511,7 nm [rel. enote]
0	0
0,125	0,117
0,500	0,175
0,670	0,277
1,000	0,387
1,250	0,560



GRAF 3: FLUORESCENCA STANDARDNIH RAZTOPIN FLUORESCINA V CELOTNEM BARVNEM SPEKTRU (VIR: LASTEN)



GRAF 4: UMERITVENA PREMICA S FLUORESCINOM (VIR: LASTEN)

4.6 PRIPRAVA MODELNIH RAZTOPIN Pb^{2+} IONOV

Materiali in pripomočki:

- svinčev acetat trihidrat ($C_4H_6O_4Pb \times 3H_2O$; Kemika)
- deionizirana voda (šolski laboratorij)
- analitska tehtnica (Kern, 3xA250L, $\pm 0,0001$ g)
- merilne bučke (250 in 100 mL)

V prvo merilno bučko (250 mL) smo odtehtali 0,9475 g svinčevega acetata trihidrata in dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Dobljena raztopina je imela koncentracijo $1,0 \times 10^{-2}$ mol/L. V drugo merilno bučko (250 mL) smo odtehtali 0,0948 g svinčevega acetata trihidrata in dopolnili z deionizirano vodo do oznake. Dobljena raztopina je imela koncentracijo $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L. Dobljeni raztopini smo nato redčili in dobili raztopine s koncentracijami $5,0 \times 10^{-3}$ mol/L, $2,5 \times 10^{-3}$ mol/L in $5,0 \times 10^{-4}$ mol/L.

4.7 DETEKCIJA Pb^{2+} IONOV Z UPORABO RAZTOPINE FLUORESCENTNIH HIDROKINONSKIH NANODELCEV

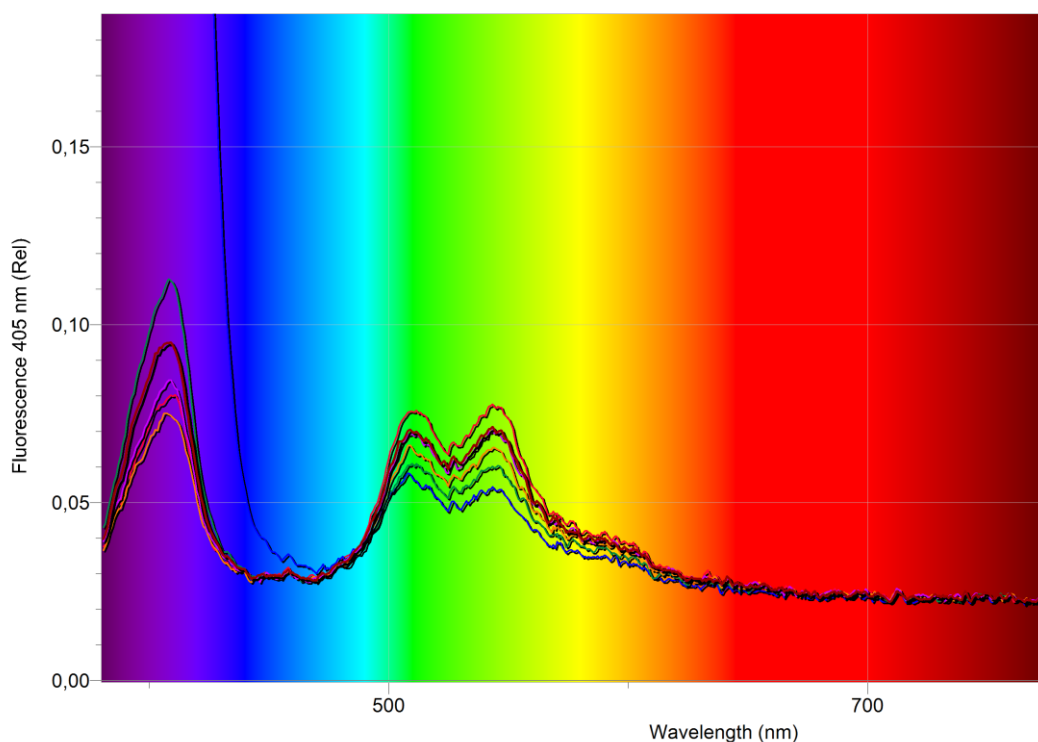
Materiali in pripomočki:

- standardne raztopine Pb^{2+} ionov, ki so bile predhodno pripravljene
- raztopina fluorescentnih hidrokinonskih nanodelcev (poskus 4.4)
- pipete (5 mL in 1 mL)
- 100 ml čaše
- UV-VIS spektrofotometer/fluorometer VisPlus (Vernier) in pripadajoče kivete
- program LoggerPro (4.10.1)

V čašo smo odpipetirali 3 mL raztopine fluorescentnih ogljikovih nanodelcev in 1 mL standardne raztopine Pb^{2+} ionov. Mešanico smo takoj vlili v kiveto in izmerili fluorescenco. Vzorec smo vzbujali s 405 nm, absorbanco pa smo merili pa pri 511,7 nm in 544,1 nm. Za preverjene stabilnosti fluorescence nanodelcev smo fluorescenco še enkrat izmerili tudi raztopini čistih fluorescentnih ogljikovih nanodelcev brez Pb^{2+} ionov. Dobili smo naslednje rezultate, prikazane v *Preglednici 11*.

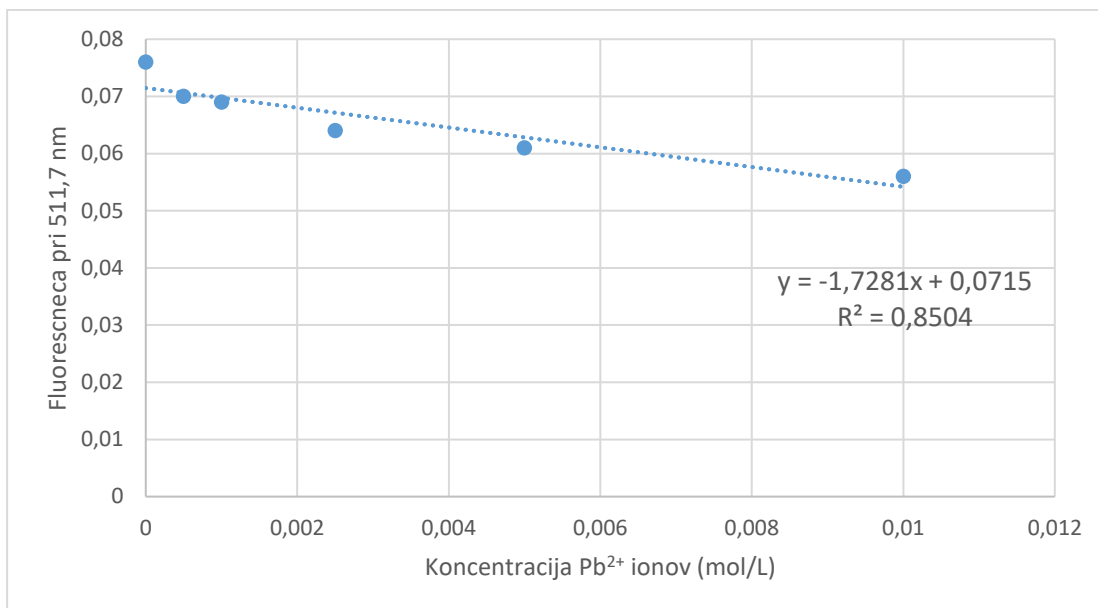
PREGLEDNICA 11: FLUORESCENCA VZORCEV Z RAZLIČNIMI KONCENTRACIJAMI Pb^{2+} IONOV (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	$c(Pb^{2+})$ [mol/L]	Barva vzorca, ki fluorescira	Fluorescenca pri 511,7 nm [rel. enote]	Fluorescenca pri 544,1 nm [rel. enote]
0	0,0	zelena	0,076	0,077
1	0,010	modra	0,056	0,054
2	0,005	svetlo modra	0,061	0,060
3	0,0025	turkizna	0,064	0,065
4	0,0010	zelenkasta	0,069	0,069
5	0,0005	zelena	0,070	0,071



GRAF 5: DUŠENJE FLUORESCENCE HIDROKINONSKIH NANODELCEV Z RAZLIČNIMI KONCENTRACIJAMI Pb^{2+} IONOV (VIR: LASTEN)

Spodnji graf prikazuje fluorescenco vzorcev pri 511,7 nm v odvisnosti od koncentracije Pb^{2+} ionov.



GRAF 6: FLUORESCENCA VZORCEV PRI 511,7 NM V ODVISNOSTI OD KONCENTRACIJE Pb^{2+} IONOV (VIR: LASTEN)

Dušenje/znižanje fluorescence zaradi prisotnosti Pb^{2+} ionov, smo izračunali kot razliko med fluorescenco vzorca 0 (f_0) in fluorescenco opazovanega vzorca (f_i). Primer: $dušenje\ fluorescence_1 = fluorescena_0 - fluorescena_1 = 0,076 - 0,056 = 0,020$.

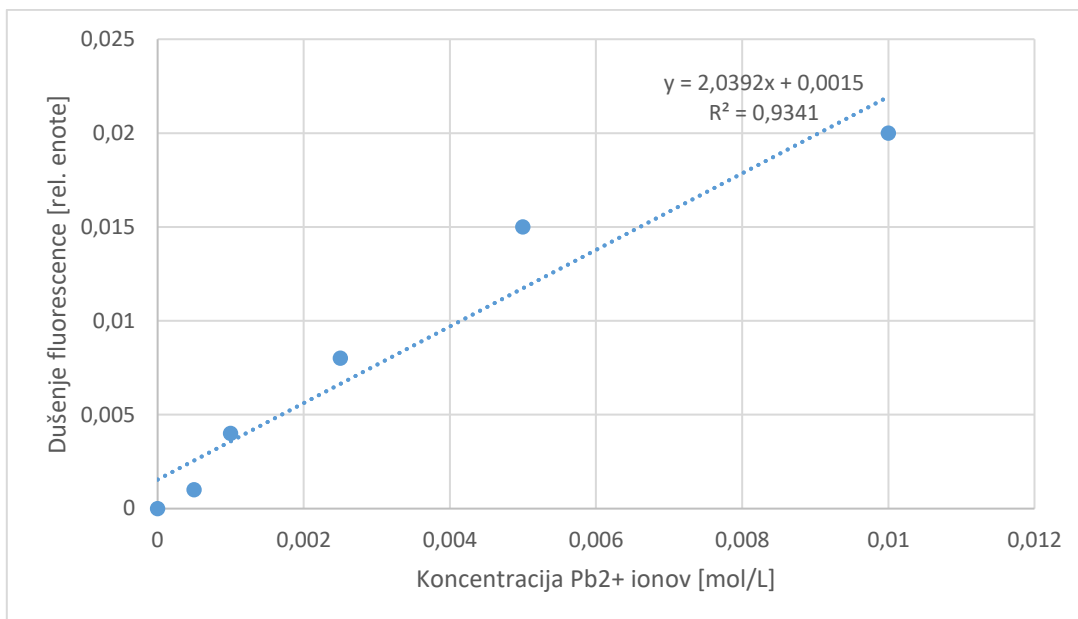
Koncentracijo hidrokinonskih nanodelcev v vzorcih, po dodatku Pb^{2+} ionov, smo izračunali v ekvivalentnih fluorescina s pomočjo umeritvene premice. Koncentracijo izračunamo s pomočjo enačbe premice $y = 0,4051x + 0,0133$ po naslednjem postopku:

$$x = \frac{y - 0,0133}{0,4051}$$

Za y vstavimo izmerjene vrednosti fluorescence in dobimo naslednje rezultate:

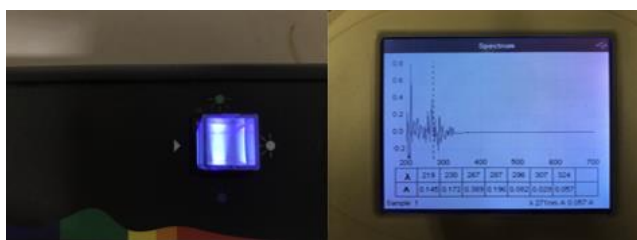
PREGLEDNICA 12: IZRAČUNANE KONCENTRACIJE NANODELCEV V VZORCIH IN DUŠENJE FLUORESCENCE (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	$C_{(Pb^{2+})}$ [mol/L]	Fluorescena pri 511,7 nm [rel. enote]	Dušenje fluorescence [rel. enote]	$C_{(nanodelcev)}$ [mol/L]
0	0,0	0,076	-	0,155
1	0,010	0,056	0,020	0,105
2	0,0050	0,061	0,015	0,118
3	0,0025	0,068	0,008	0,135
4	0,0010	0,072	0,004	0,150
5	0,0005	0,075	0,001	0,152



GRAF 7: UMERITVENA PREMICA ZA DOLOČITEV KONCENTRACIJE SVINČEVIH IONOV NA OSNOVI ZNIŽANJA FLUORESCENCE (VIR: LASTEN)

Vzorcem smo izmerili tudi UV spektre. Opazen je bil trend zmanjševanja vrhov ter njihovo premikanje proti nižjim valovnim dolžinam v primerjavi s čisto raztopino nanodelcev.



SLIKA 21. (LEVO) FLUORESCENCA HIDROKINONSKIH NANODELCEV PRI VZBUJANJU Z 405 NM; (DESNO) UV ABSORPCIJSKI SPEKTER HIDROKINONSKIH NANODELCEV (VIR: LASTEN)

4.8 TESTIRANJE ZANESLJIVOSTI MERITEV

Da bi preverili, ali je metoda z dušenjem fluorescence hidrokinonskih nanodelcev zanesljiva in natančna, smo si pripravili znano koncentracijo raztopino Pb²⁺ ionov in njeno koncentracijo izmerili z Nanocolor PF-11 (Machery-Nagel) in ustreznimi reagenti (kat. številka 985 009). Ker slednji omogoča meritve v območju od 0.1 – 5.0 mg/L Pb²⁺, smo pripravili koncentracijo 2,40 mg/L (= 0,0116 mol/L) za meritve z Nanocolor PF-11. Za potrebe meritev s hidrokinonskimi nanodelci, smo raztopino 10x redčili in redčitveni faktor upoštevali pri izračunu koncentracije.



SLIKA 22. SPEKTROFOTOMETER PF-11 (VIR: LASTEN)

PREGLEDNICA 13: TESTIRANJE ZANESLJIVOSTI MERITEV (VIR: LASTEN)

Dejanska koncentracija	Koncentracija izmerjena z spektrofotometrom PF-11	Fluorescenca pri 511,7 nm [rel. enote]	Koncentracija določena na osnovi znižanja fluorescence
2,40 mg/L (0,0116 mol/L)	2,31 mg/L (0,0111 mol/L)	0,056	0,0091 mol/L
	4,3 % napaka		21,5 % napaka

Napake meritev so podane v *Prilogi 1*.

Ocen merske napake skozi celoten postopek priprave raztopin in določitev koncentracije Pb^{2+} ionov se gibljejo od 13,3 % do 17,01 %.

5 RAZPRAVA Z ZAKLJUČKI

Ogljikove nano pike (ONP) predstavljajo vrsto fluorescenčnih nano pik, ki temeljijo na ogljiku, med njihove značilnosti pa spadata pomanjkanje prostorske omejitve in kristalinične strukture. Nano pike izkazujejo fotoluminiscenco, ki je odvisna od valovne dolžine, s katero jo vzbujamo, in od velikosti delcev.

Raziskava je pokazala, da so nanodelci, sintetizirani iz hidrokinona, obetaven indikatorski sistem za merjenje koncentracije svinčevih (Pb^{2+}) ionov v vodnih raztopinah. Nanodelci, sintetizirani iz resorcinola, so zaradi mnogo slabše fluorescence in tudi toksičnosti, manj primerni.

Hipotezo 1 smo s tem delno potrdili; hidrokinon se je izkazal kot primeren substrat za sintezo ogljikovih nanodelcev, resorcionol ne. Ponovljivost rezultatov s hidrokinonom bi bilo potrebno izboljšati. Predvidevamo, da bi že bolj stabilen vir mikrovalov lahko rešil ta problem.

V drugi seriji poskusov smo preizkusili ali bi karbonizacija lahko potekla brez dodatka žveplove(VI) kisline, pasivacija pa bi bila narejena s tioureo. Segrevanje v mikrovalovni pečici je sprožilo reakcijo, tudi delno karbonizacijo. Po dodatku vode se je barva raztopin zelo hitro spreminjala od svetlo rumene, preko modre, rdeče do vijolične, in celo nazaj v rumeno. Ugotovili smo, da je za karbonizacijo hidrokinona dodatek konc. H_2SO_4 nujno potreben, saj noben produkt ni fluoresciral. Analize UV-VIS in IR spektrov so to potrdile.

Hipotezo 2 smo potrdili, saj je uporaba mikrovalov iz domače mikrovalne pečice sprožila sintezo nanodelcev. Vendar smo (žal) potrdili tudi tretjo hipotezo, kjer smo predvideli, da bo zaradi nihanja polja mikrovalov ta način sinteze nanodelcev povzročal težave s kontrolo in velikostjo delcev, s tem tudi s ponovljivostjo rezultatov. Ker nanodelcev s prostim očesom ne vidimo, je težko določili optimalen čas obsevanja z mikrovalovi. Vzorci, pri katerih je prišlo do spremembe barve dokazujejo, da so se med radiacijo tvorili nanodelci, vendar ne uniformnih velikosti in oblik. Zato tudi niso vsi nanodelci fluoresciral.

Komentirati je treba ponovljivost rezultatov: sinteza fluorescentnih hidrokinonskih nanodelcev pri vzorcih B-E ni bila uspešna, kar pripisujemo že omenjenemu spreminjanju jakosti električnega toka. Drug razlog za majhno fluorescenco (oz. da je sploh ni) bi lahko bil ta, da je med segrevanjem vzorec v večini primerov karboniziral. Ob dodatku topila se karboniziran del

v njem ni raztopil, zato so lahko v topilo prešli zgolj nanodelci s površine karboniziranega vzorca, ne pa tudi iz notranjosti. Kot je že bilo omenjeno, so nekateri vzorci kazali višjo fluorescenco po daljšem namakanju v vodi (vzorci smo namočili, ko smo želeli očistiti erlenmajerice), kar nakazuje, da so se v vodo sprostili nanodelci iz karboniziranega dela vzorca, ki se prej niso.

Zanimiv je vzorec A, ki na začetku ni kazal fluorescence, vendar pa se je ta pokazala po enodnevnem hranjenju na nizki temperaturi (v hladilniku). Shranjevanje vzorcev v hladilniku pred uporabo navajajo tudi Jiang et al. (2015). Takrat se je spremenila tudi valovna dolžina, kjer je bila fluorescenca najvišja: vrh se je pomaknil proti večji valovni dolžini.

Potrdili smo tudi četrto hipotezo. Brez koncentrirane žveplove(VI) kisline se difenoli ne karbonizirajo in nanodelci ne nastajajo (poskusi s tioureo). Kot najboljša kombinacija za sintezo nanodelcev s sposobnostjo fluorescence se je izkazala mešanica 1 g hidrokinona, 0,2 mL koncentrirane žveplove(VI) kisline, 4,0 mL deionizirane vode, segrevanje pri 800 W, 40 s. Po segrevanju delce stabiliziramo z dodatkom 50 mL etanola. Indikator uspešne sinteze je rumeno obarvan produkt, ki je delno karboniziran (črn).

Kot sva že omenili, sinteza nanodelcev z uporabo resorcinola ni dala fluorescirajočih delcev. Pričakovano je bilo, da bo ta substrat primeren, ker sta hidrokinon in resorcinol položajna izomera in imata podobno strukturo, ki v procesu karbonizacije lahko tvorita toge strukture benzenovih obročev, medsebojno povezanih preko kisikovih mostov. Toga struktura namreč prepreči sprostitvev energije preko torzijskih vibracij, tako da lahko molekula energijo sprosti samo preko fluorescence. Wang et al. (2014) opisujejo sintezo fluorescentnih nanodelcev z uporabo vseh treh položajnih izomerov dihidroksi benzena, vendar naš poskus tega za resorcinol ni potrdil. Zato hipoteza 5 ni potrjena.

V raziskavi sva ugotovili, da so fluorescentni hidrokinonski nanodelci obetaven indikatorski sistem za merjenje koncentracije svinčevih ionov v vodnih raztopinah. V raziskavi smo opazovali dušenje fluorescence zelo nizkih koncentracij svinčevih (II) ionov od $5,0 \times 10^{-3}$ mol/L do $5,0 \times 10^{-4}$ mol/L. Dokazali sva, da Pb^{2+} ioni dušijo fluorescenco, saj nase vežejo elektrone iz raztopine nanodelcev, kar znižuje fluorescenco. R^2 (faktor ujemanja) iz grafa, kjer smo znižanje fluorescence merili v odvisnosti od koncentracije Pb^{2+} ionov, je relativno visok in znaša 0,93. S tem smo hipotezo št. 6 potrdili. Vendar je potrebno kritično oceniti dobljene

rezultate. Ker smo zaradi varnostnih razlogov in tudi zaradi porabe kemikalij delali z majhnimi količinami reagentov (≈ 1 g vira ogljika) je bila merska napaka postopka ocenjena med 13,3 % in 17,01 %, kar predstavlja relativno veliko napako, še posebno pri tako nizkih koncentracijah.

V prihodnosti bi raziskavo lahko izboljšali v več pogledih. Wang et al. (2014) navajajo, da so pri sintezi z uporabo koncentrirane žveplove(VI) kisline dobili zelo majhen delež produkta, saj je večina reagenta popolnoma karbonizirala (to smo opazili tudi mi). Ob zamenjavi koncentrirane žveplove(VI) kisline z razredčeno se je izkoristek znatno povečal. V nadaljnjih raziskavah bi bilo to opažanje smiselno preveriti.

Jiang et al. (2015) opisujejo metodo detekcije Pb^{2+} ionov s pomočjo N-dopiranih ONP. Metoda se je izkazala za natančno in selektivno. Pojavijo se razlike, povezane z merjenjem fluorescence: v njihovi raziskavi so fluorescenco vzbujali s 360 nm, mi pa smo (zaradi omejitev aparatur) vzbujali s 405 nm. V članku navajajo opažanje, da se fluorescenca, pri vzbujanju s 400 nm, premakne k večjim valovnim dolžinam, intenziteta pa se znatno zniža. To bi bil lahko razlog naših (relativno) nizkih meritev. Z boljšo opremo bi lahko preverili tudi to možnost.

Iz nizkih vrednosti fluorescence sklepamo, da je koncentracija nanodelcev v raztopinah zelo majhna. Predvidevamo, da jih večina ostane v zažganem (karboniziranem) delu vzorca, iz katerega jih je težko pridobiti v kontrolirani obliki, so pa tam »varno shranjeni«.

Raztopine ONP velikosti 4-5 nm imajo navadno rumeno do rumeno zeleno barvo. To barvo smo večkrat opazili pri pripravi hidrokinonskih nanodelcev. Ob pojavi drugih barv gre že za večje delce: manjši delci aglomerirajo in izgubijo fluorescenco. Takrat niso več primerni za indikatorski sistem. Možno je, da pride tudi do polimerizacije, kar pomeni izgubi toge strukture in sproščanje energije preko vibracij in ne več s fluorescenco. Velikost naših nanodelcev smo želeli preveriti. Ker šolski laboratorij nima naprav za TEM ali XRD analizo, smo nekatere vzorce poslali na Institut Jožef Stefan v Ljubljano, vendar rezultatov žal do oddaje naloge nismo dobili. Zanimivo bi bilo primerjati velikosti nanodelcev z njihovo barvo in intenziteto fluorescence.

Čeprav so se hidrokinonski nanodelci izkazali za dober indikatorski sistem za detekcijo Pb^{2+} ionov, ne vemo ničesar o njihovi selektivnosti, interferenci z drugimi ioni itd. To je smer, v

katero bi bilo potrebno raziskavo nadaljevati. Smiselno bi bilo tudi preveriti vpliv pH na jakost na fluorescence.

Ker je raziskava šele začetek na poti do priprave sol-gel nanosenzorja za detekcijo nizkih koncentracij ionov težkih kovin v vodnih medijih, sva s prvo fazo tega zadovoljni. Rezultate jemljeva kot spodbudne, čeprav bo treba v prihodnje še vsak korak sinteze skrbno optimizirati, da se napaka meritev spusti čim nižje.

6 DRUŽBENA ODGOVORNOST

Toksičnost svınca je za človeka že od nekdanj predstavljal težavo z zdravjem. Izpostavljenost svincu iz okolja je že nekaj časa pomembno javnozdravstveno vprašanje v mnogih razvitih državah. Že nizke koncentracije svınca (100 $\mu\text{g/L}$) so lahko škodljive, zato je potreba po razvoju učinkovitih in prenosljivih senzorjev za Pb^{2+} ione za meritve v nizkih koncentracijah nujna. Detekcija svinčevih ionov z uporabo hidrokinonskih nanodelcev se je izkazala za obetavno, vendar je potrebna optimizacije ter preverbe okoljske sprejemljivosti (varnostna ocena). Upava, da sva, kot raziskovalki, ki se zavedata nevarnosti, ki jih nove tehnologije lahko (poleg koristi) prinesejo človeštvu, s to nalogo doprinesli k mozaiku vedenja in zavedanja o problemih s katerimi se srečujemo v vsakdanjem življenju in njihovem reševanju.

7 ZAKLJUČEK

Z raziskavo smo potrdili primernost hidrokinonskih nanodelcev kot detektor Pb^{2+} ionov v vodnih raztopinah. S takšno metodo lahko zaznamo izjemno nizke koncentracije svinčevih ionov. Druge metode imajo višje meje detekcije, proces pa je lahko dolgotrajen, zahteven in drag. Naša metoda je hitra, okolju prijazna in cenovno ugodna, zlahka pa se uporabi tudi na terenu. Kljub temu ima nekaj pomanjkljivosti. Težavo predstavlja predvsem kratka življenjska doba fluorescence ter nizke koncentracije fluorescentnih nanodelcev. Problematična je tudi velikost nanodelcev: težave smo imeli predvsem s stabilizacijo, saj so čez čas delci aglomerirali in izgubili fluorescenco. Aglomeracijo bi morda lahko preprečili tako, da bi nanodelce ujeli v sol-gel raztopino.

Da bi preverili, kako nanodelci zaznajo Pb^{2+} ione, smo v pripravljeno raztopino ogljikovih nanodelcev, ki je fluorescirala, dodali različne koncentracije svinčevih ionov, od 0,0005 do 0,0100 mol/L. Običajno se meritve kovinskih ionov izvajajo z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (AAS). To je spektroanalitična metoda, s katero je mogoče kvantitativno določiti prisotnost elementov. Za analizo so primerni tako tekoči kot trdni vzorci, vendar pa so navadno takšne in podobne metode dolgotrajne, stroški, ki nastanejo pri analizah, pa ogromni. Zato je bil najin cilj izdelati metodo, ki bi bila enostavna in dostopna širši množici ljudi.

Ker je svinec za naše zdravje izredno škodljiv, so ustrezne metode detekcije ključne. Svinec spada v skupino štirih kovin, ki človeškemu telesu najbolj škodujejo. V telo lahko pride z vnosom hrane (do 65 %), vode (do 20 %) in iz zraka. Do zdaj še ni bilo odkrito, da bi imel svinec v človeškem telesu kakršnokoli pozitivno vlogo. Na otroke vpliva močnejše kot na odrasle. Predvsem so prizadeti centralni in periferni živčni sistem, ledvice in krvotvorni organi.

Možnosti nadaljnjih raziskav so velike. Preveriti bi bilo treba selektivnost hidrokinonskih nanodelcev. Prav tako bi bilo smiselno poiskati drugo metodo sinteze, ki bi dala ponovljive rezultate, ali sintezo opraviti z boljšo aparaturo. Sintetizirali bi lahko več vzorcev in bili pri tem bolj natančni, kar bi zmanjšalo naključno napako in povečalo natančnost. Tudi reakcije s tioureo (kjer sinteza fotoluminiscentnih nanodelcev ni potekla) so zelo zanimive in bi jih bilo vredno raziskati bolj podrobno.

8 VIRI IN LITERATURA

1. Cayuela, A., Carrillo-Carrión, C., Soriano, M.L., Parak, W., Valcárcel, M. (2016). One-Step Synthesis and Characterization of N-Doped Carbon Nanodots for Sensing in Organic Media. *Anal. Chem.* 88 (6), pp 3178–3185.
2. Deng, K Wang, J. A. Stolwijk, T. Lang, M. Sperber, R. J. Meier, J. Wegener and O. S. Wolfbeis, (2013). *J. Am. Chem. Soc.*, , 134, 17011–17014
3. Dong, Y., Wang, R., Li, H., Shao, J., Chi, Y., Lin, X., Chen, G. (2012). *Carbon. Polym. Chem.* 50, str. 2810.
4. Finžgar N., Leštan D. (2008). Ocena dostopnosti težkih kovin iz onesnaženih tal Mežiške doline. *Acta agriculturae Slovenica*, 91,1: 157-166.
5. Gluhar S. (2015). Biodostopnost nevarnih kovin po remediaciji onesnaženih tal. Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije.
6. Jemec in Drobne. *Kemijska varnost. 8. posvet*, Izola, 2016.
7. Jiang, Y., Wang, Y., Meng, F., Wang, B., Cheng, Y., Zhu, C. (2015). N-doped carbon dots synthesized by rapid microwave irradiation as highly fluorescent probe for Pb²⁺ detection. *New Journal of Chemistry*, vol. 39, str. 3357-3360.
8. Luther, W. (2004). Industrial application of nanoparticles – Chances and risks. Future Technologies Division of VDI Technologiezentrum GmbH.
9. Marin, A. C. (2016). Contributions to developments of Carbon (Quantum) Dots as fluorescent sensors. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
10. Merino E.J., Barton J.K. (2008). DNA oxidation by charge transport in mitochondria. *Biochemistry* 47:1511–1517.
11. Mielke, k. Wang, O. S. Wolfbeis and R. J. Meier, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 7834–7869
12. Monteiro-Riviere, N. A. (2007). *Nanotoxicology, Characterization, Dosing and Health Effects*. New York: Informa Healthcare USA, Inc.
13. Pavlin, K. *Kemijska varnost. 8. posvet*, Izola, 2016.
14. Plušec, S. (2015). Vpliv koncentracije AgNO₃ in načina sinteze na velikost srebrovih nanodelcev, njihovo protimikrobno učinkovitost in uspešnost vključitve v hidrogel. Raziskovana naloga, II. gimnazija Maribor.
15. Remškar, M. (2009). *Nanodelci in nanovarnost*. IJS, Ljubljana

16. Schwarz, J. et al. (2004). Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology. Marcel Dekker, Inc. New York.
17. Šōmen, A., Bažec, B. (2016). 8. Posvet kemijska varnost za vse: Nanovarnost – ali smo dovolj previdni z nano? Zbornik povzetkov. Izola, 23. 11. 2016. Nacionalni inštitut za javno zdravje.
18. Taiz, L., Zeiger, E. (1998). Plant Physiology, druga izdaja, Sinauer Associates, Sunderland, str. 792.
19. Wang, J. et al., (2014). A facile large-scale microwave synthesis of highly fluorescent carbon dots from benzenediol isomers, *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 25, no. 2, str. 5028-5035.
20. Xu, M., He, G., Li, Z., He, G., Gao, F. Su, Y. Zhang, L., Yang, Zang, J. (2013). A green heterogeneous synthesis of N-doped carbon dots and their photoluminescence applications with solid and aqueous states. *T 2013 J. Name.*, **00**, 1-3.
21. Zhai, X., Zhang, P., Liu, C., Bai, T. (2012). Highly luminescent carbon nanodots by microwave-assisted pyrolysis. *Chem. Commun.*, vol. 48, str. 7955-7957.

8.1 SPLETNI VIRI

1. Fluorescein [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescein> [Citirano: 1. 2. 2017, 18:15]
2. Huskić, M. (2014). Hibridni materiali in polimerni nanokompoziti. Visoka šola za tehnologijo polimerov. Slovenj Gradec [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.vstp.si/Portals/0/knji%C5%BEnica/skripta-dr.Huski%C4%87.pdf> [Citirano: 31. 1. 2017, 23:11]
3. Karo, S. (2009). Koncentracija svinca v krvi pri otrocih glede na to ali živijo v mestnem, kmečkem ali obremenjenem okolju. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacija [Online]. Dostopno na URL naslovu: http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/diplome/2009/Karo_Suzana_dipl_nal_2009.pdf [Citirano: 5. 2. 2017, 16:04]
4. Lenntech. (1998-2017). Lead – Pb [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.lenntech.com/periodic/elements/pb.htm> [Citirano: 3. 2. 2017, 17:54]
5. Lucas, J. (2015). What are Microwaves? [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.livescience.com/50259-microwaves.html> [Citirano: 3. 2. 2017, 18:35]

6. Pivk, B. (2011). INSTRUMENTALNE METODE V ANALIZNI KEMIJI. Učno gradivo, ki je nastalo v okviru projekta Munus 2. Njegovo izdajo je omogočilo sofinanciranje Evropskega socialnega sklada Evropske unije in Ministrstva za šolstvo in šport [Online] Dostopno na URL naslovu: http://www.mizs.gov.si/fileadmin/mizs.gov.si/pageuploads/podrocje/Strukturni_skladi/Gradiva/MUNUS2/MUNUS2_61FizKemLabMetode.pdf [Citirano: 2.11.2016, 18:10]
7. Practical organic chemistry [Online]. Dostopno na URL naslovu: http://cpsfiles.jazanu.edu.sa/documents/chem_333_practical.pdf [Citirano: 28. 1. 2017, 17:50]
8. Rhodamine B [Online]. Dostopno na URL naslovu: https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodamine_B [Citirano: 1. 2. 2017, 18:15]
9. Royal Society of Chemistry. (2016). Carbon [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.rsc.org/periodic-table/element/6/carbon> [Citirano: 30. 1. 2017, 12:59]
10. Savec, V. F. (2008). Keminfo. Naravotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani. [Online] Dostopno na URL naslovu: <http://www.kii.ntf.uni-lj.si/keminfo/proj/ro03m/uv.htm> [Citirano: 29.1.2017, 12:20]
11. Uradni list RS. (2011). P R A K T I Č N E S M E R N I C E za izvajanje zdravstvenega nadzora in biološkega monitoringa za svinec(*) [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://www.uradni-list.si/glasilo-uradni-list-rs/vsebina/102181> [Citirano: 5. 2. 2017, 12:31]
12. Chemical & Laboratory Equipment. (2013). Material Safety Data Sheet: Rhodamine 6G MSDS [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927579> [Citirano 1. 2. 2017, 18:18]
13. McMillan, J. (2014). A risk assessment of the use of fluorescein in public fountains in Sheffield [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://paintingthecityyellow.files.wordpress.com/2014/03/fluorescein-risk-assessment.pdf> [Citirano: 1. 2. 2017, 16:49]
14. Chemical & Laboratory Equipment. (2013). Material Safety Data Sheet: Hydroquinone MSDS [Online]. Dostopno na URL

naslovu: <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927544> [Citirano 11. 11. 2016, 17:51]

15. Chemical & Laboratory Equipment. (2013). Material Safety Data Sheet: Resorcinol MSDS [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927245> [Citirano 11. 11. 2016, 17:59]

8.2 VIRI SLIK

1. Slika 1: Vstop nanodelcev v celico [online]. Dostopno na URL naslovu: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.20110000> [Citirano: 1. 2. 2017, 19:15]
2. Slika 2: Sinteza ogljikovih kvantnih pik z *bottom-up* in *top-down* metodologijami. Marin, A. C. (2016). Contributions to developments of Carbon (Quantum) Dots as fluorescent sensors. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
3. Slika 3: Shemtaki prikaz funkcionalizacije ogljikovih nanopik. (Royal society of chemistry, 2016)
4. Slika 4: Shematski prikaz priprave ogljikovih nano pik preko pirolize organskega prekursorja v nanoreaktorju (Royal Society of Chemistry, 2016)
5. Slika 5. Shematski prikaz detekcije fosfatov (PI) s fluorescenčnim detektorjem, ki ima vgrajene eu^{3+} ione. Zhai, X., Zhang, P., Liu, C., Bai, T. (2012). Highly luminescent carbon nanodots by microwave-assisted pyrolysis. Chem. Commun., vol. 48, str. 7955-7957.
6. Slika 6. A) ogljikovi nanodelci na dnevni svetlobi (levo zgoraj) in pod UV lučjo (desno zgoraj) b) UV-VIS spekter nanodelcev c) povezava med velikostjo delcev in njihovo fotoluminiscenčno aktivnostjo. Wang, J. et al., (2014). A facile large-scale microwave synthesis of highly fluorescent carbon dots from benzenediol isomers, *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 25, no. 2, str. 5028-5035.
7. Slika 7: Strukturni formuli resorcinola in hidrokina. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://patentimages.storage.googleapis.com/EP0994912B1/imgb0002.png> [Citirano: 1. 2. 2017, 18:45]
8. Slika 14: Nastanek rdečega kompleksa pri reakciji fenola z anhidridom ftalne kisline. [Online]. Dostopno na URL naslovu:

- http://cpsfiles.jazanu.edu.sa/documents/chem_333_practical.pdf [Citirano: 30.1.2017, 15:30]
9. Slika 15. Sinteza benzokinona iz hidrokinona [Online]. Dostopno na URL naslovu: http://cpsfiles.jazanu.edu.sa/documents/chem_333_practical.pdf [Citirano: 30.1.2017, 15:30]
10. Slika 16. Strukturna formula indofenola [Online]. Dostopno na URL naslovu: http://cpsfiles.jazanu.edu.sa/documents/chem_333_practical.pdf [Citirano: 30.1.2017, 15:30]
11. Slika 20: Strukturna formula fluorescina [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.vmcli.com/veterinary-articles-fluorescein.html> [Citirano: 28.1.2017, 16:30]
12. Slika 23. Strukturna formula rodamina B [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://en.wikipedia.org/wiki/rhodamine> [Citirano: 28.1.2017, 16:30]

8.3 VIRI PREGLEDNIC

1. Preglednica 1: Prednosti in slabosti metod, s katerimi opišemo nanodelce. Monteiro-Riviere, N. A. (2007). Nanotoxicology, Characterization, Dosing and Health Effects. New York: Informa Healthcare USA, Inc.

PRILOGA 1 – OCENA NAPAK MERITEV

Koncentracijo smo določili glede na umeritveno premico za določitev koncentracije svinčevih ionov na osnovi znižanja fluorescence (*Graf 7*). To smo naredili z uporabo enačbe umeritvene krivulje po naslednjem postopku:

$$y = 2,0392x + 0,0015$$

$$x = \frac{y - 0,0015}{2,0392}$$

Kjer y predstavlja dušenje fluorescence ($y = 0,020$), x pa koncentracijo Pb^{2+} ionov.

PREGLEDNICA 14: IZRAČUNANE KONCENTRACIJE Pb^{2+} IONOV GLEDE NA UMERITVENO PREMICO (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	Fluorescenca pri 511,7 nm [rel. enote]	Dušenje fluorescence [rel. enote]	Pripravljena $c_{(Pb^{2+})}$ [mol/L]	Izračunana $c_{(Pb^{2+})}$ [mol/L]
0	0,076	-	0,0	- 0,0007
1	0,056	0,020	0,010	0,0091
2	0,061	0,015	0,0050	0,0066
3	0,068	0,008	0,0025	0,0032
4	0,072	0,004	0,0010	0,0012
5	0,075	0,001	0,0005	- 0,0002

Izračunane vrednosti koncentracije Pb^{2+} ionov se razlikujejo od pripravljenih, kar je posledica merskih napak:

PREGLEDNICA 15: MERSKE NAPAKE PRI VZORCIH Z RAZLIČNIMI KONCENTRACIJAMI Pb^{2+} IONOV (VIR: LASTEN)

Št. vzorca	Relativna napaka zaradi koncentracije nanodelcev [%]	Relativna napaka zaradi tehtanja [%]	Relativna napaka zaradi redčenja [%]	Relativna napaka zaradi pipetiranja [%]	SKUPAJ [%]
0	3,3	-	-	10	13,3
1	3,3	0,01	-	10	13,01
2	3,3	0,01	2	10	15,01
3	3,3	0,01	4	10	17,01
4	3,3	0,11	-	10	13,11
5	3,3	0,11	2	10	15,11

PREGLEDNICA 16: IZRAČUNANE KONCENTRACIJE Pb^{2+} IONOV V RAZTOPINAH Z UPOŠTEVANJEM MERSKE NAPAKE (VIR: LASTEN)

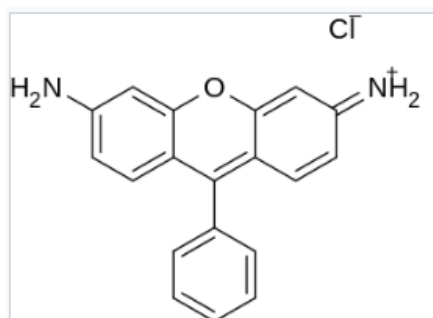
Št. vzorca	Pripravljena $c_{(Pb^{2+})}$ [mol/L]	Izračunana $c_{(Pb^{2+})}$ [mol/L]	Izračunana $c_{(Pb^{2+})}$ Z upoštevanjem napake [mol/L]	Interval $c_{(Pb^{2+})}$ Z upoštevanjem napake [mol/L]
0	0,0	-0,0007	- 0,0007 ± (- 0,00003)	[- 0,00073; - 0,00067]
1	0,010	0,0091	0,0091 ± 0,0012	[0,0079; 0,0103]
2	0,0050	0,0066	0,0066 ± 0,0010	[0,0056; 0,0076]
3	0,0025	0,0032	0,0032 ± 0,0005	[0,0027; 0,0037]
4	0,0010	0,0012	0,0012 ± 0,0002	[0,0010; 0,0014]
5	0,0005	-0,0002	- 0,0002 ± (- 0,00003)	[- 0,00023; - 0,00017]

Merske napake, izračunane za svinčeve koncentracije, se gibajo od 13,3 % (vzorec 0) pa vse do 17,01 % (vzorec 3). Z upoštevanjem teh merskih napak lahko izračunamo intervale, ki kažejo, da pripravljene koncentracije Pb^{2+} ionov večinoma niso v intervalu izračunanih koncentracij.

PRILOGA 2- UMERITVENA PREMICA Z RODAMINOM B

Materiali in pripomočki:

- rodamin B ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$; Merck-Alkaloid)
- deionizirana voda (šolski laboratorij)
- merilne bučke (100 mL)
- UV-VIS spektrofotometer in fluorometer VisPlus (Vernier) ter pripadajoče kivete
- program LoggerPro (4.10.1)

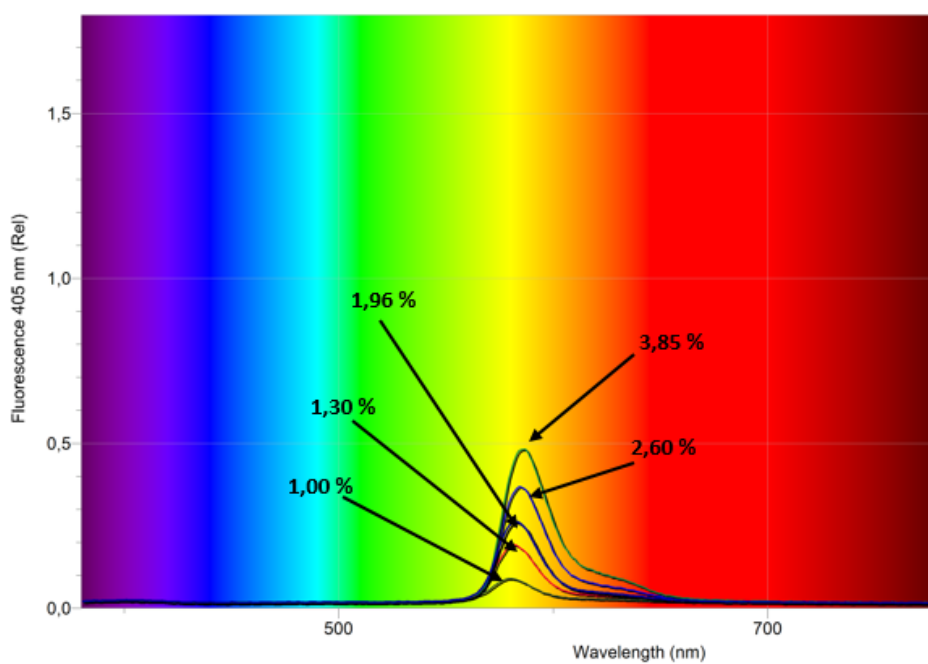


SLIKA 23. STRUKTURNA FORMULA RODAMINA B (RHODAMINE, 2016)

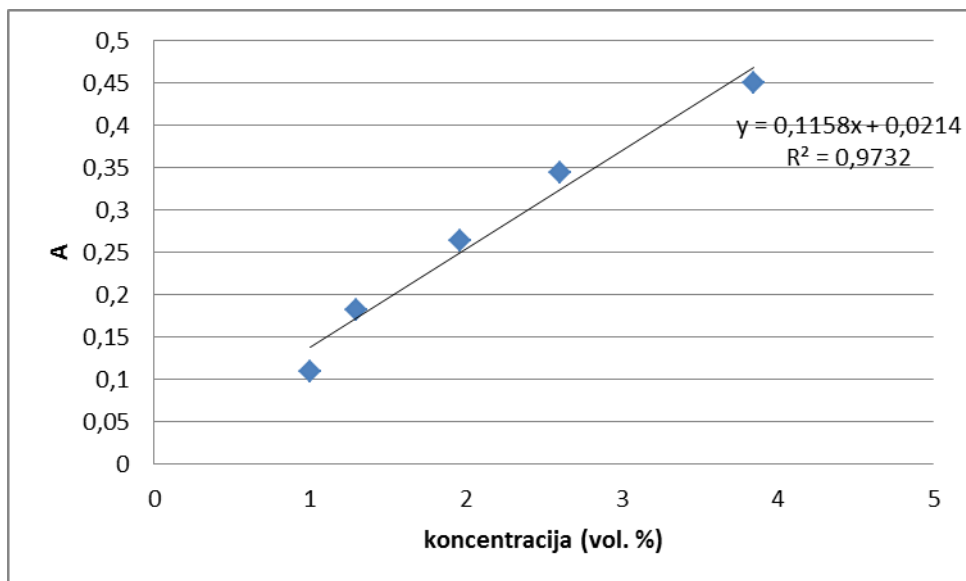
V 250 mL merilno bučko smo natehtali 0,050 g rodamina B in dodali vodo do oznake. Dobljena raztopina je imela koncentracijo 10^{-3} mol/L. Z redčenjem smo dobili raztopine z različnimi koncentracijami rodamina B. Fluorescenco smo merili pri 581,9 nm, vzbujali pa smo s 405 nm.

PREGLEDNICA 17. FLUORESCENCA RAZTOPIN Z RAZLIČNIMI KONCENTRACIJAMI RODAMINA B (VIR: LASTEN)

Koncentracija rodamina B (vol %)	Fluorescenca pri 581,9 nm [rel. enote]
1,00 %	0,109
1,30 %	0,182
1,96 %	0,263
2,60 %	0,344
3,85 %	0,449



GRAF 8: FLUORESCENCA STANDARDNIH RAZTOPIN RODAMINA B V VIS SPEKTRU (VIR: LASTEN)



GRAF 9: UMERITVENA PREMICA Z RODAMINOM B (VIR: LASTEN)