

Emisija izazvana agregacijom u razvoju novih fluorescentnih proba i senzora

Robić, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:117796>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marko Robić

**EMISIJA IZAZVANA AGREGACIJOM U RAZVOJU NOVIH
FLUORESCENTNIH PROBA I SENZORA**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: dr.sc. Lidija Furač, viši predavač

Članovi ispitnog povjerenstva: dr.sc. Lidija Furač, viši predavač

dr.sc. Ema Horak, asistent

dr.sc. Nataša Perin, poslijedoktorand

Zagreb, srpanj 2017.

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Lidiji Furač na vodstvu te savjetima prilikom pisanja diplomskog rada. Zahvaljujem i ostalim djelatnicima Zavoda za opću i anorgansku kemiju, a naročito dr. sc. Emi Horak na pomoći za literaturni pregled, izvedbu eksperimentalnog dijela diplomskog rada, pomoći pri obradi i prikazu rezultata te na ispravljanju brojnih grešaka. Također zahvaljujem svojim roditeljima, ostalim članovima svoje obitelji, kolegama i prijateljima na podršci tijekom studija.

SAŽETAK

Otkako je 2001. godine otkriven fenomen emisije izazvane agregacijom (engl. *aggregation induced emission*, AIE) otvorene su nove mogućnosti primjene organskih spojeva u razvoju optoelektroničkih uređaja, biološkom oslikavanju, sensorike i drugim istraživačkim područjima. Primjena mnogih organskih molekula je ograničena zbog pojave gašenja emisije pri većim koncentracijama ili u krutom stanju. Stoga AIE pojava, koja uzrokuje fluorescenciju organskih spojeva u agregiranom ili krutom stanju, omogućava brojne primjene.

Svrha ovoga rada je karakterizacija serije novih Schiffovih baza temeljenih na molekuli benzimidazola s ciljem razvoja novih AIE materijala i sustava. Istraživana su optička svojstva serije Schiffovih baza kako bi se ustanovilo pokazuju li emisiju izazvanu agregacijom (agregati, čvrsta faza) i jesu li primjenjive u optičkim kemijskim sustavima za uporabu kao fluorescentne probe ili kao materijali u optičkim kemijskim sensorima. Mjereni su apsorpcijski i emisijski spektri otopina Schiffovih baza, dobiveni su titracijski spektri nekih molekula te je izmjerena njihova emisija u čvrstoj fazi. Osim navedenog, Tyndallovim fenomenom ispitano je stvaranje agregata navedenih Schiffovih baza u vodi. Također, istražena su mehanokromatska svojstva Schiffovih baza metodom mljevenja i naparavanja. Ispitivanja su pokazala da četiri derivata benzimidazola tvore agregate u vodenom mediju: spoj **3**-2-[(4-*N,N*-dietilamino-2-hidroksi)benz-2-ilidenamino]-5(6)-nitrobenzimidazol, spoj **15**-2-[(4-*N,N*-dimetilamino)benz-2-ilidenamino]-5(6)-cijanobenzimidazol, spoj **16**-2-[(4-*N,N*-dimetilamino)benz-2-ilidenamino]-5(6)-metilbenzimidazol i spoj **17**-2-[(4-*N,N*-dimetilamino)benz-2-ilidenamino]-5(6)-nitrobenzimidazol. Agregati su slabo emitirajući te se ne mogu opisati kao tipične AIE molekule u otopinama. Također, AIE je odgovoran za intenzivnu fluorescenciju u čvrstoj fazi spojeva **3**, **15**, **16** i **17**. Spojevi **3** i **17** pokazali su mehanokromatska svojstva, prilikom čega se izdvaja spoj **3** zbog boljih fotofizičkih svojstava.

Ključne riječi:

- Schiffove baze
- emisija izazvana agregacijom
- mehanokromizam
- fluorescencija čvrstog stanja
- kemosenzori

SUMMARY

Since the discovery of aggregation-induced emission phenomena (AIE) in 2001, new application possibilities of organic systems have been discovered in the development of optoelectronic devices, biological imaging, sensorics and many other research areas. Application of many organic molecules is restricted due to aggregation-caused quenching with bigger concentrations or in the solid state. Because of that AIE phenomena can be considered as the key that leads to many new applications. From that point of view, represented work is more about characterisation of novel Schiff bases that have a benzimidazole core. The primary aim of this work is development of new AIE materials and systems. Optical properties of novel Schiff bases were investigated to determine whether they show AIE phenomena or not. Besides that it was investigated whether these Schiff bases are applicable in optical sensing as fluorescent probes or as materials in optical sensors. Absorption and emission spectra of novel Schiff bases were recorded, as well series of titration spectra and solid state emission spectra. Tyndall phenomena has been used to determine whether Schiff bases make nanoaggregates in aqueous solution. The sample was subjected to cycles consisted of grinding and exposure to the solution fumes in order to observe the sample's mechanochromic properties.

Tests show that four benzimidazole derivatives make aggregates in aqueous media: compound **3**- 2-[(4-*N,N*-diethylamino-2-hydroxy)benz-2-ylideneamino]-5(6)-nitrobenzimidazole, compound **15**-2-[(4-*N,N*-dimethylamino)benz-2-ylideneamino]-5(6)-cyanobenzimidazole, compound **16**-2-[(4-*N,N*-dimethylamino)benz-2-ylideneamino]-5(6)-methylbenzimidazole and compound **17**-2-[(4-*N,N*-dimethylamino)benz-2-ylideneamino]-5(6)-nitrobenzimidazole.

Those aggregates show very low emission intensities, and therefore we cannot describe the observed aggregates as typical AIE phenomena. However, it is found that AIE emission is responsible for intensive solid state emission (substances **3**, **15**, **16** i **17**). Dust samples of **3** and **17** substances also showed mechanochromic properties. It is worth mentioning that compound **3** shows better photophysical properties than compound **17**.

Keywords:

- Schiff bases
- AIE
- Mechanochromism
- Solid state fluorescence
- Chemosensors

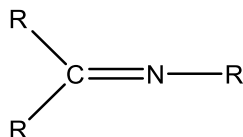
SADRŽAJ

1.Uvod	7
2. Opći dio	10
1.Fluorescentne probe i senzori	11
1.1. Jablonski dijagram	13
1.2. <i>Push-pull</i> kromofori	15
1.3. Kemijski senzori	15
2.Emisija izazvana agregacijom (AIE)	19
2.1. Gašenje fluorescencije izazvano agregacijom (ACQ)	19
2.2. Emisija izazvana agregacijom (AIE)	20
3.Fluorescentni materijali temeljeni na AIE pojavi	41
3.1. Fluorescencija čvrstog stanja	41
3.2. Mehanokromizam	42
3.3. ESIPT emisija u čvstom stanju	46
4. Instrumentalne tehnike karakterizacije fluorescentnih proba i senzora	51
4.1. Molekulska spektroskopija	51
4.2. Apsorpcija elektromagnetskog zračenja	52
4.3. Spektroskopski instrumenti	57
5. Schiffove baze	61
3. Eksperimentalni dio	63
3.1. Materijali	64
3.2. Apsorpcijski i emisijski spektri serije Schiffovih baza u vodi i etanolu	67
3.3. Ispitivanje Tyndallovog fenomena	68
3.4. Vizualno ispitivanje fluorescencije spojeva pod UV-lampom	69
3.5. Emisijski spektri praškastih uzoraka	69
3.6. Apsorpcijski i emisijski spektri titracija	69
3.7. PMMA filmovi	70
3.8. Mehanokromizam	71
4. Rezultati i rasprava	73
4.1. Otopine Schiffovih baza u etanolu (temeljne otopine)	76
4.2. Mjerenje UV/Vis emisijskih i apsorpcijskih spektara	77
4.3. Tyndallov fenomen	84
4.4. Fluorescencija čvrstog stanja	87
4.5. Titracijski spektri	91
4.6. Ispitivanja vezana uz kruto stanje spojeva 3 i 17	101

4.6.1. PMMA filmovi	102
4.6.2. Mehanokromatska svojstva	103
5. Zaključak	113
Literatura	117
Popis simbola	120
ŽIVOTOPIS	122

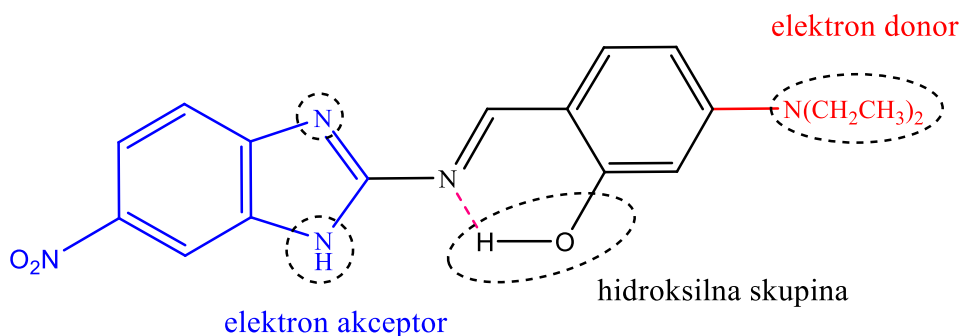
1. Uvod

Emisija izazvana agregacijom (engl. *aggregation induced emission*, AIE) je pojava otkrivena 2001. godine [1]. Do tada su bili poznati samo spojevi čija se emisija gasi uslijed agregacije, odnosno radi se o organskim spojevima koji se ponašaju upravo suprotno spojevima koji pokazuju AIE pojavu (AIEgeni). Kod većine se organskih spojeva emisija smanjuje u agregiranom (krutom) stanju čime je onemogućena primjenu mnogih organskih spojeva u tehnologiji (optoelektronički uređaji, displeji, rasvjeta, senzori). Stoga je primjena organskih spojeva u tehnologiji došla do svojeg procvata nakon otkrića molekula koje pokazuju AIE fenomen. U mnogim je radovima AIE pojava povezana sa Schiffovim bazama, odnosno AIE pojava dala je pozitivan doprinos emisije, čime je omogućena široka primjena Schiffovih baza. Schiffove baze grupa su organskih spojeva sa strukturom prikazanoj na slici 1 (R-skupina može biti ugljikovodični lanac, ali i (hetero)aromatski prsten):



Slika 1. Opća strukturna formula Schiffovih baza.

Osim toga, u brojim radovima prikazano je kako mnogi organski spojevi imaju poboljšana fotofizička svojstva AIE emisije ukoliko pokazuju intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju (*excited-state intramolecular proton transfer*, ESIPT). Uvjet nastanka ove pojave je intramolekularna vodikova veza koja omogućava da ESIPT bojilo postoji u keto i enolnom obliku koji međusobno rezoniraju te daju na taj način poseban energetski doprinos cijeloj molekuli. Također, mnogi radovi ukazuju kako ESIPT proces pokazuju upravo spomenute Schiffove baze. Dakle, posebna fotofizička svojstva Schiffove baze duguju upravo svojoj strukturi, a ukoliko Schiffova baza sadrži nekoliko ili više jednostrukih veza to će uzrokovati AIE pojavu u agregiranom obliku ili u krutom stanju spoja. Nadalje, ukoliko je Schiffova baza D- π -A kromofor ona će imati prisutan dušik u mostu (imino veza) koji povezuje donorsku i akceptorsku skupinu molekule (slika 2).



Slika 2. Struktura spoja 3; Schiffove baze koja je ujedno i D- π -A kromofor.

Ukoliko na samoj molekuli postoji hidroksilna grupa koja je u neposrednoj blizini imino veze doći će do stvaranja intramolekularne vodikove veze, a samim time i do ESPIT pojave. Stoga je moguće da Schiffova baza pokazuje osim AIE pojave i ESIPT proces koji daje svoj doprinos AIE emisiji molekule. Nadalje, u mnogim je radovima spomenuto kako većina AIE gena posjeduju svojstva mehanokromizma, vapokromizma i termokromizma i dr.[1,2] Uzrok tim pojavama je način pakiranja u kristal koji je osjetljiv na vanjske utjecaje (fizičke sile, toplina, pare otapala). Prilikom spomenutih vanjskih utjecaja na kruti uzorak dolazi do promjene načina pakiranja molekula u kristal, što uzrokuje i promjenu fotofizičkih svojstava odnosno promjenu boje i promjenu emisije. Pošto su AIE pojava te ESIPT proces uočeni kod brojnih Schiffovih baza objavljenih u više znanstvenih radova grupa ovih spojeva postaje predmet znanstvenih istraživanja.

U ovom radu karakterizirana je serija Schiffovih baza u cilju pronalaska spojeva koji pokazuju navedene fenomene u svrhu njihove buduće primjene u tehnologiji (pametni materijali, senzori, organske svjetleće diode (*organic light emitting diode*, OLED) te drugi optoelektronički uređaji).

2. Opći dio

1. Fluorescentne probe i senzori

Luminiscencija (lat. *lumen*, 2. *luminis*-svjetlo) je emisija svjetlosti koja nije pobuđena toplinskim procesima nego nekim drugim oblicima energije. Postoji više vrsta luminiscencije koje se međusobno razlikuju prema izvoru energije koji pobuđuje emisiju:

- 1) Kemiluminiscencija ili kemoluminiscencija kemijska reakcija pokreće emisiju
- 2) Bioluminiscencija - pokretač emisije je kemijska reakcija u živom organizmu
- 3) Katodoluminiscencija - pobuda uzrokuje bombardiranje elektrona
- 4) Radioluminiscencija - pobuda potječe od ionizirajućeg zračenja
- 5) Rendgenoluminiscencija - pobuda izazvana X-zrakama
- 6) Fotoluminiscencija - pobuda elektromagnetskim zračenjem (UV, Vis, IC)
- 7) Elektroluminiscencija - nastaje prolaskom struje kroz materijal
- 8) Mehanoluminiscencija - nastaje mehaničkim djelovanjem na krutinu; postoje tri vrste mehanoluminiscencije (triboluminiscencija, fraktoluminiscencija te piezoluminiscencija)
- 9) Sonoluminiscencija - uzrok emisije zvuk
- 10) Termoluminiscencija - uzrok emisije toplina.

Drugi način karakteriziranja luminiscencije je po vremenu trajanj emisije luminofora (luminiscirajuća tvar) nakon što je izvor koji pobuđuje luminofor na emisiju uklonjen. Mnoge tvari nastavljaju luminiscirati neko vrijeme nakon što je izvor energije uklonjen ili isključen. Takva se emisija naziva **fosforescencijom**. No, ukoliko objekt emitira svjetlost isključivo tijekom izlaganja izvoru energije, emisiju nazivamo **fluorescencijom**. [3,4]

Faktori koji utječu na fluorescenciju su:

- a) struktura molekule - više fluoresciraju spojevi sa aromatskim prstenovima
- b) krutost strukture - krutost strukture pogoduje fluorescenciji
- c) otapalo i temperatura - kvantna učinkovitost fluorescencije obrnuto je proporcionalna povišenju temperature, ali je proporcionalna sa viskoznošću otapala.

Primjena fluorescencije i fosforescencije u analitici

Svojstvo nekih tvari da luminisciraju u analitičkoj kemiji ima posebnu važnost. Svojstveno za metodu fluorescencije i fosforescencije je niska granica detekcije, koja je niža nego kod mjerenja apsorbancije (spektrofotometrijska mjerenja). Također, luminiscentne metode imaju šira linearna dinamička područja te pokazuju veću selektivnost nego apsorpcijske metode. Ove su metode i među najosjetljivijim analitičkim tehnikama dostupne znanstvenicima. Osjetljivost fluorimetrijske metode može se povećati povećanjem snage pobudnog snopa ili pojačanjem detektorskog signala. Negativne strane ovih metoda su manja preciznost i točnost. Preciznost je manja zbog izvora šuma, treperenja i pomaka, dok je točnost manja radi čestica i pojava koje prate emisiju, što uzrokuje dodatnu fluorescenciju i raspršenje. Drugi razlog manje točnosti je gašenje fluorescencije analita. Općenito, fluorescencijske metode u analitici mnogo su važnije od manje preciznih fosforescentnih metoda. [5,6]

Primjena luminiscentnih spojeva u kemijskim senzorima

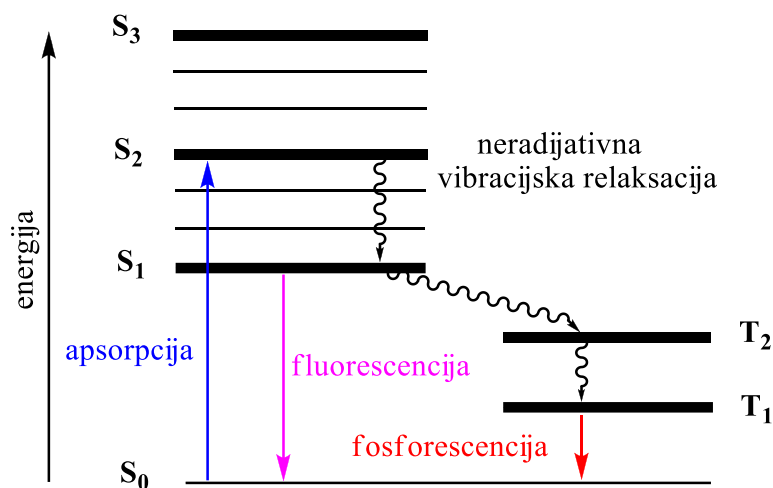
Uloga senzora jest da reagira na prisutnost neke specifične tvari u okolišu te da odredi njezinu koncentraciju. Svaki kemijski senzor treba u sebi imati neku tvar koja će mu pomoći u obavljanju te zadaće. Senzor može također odrediti neku tvar pomoću fluorescentnog kromofora koji mijenja svoja optička svojstva zbog reakcije sa specifičnom određivanom tvari.

Primjena fluorescencije:

- 1) Detektiranje i mjerenje zračenja visoke energije
- 2) Medicinska radiografija
- 3) Elektronski zasloni
- 4) Uređajima sa vakuumskim fluorescentnim zaslonima
- 5) Vizualni efekti
- 6) Istraživanja, dijagnoze i ispitivanja u mikrobiologiji i medicini
- 7) Fluorescentne lampe
- 8) Kemijski senzori.

1.1 Jablonski dijagram

Molekula koja je apsorbirala energiju može pokazati na više načina da je pobuđena, što ovisi o količini primljene energije. Ukoliko je apsorbirana energija dovoljna za prijelaz elektrona iz osnovnog stanja u neko definirano pobuđeno stanje taj prijelaz će se i dogoditi, nakon čega slijedi emisija energije u obliku fotona. Ako je apsorbirana energija nešto manja ona se može manifestirati kao rotiranje jednostrukih veza. Ukoliko je energija koju molekula apsorbira još manja, apsorbirana će se energija manifestirati samo u obliku vibracija. Prema tome svakoj molekuli može se pripisati niz kvantiziranih stanja u kojima se molekula može nalaziti ukoliko se ona pobudi uzevši u obzir da je za svako stanje potrebna određena količina energije. Jablonski dijagram opisuje sva moguća energetska stanja koja postoje u nekoj molekuli, opisuje apsorbiranje energije fotona te načine relaksacije odnosno emisije. Na slici 3 prikazan je Jablonski dijagram [7].



Slika 3. Jablonski dijagram.

Debljim crtama označeno je osnovno stanje S_0 te pobuđena stanja S_1, S_2, \dots, S_n . Ovi energetske nivoi međusobno su na nešto većoj energijskoj udaljenosti. Svakoj energijskoj razini može se pripisati niz rotacijskih stanja koja se prikazuju tanjim crtama, a ti su energetske podnivoi na međusobno bliskoj udaljenosti. Sva rotacijska stanja imaju niz finih bliskih linija koje označavaju vibracijska stanja molekule, a koja predstavljaju još jedan energetske podnivo. U Jablonskom dijagramu apsorpcija te emisija fotona prikazani su strelicama. U slučaju apsorpcije fotona strelice idu prema gore, odnosno iz nižeg energijskog nivoa u viši energetske nivo (pobuđeno stanje), dok u slučaju emisije fotona strelice idu prema dolje, odnosno iz

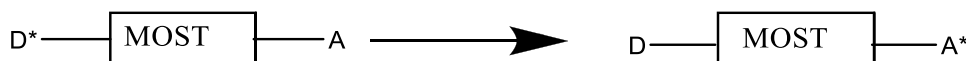
višeg stanja u niže stanje, pri čemu pobuđena molekula prelazi u osnovno stanje. Jednom kada je molekula u pobuđenom stanju ona se spontano vraća u osnovno stanje. Naime, postoji više načina otpuštanja energije prilikom povratka elektrona u osnovno stanje, među kojima valja istaknuti radijativni način te neradijativan način. Ukoliko se radi o radijativnom mehanizmu otpuštanja energije, govorimo o emisiji fotona pri prelasku elektrona u niže energetska stanje. To mogu biti fluorescencija, zakašnjela fluorescencija te fosforescencija. Osnovna razlika fluorescencije i fosforescencije je u tome što se fluorescencijom elektron iz pobuđenog stanja vraća u osnovno stanje iz singletnog stanja, bez promjene spina te sama pojava traje vrlo kratko (traje koliko i sama pobuda). Fosforescencijom se pobuđeni elektron vraća u osnovno stanje iz tripletnog stanja pri čemu dolazi do promjene spina elektrona, zbog čega je taj proces ujedno i sporiji te stoga fosforescencija može trajati i nakon pobude molekule. Prijelaz elektrona iz tripletnog stanja (T_n) obično se naziva zabranjenim prijelazom, no unatoč tomu što se prijelaz naziva 'zabranjenim' on se ipak javlja u prirodi. Zajednička karakteristika fluorescencije i fosforescencije je emisija fotona veće valne duljine od valne duljine pobudnog fotona. U Jablonskom se dijagramu kod fluorescencije i fosforescencije povratak elektrona iz višeg pobuđenog stanja u niže (osnovno) energetska stanje prikazuje ravnim strelicama, no u slučaju neradijativne relaksacije strelice su valovite. U slučaju neradijativne relaksacije nema emisije fotona, već se dobivena energija otpušta putem rotacija i vibracija veza u molekuli, pri čemu se lokalni prostor oko molekule (otapalo) zagrijava. Dakle, generalno se može reći da se energija pobuđene molekule može osloboditi putem svjetlosti i putem topline te njihovom kombinacijom [8].

Pošto je u ovom radu naglasak na AIE pojavi bitno je razlučiti mehanizam relaksacije koji će prevladati kod potencijalnog AIE gena, fluorescencija ili neradijativna relaksacija. Mehanizam relaksacije ovisi o više čimbenika kao što su polarnost i struktura dotičnog spoja te polarnost otapala (ukoliko se spoj nalazi u otapalu). Treba naglasiti kako je za razlikovanje ACQ (engl. *aggregation-caused quenching*, gašenje fluorescencije izazvano agregacijom) i AIE pojave najbitnije poznavati strukturu molekule kojoj se ispituju i proučavaju fotofizička svojstva jer upravo struktura definira hoće li neka molekula fluorescirati ili ne. Ukoliko molekula ima više jednostrukih veza, odnosno dijelove koji mogu rotirati, molekula će na pobudu odgovoriti vibracijama i rotacijama te će takva molekula otpustiti energiju u okolinu neradijativnim putem. Ukoliko je molekula planarna te ako nema mnogo rotirajućih jednostrukih veza, molekula će težiti radijativnoj emisiji u obliku fluorescencije ili fosforescencije (ovisno o tome dali se elektron vraća u niže stanje iz singletnog ili tripletnog stanja). S druge strane, u

slučaju AIE pojave molekule imaju rotirajuće funkcionalne skupine što je tipično za slučaj neradijativne emisije. No, AIE pojava ovisi o tome dali su molekule AIEgena u agregiranom stanju ili su dispergirane u otapalu. Naime, ne samo da se radijativna emisija može ostvariti strukturom molekule koja nema rotirajućih skupina, već se slična stvar događa i u slučaju agregata u kojima su prisutne steričke smetnje koje blokiraju vibracije i rotacije molekula i njihovih funkcionalnih skupina.

1.2. Push-pull kromofori

Organske molekule koje sadrže elektron-donorsku (D) i elektron-akceptorsku (A) grupu na suprotnim krajevima π elektronskog konjugiranog mosta nazivamo *push-pull* odnosno donorsko-akceptorskim sustavima (slika 4) [9]. U D- π -A sustavima donorske i akceptorske grupe pružaju asimetriju naboja dok π konjugirani most osigurava put za preraspodjelu elektronske gustoće tijekom utjecaja vanjskog električnog polja. To je razlog zašto takve molekule imaju dobra optička svojstva. Takvi kromofori od velike su važnosti za kemiju materijala te su ključne komponente za mnoge napredne tehnologije poput nelinearnih optičkih uređaja (NLO), organskih svjetlećih dioda (OLED), fotovoltaznih ćelija i dr. [9]



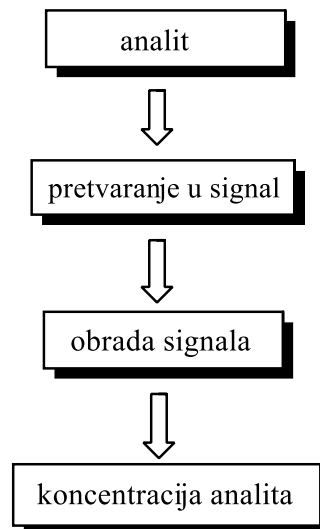
Slika 4. Shematski prikaz donorsko-akceptorskog sustava.

1.3. Kemijski senzori

Karakteristike kemijskih senzora

Kemijski senzori su uređaji koji pretvaraju kemijsku informaciju, koja potječe od kemijske reakcije ili fizikalnog svojstva, u analitički koristan signal[10]. Opis rada senzora dan je na slici 5 [11]. Kemijski senzor sastoji se uglavnom od pretvornika i receptora, no može sadržavati i separator (npr. membranu). Razni senzori mogu biti kombinirani u setove koji se često zovu multisenzori [12]. Senzori su obično dizajnirani da rade pri određenim uvjetim za određivanje specifičnih analita u definiranim tipovima uzoraka, no nije nužno da senzor

odgovara samo na jedan specifičan analit. U pažljivo kontroliranim uvjetima signal analita može biti nezavisan od drugih komponenti uzorka što omogućuje određivanje analita bez velike obrade uzorka. Kemijski senzor može biti korišten kao komponenta analizatora, u kojem je senzor ključna komponenta. Analizator može sadržavati uređaje sa funkcijama poput uzorkovanja, transporta uzorka, obrade signala te obrade podataka. Analizator pak može biti dio još većeg automatiziranog sustava. Primjeri senzora su staklena elektroda, kisikova elektroda, optrode (senzori s optičkim vlaknima) itd.



Slika 5. Glavne faze u radu senzora.

Tipični dijelovi senzora i njihove uloge

Receptor je kemijski selektivna faza prepoznavanja [10]. U ovom dijelu kemijskog senzora kemijska se informacija pretvara u oblik energije koju pretvornik može mjeriti [12]. Receptor se može bazirati na različitim principima:

- Fizikalni-nema reakcije, mjeri se apsorbancija, indeks loma, vodljivost, promjena mase ili temperature (fizikalna svojstva)
- Kemijskim-analitički signal rezultat je kemijske reakcije (u kojoj sudjeluje analit)
- Biokemijskim-izvor analitičkog signala je biokemijski proces. Ovaj se tip senzora naziva biosenzorom i može se smatrati podgrupom kemijskih senzora. Primjer biosenzora su mikrobnj potencimetrijski senzori ili imunosenzori.

Pretvornik je uređaj koji pretvara informaciju sadržanu u ne-električnom obliku u električni oblik i obratno [13]. Njegova zadaća u sklopu senzora je transformiranje energije koja nosi

kemijsku informaciju o uzorku u analitički koristan signal [12]. Primjeri pretvarača su fotodiode, fotomultiplikatori te drugi elektronički fotodetektori koji proizvode struju ili napon proporcionalno energiji elektromagnetnog zračenja koje pada na njihovu površinu. Ulogu pretvarača imaju još i termistori, mjerni instrumenti te *Hall*-efekt pretvarači. Uređaj za očitavanje također je jedan tip pretvornika. On pretvara informaciju iz električnog signala u formu razumljivu ljudskom promatraču (npr. alfanumerički znakovi).

Na konkretnom primjeru; optroda ima fotopretvarač koji je vezan za optička vlakna koja su na svom kraju, suprotno pretvorniku, pokrivena sa spojem koji specifično odgovara na fizikalna ili kemijska svojstva nekog analita.

Klasifikacija kemijskih senzora (IUPAC)

Kemijski senzori mogu se podijeliti prema operativnom principu pretvornika na:

1. Optičke senzore
2. Elektrokemijske senzore
3. Električne uređaje
4. Uređaje osjetljive na promjenu mase
5. Magnetske uređaje
6. Termometrijske uređaje
7. Druga fizikalna svojstva poput α , β ili γ -zračenja također mogu biti baza za kemijske senzore u slučaju da se radi o utvrđivanju kemijskog sastava.

Ova klasifikacija predstavlja jednu od mogućih (senzori su ovdje klasificirani po korištenoj metodi za mjerenje). Moguće koristiti razne klasifikacije ukoliko su one dobro definirane i logične.

Optički senzori

Optički senzori ili optode uređaji su koji analiziraju analit koristeći optičke pojave. Za analizu su bitne promjene optičkih svojstava analita koje nastaju zbog interakcije analita sa receptorom. Pošto postoji puno optičkih fenomena koji se mogu koristiti za analizu tvari, postoji i puno vrsta optroda. Rad optičkih senzora može se temeljiti na mjerenju refleksije, loma ili raspršenja svjetlosti, zatim apsorpcije, luminiscencije, fluorescencije te optotermičkih efekata. Porast primjene i razvoja optičkih kemijskih senzora napreduje još od 1980-e. Ovaj uspon povezan je sa velikim napretkom u optoelektronici koja je napravila

jeftino dostupne minijaturizirane izvore energije i fotodetektore. Osim toga, dostupnost visoko kvalitetnih vlakana omogućio je razvoj i korištenje senzora baziranih na optičkim vlaknima za biomedicinske i industrijske namjene [12,13,14].

Prednosti optičkih kemijskih senzora [14]:

- mogućnost minijaturiziranja (do submikrometarskih dimenzija),
- ne zahtijevaju odvojeni referentni senzor,
- nisu osjetljivi na električne i elektromagnetske smetnje,
- lakoća rukovanja,
- sposobnost kontinuiranog mjerenja,
- mala potrošnja energije,
- niska cijena proizvodnje,
- mogućnost masovne proizvodnje.

Nedostaci optičkih kemijskih senzora su temperaturna ovisnost te ograničena dugoročna stabilnost uzrokovana fotoizbjeljivanjem ili ispiranjem.

Ove se negativne strane mogu rješavati upotrebom primjerene indikatorske boje, senzorskog mehanizma te detekcijske metode. Ključan faktor za uspješan razvoj optičkih senzora je dizajn optički vodljive platforme.

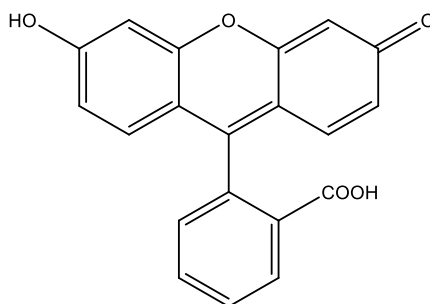
2. Emisija izazvana agregacijom (AIE)

Agregat se definira kao cjelina sastavljena od više zasebnih podjedinica odnosno kao skup podjedinica koje se drže zajedno. U ovome radu agregat označava nakupinu molekula odnosno klaster. S obzirom na ponašanje klastera (luminofora) pri pobudi molekula UV područjem svjetlosti razlikujemo dvije međusobno suprotne pojave [15]. To su

- 1) ACQ (engl. *aggregation-caused quenching*)-gašenje fluorescencije izazvano agregacijom
- 2) AIE (engl. *aggregation-induced emission*)-emisija izazvana agregacijom

2.1. Gašenje fluorescencije izazvano agregacijom (ACQ)

Tipičan primjer ove pojave je fluorescein (slika 6) koji se ponaša kao ACQ fluorofor. Fluoroforima se nazivaju tvari koje pokazuju svojstvo fluorescencije. Fluorescein je molekula koja je topiva u vodi, ali netopiva u većini organskih otapala. Ukoliko se fluorescein otopi u vodi dolazi do fluorescencije zelenkaste boje pri pobudi (UV svjetlost). No, ukoliko se u takvu otopinu postepeno dodaje nepolarano otapalo (u kojem je fluorescein slabo topiv), fluorescein će agregirati. Doda li se aceton otopini fluoresceina u vodi tako da aceton bude u udjelu od 60% lako je opaziti kako se intenzitet fluorescencije značajno smanjuje. Pri udjelu acetona od 70% otopina gotovo da i ne fluorescira. Zbog formiranja nanoklastera fluoresceina, fluorescencija otopine se gasi, zbog čega se ova pojava i zove ACQ. Uzrok ovoj pojavi leži u samoj strukturi molekule te načinu njena slaganja u agregate. Fluorescein je planarne, policikličke aromatske strukture i upravo takva struktura omogućava jednostavno pakiranje molekula u agregate. Molekule fluoresceina povezuju se u klastere π - π interakcijama koje su karakteristične za planarne aromatske spojeve [15]. Prah fluoresceina (krutina) također pokazuje ACQ, odnosno ne fluorescira.

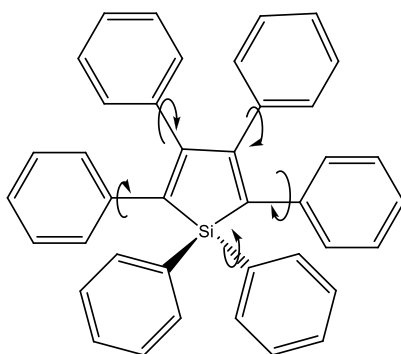


Slika 6. Struktura molekule fluoresceina.

U optoelektroničkim uređajima poput LED dioda (engl. *light emitting diode*) luminofor se obično nalazi u agregiranom obliku kao tanki film. Za takav slučaj poželjno je da agregat ipak pokazuje pojavu suprotnoj ACQ, a riječ je o AIE pojavi.

2.2. Emisija izazvana agregacijom (AIE)

Emisija izazvana agregacijom suprotna je pojava u odnosu ACQ [15]. Molekule koje pokazuju AIE pojavu obično se nazivaju AIEgenima, a radi se o molekulama koje nakon agregiranja pokazuju intenzivnu fluorescenciju. AIEgeni obično imaju strukture koje podsjećaju na propeler (propelerske strukture), a osim toga sadrže jednostruke C-C veze koje se mogu rotirati u raznim smjerovima, tako da se taj molekularni propeler zaista i pokreće. Klasični primjer AIEgena je heksafenilsilol (HPS), koji je prikazan na slici 7:



Slika 7. Struktura heksafenilsilola; propelerske molekule koja ima 6 jednostrukih veza koje slobodno rotiraju.

HPS molekula nepolarnog je karaktera, što je čini dobro topivom u nepolarnom otapalu poput tetrahidrofurana (THF). Tako otopljen HPS ne pokazuje fluorescenciju, no ukoliko se otopini doda voda, u kojoj je HPS slabo topiv, HPS molekule bit će prisiljene formirati agregate. Naime, agregiranje molekula luminogena posve je spontan proces ukoliko se agregirajuće molekule nalaze u neposrednoj blizini, odnosno na maloj udaljenosti. Ukoliko je u sustavu voda-THF udio vode 80%, otopina počinje pokazivati intenzivnu fluorescenciju izazvanu upravo agregacijom HPS molekula. Tako pripravljene otopine (sa većim udjelom vode) fluoresciraju, a i sami kristalići AIEgena pokazuju intenzivnu fluorescenciju u čvrstom stanju (*solid state fluorescence*).

Mehanizam AIE

Četiri su pojave kojima se AIE obično opisuje [15]:

- 1) **RIR**-engl. *restriction of intramolecular rotation*, što znači ograničavanje intramolekularnih rotacija
- 2) **JAF**-engl. *J-aggregate formation* odnosno formiranje J-agregata
- 3) **TICT**-engl. *twisted intramolecular charge transfer*, što znači intramolekularni prijenos naboja izvijanjem
- 4) **ESIPT**-engl. *excited-state intramolecular proton transfer*, što znači intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju.

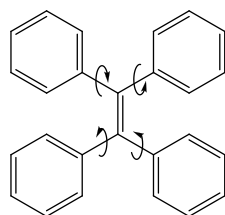
2.2.1. Ograničavanje intramolekularnih rotacija (RIR)

U ovom dijelu poglavlja neće se samo usko raspravljati o RIR procesu već će biti riječi i o RIV (engl. *restriction of intramolecular vibrations*), RIM (engl. *restriction of intramolecular motions*), te EZI (engl. *photo-induced E-Z isomerization process*) procesu. Svi spomenuti procesi donekle su slični te su povezani sa pojavama AIE i ACQ fenomenima.

RIR proces

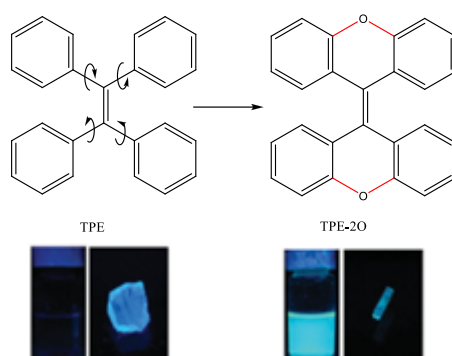
Za razumijevanje AIE pojave vrlo je važno razjasniti njenu vezu sa ograničenjem intramolekularnih rotacija (RIR procesom), što je lakše obraditi na primjeru već spomenute molekule HPS. Naime, bilo kakvo kretanje troši energiju, bez obzira da li je riječ o mikroskopskim (česticama) ili makroskopskim dimenzijama (stvar, predmet). Kretanje koje se događa u molekuli obuhvaća rotacije oko jednostrukih veza i vibracije. HPS molekula ima 6 fenilnih prstenova povezanih na jezgru silola. Fenilne skupine (rotori) mogu dinamično rotirati naspram silolnog 'statora' pošto su vezane za silanol jednostrukim vezama. Ukoliko je HPS otopljen u pogodnom otapalu on će biti raspršen u molekularnom obliku te će njegove fenilne grupe moći nesmetano rotirati. Spomenute rotacije jednostrukih veza omogućavaju neradijativnu relaksaciju (relaksaciju bez emisije fotona) molekule iz pobuđenog u osnovno stanje. Ukoliko je HPS agregiran u otopini ili ako je u krutom stanju (prah, kristalići) fenilne grupe neće moći rotirati zbog steričkih smetnji, a to je upravo RIR proces. Drugim riječima, u kristalnom obliku, kada se HPS molekule nalaze jedna do druge, dolazi do ograničavanja intramolekularnih rotacija. RIR proces omogućava molekuli da promijeni mehanizam relaksacije iz neradijativnog u radijativni mehanizam te stoga dolazi do emisije fotona ukoliko se molekula pobudi fotonima veće energije (UV područje spektra). Iz toga slijedi kako je upravo RIR proces zaslužan za AIE fenomen kod propelerskih molekula. U literaturi se spominju brojni kontrolni eksperimenti čiji je cilj provjeriti dali je RIR proces najvećim dijelom zaslužan za AIE pojavu. Napravljeni su testovi koji uključuju povećanje viskoznosti otapala, smanjenje temperature otopine te tlačenje krutog filma. Sva tri navedena uvjeta povećavaju steričke smetnje koje onemogućavaju rotacije fenilnih grupa HPS molekule. Zaključeno je kako HPS emitira većom učinkovitošću u otapalima veće viskoznosti, u otopinama niže temperature te pri većim tlakovima ako je riječ o krutim filmovima. Rezultati eksperimenata pokazuju kako je RIR proces zaista zaslužan za AIE pojavu za slučaj HPS molekule. Čak i teoretski računi te simulacije intramolekularnih rotacija niske frekvencije podržavaju RIR mehanizam [15].

Postoje i brojne molekule slične HPS molekuli koje također zbog RIR procesa pokazuju AIE pojavu. Jedna od tih molekula je i TPE molekula, čija je struktura prikazana na slici 8:



Slika 8. Struktura molekule TPE.

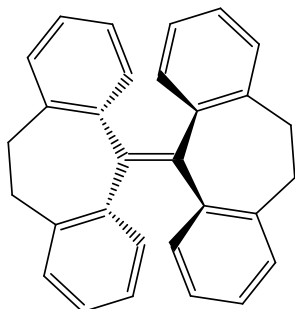
Ako se TPE molekula modificira na način da se onemogući rotacija fenilnih prstenova, TPE će fluorescirati prilikom pobude bilo da se on nalazi u krutom stanju ili otopljen u pogodnom otapalu. Eksperiment je prikazan na slici 9:



Slika 9. Zatvaranje fenilnih rotora TPE molekule kovalentnom vezom čini TPE molekulu AIE neaktivnom [15].

RIV proces

Postoje molekule koje pokazuju AIE pojavu, ali nemaju jednostruke veze u strukturi te samim time nemaju elemente koji mogu rotirati. Stoga RIR mehanizam kod takvih molekula nije moguć. Primjer jedne takve molekule je THBA (10,10',11,11'-tetrahidro-5,5'-bidibenzo[*a, d*] anuleniliden). Struktura THBA prikazana je na slici 10:

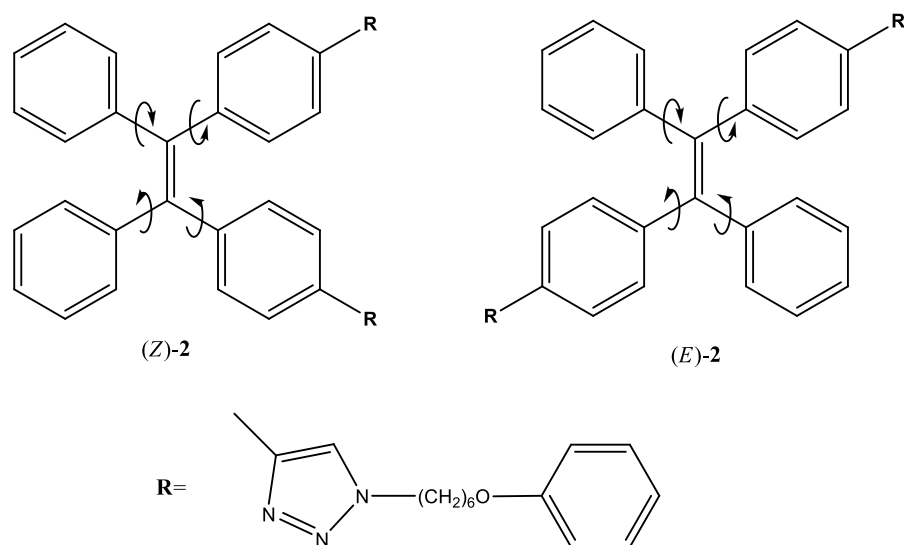


Slika 10. Struktura THBA molekule.

THBA molekula je poput cjeline sastavljene od dva fleksibilna dijela, a oba fenilna prstena povezani su savitljivom poveznicom. Stoga cijela molekula može poprimiti anti-konformaciju. Savitljivost poveznice omogućava fenilnim prstenima da se dinamično svijaju ili vibriraju ako su THBA molekule dispergirane u otopini. Dakle, ova molekula vibracijama omogućava neradijativnu relasaciju iz pobuđenog u osnovno stanje. Ukoliko je THBA molekula u krutom stanju ona zbog steričkih smetnji ne može vibrirati te mijenja način relaksacije u radijativni, zbog čega se javlja emisija ukoliko ova molekula pobudi [15].

EZI proces

EZI proces (*photo-induced E-Z isomerization process*) je fotoinducirana E-Z izomerizacija koja se također može javiti kod nekih molekula pored RIR procesa. Dakle, ukoliko molekula ima mogućnost rotacije svojih funkcionalnih grupa ili mogućnost promjene konformacije prilikom pobude ona neće fluorescirati. Pitanje je koji je od ova dva procesa (RIR ili EZI) dominantniji po pitanju gašenja fluorescencije. EZI proces može se pokrenuti na dva načina, prvi je uz korištenje UV svjetlosti velike snage, a drugi je dovođenjem toplinske energije. Eksperiment sa derivatom TPE molekule koja sadrži R skupinu prikazan je na slici 11:



Slika 11. Derivati TPE molekule koji pokazuju izomerizaciju, a korišteni su u eksperimentu za utvrđivanje dominantnog uzroka AIE pojave (EZI ili RIR).

Potom je svjetlosnim putem inducirana izomerizacija čistih stereoizomera TPE derivata, a promjena konformacije molekula pratila se pomoću NMR-a. Rezultati su pokazali kako je RIR proces dominantniji od EZI procesa te on ima značajniju ulogu za AIE pojavu.

RIM proces [15]

Na temelju svega može se zaključiti kako su za AIE pojavu odgovorni i RIR i RIV proces, ovisno o strukturi molekule AIEgena. RIM (engl. *restriction of intramolecular motion*) obuhvaća vibracije te rotacije podjedinica luminogena. Stoga se može reći kako je upravo RIM proces zaslužan za AIE pojavu, a to se se odnosi na molekule strukture propelera (HPS, TPE) te školjke (THBA).

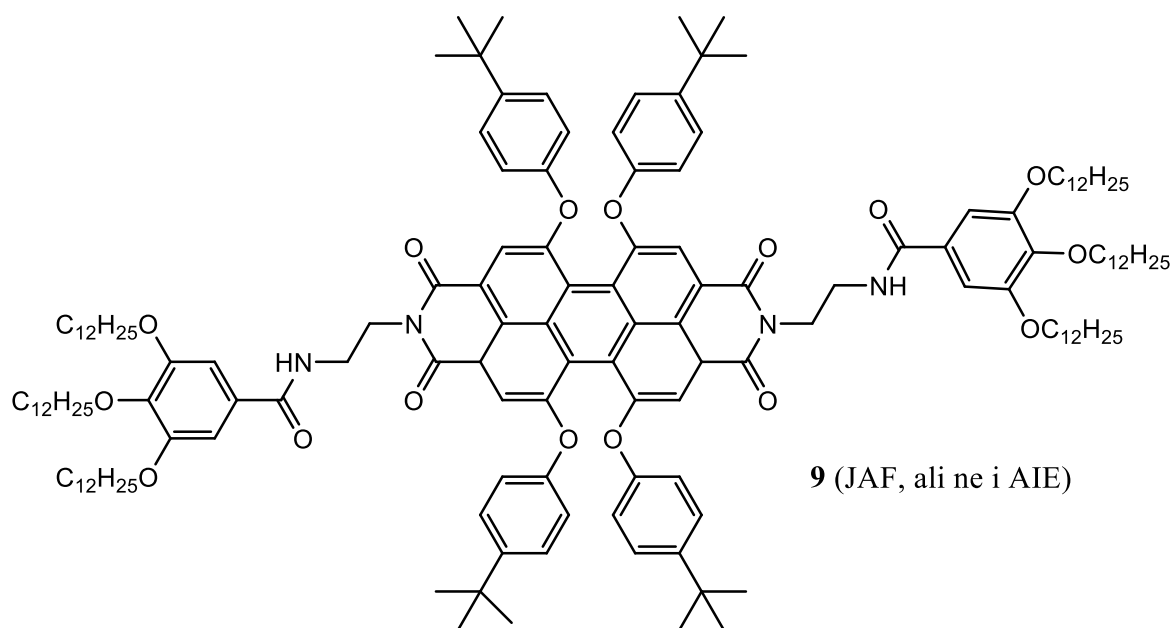
No, ako svaka molekula može vibrirati na razne načine (svijanje, istezanje, okretanje, izvijanje, smicanje), zašto onda ne pokazuju sve molekule AIE svojstvo? Da li će neki luminogen biti ujedno i AIEgen ovisi o njegovoj konformacijskoj fleksibilnosti i vibracijskoj amplitudi. Drugim riječima, samo luminogeni koji koji mogu svoje podjedinice zakretati za relativno veći kut te vibrirati većom amplitudom pokazuju AIE aktivnost.

2.2.2. Formiranje J-agregata (JAF)

J-agregati su tip bojila čija se apsorpcijska vrpca pomiče prema većim valnim duljinama (batokromni pomak) uz povećanje intenziteta kada agregiraju pod utjecajem otapala ili aditiva ili koncentracije kao rezultat supramolekularnog samosastavljanja. Takvo bojilo može biti karakterizirano malim Stokesovim pomakom te uskom vrpcom. Prema definiciji danoj u literaturi vrijede sljedeća pravila u vezi J-agregata [15]:

- 1) Pomak u crveno (prema većim valnim duljinama) te poboljšanje luminiscencije ne mora nužno biti uzrokovano J-agregatima.
- 2) Nije nužno da monomerna jedinica mora pokazivati emisijska svojstva.
- 3) Ne mora svaki J-agregat pokazivati AIE te AEE (engl. agregation enhanced emission).

Za bolje razumijevanje navedenih pravilana na slici 12 predočena je struktura spoja 9 koji pokazuje JAF aktivnost, odnosno neaktivnost s obzirom AIE.



Slika 12. Spoj 9 derivat je perilen bisimida (PBI).

Spoj 9 na slici 12 pokazuje JAF, ali je AIE neaktivan. Spomenutom spoju snimani su UV/Vis spektri u različitim otapalima kako bi mu se proučila svojstva[15]:

Diklormetan

U diklormetanu spoj 9 raspršen je u obliku monomera. UV/Vis spektri ovog spoja pokazuju apsorpcijski maksimum na 583 nm te emisijski maksimum na 621 nm. Apsorpcijske i emisijske vrpce UV/Vis spektara spoja 9 poprilično su široke. Puna širina na polovici maksimuma za λ_{abs} iznosi 2311 cm^{-1} , dok za λ_{em} širina iznosi 1780 cm^{-1} .

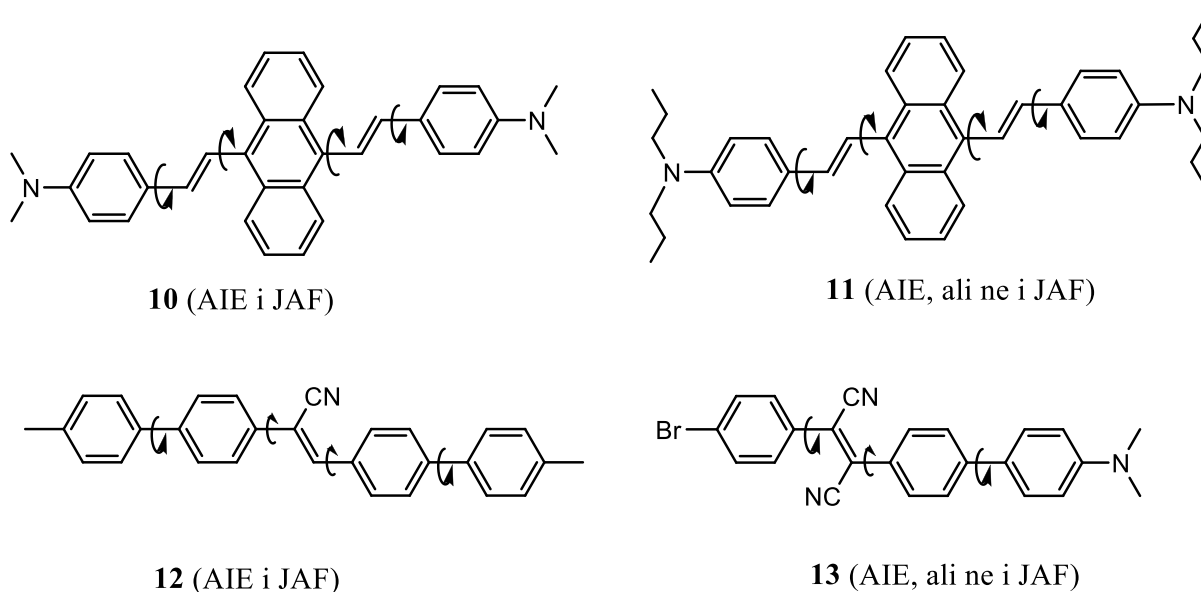
Metilcikloheksan (MCH)

U ovom nepolarnom otapalu spoj 9 formira agregate, što se vidi po rezultatima mjerenja UV/Vis spektara. Apsorpcijski spektar u ovom otapalu pokazuje intenzivnu oštru vrpcu popraćenu batokromnim pomakom (pomak prema crvenom) od 13 nm u odnosu na vrpcu monomera. Emisijski spektar također je drugačiji te je došlo do Stokesovog pomaka od 11 nm. Puna širina na polovici maksimuma znatno se smanjuje u odnosu na spektre snimljene u diklormetanu. Naime, puna širina na polovici maksimuma za λ_{abs} iznosi 850 cm^{-1} , dok za λ_{em} širina iznosi 786 cm^{-1} .

Aceton i dioksan

Pri malim koncentracijama i visokim temperaturama spoj 9 je u monomernom stanju u acetonu i dioksanu. Ukoliko se radi o niskim temperaturama te visokim koncentracijama formira se organogel. Kvantno iskorištenje (Φ_F) monomernog spoja 9 u razrijeđenoj otopini dioksana vrlo je visoka i iznosi 100%, no kada se u MCH formiraju J-agregati spoja 9 kvantno iskorištenje pada na 82%. U gel fazi u dioksanu kvantno iskorištenje pada čak na 20%.

Dakle, u MCH spoj 9 zaista formira J-agregate (JAF), no dobiveni agregati pokazuju slabiju emisiju u odnosu na monomerni oblik. Drugim riječima, Spoj 9 je ACQ aktivan te AIE neaktivan iako stvara J-agregate. Na slici 13 nalaze se primjeri drugih spojeva koji pokazuju različitu aktivnost s obzirom na JAF i AIE.



Slika 13. Primjeri strukture spojeva te njihova aktivnost, odnosno neaktivnost s obzirom na JAF i AIE [15].

Dakle, pojam agregata, kada govorimo u kontekstu AIE, definiran je kao cjelina sastavljena od više dijelova. Kod AIE agregata luminogen može biti polaran ili nepolaran, pakiranje molekula u agregat može biti nasumično ili definirano, spektar može biti nepromijenjen, ali može pokazati pomak prema crvenom ili plavom dijelu spektra, Stokesov pomak (razlika valne duljine maksimuma emisije i apsorbancije) može biti veliki ili mali. Opseg J-agregata puno je uži stoga što se obično referira na grupu specifičnih bojila koja [15]:

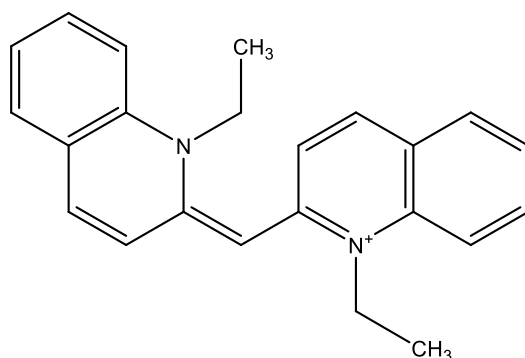
- imaju polarne funkcionalne grupe ili imaju funkcionalne grupe sa D-A interakcijama
- imaju vrlo definirano pakiranje u agregate
- pokazuju crveni pomak u apsorpcijskom ili emisijskom spektru
- pokazuju vrlo mali Stokesov pomak.

J-agregati mogu biti razmatrani kao podskupina AIE sustava ukoliko pokažu AIE aktivnost. Nadalje, o molekularnoj strukturi te strukturi agregata ovisi dali JAF vodi AIE pojavi. Ako bojilo ima krutu (rigidnu) i planarnu strukturu poput spoja 9, čak i ako molekula formira J-agregat ona bude AIE neaktivna zbog efekta gašenja uzrokovanog jakim π - π interakcijama slaganja molekula u agregate. S druge strane, ako je luminogen konformacijski fleksibilan i izvijene strukture, on će u otopini pokazivati neradijativnu emisiju, dok će u krutom stanju pokazivati radijativnu emisiju zbog RIM procesa. Takvi luminogeni pokazivat će AIE aktivnost bez obzira na to dali molekule tog spoja mogu formirati J-agregat ili ne. U J-

agregatima koje su formirale takve molekule luminogena JAF proces služi kao sredstvo koje djelotvorno učvršćuje molekularnu konformaciju i potpomaže RIM proces. Upravo je RIM proces taj koji ima ključnu ulogu u AIE procesu, jer upravo o njemu ovisi dali će neka molekula pokazivati AIE ili neće. Također valja napomenuti kako JAF proces ne može objasniti zašto se svjetlosna emisija nekog AIE gena u otopini gasi.

H-agregati

Neka bojila pokazuju pomak prema plavom dijelu spektra, što je upravo suprotno J-agregatima. Takva su bojila nazvana H-agregatima jer pokazuju hipsokromni pomak u spektru. Osim po plavom pomaku, spektar H-agregata (H-vrpce) razlikuje se od spektra J-agregata (J-vrpca) po obliku i širini. H-vrpca pokazuje mnoštvo vibracijskih struktura te je jednako široka kao i vrpca monomera. Naime, postoje i spojevi poput pseudoizocijanina (PIC, slika 14), koji pokazuju J- i H- aggregate [16].

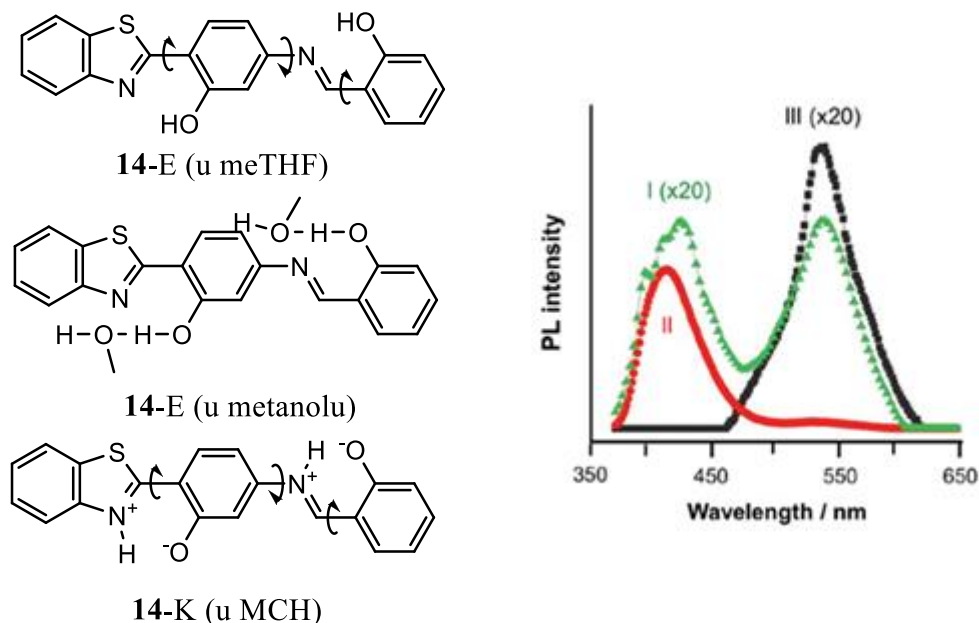


Slika 14. Struktura kationa pseudoizocijanina (PIC).

2.2.3. Intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju (ESIPT)

ESIPT je vrlo brzi fotoinducirani prijenos protona u kojem posreduje intramolekularna vodikova veza [15]. Slično kao i JAF, ESIPT proces može se smatrati kao AIE mehanizam za neke specifične luminogene zato što je svjetlosna emisija nekih ESIPT bojila poboljšana u agregiranom stanju. ESIPT bojila ekstenzivno su istraživani funkcionalni materijali zbog prijenosa protona koji se odvija u ciklusu od četiri koraka. Nadalje, poznato je kako su ESIPT bojila stabilnija u enolnom (E) i keto (K) obliku u osnovnom i pobuđenom stanju. Vrlo brzi ciklus od četiri koraka (E-E*-K*-K) odvija se preko intramolekularne vodikove veze ubrzo nakon fotoekscitacije molekule bojila. Ciklus prelaska protona popraćen je velikim

Stokesovim pomakom bez mogućnosti samoapsorpcije. ESIPT proces ne može u potpunosti objasniti zašto je luminiscencija nekog ESIPT bojila poboljšana u agregiranom stanju. Primjer jednog AIE aktivnog ESIPT luminogena je spoj 14, prikazan na slici 15 [15].



Slika 15. Prikazane su strukture enolnog i keto oblika spoja 14 sa ESIPT karakteristikama te emisijskim spektrom njegovih razrijeđenih otopina (10 μ M) u meTHF (spektar I), MetOH (spektar II) te MCH (spektar III) pri sobnoj temperaturi. Spektar I i III vrlo su slabog intenziteta te su povećani 20 puta kako bi se lakše vidjeli. Valna duljina pobude iznosi 355 nm.

Kako intramolekularni prijenos protona može biti inhibiran formiranjem intermolekularne vodikove veze sa okolnim molekulama otapala, ESIPT proces spoja 14 pod znatnim je utjecajem polarnosti otapala. Zbog toga emisija znatno varira ovisno o otapalu u kojem je ESIPT bojilo otopljeno. U neprotoskom otapalu poput metiltetrahidrofurana (MeTHF), spoj 14 pokazuje 2 maksimuma na 416 i 538 nm. Ovi pikovi pripisani su emisijama enolnog i keto oblika spoja 14 koji su zapravo tautomeri koji su u ravnoteži zbog osrednje polarnosti otapala. Bez obzira na to koji oblik spoj 14 poprimi u razrijeđenoj meTHF otopini (E ili K) dva emisijska maksimuma vrlo su slaba. Dispergirani u razrijeđenoj otopini, spoj 14 (koji nije planaran) u molekularnom obliku može biti podložan promjeni konformacije. Jednostruke veze mogu slobodno rotirati te molekula ne može provesti relaksaciju radijativnim putem. Ipak, ukoliko je spoj 14 otopljen u protoskom polarnom otapalu poput metanola, iako

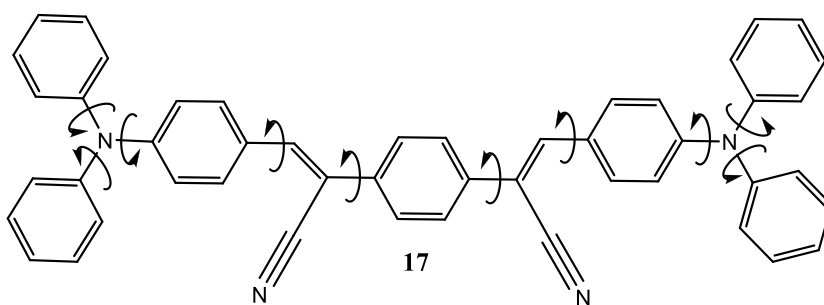
spektar pokazuje dva maksimuma, E emisijska vrpca pri 416 nm svojim intenzitetom nadjačava K emisijsku vrpcu na 538 nm. U otopini metanola intramolekularna vodikova veza zamijenjena je sa intermolekularnom vodikovom vezom između molekule luminogena spoja 14 te molekule metanola. Kao rezultat toga intramolekularne rotacije postaju djelomično ograničene. Radijativna relaksacija nije potpuno ugašena te E emisija postaje jača nego što je bila u otopini THF. U nepolarnom otapalu kao što je MCH postoji samo jedan emisijski maksimum pri 538 nm čiji je intenzitet vrlo slab. Postoji slaba interakcija između spoja 14 i nepolarnog otapala. Luminogen stoga prolazi kroz puni ESIPT proces posredovan intramolekularnom vodikovom vezom te potpuno prelazi u keto oblik. Ovakva je struktura fleksibilna i izvijena te su njena intramolekularna gibanja zaslužna za disipaciju većine energije koju molekula dobiva od pobude, što rezultira gašenjem fluorescencije u otopini.

Kada se temperatura smanji dolazi do povećanja emisije spoja 14 u svim nepolarnim te u svim protonskim i neprotonskim polarnim otapalima, uključujući MCH, metanol i meTHF. Na primjer, ukoliko se otopina ohladi sa sobne temperature na 140 K emisija otopine spoja 14 u MCH postaje oko 28 puta intenzivnija. Dakle, bez obzira na odvijanje ESIPT procesa, emisija spoja 14 postaje poboljšana kako temperatura pada. ESIPT proces nebi trebao biti nužni uzrok AIE efekta kod ESIPT luminogena. Ako je 140 K blizu ili ispod točke zamrzavanja MCH, metanola ili meTHF, otapalo bi trebalo biti viskoznije ili u kristaliziranom stanju pri spomenutoj temperaturi. U takvim uvjetima intramolekularna gibanja spoja 14 značajno su ograničena te dolazi do poboljšanja fluorescencije. To potvrđuje da RIM proces ima značajnu ulogu u poboljšanju fluorescencije spoja 14 pri niskim temperaturama.

2.2.4. Intramolekularni prijenos naboja izvijanjem (TICT)

Svaki AIEgen može biti smješten u jednu od dvije grupe [15]. Prva grupa obuhvaća AIEgene koji nemaju D-A (donor-akceptor) strukturu, dok drugu grupu čine AIEgeni koji imaju D-A strukturu. U slučaju AIEgena koji nemaju D-A strukturu vrijedi pravilo da je gašenje emisije u otopini uzrokovano torzijskim i vibracijskim gibanjima te da je za AIE svojstvo koje pokazuju agregati zaslužan RIM proces. Međutim, AIEgeni sa D-A sustavom imaju slabu emisiju u otopini koja se obično opisuje kao 'mračno stanje' odnosno TICT stanje. Smatra se da kod agregiranog stanja AIE svojstvo (za D-A AIEgene) proizlazi iz inhibicije transformacije od (lokalno) pobuđenog stanja do TICT stanja. Drugim riječima, ono što je

RIM za spojeve bez D-A strukture to je TICT za spojeve koji imaju D-A strukturu. TICT proces osjetljiv je na promjene u okolini, a to se posebno odnosi na varijacije polarosti. Tu pojavu bolje je objasniti na primjeru spoja 17 (slika 16), koji se sastoji od dva para D-A jedinica. U otopljenom obliku pokazuje solvatokromni efekt te se emisija pomiče od zelene ($\lambda_{em} = 510$ nm) u heksanu (nepolarano otapalo) do crvene ($\lambda_{em} = 667$ nm) u dimetilformamidu (DMF, polarno otapalo). Iako je prisutan pomak emisije prema crvenom dijelu spektra fluorescencija je preslaba da bi se lako vidjela.



Slika 16. Spoj 17 koji sadrži dva para D-A jedinica.

U nepolaranom otapalu planarna konformacija spoja 17 stabilizirana je elektronskom konjugacijom koja pokazuje oštiji fluorescencijski spektar u lokalnom pobuđenom stanju. Molekularno izvijanje u polarnom otapalu transformira spoj 17 iz lokalnog pobuđenog stanja u TICT stanje te je prisutna potpuna separacija naboja između donorske i akceptorske jedinice D-A sustava. Zbog učinka otapanja izvijena konformacija spoja 17 je stabilizirana u polarnom otapalu. Podizanjem HOMO razine u polarnom otapalu dolazi do sužavanja zabranjene zone te povećanja batokromnog efekta u emisijskom spektru. Fluorescencija je oslabljena zbog susceptibilnosti TICT stanja u neradijativnu relaksaciju. Spoj 17 otopljen u razrijeđenom polarnom otapalu ponaša se drugačije nego u obliku kristala kada emitira intenzivno narančasto-crvenu svjetlost na 610 nm sa visokim kvantnim iskorištenjem od 31% koje ujedno i potvrđuje AIE aktivnost. Ako se AIE svojstvo krutog stanja pripiše inhibiciji TICT procesa ne mogu se (teško objasniti/ne mogu objasniti) objasniti veliki pomaci valne duljine (emisije) te poboljšanje intenziteta emisije naspram spektra kada je spoj 17 u otopljenom stanju.

Naime, ne pokazuje svako TICT bojilo AIE svojstvo. Da li će TICT bojilo pokazivati AIE fenomen ovisi o konformacijskoj fleksibilnosti te rotacijskom gibanju. Iako rotacija i izvijenost imaju ključnu ulogu u TICT procesu ipak nije nužno da u molekuli mora postojati

velik broj rotora te da su rotacijske amplitude velike. TICT proces aktivan je kod luminogena u otopljenom obliku. S druge strane, intramolekularna gibanja nekog AIE luminogena u otopini mora biti dovoljno intenzivno kako bi se dogodilo rasipanje energije pobuđenog stanja te bi gibanja trebala biti ograničena kako bi se uspostavio radijativni tip relaksacije u agregatima. Naime, u AIE TICT luminogenu mora postojati više rotora kako bi se maksimizirao efekt gašenja emisije u otopini te mora postojati višesmjerno ukrućenje strukture kako bi se ograničila intramolekularna gibanja u agregatima. TICT mehanizam može opisati samo ponašanje emisije u nepolarnim otapalima, dok RIM proces može objasniti fotofizičke pojave i u otopini i kod agregata.

Svi eksperimentalni podaci zajedno daju neku predodžbu o emisijskom ponašanju AIE TICT luminogena. U nepolarnom otapalu luminogen sa planarnom konformacijom te konjugiranom D-A strukturom emitira visokim intenzitetom u području kraćih valnih duljina iz lokalno pobuđenog stanja (eng. *local excited state*, LE stanje). Kada se poveća polarnost otapala konformacija luminogena postaje djelomično izvijena te dolazi do djelomične separacije naboja. Tada je emisija pomaknuta prema crvenom, ali intenzitet pada zbog prijelaza iz lokalno pobuđenog stanja (LE) u TICT stanje. Ukoliko se polarnost otapala još poveća D-A jedinice postaju još više izvijene. Veliko konformacijsko izvijanje prekida elektronsku konjugaciju te omogućava lakšu intramolekularnu rotaciju. Potom se zbiva potpuna separacija naboja koja se stabilizira uz pomoć okružujućih molekula otapala. Emisija se gasi te se još više pomiče prema crvenom dijelu spektra zbog podizanja HOMO razine te snažnih intramolekularnih gibanja. Kada molekule luminogena agregiraju lokalno okruženje postaje manje polarno i D-A struktura postaje manje izvijena. Emisija se tada pomiče prema plavom dijelu spektra zbog prijelaza iz TICT stanja u LE stanje. Formiranje agregata postepeno ograničava intramolekularna gibanja te dolazi do aktivacije RIM procesa koji poboljšava učinkovitost emisije [15].

Iz svega dosad navedenog mogu se zaključiti sljedeći odnosi između različitih poboljšanja emisije (koji se zbivaju drugačijim mehanizmima) [15]:

1. AIE sustavi djelomično se preklapaju sa drugim uzročnicima poboljšanja luminiscencije kao što su JAF, ESIPT i TICT procesi.
2. U svim slučajevima poboljšanja emisije RIM proces se natječe sa drugim intramolekularnim i intermolekularnim silama u/oko molekule.
3. Ako RIM proces prevladava kod nekog luminogena on pokazuje AIE efekt, no ukoliko konkurentne pojave dominiraju luminogen postaje AIE neaktivan.
4. Ukoliko konkurentne pojave uključuju π - π interakcijsko slaganje, luminogen počinje pokazivati ACQ svojstva.
5. Bez obzira na to da li se kod nekog luminogena javljaju JAF, ESIPT ili TICT procesi, RIM proces je taj koji omogućava AIE aktivnost.

Sušтина AIE procesa je strukturalna odnosno konformacijska krutost jer ona omogućava radijativni relaksacijski mehanizam kod AIEgena.

2.2.5. Primjena AIEgena

AIEgeni su klasa funkcionalnih materijala čija je luminiscencija puno bolja u krutom stanju nego u otopini. Zbog toga su AIEgeni primjenjivi u raznim područjima znanosti i tehnologije. Najprivlačnije primjene AIEgena su u područjima biologije te biomedicinskom inženjerstvu. AIE točke, uključujući AIEgene koje nose nanohibride i AIEgen nanočestice, mogu biti korištene za *in vivo* te *in vitro* oslikavanja biomolekula, stanica, tkiva, organizama itd. Svijetla emisija, visoka učinkovitost, velika fotostabilnost, izvanredna biokompatibilnost i velika optička nelinearnost AIE točaka čini ih obećavajućim za dubinsko te dugoročno oslikavanje stanica, tkiva i bakterija. Razvoj multimodalnih senzora te kombinacija sa drugim medicinskim procesima (npr. kontrolirana ili ciljana dostava lijekova) proširit će biomedicinske primjene AIE točaka na tako važna područja poput kliničke dijagnoze ili terapijskog tretmana. Istraživanja AIE napreduju jako brzo te je teško u potpunosti prikazati baš sve moguće primjene AIEgena [15].

AIEgeni se mogu primijeniti u [15] :

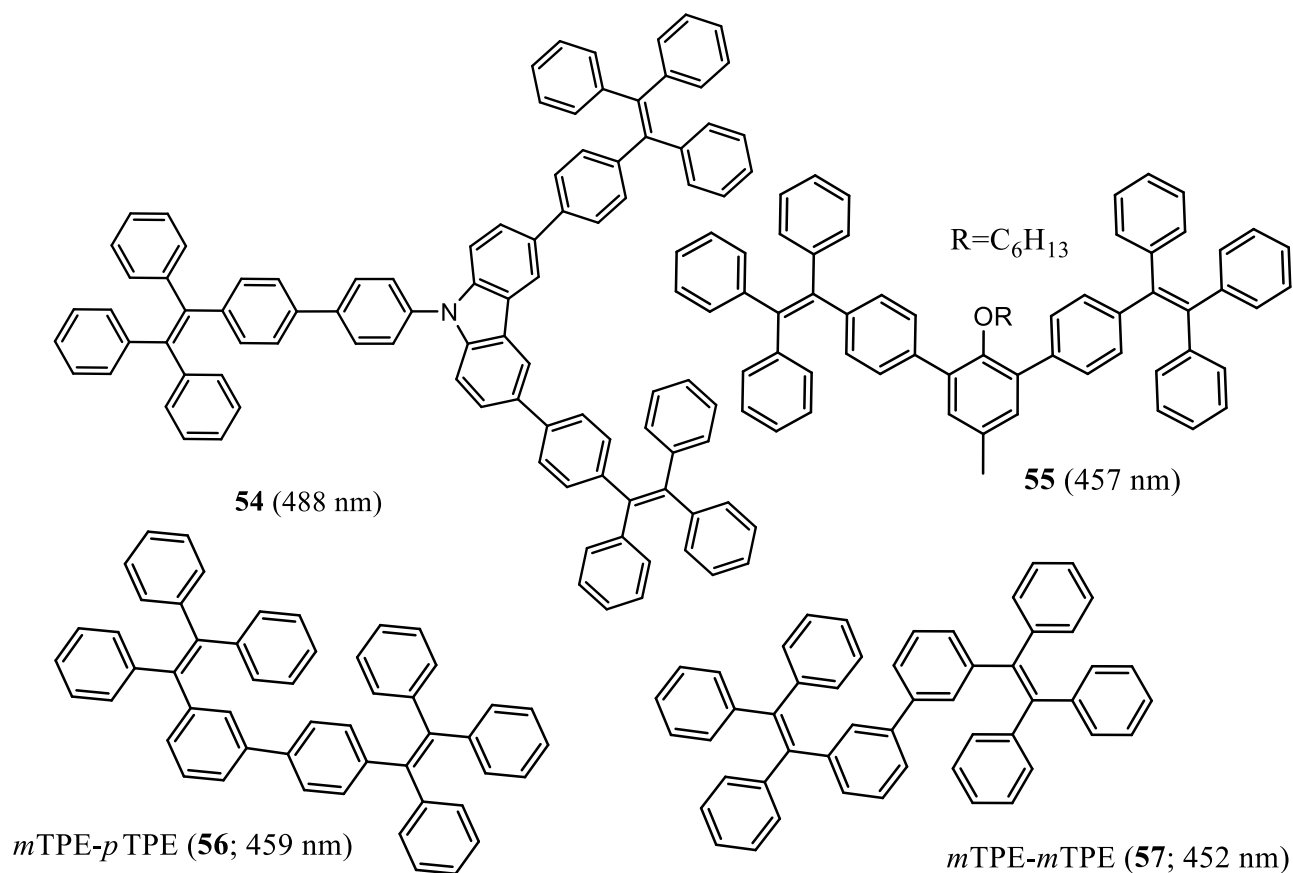
1. optoelektroničkim uređajima (OLED, emitirajući tekući kristali i dr.)
2. luminescentnim sensorima (kemijski senzori, biološke probe)
2. fluorescentnom oslikavanju (označavanje stanica, bakterija ili tkiva)
3. pametnim materijalima.

2.2.5.1. Optoelektronički uređaji

OLED (engl. *organic light emitting diode*) [15]

OLED ima veliki potencijal za korištenje u rasvjeti ili ekranima modernih uređaja. Iako je uz komercijalne luminofore postignut veliki uspjeh na ovom području, postoji prepreka u ostvarenju prikaza u boji (*full-color display*) koja se odnosi na emitere plave boje. Emiteri plave boje imaju širu zabranjenu zonu zbog čega je teže injektirati naboje u aktivne slojeve uređaja u kojem se OLED nalazi. Zabilježeni su brojni materijali koji imaju sposobnost emitiranja plave boje, a radi se o materijalima baziranih na derivatima antracena, fluorena te stililarilena. No, kad se ovi materijali proizvedu u obliku tankog filma prikladnog za OLED uređaje oni ne funkcioniraju kako treba zbog ACQ efekta koji uzrokuje gašenje emisije. Riješenje ovog problema leži upravo u AIEgenskim luminoforima. Pametnim dizajnom,

jednostavnim sintezama te upotrebom TPE molekule kao gradivnog bloka napravljeni su mnogi plavi emiteri. Primjeri ovakvih emitera prikazani su na slici 17:



Slika 17. Derivati TPE molekula koji mogu poslužiti kao emiteri plave boje u OLEDu.

2.2.5.2. Luminescentni senzori

AIE molekule pokazuju veliku svestranost glede dizajniranja novih luminescentnih proba i senzora. Mnogo je različitih AIEgena uspješno iskorišteno za razvoj različitih optičkih senzora. Na primjer, AIEgeni se koriste kao kemijski senzori za pH, eksplozive, ugljikov dioksid, amine i ione te kao biološke probe za detekciju intracelularnog pH, aminokiseline, peptida, proteina, nukleinskih kiselina i glukoze. Osim toga koriste se i za vizualizaciju gel elektroforeze te za praćenje DNA/protein konformacijskih promjena u realnom vremenu. U usporedbi sa konvencionalnim lumonoforima, optički senzori bazirani na AIEgenima imaju više prednosti poput izrade, funkcionalnosti, izvrsne stabilnosti, visokog odnosa signala i

šuma te niske granice detekcije. Nedavni napredak u ovom području proširio je opseg primjene AIE gena za analitičke svrhe.

Kemijski senzori

Senzori za trovalentne ione

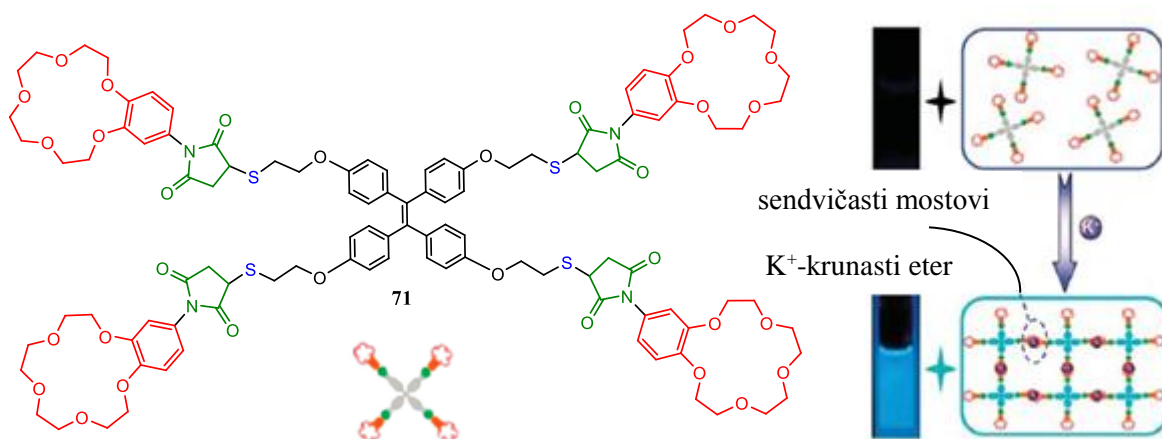
Istraživanje kemosenzora za trovalentne metalne katione vrlo je značajno za područje biologije i okoliša. Razvijeni su AIE geni za selektivnu i radiometrijsku detekciju trovalentnih kationa (M^{3+}). TPE derivat funkcionaliziran piridinilom (**70**) je AIE gen topljivu etanolu, ali netopljivu vodi. Ovaj AIE gen koristi se za ispitivanje trovalentnih iona u otopini vode i etanola sa udjelom vode od 0,5%. Otopine koje sadrže monovalentne te divalentne ione emitiraju vrlo slabu plavu svjetlost, no otopine koje sadrže trovalentne katione emitiraju izraženu crvenu svjetlost (slika 18) [15]. Otopine koje sadržavaju M^{3+} žute su boje, dok su otopine M^+ i M^{2+} bezbojne. Dakle, prisutan je i kolorimetrijski odziv, a ne samo fluorescencijski. Podrobnije analize otkrivaju kako su odziv fluorescencije i promjena boja povezani sa protoniranjem spoja **70**. Protonirani spoj **70** slabo je topiv te stvara agregate u etanolu, što dovodi do poboljšanja emisije. Osim toga, produljena konjugiranost te jake D-A interakcije protoniranog spoja **70** zaslužni su za emisiju u crvenom području.



Slika 18. Spoj **70** koji služi kao senzor za trovalentne katione.

Senzori za K⁺ [15]

Specifično prepoznavanje kalija od velike je važnosti za ključne fiziološke procese koji uključuju kalij. Liu Zhang i suradnici integrirali su koncept AIE sa supramolekularnim prepoznavanjem K⁺ pomoću krunastih etera kako bi razvili učinkovite K⁺ probe. Tiolen klik reakcijom pripremljen je krunasti eter funkcionaliziran sa TPE. Kao što je prikazano na slici 19, TPE jezgra i benz-15-kruna-5 periferali u spoju **71** služe kao AIE aktivne jedinice te kao supramolekularne jedinice odgovorne za prepoznavanje K⁺.

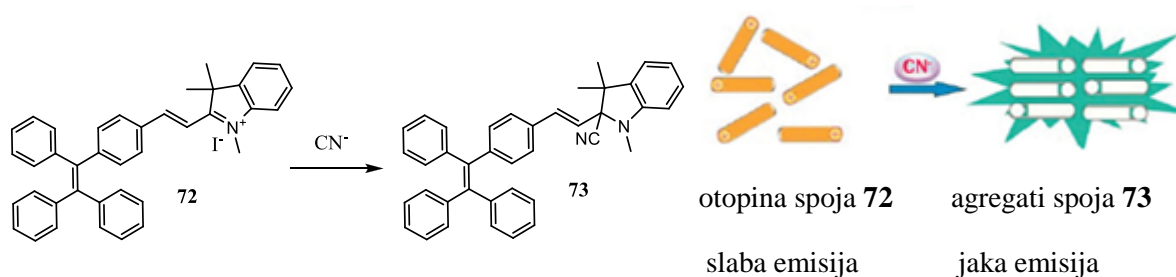


Slika 19. Struktura spoja **71** koji služi kao senzor za K^+ .

Dodatkom K^+ iona otopini spoja **71** u THF-u dolazi do emisije. Emisija se javlja zbog agregacije luminogena koja nastaje formiranjem poprečnih veza u kojima posreduje K^+ . Poprečne veze protežu se supramolekularnim kompleksom kojeg čine K^+ i krunasti eter sendvičaste strukture. Formiranje agregata ograničava intramolekularne rotacije spoja **71** te nastaje radijativna emisija. Luminogen **71** funkcionira kao vrlo osjetljiva i selektivna fluorimetrijska K^+ proba.

Senzori za CN^-

Cijanidni ion CN^- jedan je od najotrovnijih iona. Prema WHO (engl. *World Health Organization*) najveća dopuštena koncentracija ovog iona u vodi za piće je $1,9 \mu M$. Zbog toga je poželjno razviti učinkovite i jednostavne senzore za CN^- . Priređen je novi fluorescentni (engl. *turn-on*) senzor za detekciju CN^- iona u vodenom mediju baziran na TPE derivatu koji nosi pozitivno nabijen indolilni supstituent (slika 20, spoj **72**). [15]



Slika 20. Struktura spoja **72** koji služi kao senzor za cijanidni ion.

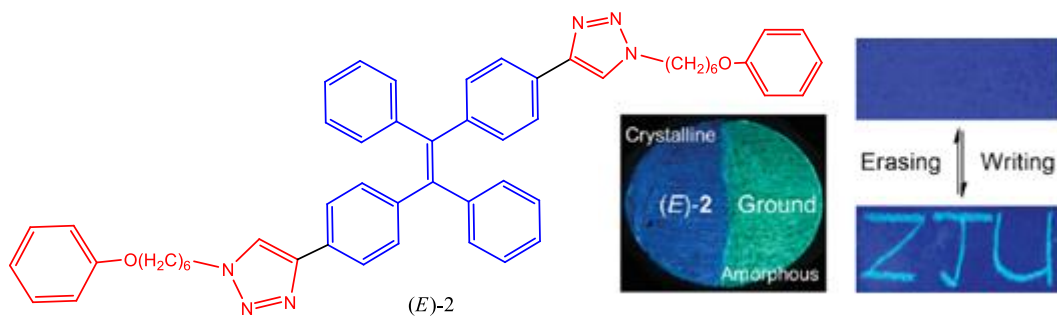
Spoj **72** topiv je u vodi te posjeduje slabu emisiju zbog indola. Indol reagira sa CN^- te nastaje spoj **73** koji je slabo topiv u vodi. Kada nastane u vodi slabo topivi spoj **3**, dolazi do agregacije koja potiče radijativnu emisiju. Ovaj AIEgen pokazuje visoku selektivnost za CN^- naspram drugih aniona. Granica detekcije iznosi 91 nM, što je 50 puta manja koncentracija od maksimalno dopuštene koncentracije CN^- u vodi za piće koja je propisana od strane WHO. Potencijal ovog senzora za praktičnu primjenu demonstriran je na papirnoj test trakici. Nakon izlaganja papirne trakice presvučene spojem **72** vodenoj otopini koja sadržava CN^- dolazi do priomjene boje emisije iz narančaste u plavu.

Također su pripremljeni i drugi AIEgenski senzori za prepoznavanje i kvantificiranje raznih kationa kao što su Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} i Ag^{2+} te aniona poput F^- , HSO_4^- .

Kao posljedica terorizma velika važnost dana je istraživanju detekcije eksploziva u podzemnim vodama i morskoj vodi, gdje su se AIEgeni pokazali vrlo obećavajućima zbog svoje pojačane emisije u agegiranom stanju.

2.2.5.3. Pametni materijali

Postoji mnogo AIEgenskih 'inteligentnih' ili 'pametnih' materijala čija se fotofizička i emisijska svojstva mijenjaju ovisno o vanjskoj stimulaciji ili promjenama u okolišu, poput električnog polja, fotonskog zračenja, mehaničke sile, polarnosti otapala, zagrijavanju i hlađenju (temperaturi), napanjanju i pH. Promjena luminiscencije zbog mehaničke sile česti je efekt kod AIEgena. Takvi mehanokromatski materijali imaju veliki potencijal za primjenu u sensorima za pritisak, pohrani informacija te sigurnosnim tintama (engl. *security inks*). Mehanokromatska svojstva AIEgena obično su povezana sa promjenama u njihovoj strukturi odnosno u načinu pakiranja molekula. Vrlo izvijena konformacija propelerskog oblika jedna je od najposebnijih strukturnih značajke AIEgena. Morfologija „labavog“ pakiranja (engl. *the loose packing morphology*) takvih AIE molekula propelerskog oblika osjetljiva je na vanjske podražaje te stoga molekula odgovara na dotični podražaj promjenom boje. Do sada je opisano mnogo AIEgena koji pokazuju mehanokromatska svojstva. Spomenuta mehanokromatska svojstva obično se javljaju uz još neke druge kromatske efekte poput termokromizma i vapokromizma, s time da su spomenute pojave reverzibilne. TPE derivat prikazan na slici 21 pokazuje više kromatskih efekata poput mehanokromizma, piezokromizma, vapokromizma te kronokromizma.



Slika 21. Struktura TPE derivata koji pokazuje brojne kromatske efekte [15].

Jednostavno mljevenje praškastog uzorka ovog spoja uzrokuje veliki batokromni pomak u emisiji od 447 nm do 477 nm. Termalno brada (engl. *annealing*) ili napanje parama polarnog otapala uzrokuje povratak originalne boje bojila. Tlačenje također može prouzročiti pomak emisije u crveno područje, ali u manjoj mjeri ($\Delta\lambda = 8$ nm). Mogućnost za primjenu ovog pametnog materijala može biti demonstriran procesom pisanja i brisanja. Kada se prah TPE derivata prikazanog na slici 21 rasprši na filter papiru kao čvrstom filmu, on emitira u plavom području ukoliko se pobudi UV zračenjem. Ukoliko se papir zagrebe sa špatulom, napisana slova ZJU emitiraju plavo-zelenu svjetlost. Zagrijavanje ili napanje briše slova jer se emisija vraća na originalnu boju. Ovo sugerira mogućnost upotrebe ovog TPE derivata kao sigurnosne tinte za višestruko pisanje te pohranu informacija. Pakiranje AIE molekula propelerskog oblika je osjetljivo i može biti lako modulirano vanjskim podražajem koje aktivira morfološke transformacije ili fazne prijelaze [15].

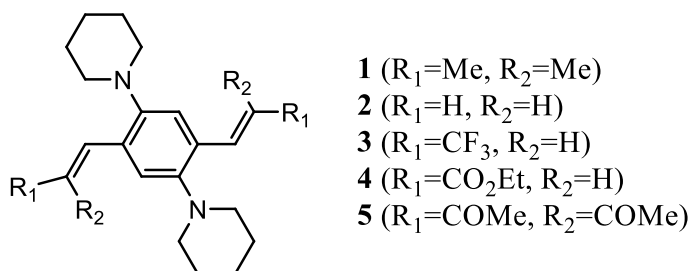
3. Fluorescentni materijali temeljeni na AIE pojavi

3.1. Fluorescencija čvrstog stanja

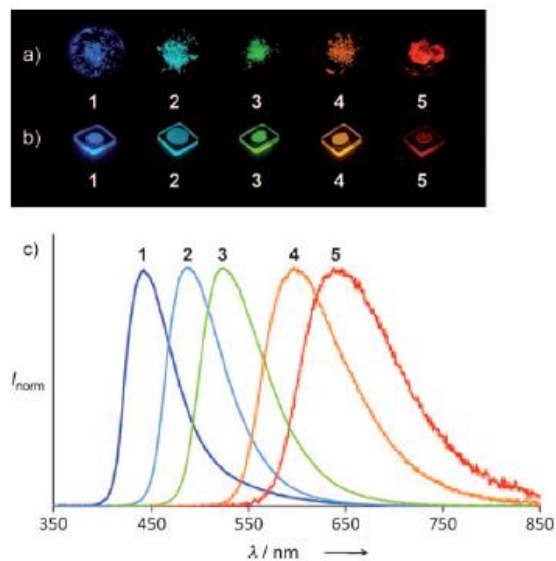
Emisija u čvrstom stanju ima raznih primjena u tehnologiji te postoji puno radova koji, osim što opisuju mogućnosti primjene ovih luminofora, opisuju i karakteriziraju nove AIEgene koji imaju veliku učinkovitost emisije u čvrstom stanju. Znanstvenici su posvetili mnogo pažnje π -konjugiranim spojevima koji emitiraju vidljivu svjetlost u čvrstoj fazi zbog njihove potencijalne primjene u optoelektroničkim uređajima poput organskih svjetlećih dioda (OLED), poluvodičkih lasera i fluorescentnih senzora. Poprilično je izazovno razviti nove organske molekule koje imaju visoku učinkovitost fluorescencije u čvrstoj fazi jer u većini slučajeva dolazi do ACQ pojave odnosno gašenja emisije. Postoji ograničen broj organskih krutina koje postižu veliki intenzitet emisije te imaju visoka kvantna iskorištenja. Učestala značajka takvih spojeva je da njihove strukture sadržavaju više aromatskih prstena ili kostur policikličkih aromatskih ugljikovodika, što je česti uzročnik smanjene topljivosti te uzročnik problema u pročišćavanju te obradi organskih materijala. Boja emisije π -konjugiranih spojeva vrlo je povezana sa duljinom konjugacije.

Fluorescencija čvrstog stanja na primjeru derivata 1,4-bis (alkenil)-2,5-dipiperidinobenzena

U radu objavljenog od strane Shimiza i suradnika [17] predstavljeno je pet derivata 1,4-bis (alkenil)-2,5-dipiperidinobenzena, fluorofora koji u čvrstom stanju pokazuju intenzivnu fluorescenciju (slika 22) [17]. Pri tome se pod čvrstim stanjem razmatra kristalni oblik, tanki filmovi te polistirenski film. Kvantno iskorištenje fotoluminiscencije čvrstog stanja vrlo je visoko, a boja fluorescencije lako podesiva putem modificiranja funkcionalnih grupa na alkenilnim skupinama (slika 23). Dobivanje visoke učinkovitosti emisije u čvrstom stanju kod kompaktnih π -konjugiranih sustava čiji se aromatski dio sastoji od samo jednog benzenskog prstena od velikog je interesa. Stoga su takvi fluorofori jedinstveni te su dobri potencijalni kandidati za primjenu u uređajima za rasvjetu.



Slika 22. Prikazane su strukture spojeva 1-5.



Slika 23. Fotografije pod UV-svjetlom:

- a) mikrokristalića spojeva 1-5
- b) polistirenskih filmova dopiranih spojevima 1-5
- c) fluorescencijski spektri mikrokristala 1-5

3.2. Mehanokromizam

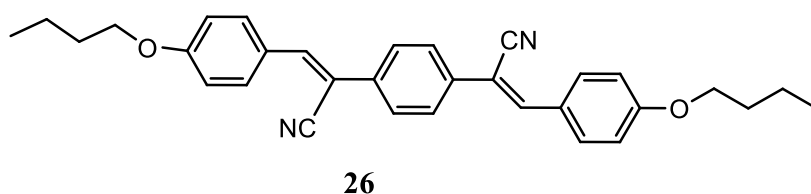
Mehanokromizam je pojava koja se odnosi na promjenu boje zbog vanjskih utjecaja na neki kromofor, a najčešće se radi o mljevenju, zagrijavanju i napanjanju. Spojevi koji pokazuju ovo svojstvo nekoć su smatrani rijetkima, no nakon što je Tangova grupa 2001. godine [1] opisala AIE pojavu pronađeno je mnogo AIE gena koji pokazuju mehanokromizam, nakon čega je ova pojava intenzivno istraživana. Sasvim je često da D- π -A kromofori pokazuju i mehanokromizam i AIE svojstva te upravo su takvi kromofori poželjni jer su primjenjivi u mnogim područjima zbog svojih dobrih fotofizičkih svojstava, naročito u optoelektronici. Mehanofluorokromatski ili mehanokromatski fluorescentni materijali smatraju se klasom pametnih materijala čija se emisijska svojstva mijenjaju ovisno o vanjskoj stimulaciji. Takvi materijali koriste se u sensorima na pritisak, kemosenzorima, svjetloemitirajućim uređajima, uređajima za optičku pohranu podataka, memorijskim čipovima, sigurnosnim tintama i dr. Mehanokromsko ponašanje nekog materijala može se postići kemijskom ili fizikalnom promjenom strukture. Kemijska strukturna promjena provodi se kemijskim reakcijama koje uključuju pucanje ili formiranje veza na molekularnoj razini. Tijekom kemijskih reakcija u

čvrstoj fazi dolazi do posljedica koje su obično nepogodne. Dolazi do nedovoljne konverzacije, ireverzibilnih reakcija te gubitka fluorescencije. Iz navedenih razloga bolje je primijeniti fizikalnu promjenu strukture nego kemijsku. Nekoć su mehanokromatska svojstva smatrana rijetkima zbog dva razloga. Prvi razlog tomu je to što nema jednostavne sinteze mehanokromatskih spojeva jer je svaki mehanokromatski spoj slučaj za sebe. Drugi razlog je ACQ pojava, odnosno pojava da mnogi organski spojevi u krutom stanju gube svoju sposobnost fluoresciranja. 2001. godine Tang i suradnici izvijestili su o materijalima koji pokazuju AIE pojavu, koja je suprotna ACQ pojavi koju pokazuju mnoge organske molekule. Od tada je sintetizirano mnogo AIEgena od kojih su mnogi pokazali mehanokromatska svojstva [1].

3.2.1. Mehanokromatski AIEgeni

Cijanosupstituirani derivat distirilbenzena [1]

AIE spojevi pokazuju tzv. „on/off“ promjenu emisijskog intenziteta zbog djelovanja vanjskih stimulansa. To može biti napanje uzorka parama organskih otapala, tlačenje uzorka te povećanje temperature uzorka, pri čemu je uzorak tvar mehanokromatskih svojstava. Ipak, mehanokromizam AIE spojeva prvi je put opisan (Park i suradnici) 2010.g. Radilo se o cijanosupstituiranom derivatu distirilbenzena (bojilo 26, slika 24 [1]).



Slika 24. Struktura bojila 26, mehanokromatskog AIEgena.

Kao i svi ostali AIEgeni, bojilo 26 pokazuje poboljšanje u fluorescencijskoj emisiji u čvrstom stanju u odnosu na otopinu, no spomenuto bojilo pokazuje i mehanokromatska svojstva, odnosno mijenja boju zbog utjecaja vanjskih stimulansa (toplina, pritisak, pare otapala).

Bojilo također formira visokofluorescentne molekularne ravnine. Za takav način slaganja molekula bitne su C-H...N te C-H...O vodikove veze s mogućnošću slaganja i klizanja s obzirom na djelovanje vanjskog stimulansa. Ovisno o vanjskom stimulansu bojilo 26 može

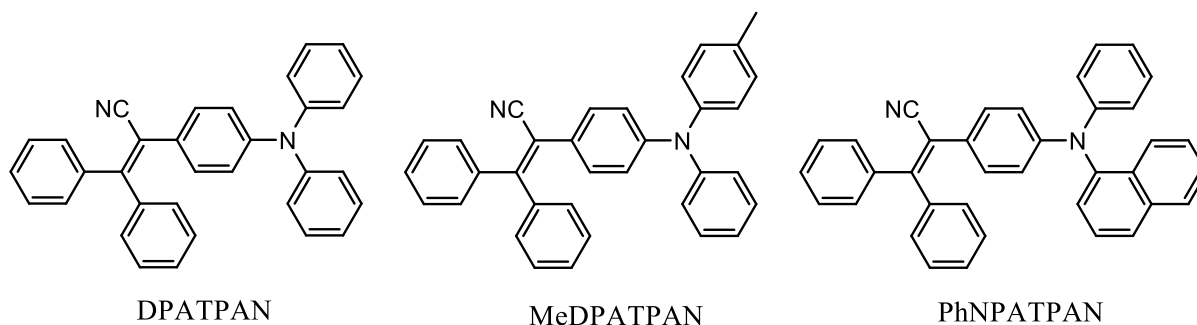
poprimiti zelenu odnosno plavu boju. Dok je faza koja emitira plavu boju (*blue phase*, *B-phase*) termodinamički stabilna, faza koja emitira zelenu boju (*green phase*, *G-phase*) metastabilna je faza. Bojilo je uspješno upotrebjeno kao fluorescentni optički medij za pohranu podataka u smislu pisanja i brisanja. U tom je slučaju napravljen film koji sadržava polimetilmetakrilat (PMMA) te bojilo 26.

Na temelju spoznaja veze između strukture, AIEgena i mehanokromizma doneseni su sljedeći zaključci [1]:

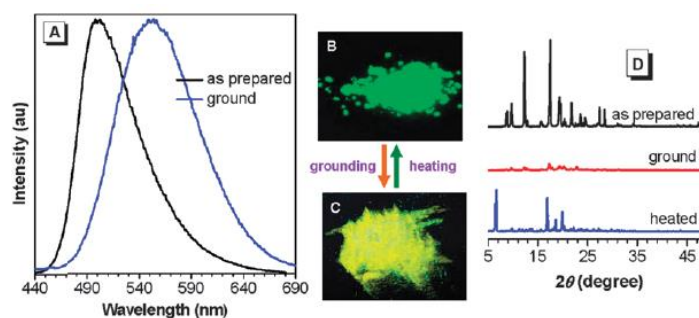
- Postojanje relativno stabilnog kristalnog stanja preduvjet je za mehanokromizam.
- AIEgeni koji pokazuju snažno svojstvo kristalizacije ili vrlo slabo svojstvo kristalizacije nisu prikladni mehanokromatski materijali.
- Većina mehanokromatskih AIEgena mijenja boju emisije po *on-off* principu s obzirom na različite stimulanse, što ih čini obećavajućim kandidatima za primjenu u kemosenzorima, uređajima za rasvjetu, senzorima za pritisak te za optičku pohranu podataka.
- Mnogi AIEgeni pokazuju mehanokromizam i oni su potencijalni izvor novih mehanokromatskih materijala.
- Organski mehanokromatski materijali više neće biti tako rijetki u budućnosti.
- Strategija molekularnog dizajna bazirana na AIEgenskim strukturama može biti široko primjenjiva za pripravu novih mehanokromatskih materijala.

Luminogeni bazirani na trifenilakrilonitrilu (TPAN) te diarilaminima [2]

Dakle, s obzirom na moguću široku primjenu poželjno je napraviti nove AIEgene sa D- π -A strukturom koji bi pokazivali visoku učinkovitost emisije u čvrstom stanju i mehanokromatska svojstva. Kombinacijom propelerske strukture trifenilakrilonitrila (TPAN) te diarilamina sintetizirana je gupa D- π -A spojeva (DPATPAN, MeDPATPAN te PhNPATPAN, slika 25 [2]).



Slika 25. Strukture spojeva DPATPANa, MeDPATPANa te PhPATPANa.

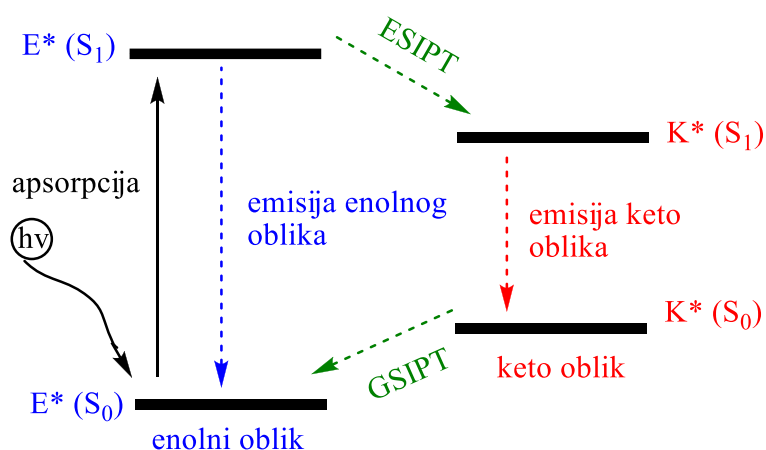


Slika 26. Emisijski spektar mljevenog i ne-mljevenog DPATPANA te pripadajući XRD spektri. 'As prepared solid' odnosi se na ne-mljeveni DPATPAN, dok se 'ground state' odnosi na mljeveni oblik istog [2].

Ovi luminogeni posjeduju intramolekularni prijenos naboja (ICT), izvrsna mehanokromatska svojstva (valna duljina emisije mijenja se do 51 nm) te također imaju visoku učinkovitost emisije u čvrstom stanju (čak do 100%), što je rijetko za ICT luminogene. Zbog ovih fotofizičkih svojstava spojevi na slici 25 kandidati su za primjenu u dvofotonskim apsorberajućim materijalima, emitirajućim slojevima u OLEDu, VOC sensorima te pametnim materijalima koji odgovaraju na vanjsku stimulaciju. Spomenutim luminogenima ispitivana su svojstva emisije u čvrstom stanju kako bi se bolje vidjela mehanokromatska svojstva istih. Praškasti oblik DPATPANA fluorescira na 500 nm, a nakon laganog mljevenja sa špatulom ovaj spoj emitira žutu svjetlost sa maksimumom na 551 nm. Dakle, prisutan je pomak prema crvenom ($\Delta\lambda$) od 51 nm. Nakon izlaganja temperaturi od 80°C na 10 minuta ili nakon naparavanja sa DCM parama na 3 minute, DPATPAN vraća svoju izvornu emisiju zelene svjetlosti. Mehanokromatske promjene (ciklusi) između zelene i žute emisije mogu se ponoviti više puta zbog nedestruktivne prirode mehaničkog stimulansa. Kako bi se razjasnila ova pojava provedena je difrakcijska analiza X-zrakama (XRD). Analiza je pokazala kako ne-mljeveni uzorci imaju uobičajenu kristalnu strukturu jer je XRD spektar pokazao intenzivan i oštar difrakcijski pik. S druge strane, difrakcijski spektar mljevenih uzoraka pokazuje slabe signale koji upućuju na prisutnost kristalne uređenosti ograničenog dosega, što se odnosi na nepravilno pakiranje molekula u kristalnu rešetku. Zanimljivo je kako se oštri difrakcijski pikovi vraćaju ukoliko se mljeveni spoj zagrije ili napari otapalom, što upućuje na oporavak kristalne strukture. Dakle, rezultati analize pokazuju kako je mehanokromizam usko povezan sa načinom pakiranja molekula u kristal. Iz toga proizlazi kako upravo raspored molekula utječe na fotofizička svojstva mehanokromatskog spoja. Slični rezultati dobiveni su i za MeDPATPAN te PhNPATPAN, čije emisije u čvrstom stanju za ne-mljeveni i mljeveni oblik iznose 503/549 nm te 496/534 nm. Drugim riječima, $\Delta\lambda$ (crveni pomak) za MeDPATPAN iznosi 46 nm odnosno 38 nm za PhNPATPAN.

3.3. ESIPT emisija u čvstom stanju

Ranije spomenute odlike ESIPT emitera razlog su njihovog daljnjeg detaljnijeg istraživanja. Pri dizajnu novih ESIPT fluorofora nastoje se iskoristiti njihove prirodne prednosti glede fotofizičkih svojstava, ali se ujedno nastoje poništiti njihove mane. Drugim riječima, cilj je dizajnirati ESIPT fluorofore koji će imati dulje trajanje emisije sa većom kvantnom učinkovitošću. Studije dizajna novih ESIPT fluorofora svode se na istraživanja veze između strukture i fotofizičkih svojstva čije razumijevanje otvara vrata dizajnu novih ESIPT fluorofora sa puno boljim fotofizičkim svojstvima koja su poželjna u brojnim granama tehnologije, a osobito u optoelektronici [18]. Kao što je već spomenuto u prijašnjem poglavlju, ESIPT je fotokemijski proces koji pravi tautomere (keto i enolni oblik) sa različitom elektronskom strukturom u odnosu na početno pobuđeno stanje. Radi se o ciklusu od četiri koraka (E-E*-K*-K) i opisan je shenom na slici 27 [18].



Slika 27. Četiri koraka ESIPT procesa.

ESIPT proces prvi je put zabilježen kod salicilne kiseline 1950-e (Waller). Nakon otkrića ESIPT procesa mnogi su znanstvenici istraživali osnove fotofizike, dinamiku prijenosa protona, kinetiku na razini pikosekunde, vibracijsku spektroskopiju, kinetiku i termodinamiku singletnog stanja ESIPT fluorofora i dr. Preduvjet za ESIPT pojavu je intramolekularna vodikova veza između proton donorske (-OH i -NH₂) i proton akceptorske skupine (=N- i -C=N) na bliskoj udaljenosti. ESIPT je vrlo brzi proces ($k_{\text{ESIPT}} > 10^{12} \text{s}^{-1}$) te se zbiva čak i u krutom staklu pri niskoj temperaturi. Brzina ESIPT procesa ovisi o donorskim i akceptorskim grupama okružujućeg medija. Široki spektar emisije, mijenjanje emisije te dualna emisija atraktivna su svojstva ESIPT kromofora koji pokrivaju cijeli dio vidljivog spektra. Osim toga ESIPT emisija može rezultirati i bijelom svjetlošću. Većina ESIPT fluorofora pokazuje

dulanu emisiju, emisiju kraće valne duljine zbog pobuđenog stanja enolne forme (E^*) (normalna emisija) te emisiju veće valne duljine zbog pobuđenog stanja keto oblika (K^*) (ESIPT emisija). Zbog prijelaznih naboja uključenih u ESIPT procesu, ESIPT emisija osjetljiva je na utjecaj mikrookoline, što može uzrokovati promjenu fluorescentnih svojstava. Spektralna svojstva ESIPT fluorofora ovise o vodikovim vezama, procesu izomerizacije, kiselosti/bazičnosti okolnog medija te o supstituentima prisutnim na donorskim i akceptorskim grupama. Fluorescencijska svojstva ESIPT kromofora ovise upravo o spomenutim parametrima. Nedostaci ESIPT emisije su smanjena učinkovitost fluorescencije te kratko vrijeme trajanja fluorescencije. Ipak, ESIPT fluorofori posjeduju i razne prednosti poput velikih Stokesovih pomaka (~ 200 nm), dualne emisije, ultrabrzog odvijanja samog procesa te spektralnu osjetljivost na okolni medij. Nadalje, ESIPT fluorofori derivati su karbazola, benzotiazola, imidazola, indanona, fenantroimidazola, benzofuranbenzoksazola, julidina, bis-benzotiazola, imidazopiridina, indolizina, kinoazolinona, polimida, benzofenonazina, kinoksalina i azina. Osim u krutom stanju, ESIPT fluorofori pokazuju emisiju u polimorfnom obliku, gelu, polimernoj matrici, KBr matrici, agregiranom stanju te u otopini. Postoji više pristupa poboljšanju kvantne učinkovitosti fluorescencije u čvrstofaznim ESIPT spojevima. To su RIR, vodikova veza, ograničenje TICTa te RTICTA (eng. *restriction of twisted intramolecular charge transfer*), preklapanje fleksibilnih alicikličkih komponenata, formiranje J-agregata, unakrsno pakiranje molekula te slaganje dimera/ekscimera. Mnogi organski fluorofori dobri su emiteri u otopini te imaju dobru kvantnu učinkovitost fluorescencije, no u krutom mediju gube spomenuta svojstva zbog ACQ pojave. Kako bi se postigla emisija u čvrstoj fazi potrebno je ograničiti druge neradijativne mehanizme koji se javljaju u pobuđenom stanju. Različite su strategije korištene kako bi se dobili čvrstofazni emiteri ESIPT kromofora. One obuhvaćaju kontrolu načina pakiranja molekula, AIE, AIEE te RIR. Osim navedenih strategija postoje i druge. Dobro je poznato kako ESIPT fluorofori daju spektre sa višestrukim vrpčama te velike Stokesove pomake. Kod većine ESIPT kromofora (fluorofora) kvantna učinkovitost fluorescencije keto oblika (K^*) općenito je slaba zbog prisutnog neradijativnog. Mnogo pažnje u funkcionalnim materijalima privlače ESIPT kromofori koji emitiraju u crvenom području spektra sa velikom kvantnom učinkovitošću fluorescencije u krutom stanju. Naime, ESIPT emiteri u čvrstom stanju imaju jedinstvena fotofizička svojstva te su od velikog značaja u optoelektronici te kod funkcionalnih materijala. Pristupi poput dendrimerske inkapsulacije, AIE, AEE, RIR, polimernog dopiranja te RTICT mehanizma smatrani su uzročnicima emisije u čvrstom stanju te poboljšanje kvantne učinkovitosti. Razvijene su razne strategije poboljšanja ESIPT emisije u čvrstom stanju [18].

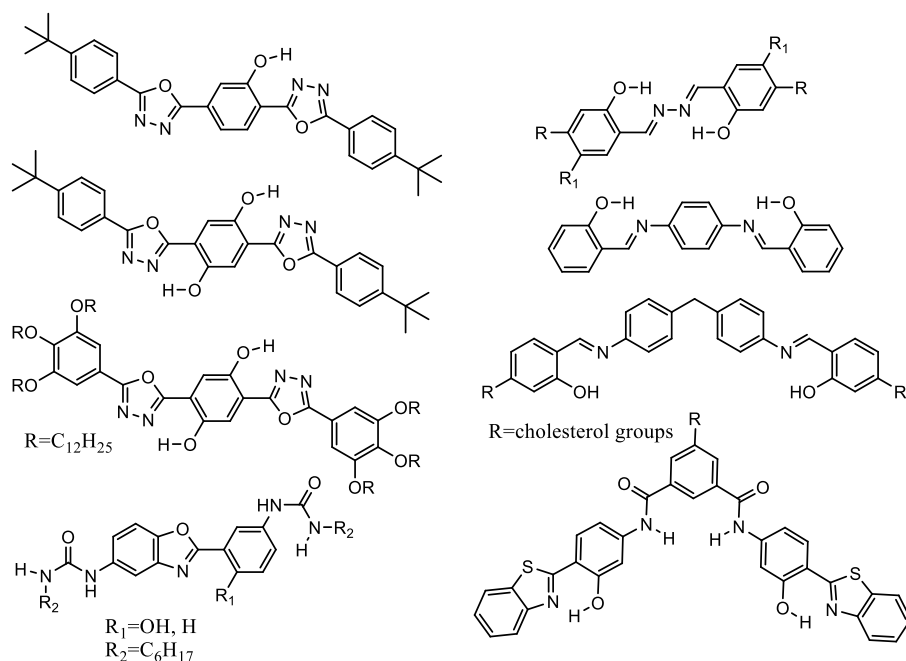
Načini kompenzacije deaktiviranja ESIPT spojeva u pobuđenom stanju koja rezultiraju povećanjem kvantnog iskorištenja i emisijom pomaknutoj prema crvenom dijelu spektra [18]:

- 1) Planarna geometrija u pobuđenom stanju pomaže poboljšanju fluorescencijskih svojstava.
- 2) Jake intramolekularne vodikove veze favoriziraju ESIPT proces.
- 3) RIR, RTICT i RCT (eng. *restricted charge transfer*) poboljšavaju emisijska svojstva.
- 4) J-agregacija sa poretkom glava-rep vodi ka poboljšanju fluorescencijskih svojstava.
- 5) Interakcije intramolekularnog slaganja u kristalu uzrokuje poboljšanje fluorescencije.
- 6) Uvođenje steričkih grupa na ESIPT kromofor može poboljšati fluorescencijska svojstva.
- 7) Dva molekularno slobodna rotacijska zgloba kod molekula dispergiranih u otopini mogu biti ograničene rotacije zbog formiranja jakih vodikovih veza, zbog čega dolazi do RIR procesa te poboljšane emisije.
- 8) U polarnim/protonskim otapalima prisutno je općenito gašenje keto emisije zbog formiranja intermolekularnih vodikovih veza između otapala i kiselog vodika umjesto formiranja intramolekularne vodikove veze.
- 9) pH medija odlučuje dali će se dogoditi pomak u plavi ili crveni dio spektra (bazičan medij-crveni pomak, kiseli medij-plavi pomak).
- 10) Ograničenje cis-trans izomerizacije pobuđenog keto oblika uzrokuje poboljšanje kvantne učinkovitosti fluorescencije.
- 11) π - π interplanarne udaljenosti između jedinica definira fluorescencijska svojstva ESIPT kromofora.
- 12) Dendrimerne jedinice ESIPT jezgre pomažu poboljšati kvantnu učinkovitost fluorescencije.
- 13) Izvijeni intramolekularni prijenos naboja (TICT) u pobuđenom stanju keto oblika sudjeluje u gašenju fluorescencije.
- 14) ESIPT fluorofori sa peteročlanim prstenom pokazuju veću kvantnu učinkovitost fluorescencije nego šesteročlani prsten jer je planarna konformacija stabilnija u peteročlanom prstenu.
- 15) Kvantna učinkovitost fluorescencije ovisi o prirodi i poziciji supstituenata
- 16) Promjena ili poboljšanje fluorescencije ovisi o ekstenziji konjugacije, prirodi heterocikličnih prstena, prirodi elektrondonirajućih te elektronakceptorskih skupina te o matrici u kojoj se molekule nalaze

- 17) U polimernoj matrici fluorescencijsku emisiju i kvantnu učinkovitost fluorescencije kontrolira polarnost okružujuće matrice.
- 18) Način molekularnog pakiranja pomaže promjeni boje ESIPT kromofora jer ESIPT kromofori daju različite emisije u različitim polimorfim oblicima.
- 19) AIE i AEE procesi poboljšavaju kvantnu učinkovitost ESIPT fluorofora u čvrstom stanju.
- 20) U imidazopiridinu ekstenzija π -konjugacije uzrokuje crveni pomak u emisiji, ali snižava kvantnu učinkovitost fluorescencije.
- 21) Energijska razlika između LUMO enolnog i keto tautomera ključni je faktor u ograničenju neradijativne emisije koja uzrokuje poboljšanje fluorescencije.
- 22) Model nodalne ravnine jednostavan je i informativan alat za predviđanje fluorescentnih svojstava fluorofora i za dizajniranje fluorofora prema emisijskoj potrebi.

3.3.1. Primjeri ESIPT bojila

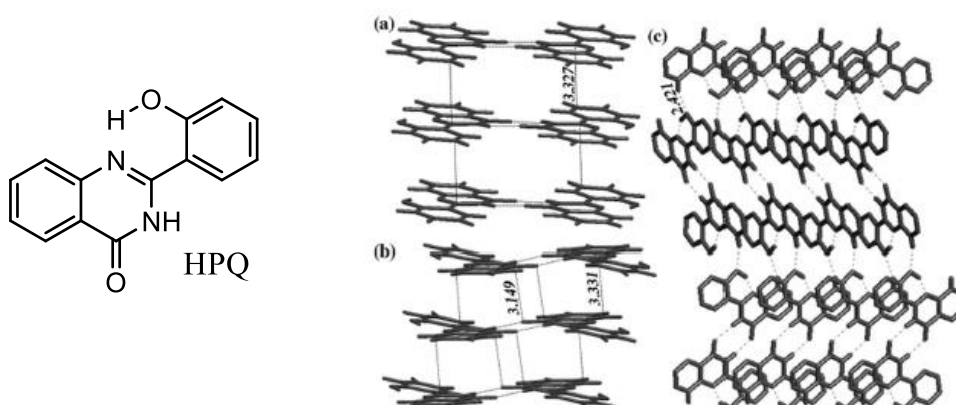
Nakon 2001. godine mnoge su se istraživačke grupe bavile dizajniranjem, sintezom i mehanizmima AIE/AIEE kromofora koji pokazuju emisiju u čvrstoj fazi za primjenu u optoelektroničkim uređajima [1]. AIE i AIEE procesi rijetki su kod ESIPT kromofora. Neke strukture čvrstofaznih ESIPT AIE kromofora predstavljenih do 2011. godine prikazani su na slici 28 [18]. Prisutne AIE i AIEE karakteristike tih kromofora prisutne su zbog RIR efekta koji nastaje zbog formiranja organskih iona ili formiranja vodikove veze.



Slika 28. Strukture ESIPT kromofora koji pokazuju AIE efekt te samim time i dobra emisijska svojstva u čvrstoj fazi (objavljenih u radovima do 2011. godine).

HPQ molekula [18]

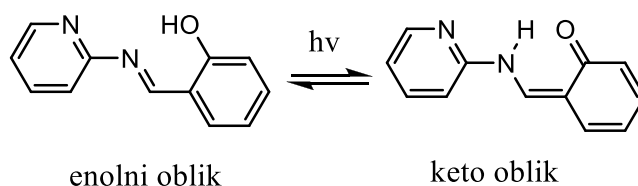
Molekula 2-(2'-Hidroksifenil)-4-(3H)-kinazolinona (HPQ), prikazana na slici 29, pokazuje fluorescenciju u čvrstoj fazi te ESIPT fenomen. Osim toga, HPQ molekula pravi kelatne spojeve sa Zn^{2+} te Cd^{2+} , spram kojih pokazuje visoku selektivnost i osjetljivost. Stoga je ova molekula primjenjiva kao senzor za Zn^{2+} i Cd^{2+} . HPQ molekula pokazuje dva polimorfna oblika s različitom emisijom. Igličasti kristali pokazuju emisiju plave boje (HPQ-B), dok pločasti kristali pokazuju plavo-zelenu emisiju (HPQ-BG). Unutar kristala ovog kromofora prisutne su vodikove veze te π - π interakcije (slika 29) [18].



Slika 29. S desne strane strukture HPQ molekule prikazani su strukturni modeli: a- π - π interakcije u HPQ-B, b i c π - π , C=O---C=O dipolne i OH---H=C interakcije u kristalnoj strukturi HPQ-BG, c-prikazane su samo vodikovi atomi uključeni u vodikove veze. Slabe interakcije prikazane su crtkanim linijama.

Schiffova baze bazirane na salicilaldehidu [19]

Schiffova baza (E)-2-[piridin-(2-ilimino)metil]fenola (L) sadrži salicilaldehid u svojoj strukturi. Svijetla emisija u čvrstom stanju pripisana je AIE pojavi, a prisutno je i formiranje J-agregata (JAF) te ESIPT proces. Spoj pokazuje i mehanokromatska svojstva, odnosno mijenja emisiju iz žute u zelenkasto-žutu nakon mljevenja. L molekula također je pokazala selektivnost i osjetljivost spram detekcije F^- iona (*turn on fluorescence*).



Slika 30. Enolni i keto oblik L molekule.

4. Instrumentalne tehnike karakterizacije fluorescentnih proba i senzora

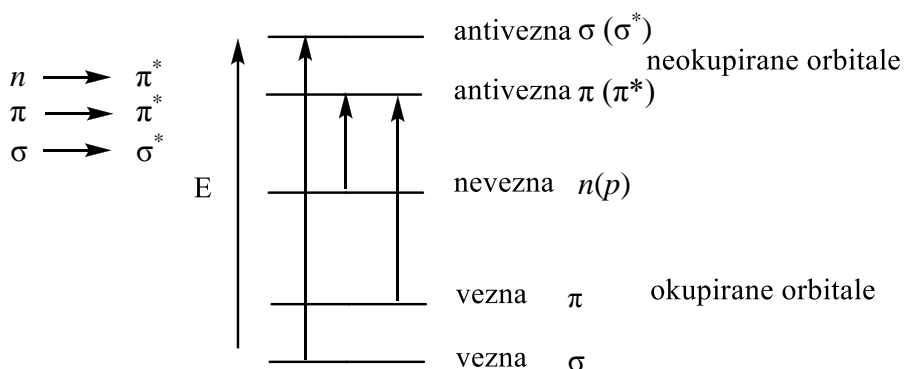
4.1. Molekulska spektroskopija

Molekulska spektroskopija proučava međudjelovanje elektromagnetskog zračenja i materije (molekula) [20]. Pri interakciji elektromagnetskog zračenja (fotona) i molekule, molekula može apsorbirati dio energije što manifestira na razne načine (slika 31).

promjena spina		promjena orijentacije	promjena konfiguracije	promjena raspodjele elektrona		promjena nukl. konfiguracije	
10 m	100 cm	1 cm	100 μm	1 000 nm	10 nm	100 pm	
NMR		ESR	mikrovalna	IC	UV/Vis	X-zrake	gama zrake

Slika 31. Osim područja elektromagnetskog spektra, prikazano je kako pobuda određene energije djeluje na rotacije i vibracije u molekuli.

Molekula će se pobuditi ukoliko je podvrgnuta frekvenciji svjetlosti koja je dovoljna za određeni prijelaz elektrona iz osnovnog stanja u određeno više stanje. Elektroni u molekuli opisani su matematičkom funkcijom u smislu molekulskih orbitala (slika 32).



Slika 32. Rukovodnik i kriterij za određivanje kvalitete i količine

Kada je riječ o molekulama obično se spominju vezna te protuvezna ' σ ' i ' π ' orbitala, a tu je još i nevezna ' n ' orbitala. Energije molekulskih orbitala (MO) prema rastućim vrijednostima (odnosno prema manjoj stabilnosti) dane su slijedom:

$$\sigma < \pi < n < \pi^* < \sigma^*$$

Iz spomenutog slijeda proizlazi kako je prijelaz iz ' σ ' u ' σ^* ' najteži te se odnosi na niže valne duljine. Dakle, za prijelaz tog tipa potrebno je nešto veće zračenje (UV-područje). Vezne orbitale ' σ ' i ' π ' predstavljaju HOMO orbitalu (engl. *highest occupied molecular orbital*), dok antivezne (protuvezne) ' σ^* ' i ' π^* ' orbitale predstavljaju LUMO orbitalu (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*). HOMO orbitala je najviša popunjena orbitala, dok je LUMO najniža nepopunjena orbitala. Naime, pri interakciji vidljive svjetlosti te UV zračenja sa molekulama događat će se upravo spomenuti elektronski prijelazi. Ti elektronski prijelazi zaslužni su za apsorpciju te emisiju svjetlosti zbog kojih svaka molekula ima svoj karakterističan spektar (koji se može snimiti na instrumentu poput spektrofotometra).

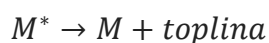
4.2. Apsorpcija elektromagnetskog zračenja

Apsorpcija zračenja [20]

Apsorpcija je proces u kojemu neka kemijska vrsta prisutna u propusnoj (prozirnoj, transparentnoj) sredini smanjuje intenzitet neke frekvencije elektromagnetskog zračenja. Apsorpcija fotona može nastati samo ako je energija fotona jednaka energetskej razlici između osnovnog i nekoga od viših energetskej stanja čestice (pobuđenog stanja). Pri tomu energija fotona prelazi u atom, ion ili molekulu dovodeći je u više energetskej (pobuđeno, ekscitirano) stanje. Pobuđivanje vrste M u ekscitiranu vrstu M* može se opisati jednadžbom:



Nakon vrlo kratkog vremenskog razdoblja (10^{-6} do 10^{-9} sekundi) pobuđena vrsta relaksira se do svog prethodnog ili do osnovnog stanja. Pri tomu pobuđena čestica prenosi suvišak energije na druge atome i/ili molekule u svojoj okolini. Taj se proces, koji uzrokuje malo povišenje temperature okoliša, opisuje jednadžbom:



Relaksacija može nastati i fotokemijskim razgrađivanjem čestice M* (pri čemu nastaju nove vrste) te fluorescencijskom ili fosforescencijskom emisijom zračenja. Vijek trajanja M* toliko

je kratak da je koncentracija pobuđenih čestica u bilo kojem trenutku zanemariva. Nadalje, količina toplinske energije otpuštene tijekom relaksacije najčešće je vrlo mala te se ne može detektirati. Dakle, prednosti apsorpcijskih mjerenja leže u činjenici da se u njima najmanje moguće remeti energija proučavanog sustava.

Apsorpcijski spektar

Svojstvo nekog spoja da apsorbira dio spektra uglavnom se opisuje apsorpcijskim spektrom. To je grafički prikaz neke funkcije slabljenja osnovnog snopa zračenja u ovisnosti o promjeni valne duljine, frekvencije ili valnog broja. Molekule pokazuju tri vrste kvantiziranih prijelaza pri pobuđivanju ultraljubičastim, vidljivim ili infracrvenim zračenjem. Pobuđivanje ultraljubičastim te vidljivim zračenjem uključuje prijelaz elektrona, dok infracrveno zračenje može inducirati prijelaze u vibracijskim ili rotacijskim stanjima.

Apsorpcija ultraljubičastog i vidljivog zračenja

Molekulska apsorpcija u ultraljubičastom i vidljivom području sastoji se od apsorpcijskih vrpca sastavljenih od gusto nanizanih crta. U slučaju mjerenja apsorpcije nekog spoja u otopljenom obliku taj je spoj okružen molekulama otapala. Priroda vrpce molekulske apsorpcije tada je narušena zbog sudaranja čestica spoja kojeg želimo odrediti sa molekulama otapala. Zbog sudara čestica dolazi do proširenja kvantnih stanja. Stoga nastaju glatki i neprekidni apsorpcijski maksimumi tipični za apsorpcijske spektre.

Vrste vibracija molekula (slika 33) [21]

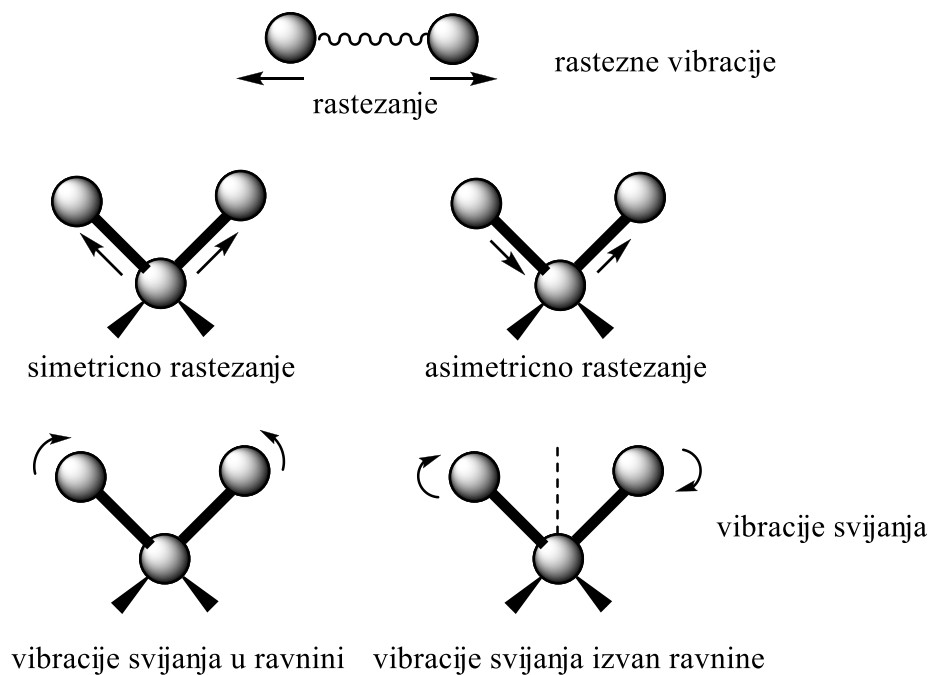
- 1) Rastezanje (engl. *stretching*)-veće vrijednosti valnog broja
- 2) Svijanje (engl. *bending*; deformacijske vibracije)-niže vrijednosti valnog broja

1. Vrste svijanja s obzirom na simetriju:

- a) Simetrična svijanja
- b) Asimetrična svijanja

2. Vrste svijanja s obzirom na ravninu:

- a) Vibracije svijanja u ravnini
 - ravninska strižna vibracija (engl. *scissoring*)
 - ravninska njihajna vibracija
- b) Vibracije svijanja izvan ravnine (izvijanje)
 - neravninska uvojna vibracija (engl. *twisting*)
 - neravninska njihajna vibracija
 -



Slika 33. Vrste vibracija molekula.

Energije povezane s tim vibracijskim stanjima najčešće se međusobno razlikuju te se razlikuju od energija koje pripadaju vibracijama rastezanja. Razlike energija između vibracijskih stanja manje su od razlika energija među elektronskim stanjima, najčešće za red veličine. Molekula također ima mnoštvo kontinuiranih rotacijskih stanja povezanih se rotacijskim pokretima molekule oko njezina težišta. Ta su rotacijska energijska stanja superponirana svakome od vibracijskih stanja prikazanih energetske dijagramom (Jablonski dijagram). Energijske razlike među tim stanjima manje su za red veličine od onih među vibracijskim stanjima.

Ukupna energija E molekule može se pritom prikazati jednadžbom:

$$E_{uk} = E_{elektronska} + E_{vibracijska} + E_{rotacijska} + E_{translacijska}$$

Pritom je:

- $E_{elektronska}$ energija povezana s elektronima u različitim vanjskim orbitalama molekule.

- $E_{vibracijska}$ energija povezana sa međuatomskim vibracijama molekule kao cjeline.

- $E_{rotacijska}$ energija odgovara rotacijama molekule oko gravitacijsko sedišta.

- $E_{translacijska}$ energija posljednji član jednadžbe te označuje translacijsku energiju molekule

Apsorbirajuće vrste u molekuli

Samo molekule koje apsorbiraju određeni dio spektra vidljivog zračenja (ili UV područja) ima smisla snimati na UV/Vis spektrofotometru. Da bi molekula apsorbirala određeni dio spektra ona mora posjedovati dvostruku vezu, aromatski prsten ili neku drugu skupinu zaslužnu za apsorpciju. Naime, molekula treba sadržavati kromofor ili aoksokrom:

1. Kromofor-bilo koja skupina koja je zaslužna za apsorpciju određenog dijela spektra, tj. kromofor je uzrok apsorpcijske vrpce.
2. Aoksokrom-skupina koja uz već postojeći, daje novi kromofor (pomiče se apsorpcija u veće valno područje).

Lamber-Beerov zakon [22]

Lamber-Beerov zakon važan je za apsorpcijsku spektroskopiju jer on definira ponašanje svjetlosne zrake koja putuje kroz otopinu uzorka. Početna zraka (određena valne duljine i intenziteta) dolazi od izvora elektromagnetskog zračenja do kivete u kojoj je otopljeni uzorak. Svjetlost prolazi kroz kivetu, pri čemu se intenzitet svjetlosne zrake smanjuje ukoliko uzorak čine čestice koje apsorbiraju svjetlost (određene valne duljine svjetlosti). Nakon toga zraka putuje do detektora gdje se može izmjeriti intenzitet zrake nakon prolaska kroz kivetu. Apsorbancija, definirana Lamber-Beerovim zakonom, upravo je omjer intenziteta (početne) zrake koja je došla do kivete i (umanjenog) intenziteta zrake koja je prošla kroz kivetu do detektora. Jednadžba Lambert-Beerovog zakona može se opisati i pomoću tri parametra:

$$A = \varepsilon \times c \times l$$

A – apsorbancija

ε – molarni apsorpcijski koeficijent (intenzitet apsorpcije), svojstvo molekule koja apsorbira

c – molarna koncentracija uzorka u otopini, mol/L

l – duljina ćelije s uzorkom odnosno put koji prolazi svjetlost kroz ćeliju, cm

Iz jednadžbe se može zaključiti kako apsorbancija raste proporcionalno broju molekula koje apsorbiraju svjetlost te da apsorbancija izravno ovisi o vrsti apsorbirajuće tvari (svaka tvar ima karakterističnu vrijednost ε). [22]

Utjecaji na intenzitet i valnu duljinu apsorpcije

Navedeni su pojmovi koji opisuju pomake valne duljine te intenzitet maksimuma u spektru:

A) S obzirom na promjenu maksimuma nekog spektra glede valne duljine (x-os), razlikujemo:

1. Batokromni pomak-pomak prema većim valnim duljinama odnosno pomak u crveno (engl. *red shift*), razlog pomaka može biti supstitucija ili promjena otapala
2. Hipsokromni pomak-pomak prema manjim valnim duljinama odnosno pomak u plavo (engl. *blue shift*), supstitucija aoksokroma ili zbog otapala

B) S obzirom na promjenu maksimuma nekog spektra glede intenziteta (y-os), razlikujemo:

1. Hiperkromni efekt-povećanje intenziteta apsorpcije
2. Hipokromni efekt-smanjenje intenziteta apsorpcije

4.3. Spektroskopski instrumenti

Tipovi spektroskopskih instrumenata [23]

1. Spektroskop

Spektroskop je uređaj za identifikaciju elemenata u uzorku koji je pobuđen u plamenu ili nekoj drugoj vrućoj sredini. Sadrži modificirani monokromator u kojemu je žarišna ravnina s izlaznom pukotinom zamijenjena pokretnom lećom koja omogućava vizualnu detekciju emisijskih linija. Valna duljina linije određuje se pomoću kuta između upadnog snopa i puta linije do leće.

2. Kolorimetar

Kolorimetar je instrument za apsorpcijska mjerenja koji koristi ljudsko oko kao detektor. Stoga su potrebni standardi za uspoređivanje.

3. Fotometar

Fotometar je jednostavan instrument koji se može primijeniti za apsorpcijska, emisijska ili fluorescencijska mjerenja s ultraljubičastim, vidljivim ili infracrvenim zračenjem. Fotometri se razlikuju prema ugrađenim apsorpcijskim ili interferencijskim filtrima za odabir valnih duljina te fotoelektričnoj napravi za mjerenje snage zračenja. Instrumenti koji se primjenjuju za apsorpcijska mjerenja sa vidljivim zračenjem ponekad se nazivaju fotoelektričnim kolorimetrima ili samo kolorimetrima. Primjena ovog posljednjega naziva može prouzročiti nesporazum. Fotometar koji se primjenjuje isključivo za fluorescencijska mjerenja često se naziva fluorimetrom.

4. Spektrograf

Spektrograf snima spektre na fotografsku ploču ili film smješten uzduž žarišne ravnine monokromatora. Monokromator se može pretvoriti u spektrograf zamjenom žarišne ravnine AB pločom ili držačem filma. Spektrografi se primjenjuju za kvalitativnu analizu elemenata.

5. Spektrometar

Spektrometar je monokromator sa pukotinom učvršćenoj u žarišnoj ravnini. Spektrometar sa fotopretvornikom zove se spektrofotometar. Ti se instrumenti mogu primjenjivati za apsorpcijska, emisijska te fluorescencijska mjerenja. Fluorescencijski spektrometri često se nazivaju i spektrofluorimetrima.

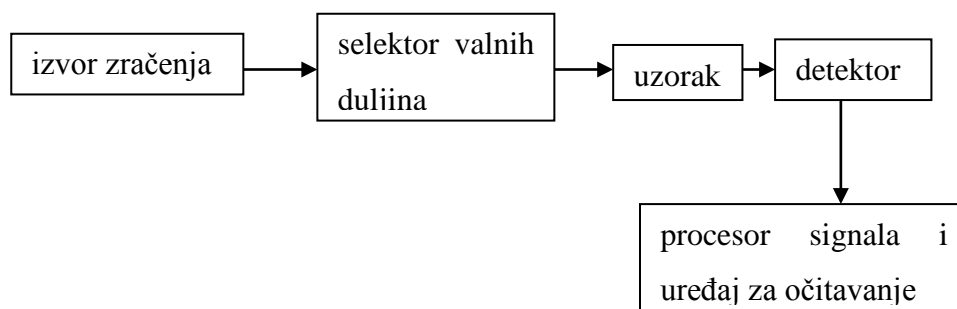
Građa instrumenata [24]

Većina je spektroskopskih uređaja sastavljena od pet osnovnih dijelova:

1. Stabilnog izvora energije zračenja
2. Selektora valnih duljina
3. Jednoga ili više spremnika za uzorke
4. Detektora zračenja ili pretvornika energije zračenja u mjerljiv signal
5. Procesora signala i uređaja za za njegovo očitavanje

Emisijski se instrumenti razlikuju od apsorpcijskih i fluorescencijskih instrumenata (slika 34):

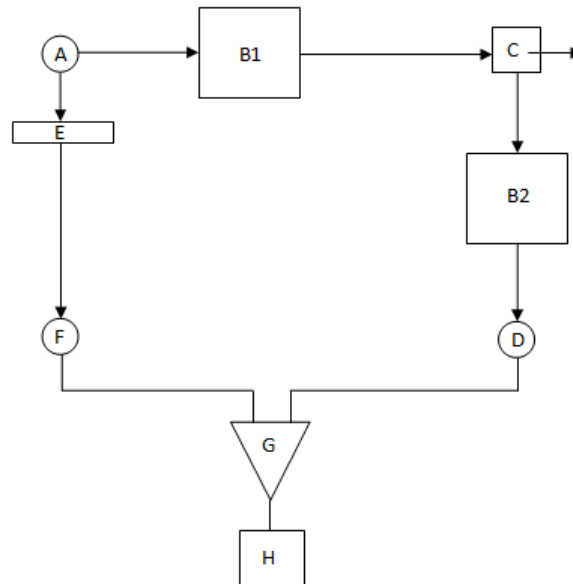
- 1) Emisijski instrumenti imaju stabilni izvor energije zračenja zajedno sa spremnikom za uzorke.
- 2) Apsorpcijska i fluorescencijska spektroskopija zahtijevaju da izvor energije zračenja i spremnik uzorka budu odvojeni. [24]



Slika 34. Prikazani su dijelovi koji čine instrument za apsopcijsku spektroskopiju različitih tipova instrumenata za optičku spektroskopiju.

Instrumenti za mjerenje fluorescencije

Molekule koje posjeduju svojstvo fluorescencije mogu se pratiti, detektirati i kvantificirati pomoću fluorimetra. Slika 35 prikazuje opći raspored sastavnih dijelova fluorimetra i spektrofluorimetra:



Slika 35. Sastavni dijelovi fluorimetra i spektrofluorimetra: A-izvor, B1-primarni pobudni filter ili monokromator, B2-sekundarni pobudni filter ili monokromator, C-uzorak, D-fotomultiplikator za uzorak, E-prigušivač snopa, F-referentni fotomultiplikator, G-diferencijalno pojačalo, H-očitanje.

Instrument sadrži dijelove koji su istovijetni onima za spektroskopiju u UV i Vis području, ali uz male modifikacije. Fluorimetar (kao i fotometar) primjenjuje filter za odabir valne duljine. Nasuprot tome, većina spektrofluorimetara primjenjuje filter za ograničavanje pobudnog zračenja i monokromatsku rešetku za disperziju fluorescencije uzorka. Spektrofluorimetri mogu imati 2 monokromatora, jedan za pobudno zračenje i drugi za fluorescenciju. Spektrofluorimetri sa dva monokromatora upotrebljavaju se za snimanje fluorescencijskih emisijskih i pobudnih spektara. Pri snimanju emisijskih spektara pobudni se monokromator namjesti na apsorpcijski maksimum, a spektar emitiranog zračenja dobije se drugim monokromatorom. Pobudni spektar dobiva se namještanjem emisijskog monokromatora na fluorescencijski maksimum te snimanjem uzorka pobudnim monokromatorom. [8]

Zbog poništavanja fluktuacije snage izvora zračenja fluorescencijski su instrumenti, kako je i prikazano na slici 35, najčešće dvosnopni. Snop za uzorak prvo prolazi kroz primarni filter ili primarni monokromator pri čemu se propušta samo zračenje koje uzrokuje fluorescenciju, a isključuje se zračenje koje odgovara fluorescencijskim valnim duljinama. Fluorescencijsko zračenje uzorka širi se u svim smjerovima, ali ga je najpogodnije promatrati pod pravim kutom u odnosu na pobudnu zraku. Naime, pri drugim kutevima raspršenje u otopini te na stijenkama kivete može prouzročiti velike pogreške u mjerenju intenziteta. Emitirano zračenje potom prolazi kroz sekundarni filter ili sekundarni monokromator pri čemu se izolira fluorescencijski maksimum. Nakon toga emitirano zračenje dolazi do fotoelektričnog detektora. Referentni snop prolazi prigušivačem kojim se postiže smanjenje njegove snage na približno onu vrijednost koju ima fluorescencijsko zračenje (smanjenje snage je najčešće za faktor 100 ili više). Signali referentnog fotodetektora i onoga za uzorak procesiraju se diferencijalnim pojačalom čiji se izlazni signal očituje na mjernoj ljestvici ili na pisaču. Mnogi fluorescencijski instrumenti su oni nul-tipa, pri čemu se to stanje postiže ili optičkim prigušivačima.

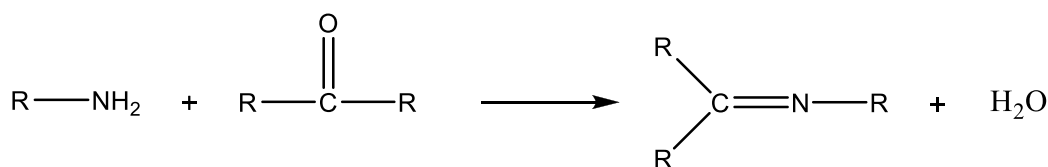
Složenost, radne značajke te cijena fluorimetara i spektrofluorimetara vrlo su različite, baš kao i cijene odgovarajućih instrumenata za apsorpcijska mjerenja. Često su instrumenti sa filterima prikladniji za kvantitativan analitički rad od složenijih instrumenata temeljenih na monokromatorima. Općenito su fluorimetri osjetljiviji od spektrofluorimetara jer filteri imaju veću propustljivost zračenja od monokromatora. Nadalje, izvor i detektor se u jednostavnijim instrumentima mogu smjestiti bliže uzorku, čime se postiže veća osjetljivost.

Primjena fluorescencijskih metoda

Fluorescencijske metode su 10-1000 puta osjetljivije od metoda temeljenih na apsorpciji jer se njihova osjetljivost može povećati. Povećanje osjetljivosti može izvesti na dva načina; povećanjem snage pobudnog snopa te pojačanjem detektorskog signala.

5. Schiffove baze

Schiffove baze dušikovi su analozi aldehida ili ketona u kojima je C=O grupa zamijenjena C=N-R grupom [25]. Schiffove baze uglavnom su sintetizirane reakcijom kondenzacije aldehida ili ketona sa primarnim aminom, kako je opisano na slici 36.



Slika 36. Shematski prikaz sinteze Schiffovih baza.

R može biti alkilna ili arilna skupina. Schiffove baze koje sadržavaju arilne supstituente stabilnije su te ih je stoga jednostavnije sintetizirati, dok su Schiffove baze sa alkilnim supstuentima relativno nestabilne. Schiffove baze alifatskih aldehida relativno su nestabilne i lako polimeriziraju, dok Schiffove baze aromatskih aldehida koje imaju učinkovitu konjugaciju pokazuju bolju stabilnost.

Primjena Schiffovih baza

Schiffove baze klasa su spojeva široke primjene, a osobitu važnost imaju u medicini te farmaceutici. Mnogo Schiffovih baza čiji su derivati bazirani na heterocikličkim prstenima posjeduju širok raspon bioloških aktivnosti te razna svojstva (antivirusna svojstva, antitumorska svojstva, citotoksičnost, antimikrobna aktivnost, antibakterijska aktivnost te antipileptička svojstva.

Osim toga, Schiffove baze i njihovi metalni kompleksi često se koriste kao kelatni ligandi te imaju primjenu u biološkim sustavima. Pored toga valja istaknuti kako Schiffove baze čine jednog od najvažnijih sintetskih liganada u asimetričnoj katalizi. Nadalje, fenilni derivati Schiffovih baza koriste se kao inhibitori korozije. Od ovih spojeva mogu se proizvesti novi optički te organski vodljivi materijali i polimeri.

Benzimidazol i njegovi derivati

Osim Schiffovih baza veliku pažnju privukli su i benzimidazoli. Benzimidazoli su ključne gradivne jedinice raznih biološki važnih molekula. Benzimidazolska jezgra vrlo je važna

farmakofora u današnjem otkrivanju lijekova te u medicinskoj kemiji. Benzimidazol je također i sastavni dio vitamina B12. Benzimidazoli pokazuju raznoliku biološku aktivnost i svojstva: antimikrobna svojstva, antigljivična svojstva, antitumorska svojstva, antivirusna svojstva, te antihistaminska svojstva.

Osim navedenog, benzimidazol i njegovi derivati imaju primjenu i u optičkim laserima, polimernim bojilima u optoelektronici, organskim luminoforima te fluorescentnim oznakama za detekciju biološki važnih molekula poput DNA, RNA, proteina i enzima. [26]

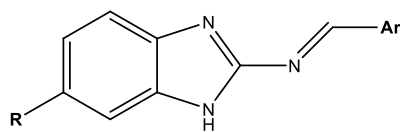
3.Eksperimentalni dio

Eksperimenti su provedeni su kako bi se ustanovilo dali u seriji Schiffovih baza postoje molekule koje pokazuju AIE pojavu. Osim što su priređene njihove otopine u vodi i etanolu (nebi li se ustanovila AIE emisija agregata) snimljeni su i emisijski spektri krutih uzoraka (nebi li se ustanovila AIE pojava kod praškastih uzoraka Schiffovih baza).

3.1. Materijali

Pripravljene su temeljne otopine ispitivanih Schiffovih baza tako da se oko 1 mg Schiffove baze u praškastom obliku otopilo u 5 mL etanola.

Tablica 1. Prikazani su podaci o temeljnim otopinama Schiffovih baza. Prikazana je i strukturna jezgra zajednička svim Schiffovim bazama.



spoj	-Ar	-R	Mr	m/mg	V/mL	c/mM
3		-NO ₂	353,385	1,0	5,0	0,566
8		-H	223,259	1,1	5,0	0,985
9		-H	224,267	1,1	5,0	0,981
10		-CN	236,235	1,2	5,0	1,016
11		-CH ₃	225,252	1,0	5,0	0,888
12		-CN	252,300	1,0	5,0	0,793
13		-CH ₃	241,317	1,0	5,0	0,829
14		-NO ₂	272,289	1,2	5,0	0,881
15		-CN	291,358	1,1	5,0	0,755
16		-CH ₃	280,375	1,0	5,0	0,713
17		-NO ₂	311,347	1,1	5,0	0,707

Korišteni instrumenti:

- UV/Vis spektrofotometar, *Varian 50 Scan*
- Fluorimetar, *Varian Cary Eclipse*
- Analitička vaga, *KERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany*
- Uređaj za nanošenje filma tehnikom brzog rotiranja, *KW-42, Chemat Technology*
- Ultrazvučna kupelj, *Transsonic T 460/H, Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co KG*
- Sušionik staklenog posuđa
- Električni grijač

Korišteni programi:

- Eclipse Scan
- Microsoft Office Excell 2007
- Origin 8.5 Pro

Korišteno laboratorijsko posuđe i pribor:

- Špatule
- Satna stakla
- Penicilinke (vijalice)
- Erlenmeyerove tikvice
- Čaše
- Kvarcne kivete
- Plastične kivete
- Standardne laboratorijske rukavice
- Kapaljke
- Pincete
- Vata, maramice, papirnati ubrusi
- Stakalca za mikroskopiranje
- Petrijeve zdjelice
- Stakleni tarionik sa staklenim tučkom
- Automatske pipete različitih volumena
- Tamne i prozirne plastične bočice

Korištena otapala

- Apsolutni etanol (Ruđer)
- Dimetilsulfoksid (DMSO, 100%-tni)
- Mili-Q voda, TKA –GenPure, Wasseraufbereitungssystem, GMBH
- Poli(metil metakrilat) (PMMA), *Sigma-Aldrich*
- diklormetan, CH_2Cl_2 , *Carlo Erba Reagents*
- Kromsumporna kiselina (za čišćenje)
- Aceton (za čišćenje)

3.2. Apsorpcijski i emisijski spektri serije Schiffovih baza u vodi i etanolu

U prvoj su tablici navedene osnovne informacije potrebne za računanje koncentracije temeljnih otopina Schiffovih baza, dok su u drugoj tablici navedeni podaci vezani uz pripravu otopina za analizu (volumeni analiziranih otopina otpipetiranih u kvarcnu kivetu) te podaci o uvjetima snimanja (valna duljina pobude te veličina slitova). Mase Schiffovih baza prikazane u tablici 1 izvagane su pomoću analitičke vage (na 4 decimale). Temeljne otopine Schiffovih baza u etanolu pripremljene su u standardnim vijalicama (bočicama) dostupnima u laboratoriju. Temeljne otopine volumena su 5 mL. Nakon što su priređene temeljne otopine Schiffovih baza u etanolu bočice su začepljene te je oko područja čepa namotano nekoliko slojeva parafilma. Uzorak svake priređene temeljne otopine za analizu otpipetiran je u kvarcnu kivetu te razrijeđen na koncentraciju od 10^{-5} M. Otopine su u kvarcnim kivetama potom začepljene i promiješane, s tim da je otopina vode miješana dulje vremena jer je otapanje slabije. Miješanje je vršeno blagim nagninjanjem jednog pa potom drugog kraja kivete uz okretanje kivete za 360° , nakon čega bi kiveta s otopinom eventualno odstajala kako bi čestice spoja imale vremena difundirati po cijeloj otopini i napraviti agregate (ukoliko ih rade). Pošto su temeljne otopine bile otopine Schiffovih baza u etanolu, treba naglasiti kako otopina Schiffove baze u vodi uvijek sadržava određenu količinu etanola, zbog čega otopina pojedine Schiffove baze nije u 100% vode. Pošto je otopina spoja u kiveti za analizu (uvijek) volumena 3 mL, a najveći otpipetirani volumen temeljne otopine iznosi 42,4 μL (spoj **17**), najveći udio etanola u vodi u otopini za analizu iznosi 1,4%, što je zanemariv udio etanola u vodi. Nadalje, otopinama Schiffovih baza u vodi i etanolu sniman je apsorpcijski spektar na spektrofotometru Varian Cary 50 te emisijski spektar na Varian Eclipse spektrofluorimetru. Pojedininim otopinama Schiffovih baza snimljen je apsorpcijski i emisijski spektar u istoj u

kvarcnoj kivetu debljine 1 cm. Grafovi zabilježeni od strane instrumenata učitani su pomoću programa 'Eclipse scan'. Emisijskim spektrima snimljenih na fluorimetru nije oduzet signal otapala (bazna linija) pošto je ručno oduzimanje signala rezultiralo emisijskim spektrima koji zadiru u negativno područje intenziteta emisije zbog pogreške instrumenta. Međutim, snimanjem emisijskih spektara slijepih proba je utvrđeno da otapala ne interferiraju u području emisije spojeva. Spektri su napravljeni u Microsoft Office Excelu 2007. Emisijski su spektri ugađeni uz pomoć programa Origin 8.5.

Tablica 2. Dani su iznosi otpipetiranih volumena temeljnih otopina Schiffovih baza za dobivanje koncentracije od 10^{-5} M koja je prisutna u kvarcnoj kivetu za analizu. Dani su podaci valne duljine pobude (one odgovaraju valnoj duljini maksimuma apsorpcije u vidljivom dijelu spektra) te veličina slitova pri kojima su snimani emisijski spektri (slitovi u tablici odnose se na emisijske spektre priložene na slici 40) u poglavlju 'Rezultati i rasprava'.

spoj	otpipetirani volumen temeljne otopine/ μL	pobuda emisije/nm		slitovi	
		voda	etanol	voda	etanol
3	31,8	390	440	10-10	10-10
8	30,0	283	285	10-10	5-5
9	30,5	375	364	10-10	5-10
10	29,5	355	355	5-10	5-10
11	33,5	367	366	5-10	5-5
12	37,8	362	360	5-10	5-5
13	36,2	370	373	5-10	5-5
14	34,1	370	368	5-10	5-5
15	39,7	356	408	5-10	5-5
16	42,1	429	397	5-10	5-10
17	42,4	355	419	5-10	5-5

3.3. Ispitivanje Tyndallovog fenomena

Za ispitivanje Tyndallovog fenomena korišten je *pointer*-laser. Sve ispitivane otopine (spoja **3**, **10**, **15**, **16** i **17**) u vodi i etanolu koncentracije su 10^{-5} M, a za spoj **17** priređena je i otopina koncentracije 10^{-7} M pošto je pri koncentraciji od 10^{-5} M bilo vidljivo taloženje (makroagregata). Otopine su pripravljene i uslikane u standardnim kvarcnim kivetama koje su

prije korištenja za ispitivanje očišćene kromsumpornom kiselinom. Tyndallov fenomen priređenih otopina slabo je vidljiv pri uobičajenim uvjetima svjetla u laboratoriju izuzev spoja **3** čija se crvena laserska zraka mogla vidjeti i pri danjem svjetlu (iako slabo).

3.4. Vizualno ispitivanje fluorescencije spojeva pod UV-lampom

Uzorak ispitivanih Schiffovih baza (**3**, **10**, **15**, **16** i **17**) uzet je iz pojedinih bočica pripadajućih spojeva te špatulom stavljen u prethodno oprano i osušeno satno staklo. Uzorci su stavljeni u zamračenu kutiju sa UV-lampom te fotografirani pri valnoj duljini pobude od $\lambda=254$ nm. Sve slike priložene u ovom radu u kojima je uzorak prikazan pod UV lampom fotografirane su pri $\lambda=365$ nm.

3.5 Emisijski spektri praškastih uzoraka

Snimljeni su spektri praškastih uzoraka Schiffovih baza **3**, **15**, **16** i **17** (spektri spojeva u čvrstom stanju). Kasnije su na isti način snimljeni i mljeveni praškasti uzorci spojeva **3** i **17**. Praškasti uzorci snimljeni su pomoću istog instrumenta i programa kao i emisijski spektri razrijeđenih temeljnih otopina, ali je korišten poseban nosač prilagođen samo za praškaste uzorke. Mala se količina praškastog uzorka Schiffove baze špatulom stavi na stakalce koje se potom stegne (stlači) ručnim zakretanjem vijka valjkastog nosača uzorka koji se potom stavlja na drugi nosač (stalak, pridržiivač) u instrument. Prvi spomenuti nosač sadrži okruglo stakalce na kojemu se nalazi vijkom stlačen uzorak. Nosač s uzorkom stavlja se na stalak koji je fiksiran u spektrofluorimetru prema uputama proizvođača.

3.6. Apsorpcijski i emisijski spektri titracija

U sklopu rada snimljeni su titracijski spektri spojeva **3**, **15** i **17**. Titracijski spektri snimljeni su na isti način kako je opisano za pripravljanje i snimanje spektara razrijeđenih temeljnih otopina. Titracije su napravljene tako da se pripravi otopina određenog udjela vode (etanola) u koju se otpipetira određeni volumen temeljne otopine. Ista se stvar ponovi za različite udjele

vode/etanola. Za priređivanje titracija spojeva **3**, **15** i **17** korištena je voda i apsolutni etanol, dok je za spoj **3** napravljen i niz titracija voda/DMSO. Titracije spojeva **3** i **15** su napravljene pri koncentraciji $c = 10^{-5}$ M. Stoga što spoj **17** pokazuje taloženje pri toj koncentraciji napravljeni su titracijski spektri spoja **17** u kojima je koncentracija spomenutog spoja $c = 5 \cdot 10^{-6}$ M.

3.7. PMMA filmovi

U sklopu rada pripremljeni su polimetilmetakrilatni (PMMA) filmovi spoja **3** i **17** te su im snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri. Filmovi spojeva **3** i **17** različito su dobiveni. Naime, film spoja **3** dobiven je tehnikom brzog rotiranja (engl. *spin coating*), no film spoja **17** dobiven je nakapavanjem „koktela“ te isparavanjem otapala.

Tablica 3. Sastavnice korištene za izradu PMMA filmova spoja **3** i **17**.

spoj	m(PMMA)/mg	m(spoja)/mg	V(CH ₂ Cl ₂)/mL
3	252,6	0,6	1,4
17	255,0	1,2	1,4

Spoj **17** dodan je u smjesu diklormetana i PMMA u otopljenom obliku (3 mL etanola), čime je dobiven „koktel“. Kako bi sastavnice koktela bile dobro promiješane koktel je u tamnoj bočici (omotane parafilmom) stavljen u ultrazvučnu kupelj na 10 minuta. U digestoru je na stakalce stavljen polietilenski film na kojeg je „koktel“ postepeno nakapavan. Film spoja **17** nakon sušenja žute je boje sa mjestimičnim nakupinama taloga. S druge strane, na sličan je način napravljen i film spoja **3**, ali je pripremljen tehnikom brzog rotiranja. Film je također bio žute boje, ali nije imao talog na površini. Iz pripremljenih su filmova izrezane dvije trakice. Nakon što je plastičnoj kivetu snimljena bazna linija u nju je stavljena izrezana trakica (uz stijenkku kivete). Potom se trakici u plastičnoj kivetu snimi apsorpcijski (*Varian Cary 50*) i emisijski spektar (*Varian Eclipse* fluorimetar).

3.8. Mehanokromizam

Spoj **3** i spoj **17** pokazali su promjenu boje nakon mljevenja, zbog čega su naslućena mehanokromatska svojstva ovih spojeva. Kako bi se mehanokromizam bolje istražio provedeni su ciklusi za oba spoja koji se sastoje od mljevenja, napanjanja i sušenja, nakon čega slijedi povratak na početak ciklusa. Pri tome je spoj nakon svakog procesa mljevenja i sušenja fotografiran te mu je sniman emisijski spektar.

1. Mljevenje je obavljeno u staklenom tarioniku sa staklenim tučkom, pri čemu je spoj podvrgnut lupanju, trljanju, mljevenju, struganju, smicanju i grebanju, dakle podvrgnut je mehaničkoj sili 10-ak minuta. Pri tome su spojevi **3** i **17** poprimili ciglasto-crvenkastu boju. Nakon mljevenja uzorak praha stavljen je na nosač te u fluorimetar.
2. Pošto je cilj vratiti spoj u prijašnje stanje (boje i emisije), spoj je podvrgnut napanjanju. U Petrijevu zdjelicu stavljen je apsolutni etanol visine nekoliko milimetara (gledano s bočne strane zdjelice). U zdjelicu je stavljeno satno staklo, a na satno staklo stavljeno je stakalce za mikroskopiranje na kojoj je špatulom raširen mljeveni spoj (**3** odnosno **17**). Cijeli se sustav stavi na električni grijač koji se upali na intenzitet grijanja '1'. Petrijeva se zdjelica zaklopi staklenim dijelom kako bi sustav bio više-manje zatvoren. Cilj je grijati etanol kako bi se njegovim isparavanjem u zatvorenom sustavu postigla mala umjetna atmosfera koju čine pare etanola koje bi napanjavale praškasti mljeveni spoj. Kako se ne bi stvarale kapljice koje bi padale na praškasti uzorak, na rub Petrijeve zdjelice (između gornjeg i donjeg dijela) umetne se komadić vate kako bi stakleni poklopac bio nagnut, što bi uzrokovalo slijevanje kapljica etanola (nastalih kondenzacijom) natrag na donju zdjelicu gdje je tekući etanol. Nakon nekoliko minuta crvenkasti bi mljeveni spoj promijenio boju u narančastu.
3. Kako bi osušili uzorak od etanola, praškasti je spoj (sa stakalcem za mikroskopiranje) prenesen u sušionik za staklenog posuđe. Sušionik se upali na tipku i namjesti na 50°C. Nakon nekoliko minuta stakalce s uzorkom izvadi se van i hladi nekoliko minuta, pri čemu traju pripreme za sljedeću analizu na fluorimetru. Nakon mjerenja uzorak se opet podvragava mljevenju.

Tablica 4. Prikazani su pojedini koraci ciklusa mljevenja, naparavanja i sušenja te njihovo trajanje.

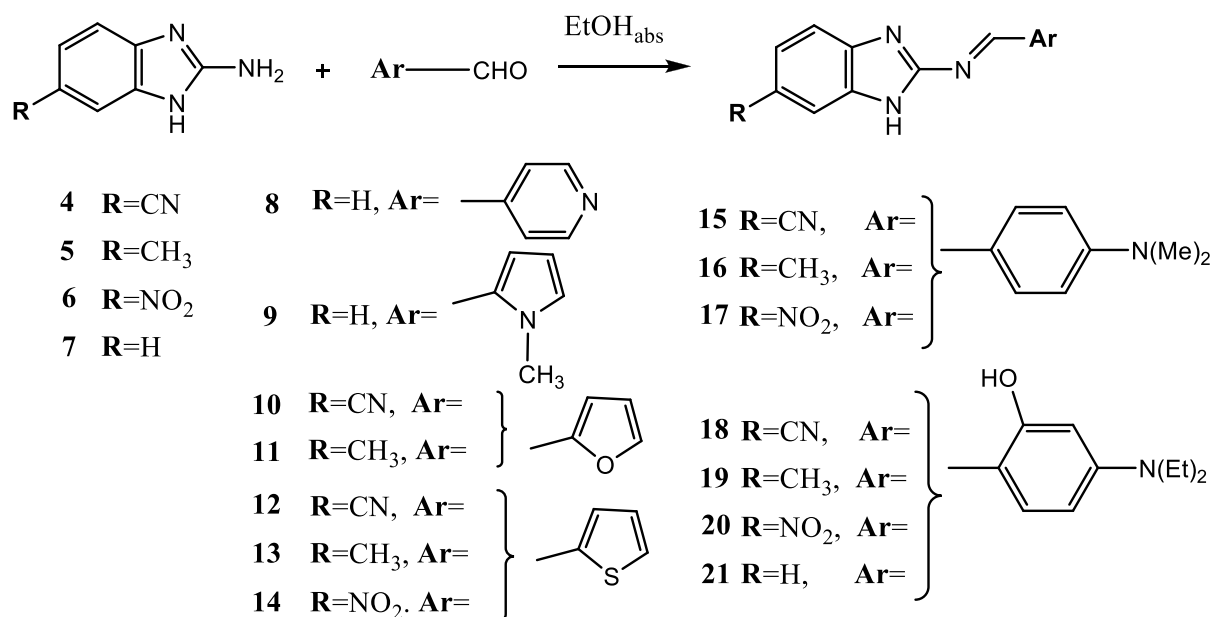
korak ciklusa	trajanje koraka (spoj 17)/min	trajanje koraka (spoj 3)/min
1-početni spoj	-	-
2-mljevenje	13	10
3-naparavanje	13	9
4-sušenje	5	17
5-mljevenje	10	11
6-naparavanje	5	5
7-sušenje	5	10
8-mljevenje	10	10
9-naparavanje	8	-
10-sušenje	10	-
11-mljevenje	10	-
12-naparavanje	7	-
13-sušenje	5	-

Mljevenje je zahtjevnije što je uzorka više jer se cijeli uzorak rasprši po cijelom tarioniku, nakon čega ga je potrebno sastrugati sa stakla, što nekad traje samo po sebi 10-20 minuta). U vrijeme mljevenja koje je zapisano u tablici ubrojeno je vrijeme struganja spoja sa samog stakla tarionika, čime se on zapravo prikuplja na jedno mjesto (sa kojega je dio uzet za analizu na fluorimetru). Iako je u tablici navedeno za spoj **17** trinaest napravljenih koraka, u rezultate je uključeno samo prvih **7** koraka pošto je nakon više ciklusa intenzitet toliko manji da nema smisla prikazivati pripadajuće spektre.

4.Rezultati i rasprava

U ovom radu ispitivana je pojava emisije izazvane agregacijom (engl. AIE, *aggregation induced emission*) u razvoju novih fluorescentnih proba i senzora. Novi molekularni sustavi koji su odabrani za ispitivanje pripremljeni su na Zavodu za organsku kemiju u istraživačkoj grupi izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec [26].

Svojstva Schiffovih baza navedenih u petom poglavlju ‘općeg dijela’ dobar su motiv za sintezu novih serija benzimidazol-supstituiranih Schiffovih baza (slika 37):

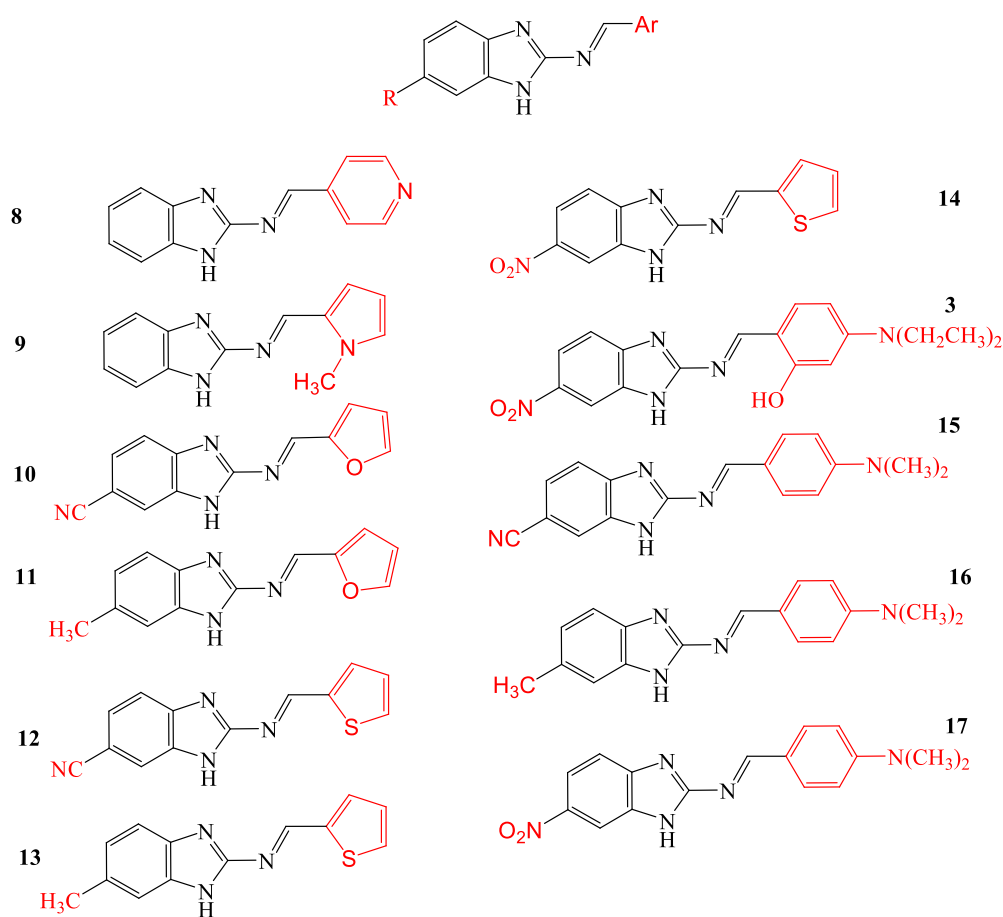


Slika 37. Sinteza Schiffovih baza **8-21** na bazi benzimidazola.

U istraživačkoj grupi Marijane Hranjec i suradnika prethodno su snimljeni UV/Vis spektri sintetiziranih spojeva (**15**, **17**, **18** i **20**) kako bi se okarakterizirala njihova optička svojstva. Spektri ovih spojeva snimljeni u etanolu, metanolu, acetonitrilu i acetonu pokazali su zanimljiva optička svojstva te time pokazali primjenjivost u optoelektronici te senzoricima. Osim optičkih svojstava, spojevima **8-21** karakterizirana je i sposobnost suzbijanja proliferacije u različitim ljudskim tumorskim stanicama kao i ljudskim normalnim fibroblastima. Većina sintetiziranih spojeva pokazala je nespecifičnu antiproliferativnu aktivnost na testiranim stanicama pri najvećoj testiranoj koncentraciji. Ipak, spojevi **18** i **19** pokazali su najjači antiproliferativni učinak te izraženu zavisnost spomenutog efekta o koncentraciji. No, rezultati su također pokazali kako su spojevi **18** i **19** simultano visokotoksični i za ljudske fibroblaste.

Eksperimentalni dio ovog diplomskog rada odnosi se na istraživanje dijela prikazanih Schiffovih baza (**8-17** te **20**, pri čemu valja istaknuti kako je spoj **20** iz rada Marijane Hranjec u ovom radu označen kao spoj **3**). Dok je u radu Marijane Hranjec i suradnika težište bilo na proučavanju antitumorskih svojstava ove serije spojeva, u ovom radu težište je na proučavanju optičkih svojstava istih, konkretno potencijalnog fenomena emisije izazvane agregacijom [26].

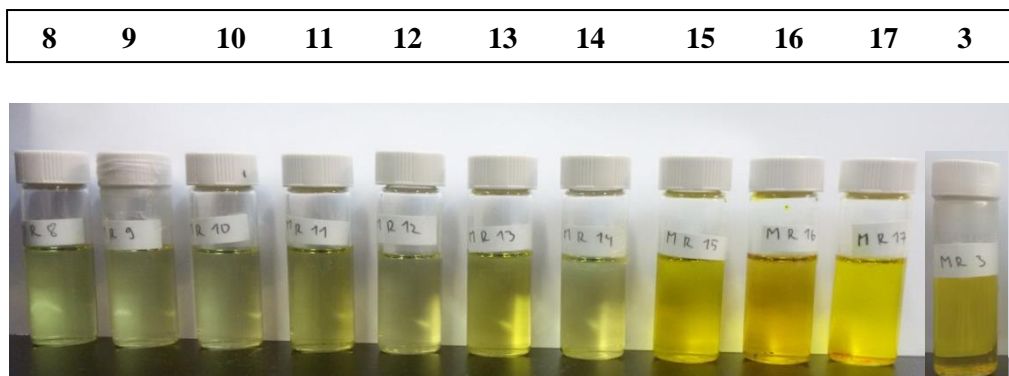
Ispitivano je postojanje AIE fenomena u seriji Schiffovih baza koju čini 11 spojeva (slika 38). Sve Schiffove baze sadrže benzimidazolnu jezgru supstituiranu različitim elektron-odvlačecim grupama te imaju konjugiran sustav koji se proteže duž cijele molekule, što osigurava svojstva apsorpcije (kromofori) i emisije (fluorofori).



Slika 38. Prikazane su strukture ispitivanih Schiffovih baza, odnosno derivata benzimidazola.

4.1. Otopine Schiffovih baza u etanolu (temeljne otopine)

Zanimljivo je kako se boje otopina Schiffovih baza međusobno razlikuju te da se već na temelju proučavanja obojenja otopina može o njima puno zaključiti.

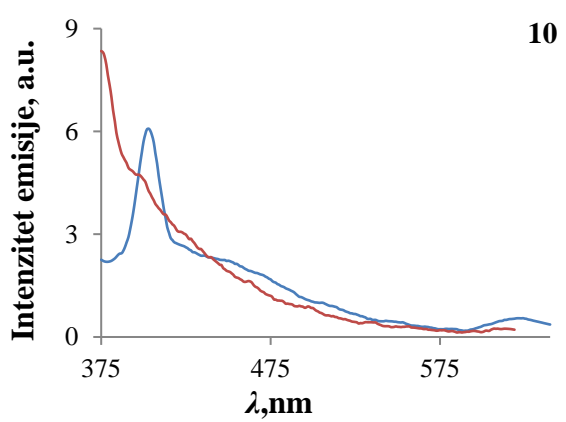
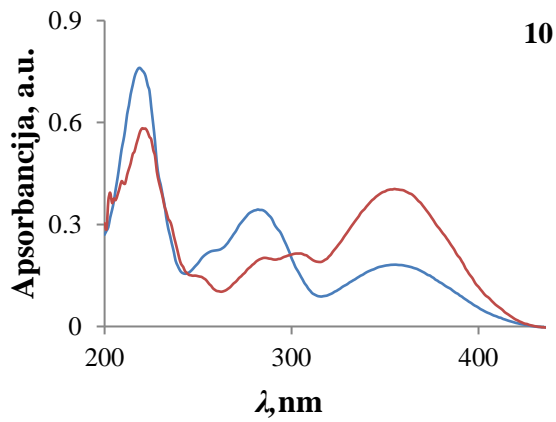
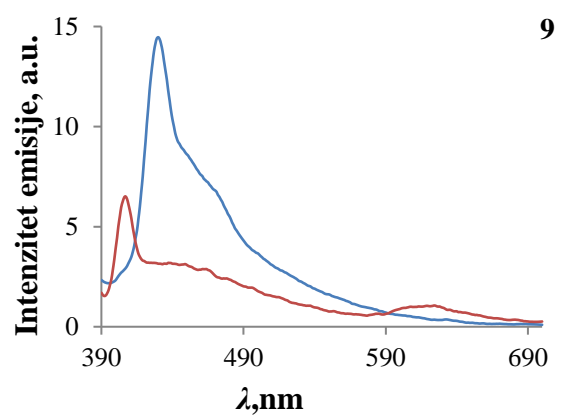
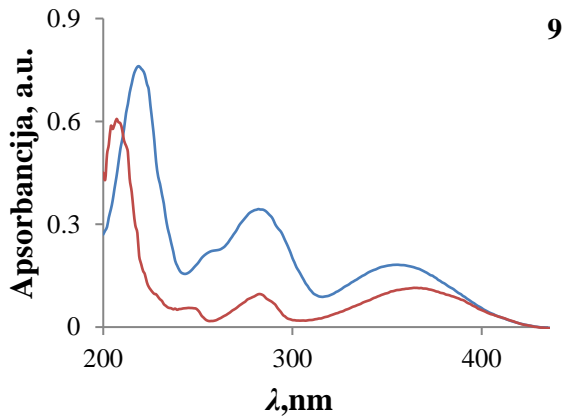
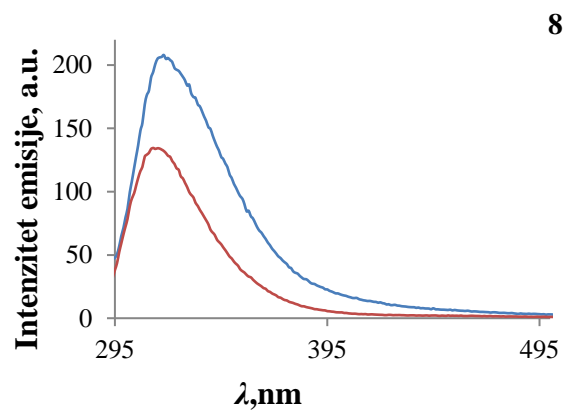
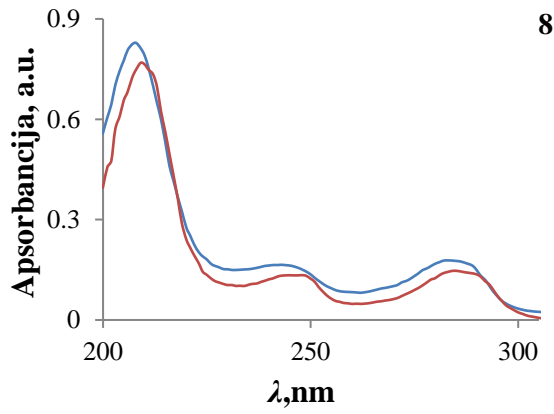
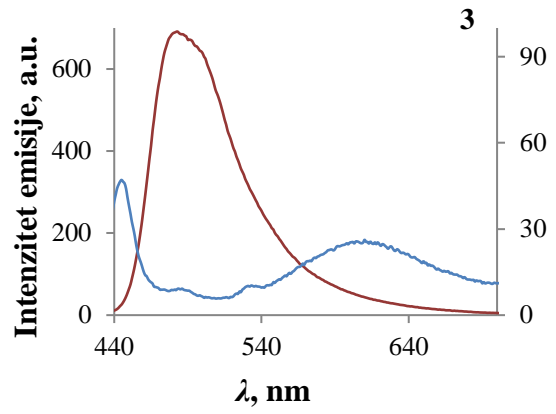
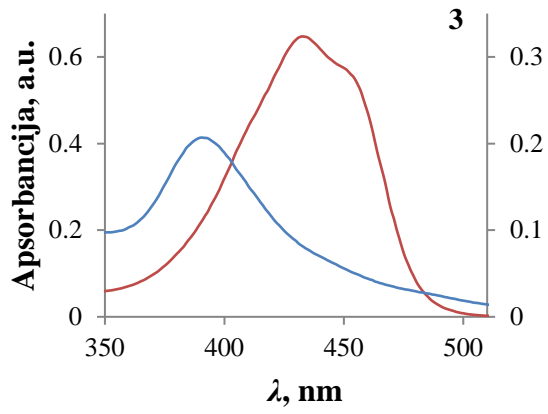


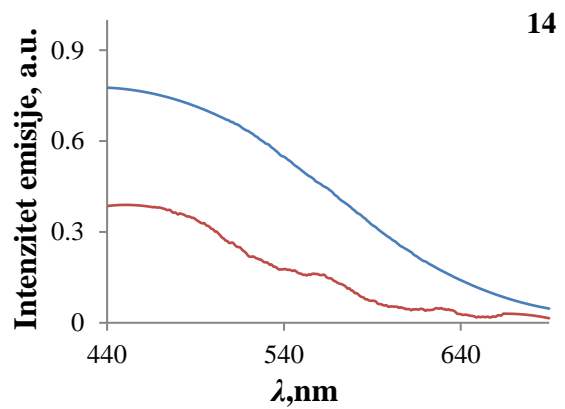
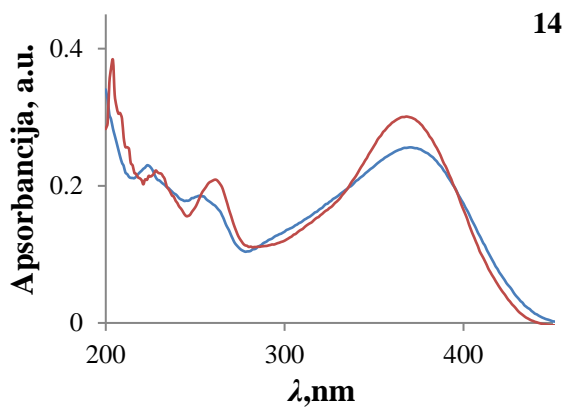
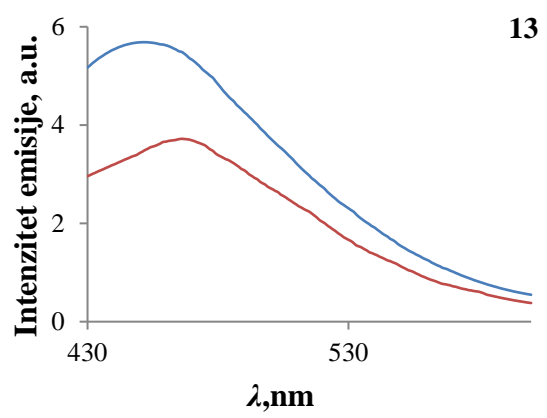
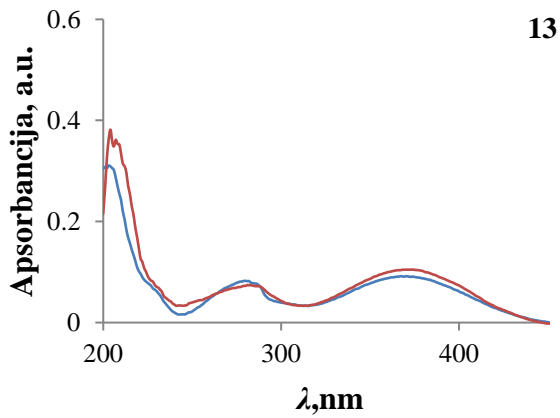
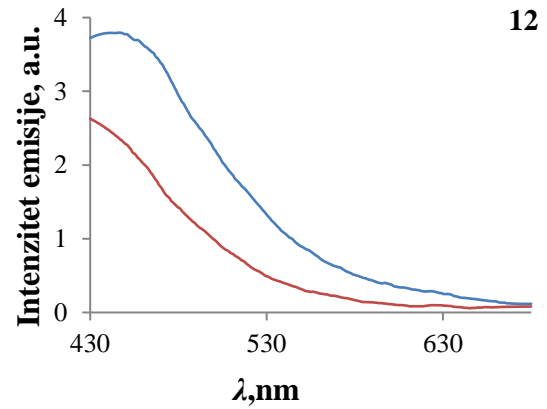
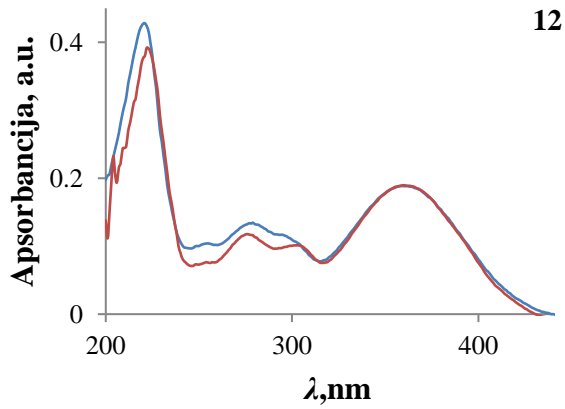
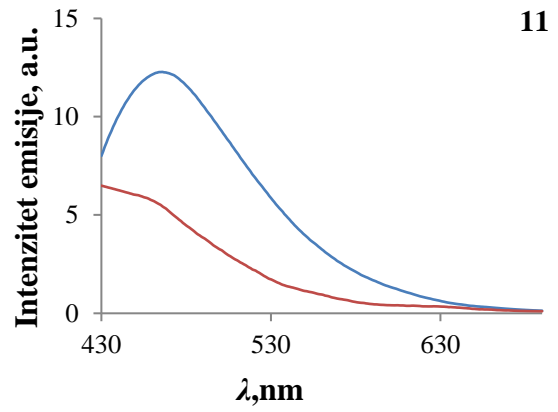
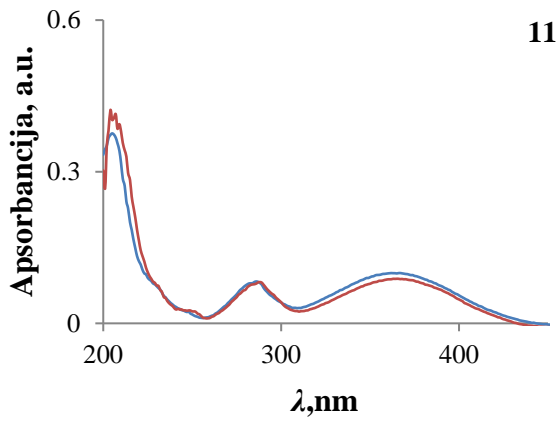
Slika 39. Prikazane su temeljne otopine Schiffovih baza u etanolu. Iznad temeljnih otopina brojkom su naznačene pripadajuće Schiffove baze.

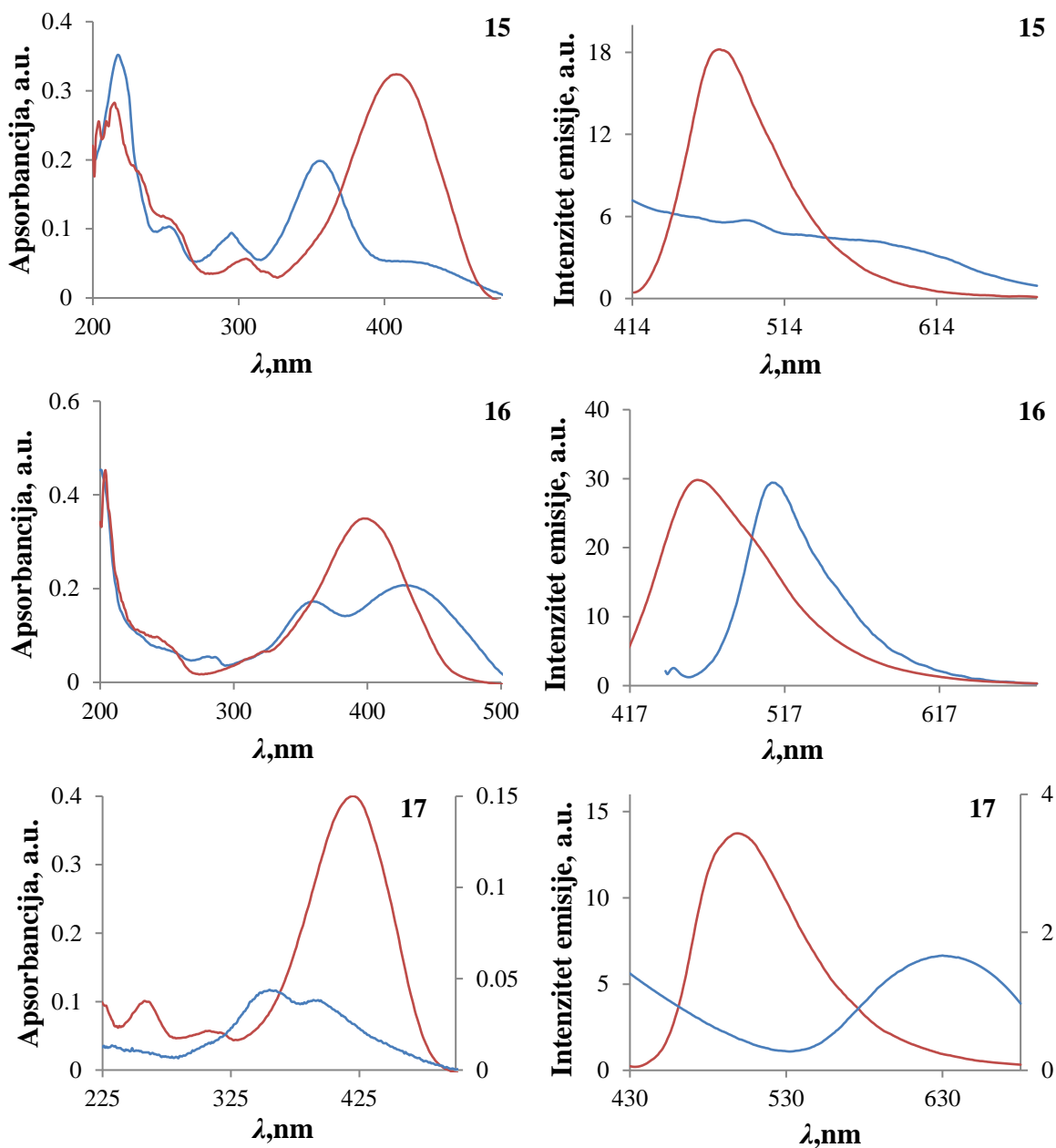
Kao što se vidi na slici 39 sve otopine žute su boje, što znači da očekujemo da apsorbiraju zračenje u vidljivom području elektromagnetskog spektra (području plave boje) odnosno pri $\lambda=435-480$ nm. Uočljivo je kako su otopine etanola spojeva **3**, **15**, **16** i **17** izrazite žute boje, dok su ostali spojevi blago žute boje. Dakle, očekujemo bolja optička svojstva spojeva **3**, **15**, **16** i **17**. Također je zanimljivo kako upravo ovi izrazito 'žuti spojevi' imaju slične strukture odnosno imaju dimetilnu (**15**, **16** i **17**) i dietilnu (spoj **3**) skupinu. Pošto ove četiri Schiffove baze imaju iste -R skupine kao drugi spojevi, a pokazuju drugačiji intenzitet boje pri sličnoj koncentraciji, znači da upravo arilna skupina ima znatan utjecaj na optička svojstva ovih molekula. Naime, -NC skupinu imaju spojevi **10**, **12** i **15**, a upravo spoj **15** pokazuje intenzivno žuto obojenje, stoga znamo da je upravo arilna skupina zaslužna za obojenje koje vidimo. Nadalje, -CH₃ skupinu imaju spojevi **11**, **13** i **16**, a samo **16** pokazuje intenzivno žuto obojenje. Spojevi **3**, **14** i **17** imaju -NO₂ skupinu, no u ovom slučaju intenzivno obojenje imaju i spoj **3** i spoj **17**, što znači da i -NO₂ skupina možda igra bitnu ulogu. Također je zanimljivo kako jedino spojevi **3**, **15**, **16** i **17** imaju veći broj jednostrukih veza (koje mogu rotirati) jer imaju metilnu (etilnu) skupinu na benzenskom prstenu. Dakle, jedino Schiffove baze **3**, **15**, **16** i **17** nemaju izričito rigidnu i planarnu strukturu, odnosno posjeduju strukturu koja omogućava rotacije veza te izvijanje molekule.

4.2. Mjerenje UV/Vis emisijskih i apsorpcijskih spektara

Ipak, sve što je do sada spomenuto ne govori ništa o tome imaju li ispitivane Schiffove baze AIE svojstva koja se ispituju. U cilju dobivanja saznanja o AIE svojstvima prikazanih Schiffovih baza potrebno je dobiti širu sliku optičkih svojstava, odnosno potrebno je otići korak dalje te snimiti apsorpcijske i emisijske spektre ovih spojeva. Pošto je riječ o organskim spojevima, oni će biti topljiviji u organskim otapalima poput DMSO ili etanola, a bit će manje topljivi u vodi. Dakle, voda se može nazvati lošim otapalom (engl. *poor solvent*) za ovu vrstu spojeva te, ukoliko se ispitivane Schiffove baze nalaze u vodi, one će možda agregirati u nanokristalinične strukture. Ukoliko se ispitivani spojevi otope i u vodi i u etanolu, omogućena je usporedba dobivenih spektara te se uočavaju njihova optička svojstva koja mogu, ali i ne moraju biti povezana sa AIE pojavom. Ukoliko neki spoj pokazuje AIE pojavu vjerojatno će se u spektru spoja snimanog u vodi pojaviti maksimum različitih svojstava (intenzitet, λ_{\max} , širina te oblik pika) od spektra spoja otopljenog u etanolu. Sasvim je očekivano da dođe do pomaka valne duljine te intenziteta maksimuma emisije spojeva. Ukoliko dođe do AIE pojave trebao bi se pojaviti maksimum puno većeg intenziteta nego kod maksimuma u spektrima istih spojeva snimanih u etanolu. Na temelju prethodne analize boja otopina Schiffovih baza u etanolu te pripadajućih struktura možemo pretpostaviti kako će spojevi **3**, **15**, **16** i **17** pokazati bolja optička svojstva, a možda pokazati i AIE pojavu. Dakle, nadalje su prikazani apsorpcijski i emisijski spektri ispitivanih Schiffovih baza otopljenih u etanolu i vodi. Nadalje će biti prikazani emisijski i apsorpcijski spektri pojedinih Schiffovih baza otopljenih u etanolu i vodi.







Slika 40. Prikazani su apsorpcijski i emisijski spektri otopina ispitivanih Schiffovih baza u vodi (plava krivulja) i etanolu (crvena krivulja).

Priloženi spektri su napravljeni u cilju kvalitativnih ispitivanja. Vrijednosti intenziteta emisije spojeva **3** i **17** u vodenoj otopini očitavaju se na desnoj y-osi. Priloženi emisijski spektri uglavnom nisu snimani pri istim slitovima te im intenziteti nisu usporedivi. U eksperimentalnom dijelu (tablica 5) navedene su valne duljine pobude te slitovi pri kojima su snimani priloženi emisijski spektri.

Tablica 5. prikazuje fotofizička svojstva ispitivanih spojeva koja proizlaze iz priloženih apsorpcijskih i emisijskih spektara.

spoj	$\lambda_{\text{abs max}}/\text{nm}$		$I\Delta\lambda_{\text{max}}I/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em max}}/\text{nm}$		$\varepsilon/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$		Stokesov pomak	
	H ₂ O	EtOH		H ₂ O	EtOH	H ₂ O	EtOH	H ₂ O	EtOH
3	390	440	50	610	483	20 680	61 800	220	43
8	283	285	2	318	316	17 810	14 710	35	31
9	375	364	11	464	439	10 760	11 440	89	75
10	355	355	0	621	-	18 180	40 460	266	-
11	367	366	1	464	434	9 940	8 860	97	68
12	362	360	2	449	433	18 870	18 960	87	73
13	370	373	3	449	466	9 170	10 480	79	93
14	370	368	2	463	454	25 600	30 100	93	86
15	356	408	52	405	473	19 840	32 390	49	65
16	429	397	32	512	460	20 730	34 970	83	63
17	355	419	64	641	501	4 400	40 010	286	82

Apsorpcijski spektri

a) Položaj maksimuma apsorpcije

Iz priloženih spektara i tablice vidi se kako svi spojevi apsorbiraju svjetlost iz UV te plavog područja elektromagnetskog spektra. Upravo oni spojevi čije su otopine etanola imale izrazitu žutu boju pokazali su relativno veliki pomak maksimuma apsorpcije (preko 400 nm) kada su otopljeni u vodi. Spojevi **3**, **15**, i **17** otopljeni u etanolu pokazali su batokromni pomak spram otopina u vodi u iznosu od 50, 52 te 64 nm, dok je spoj **16** pokazao hipsokromni pomak za 32 nm. Jedino je spoj **9** pokazao slabiji batokromni pomak u apsorpcijskom spektru etanola spram spektra u vodi, dok su ostali 'blijedo-žuti spojevi' pokazali zanemarive vrijednosti pomaka maksimuma zbog promjene otapala.

b) Intenzitet maksimuma apsorpcije

Iako su spojevi **3**, **15**, **16** i **17** pokazali bolja apsorpcijska svojstva, intenziteti njihovih maksimuma puno su viši u etanolu nego u slučaju vode. Dakle, kada su spomenuti spojevi

otopljeni u vodi oni slabije apsorbiraju svjetlost. Nadalje, spojevi **8** i **9** imaju veće intenzitete maksimuma u vodi, kod spoja **10** intenziteti maksimuma variraju s obzirom na valno područje, dok ostali spojevi (**11**, **12**, **13**, **14**) ne pokazuju bitnu razliku u intenzitetu maksimuma bilo da su otopljeni u etanolu ili vodi.

c) Molarni apsorpcijski koeficijent

Molarni apsorpcijski koeficijent (ϵ) pokazuje koliko određena tvar apsorbira. Iz tablice je vidljivo kako najveći molarni apsorpcijski koeficijent pokazuje spoj **3** otopljen u etanolu, no on je tri puta manji ukoliko je spoj otopljen u vodi. Spojevi **15**, **16** i **17** imaju puno manje vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta te ona pada ukoliko su spomenuti spojevi otopljeni u vodi. Molarni apsorpcijski koeficijent za spoj **15** je za oko 1,6 puta manji u vodi nego u etanolu, za spoj **16** se radi o 1,7 puta manjoj vrijednosti, dok je za spoj **17** molarni apsorpcijski koeficijent oko 10 puta manji u vodi nego u etanolu. Od svih otopina Schiffovih baza jedino spojevi **8** i **11** pokazuju veći molarni apsorpcijski koeficijent kad su otopljeni u vodi, ali te vrijednosti nisu visoke. Od svih spojeva najveći molarni apsorpcijski koeficijent u etanolu pokazuje spoj **3**, dok u vodi najveći apsorpcijski koeficijent pokazuje spoj **14**. Najmanju vrijednost ϵ u vodi pokazuje spoj **17**, a u etanolu najmanja vrijednost ϵ pripada spoju **11**. Pored spojeva **3**, **15**, **16** i **17**, veću vrijednost ϵ (u etanolu) pokazuju i spojevi **10** i **14**.

Emisijski spektri

a) Položaj maksimuma emisije

Iako emisijski spektri Schiffovih baza snimljenih u vodi i etanolu pokazuju svojstvo fluorescencije, ona je uglavnom niskog intenziteta, a prisutni pomaci emisije zbog promjene otapala također nisu veliki. Može se reći kako jedino spojevi **3**, **10**, **15**, **16** i **17** pokazuju veću promjenu u valnoj duljini emisije prilikom promjene otapala. Osim toga, emisijski spektri otopina Schiffovih baza **3**, **10** i **17** u vodi pokazuju pomalo neočekivan maksimum na području oko 600 nm, iako slabijeg intenziteta. Pojava maksimuma na oko 600 nm kojeg u etanolu nije bilo moguća je naznaka stvaranja agregata u vodi. Spomenute bi molekule u vodi agregirale, zbog čega bi se javio RIR efekt koji bi prisilio molekule na promjenu načina emisije iz neradijativnog u radijativni. Ipak, vrijedi spomenuti kako je prilikom otapanja spoja **17** u vodi, u relativno kratkom vremenskom periodu (do dvije minute), došlo do pojave taloženja. U vodi su nastale sitne žućkaste čestice. Dakle, spoj **17** taložio je u vodi pri

koncentraciji 10^{-5} M, a spektar iste otopine pokazao je pik niskog intenziteta na oko 600 nm, a upravo to je moguća naznaka AIE pojave.

Emisijski spektar spoja **10** u području širokog maksimuma pokazuje još jedan uzak maksimum koji je vjerojatno od nečistoća u otopini. Zbog toga se ne može sa sigurnošću utvrditi vrijednost λ_{\max} za spomenutu Schiffovu bazu.

b) Intenzitet maksimuma emisije

Prikazani spektri uglavnom su snimljeni pri različitim širinama otvora (engl. *slit width*) zbog različite mogućnosti fluorescencije, te im se intenziteti ne mogu uspoređivati. No, sasvim je jasno kako su praktički svi spojevi pokazali poprilično slabu emisiju, kako u etanolu, tako i u vodi. Stoga se generalno može reći kako su otopine ispitivanih Schiffovih baze slabi emiteri. Niske vrijednosti intenziteta emisije u vodi nikako ne idu u prilog AIE pojavi jer bi upravo AIEgeni trebali imati intenzitet emisije veći u vodi nego u etanolu. Dakle, može se zaključiti kako niti jedan od ispitivanih spojeva ne pokazuje AIE svojstva u vodi (u kojoj bi trebali agregirati te bi to trebalo pokrenuti emisiju). S druge strane, iako je spoj **17** pokazao novi pik u emisijskom spektru, on pri koncentraciji od 10^{-5} M nije stvarao traženu koloidnu otopinu, već je taložio. Međutim, iako nije uočena pojava stvaranja nanoagregata s AIE svojstvom u vodi, kasnije će biti riječi o AIE pojavi u čvrstom stanju navedenih Schiffovih baza.

Stokesov pomak

Stokesovi pomaci u etanolu su za sve spojeve slični te nisu velikih iznosa. Ipak, spomenuti spojevi **3**, **10** i **17**, koji su pokazali pik na oko 600 nm u vodi na emisijskom spektru, pokazali su relativno velike Stokesove pomake (>200 nm) sudeći po emisijskim i apsorpcijskim spektrima snimljenih u vodi. Dakle, zabilježeni Stokesovi pomaci potvrđuju to da spojeve **3**, **10** i **17** treba detaljnije istražiti.

Preliminarna ispitivanja (snimljeni emisijski i apsorpcijski spektri) pokazuju sljedeće:

Spojevi **15**, **16** i **17** strukturno su slični i njihovi apsorpcijski spektri pokazuju pomak valnih duljina maksimuma s obzirom na promjenu otapala u kojima su snimljeni. Pomak valne duljine maksimuma u vodi bi mogao biti povezan sa stvaranjem agregata i sl., te ih stoga valja uvrstiti u daljnja ispitivanja. Osim toga, spomenute Schiffove baze pokazuju nešto veće vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta, pokazuju intenzivniju žutu boju u etanolu, a

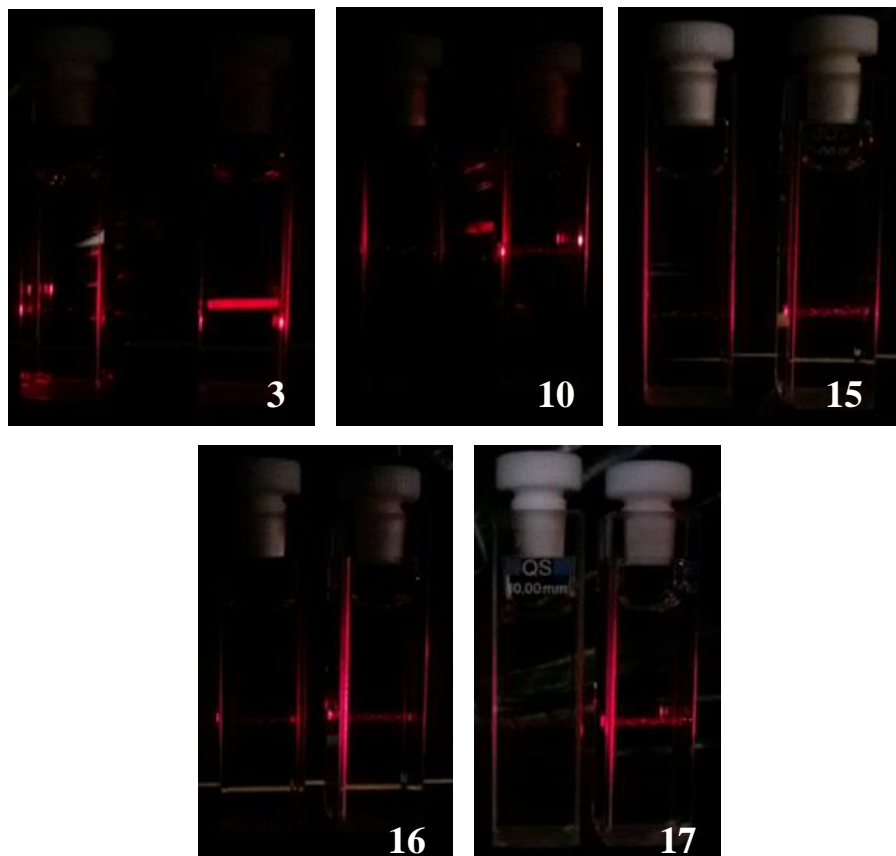
emisijski spektri pokazali su da dolazi i do promjene maksimuma valne duljine emisije (fluorescencije) pri promjeni otapala.

Valja naznačiti kako spojevi **3**, **10** i **17** pokazuju u emisijskom spektru snimljenom u vodi pik na oko 600 nm kojeg nema ukoliko se isti spojevi snime u etanolu, što je također znak da se sa tim molekulama u vodi događaju pojave koje bi mogle biti povezane sa AIE. Osim pika oko 600 nm, spoj **10** pokazuje nešto veću vrijednost molarnog apsorpcijskog koeficijenta kao i spojevi **3**, **15**, **16** i **17** te je stoga također uvršten među kandidate koji možda pokazuju AIE pojavu. Spoj **3** možda je i najbolji kandidat za daljnja istraživanja jer pokazuje veliku promjenu apsorbancije i emisije sa promjenom otapala, pokazuje veliki Stokesov pomak, a ima i najveću vrijednost ϵ u etanolu.

Dakle, spojevi koji pokazuju naznake AIE pojave su **3**, **10**, **15**, **16** i **17** te će se sa njima raditi daljnja ispitivanja. Ostale Schiffove baze odnosno spojevi **8**, **9**, **11**, **12**, **13** i **14** pokazuju loša fotofizička svojstva, slabu emisiju, ne pokazuju pomake maksimuma s promjenom otapala, imaju mali molarni apsorpcijski koeficijent i imaju male Stokesove pomake. Naime, radi se o spojevima koji ne pokazuju neku značajnu razliku u spektru s obzirom na otapalo (voda, etanol) u kojem su otopljeni.

4.3. Tyndallov fenomen

Pošto je za AIE pojavu bitno i samo svojstvo agregacije molekula (u netopljivom otapalu) (voda) sasvim je logično pretpostaviti da spojevi koji ne formiraju agregate u vodi sigurno ne mogu biti AIEgeni (barem što se tiče koloidnih vodenih otopina). Najjednostavniji način da se provjeri formiraju li molekule nekog spoja agregate ili ne je Tyndallov fenomen. Za takvo ispitivanje potreban je jedino izvor laserske zrake, ispitivani spoj, kiveta i otapalo. Naime, ukoliko laserska zraka naiđe na agregate promatraču će to izgledati kao jasna svjetlosna crta u otopini. Razlog tomu je što je valna duljina svjetlosti sličnog reda veličine kao i dimenzije koloidnih čestica, pri čemu dolazi do raspršenja svjetlosti na spomenutim nanočesticama. Dakle, potrebno je prirediti koloidne otopine ispitivanih Schiffovih baza u vodi i etanolu (za usporedbu) kako bi se ustanovilo dolazi li do stvaranja agregata u vodi. Stoga su pripravljene otopine spojeva **3**, **10**, **15**, **16** i **17** koncentracije 10^{-5}M u etanolu i vodi. To bi trebala biti dovoljno niska koncentracije da spoj ne taloži, ali dovoljno da se formira koloidna otopina koja bi trebala pokazati svjetlosnu zraku. Rezultati ispitivanja prikazani su na slici 41.



Slika 41. Tyndallov fenomen spojeva **3**, **10**, **15**, **16** i **17** u etanolu i vodi.

Na svakoj pojedinačnoj slici brojkom je naznačena oznaka dotičnog spoja. Na svakoj se slici sa lijeve strane nalazi otopina spoja u etanolu, dok je s desne strane spoj otopljen u vodi. Koncentracija spojeva **3**, **10**, **15** i **16** u vodi i etanolu iznosi 10^{-5} M, dok spoj **17** ima koncentraciju od 10^{-7} M. Tyndallov fenomen je za sve spojeve teško uočljiv pri danjem svjetlu i stoga su sve prikazane otopine slikane u mraku. Spoj **3** pokazuje najintenzivniju crvenu prugu (laserska zraka), dok su spojevi **15**, **16** i **17** sličnog intenziteta). Spoj **10** pokazuje tanku svjetlosnu zraku u vodi, ali je puno slabija od ostalih spojeva. To znači da spoj **10** slabije formira agregate, zbog čega spoj **10** sigurno nije AIEgen. S druge strane, Tyndallov fenomen je najuočljiviji kod spoja **3**, što znači da upravo on najbolje odgovara profilu AIEgena. No, treba istaknuti kako je Tyndallov fenomen dobro uočljiv jedino u mraku i da zapravo nijedan spoj ne pokazuje idealno formiranje koloidne otopine (agregata), u suprotnom bi se Tyndallov fenomen lako uočio i pri danjem svjetlu.

U ovom se ispitivanju spoj **17** pokazao zanimljivim jer taloži pri koncentraciji od 10^{-5} M. Na slici 42 prikazane su otopine spoja **17** u vodi i etanolu pri koncentraciji od 10^{-5} M.



a) laboratorijski uvjet

b) Tyndallov efekt

Slika 42. Prikazane su otopine spoja **17** koncentracije 10^{-5} M u vodi i etanolu.

Sa lijeve strane obje slike spoj **17** otopljen je u etanolu, dok je u desnoj kivetu isti spoj otopljen u vodi. Lijeva slika fotografirana je pri laboratorijskim uvjetima (glede osvjetljenja), dok desna slika prikazuje test na Tyndallov fenomen istih otopina. Na lijevoj strani slike 42 vidljivo je kako je otopina u etanolu svijetlo-žute boje, dok je otopina spoja **17** u vodi praktički bezbojna, ali prisutni su vidljivi agregati žute boje. Ti veliki agregati nisu koloidnih dimenzija pa prema tome otopina spoja **17** koncentracije 10^{-5} M ne pokazuje Tyndallov fenomen. Ono što se vidi je refleksija laserske zrake na lokalnim mjestima u otopini na kojima se nalaze agregati. Naime, ranije je spomenuto kako se spoj **17** slabije otapa u etanolu te je za potpuno otapanje potrebno dulje vremena i zagrijavanje. Dakle, spoj **17** slabije je topiv u etanolu te je sasvim logično da je još slabije topiv u vodi (koja je polarnija), što se pokazalo istinitim. Ne samo to, već pri koncentraciji od 10^{-5} M, pri kojoj ostale Schiffove baze prave koloidnu otopinu, on taloži. Stoga je bilo potrebno prirediti još razrijeđeniju otopinu (10^{-7} M) kako bi se formirala koloidna otopina koja pokazuje Tyndallov fenomen. Ovo daje informaciju kako se spoj **17**, iako strukturno sličan spojevima **15** i **16**, razlikuje po svojstvima taloženja, a samim time i pakiranja u kristal te formiranju agregata od spojeva **15** i **16**. Razlog tomu vjerojatno leži u NO_2 skupini koja ga razlikuje od spomenutih Schiffovih baza **15** i **16**.

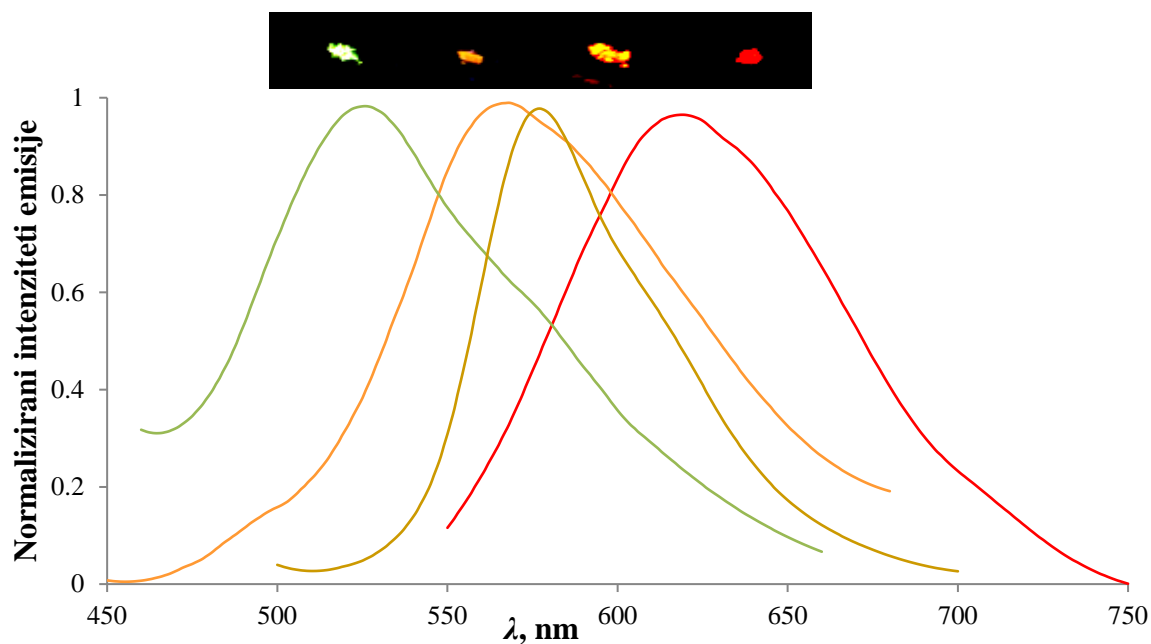
Ovim se eksperimentom utvrdilo kako spoj **10** ne može biti AIEgen jer preslabo formira agregate, dok spojevi **3** i **17** pokazuju zanimljiva svojstva formiranja agregata te imaju bolje predispozicije glede AIEgenskih svojstava. Dakle, istraživanje se nastavlja sa spojevima **3**, **15**, **16** i **17**.

4.4. Fluorescencija čvrstog stanja

Agregati koji su dokazani Tyndallovim fenomenom upravo su sitne (nano) nakupine molekula Schiffovih baza, odnosno riječ je o dispergiranoj čvrstoj fazi koja je u kontaktu sa molekulama otapala. Kao što je prethodno spomenuto, iako je dokazana prisutnost agregata nekih spojeva u vodi, oni ne posjeduju primjenjivo AIE svojstvo jer je intenzitet fluorescencije agregata puno manji od intenziteta fluorescencije same molekule u etanolu. Međutim, AIE pojava može se iskoristiti u karakterizaciji novih čvrstofaznih fluorofora koji u svom krutom (praškastom) stanju fluoresciraju pri visokim valnim duljinama, upravo zbog AIE fenomena. Pošto se u emisijskim spektrima nekih spojeva (agregata) u vodi pojavio signal na oko 600 nm, pretpostavljivo je da taj maksimum odgovara emisiji iste Schiffove baze u krutom stanju. Stoga je običan test na fluorescenciju pod UV lampom još jedan od načina kako eliminirati spojeve koji nisu AIEgeni. Spojevi koji su se pokazali dobrim AIE kandidatima testirani su ovom metodom. Snimljena je fluorescencija spojeva **3**, **15**, **16**, **17** i **10** pod UV lampom, a također su snimljeni i emisijskih spektri praškastih uzoraka ovih spojeva. Rezultati su prikazani na slici 43.

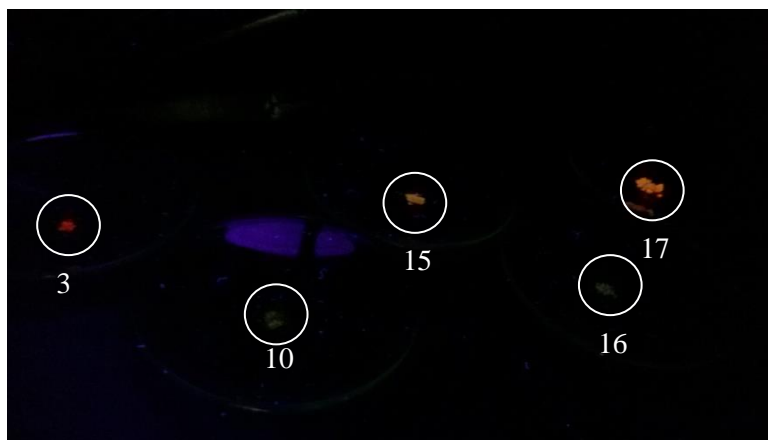
Tablica 6. Prikazane su pobude praškastih uzoraka koje se odnose na dobivene emisijske spektre prikazanih u normaliziranom obliku na slici 43.

spoj	pobuda/nm
3	450
15	355
16	429
17	450



Slika 43. Prikazani su normalizirani emisijski spektri spojeva (redom, s lijeva na desno) **16**, **15**, **17** i **3**, a iznad maksimuma emisijskih spektara prikazana je fluorescencija istih Schiffovih baza pod UV svjetlom od 254 nm (ali su slike podešene svjetline i kontrasta kako bi se bolje vidjele).

Iz priloženih normaliziranih spektara vidi se kako spoj **3** pokazuje emisiju pri najvećoj valnoj duljini, dok spoj **16** pokazuje emisiju pri najmanjoj valnoj duljini u ispitivanoj seriji Schiffovih baza. Na slici 44 prikazana je fluorescencija spojeva **3**, **10**, **15**, **16** i **17** pod UV lampom bez podešavanja kontrasta i svjetline pa je lako zapaziti spojeve intenzivne fluorescencije.



Slika 44. Emisija spojeva **3**, **10**, **15**, **16** i **17** pod UV lampom (254 nm).

Iz priloženih slika fluorescencije Schiffovih baza pod UV lampom vidi se kako spojevi **3**, **15** i **17** imaju relativno jak intenzitet emisije, no spojevi **10** i **16** pokazuju puno slabiji intenzitet fluorescencije koji se gotovo i ne zamjećuje. Ovime se potvrđuje kako spoj **10** treba biti isključen iz daljnjih istraživanja jer ne samo da ne pravi agregate u otopini, već pokazuje zanimarivu fluorescenciju u krutom stanju. Pošto spoj **16** također pokazuje slabu emisiju u čvrstoj fazi nema ga smisla dalje istraživati. Stoga se spoj **16** isključuje iz danjih istraživanja.

Dakle, spojevi **3**, **15** i **17** pokazali su dobra emisijska svojstva, no glavno pitanje je zbog čega pokazuju dobra emisijska svojstva u čvrstom stanju? Snimljeni emisijski spektri Schiffovih baza u vodi i etanolu generalno pokazuju kako su intenziteti svih spojeva u seriji zapravo nižih vrijednosti. Emisijski spektri spojeva **3**, **15**, **16** i **17** pokazuju kako intenziteti praktički ne prelaze vrijednosti većih od 30 a.u (u spektrima snimljenih u vodi pri slitovima 5-5, 5-10 i 10-10). To znači da nema smisla raspravljati o AIE pojavi ovih spojeva u otopini vode, no pošto je emisija ovih spojeva u krutom stanju puno intenzivnija znači da postoji AIE pojava u krutom stanju. Zbog steričkih smetnji uzrokovanih načinom pakiranja molekula u kristal, u čvrstom stanju Schiffovih baza (**3**, **15** i **17**) vjerojatno dolazi do pojave RIR procesa (engl. *restriction of intramolecular rotation*), odnosno zbog nemogućnosti rotacije jednostrukih veza i drugih vibracija u molekuli dolazi do pojave emisije odnosno AIE pojave. Prisjetimo se ranije spomenutog pitanja: zašto spojevi **3**, **15** i **17** pokazuju dobra emisijska svojstva u čvrstom stanju? Odgovor na to pitanje leži upravo u RIR odnosno RIM (engl. *restriction of intramolecular motion*) procesu, tj. kod spomenutih Schiffovih baza dolazi do AIE pojave. Razlog zbog kojega spojevi **3**, **15** i **17** pokazuju dobra emisijska svojstva u odnosu na ostale Schiffove baze vjerojatno leži u samoj strukturi ovih spojeva. Upravo spojevi **3**, **15** i **17** imaju više jednostrukih C-C veza koje rotiraju u odnosu na ostale Schiffove baze, a to je zbog dimetilne odnosno dietilne skupine koja se nalazi na benzenskom prstenu.

Valna duljina emisijskog maksimuma u čvrstoj fazi spojeva **3**, **15**, **16** i **17** može se usporediti sa maksimumima emisije zapaženih u spektrima istih spojeva u vodi (agregati).

Tablica 7. Prikazane su spektralne karakteristike spojeva **3**, **15**, **16** i **17**.

spoj	λ_{\max} em/nm		Tyndallov efekt	Fluorescencija pod UV lampom	λ_{\max} /nm (prah, emisijski spektri)
	EtOH	H ₂ O			
3	483	610	intenzivno	intenzivno	620
15	473	405	da	intenzivno	560
16	460	512	da	slabo	530
17	501	641	da	intenzivno	580

Iz tablice se vidi kako AIE kandidati pokazuju mnoga zajednička svojstva poput velike razlike u valnoj duljini emisijskog maksimuma zbog promjene otapala, pokazuju Tyndallov fenomen i fluoresciraju pod UV lampom. Drugim riječima, imaju dobra emisijska svojstva te prave agregate u vodi. Upravo ta dva svojstva osnovni su pokazatelj da postoji naznaka AIE pojave, jer suština AIE pojave upravo je emisija u agregiranom stanju. Stoga znamo da smo na dobrom putu otkrivanja AIE gena u odabranom nizu Schiffovih baza. No, spoj **16** pokazuje slabiji intenzitet emisije, zbog čega je isključen iz daljnjih istraživanja.

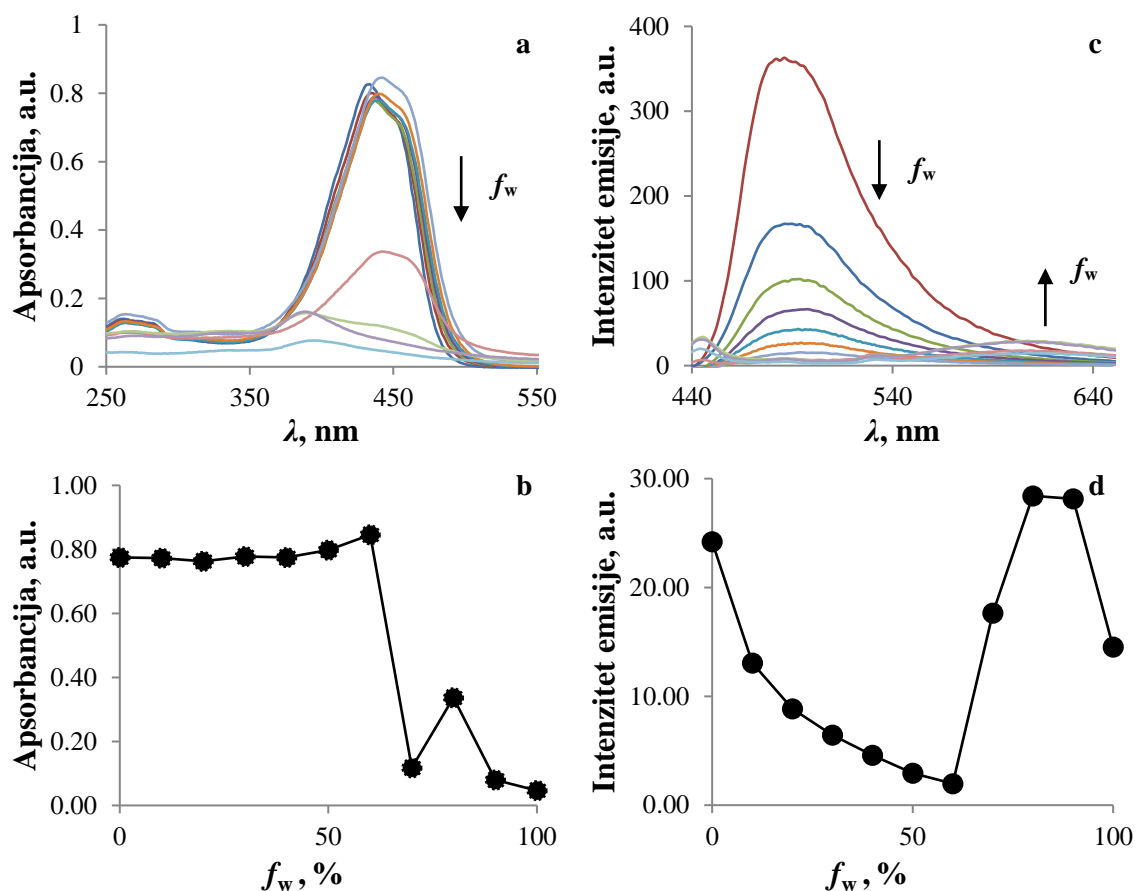
Iz tablice se vidi kako spojevi **3** i **16** pokazuju sličan položaj maksimuma emisije s obzirom na čvrstu fazu i otopinu u vodi. S druge strane, spojevi **15** i **17** pokazuju veliku razliku valne duljine emisije s obzirom na to da li je riječ o vodenoj otopini ili o čvrstoj fazi. Što bi moglo biti uzrok spomenutoj pojavi? U općem dijelu ovog rada spomenuto je kako pored RIR (RIM) procesa, koji je zaslužan za AIE pojavu, postoje i još neke pojave koje utječu na emisijska svojstva AIE gena. To su ES IPT (*excited-state intramolecular proton transfer*, intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju), TICT (*excited-state intramolecular proton transfer*, intramolekularni prijenos naboja izvijanjem) i JAF (*J-aggregate formation*, formiranje J-agregata). Sasvim je moguće kako se kod nekih spojeva u seriji Schiffovih baza događaju neki od upravo spomenutih fenomena. Sagledavajući strukture Schiffovih baza vidljivo je kako spojevi **15**, **16** i **17** imaju metilnu skupinu na arilnoj grupi, dok spoj **3** na tom mjestu ima dietilnu skupinu. Sve 4 Schiffove baze donekle su slične, no spoj **3** je različit i po tome što ima hidroksilnu grupu na fenilnom prstenu. Ne samo to, već je spomenuta hidroksilna grupa smještena blizu dušika koji je dio konjugiranog mosta koji povezuje benzimidazolnu jezgru sa fenilnim prstenom. Dakle, blizina dušika i hidroksilne grupe

omogućava intramolekularni prijenos protona, što obično za posljedicu ima nastanak keto i enolnog oblika dotičnog spoja. Upravo spomenuti razlozi uzrok su ESIPT procesa kod spoja **3**. Upravo je ESIPT proces ove Schiffove baze uzrok posebnih optičkih svojstava koja se vide apsorpcijskom i emisijskom spektru.

4.5. Titracijski spektri

U cilju detaljnijeg ispitivanja optičkih svojstava spojeva **3**, **15** i **17** napravljeni su titracijski dijagrami, odnosno dijagrami koji prate promjenu spektralne vrpce sa promjenom udjela otapala. Za spoj **3** napravljeni su titracijski apsorpcijski i emisijski spektri za sustave voda/etanol i voda/DMSO, dok su za spojeve **15** i **17** napravljeni spektri samo za sustav voda/etanol. Emisijski spektri snimljeni su pri dvije pobude, jednoj koja pogoduje apsorpciji u vodi te drugoj koja pogoduje apsorpciji u etanolu (isti princip i za DMSO). Također valja spomenuti kako udio vode s teoretskog stajališta nikad nije 100% jer je ispitivani spoj (injektiran u kivetu za snimanje spektra) otopljen u etanolu (temeljna otopina).

Spoj 3-sustav voda/etanol



Slika 45. Četiri priložena grafa daju mnoštvo informacija o apsorpcijskim i emisijskim svojstvima spoja **3** u sustavu voda/etanol prilikom titracije.

Snimljeno je ukupno 11 apsorpcijskih te isto toliko emisijskih spektara uz promjene udjela etanola odnosno vode za 10%. Smjer strelice pored maksimuma pokazuje smjer u kojem raste udio vode u sustavu voda/etanol (f_w). Nadalje, koncentracija spoja **3** u svim titracijama iznosi 10^{-5} M. Emisijski titracijski spektri snimani su pri slitovima od 10-10 i pri pobudi od 390 nm (ta pobuda bolje djeluje na pobudu agregata u vodi nego na otopinu spoja **3** u etanolu).

a-apsorpcijski titracijski spektri spoja **3**

b-graf prikazuje ovisnost apsorpcije svjetlosti valne duljine od 442 nm spoja **3** o udjelu vode

c-emisijski titracijski spektri spoja **3**

d- graf prikazuje ovisnost intenziteta emisije svjetlosti valne duljine od 610 nm spoja **3** pri pobudi od 390 nm o udjelu vode

a) Apsorpcijski titracijski spektri spoja **3** u sustavu voda/etanol (grafovi **a** i **b**)

Iz titracijskih spektara vidi se kako su spektri od 40% do 100% etanola međusobno sličnih vrijednosti apsorbancija te da se u otopini ne događaju značajne promjene. No, ukoliko sustav voda/etanol/spoj **3** sadrži minimalno 70% vode dolazi do značajnih promjena apsorbancije. Razlog tomu vjerojatno je apsorpcija od strane agregata koji su prethodno dokazani Tyndallovim fenomenom. Naime, agregati spoja **3** apsorbiraju drugačije nego spoj **3** u dispergiranom obliku u etanolu. Nadalje, na grafu **b** vrlo je uočljiv pad apsorpcije svjetlosti pri udjelima vode većih od 60%. Dolazi do značajnog hipokromnog pomaka koji dolazi sve više do izražaja što je veći udio vode u sustavu. Izgleda da voda, osim što pogoduje stvaranju agregata spoja **3** utječe i na sve veće opadanje intenziteta apsorpcije svjetlosti. Dakle, agregati apsorbiraju puno manje nego molekule dispergirane u otopini. Nadalje, hipokromni pomak zbog stvaranja agregata u vodi prati i hipsokromni pomak. Drugim riječima, povećanjem udjela vode u sustavu maksimumi apsorbancije pokazuju pomak u manje valne duljine (plavi pomak), što je zapravo tipično za H-vrpce. Naime, H-vrpca upravo je hipsokromni pomak uzrokovan stvaranjem H-agregata. Radi se o agregatima u kojima se molekule pakiraju paralelno (kod J-agregata je obrnut slučaj, J-agregati pokazuju batokromni pomak, molekule se u agregatu povezuju na principu glava-rep [27]). Osim što je došlo do promjene položaja te intenziteta maksimuma, došlo je također i do promjene oblika spektralne vrpce. U slučaju otopine spoja **3** u etanolu maksimum je oštrog uspona i pada, dok je u slučaju vode maksimum razvučen. Maksimum apsorpcije spoja **3** vodi razvučen je prema većim valnim duljinama (prema crvenom dijelu spektra), što je još jedan indikator postojanja nanoagregata na kojima se dolazi do raspršenja svjetlosti.

b) Emisijski spektri spoja **3** u sustavu voda/etanol (grafovi **c** i **d**)

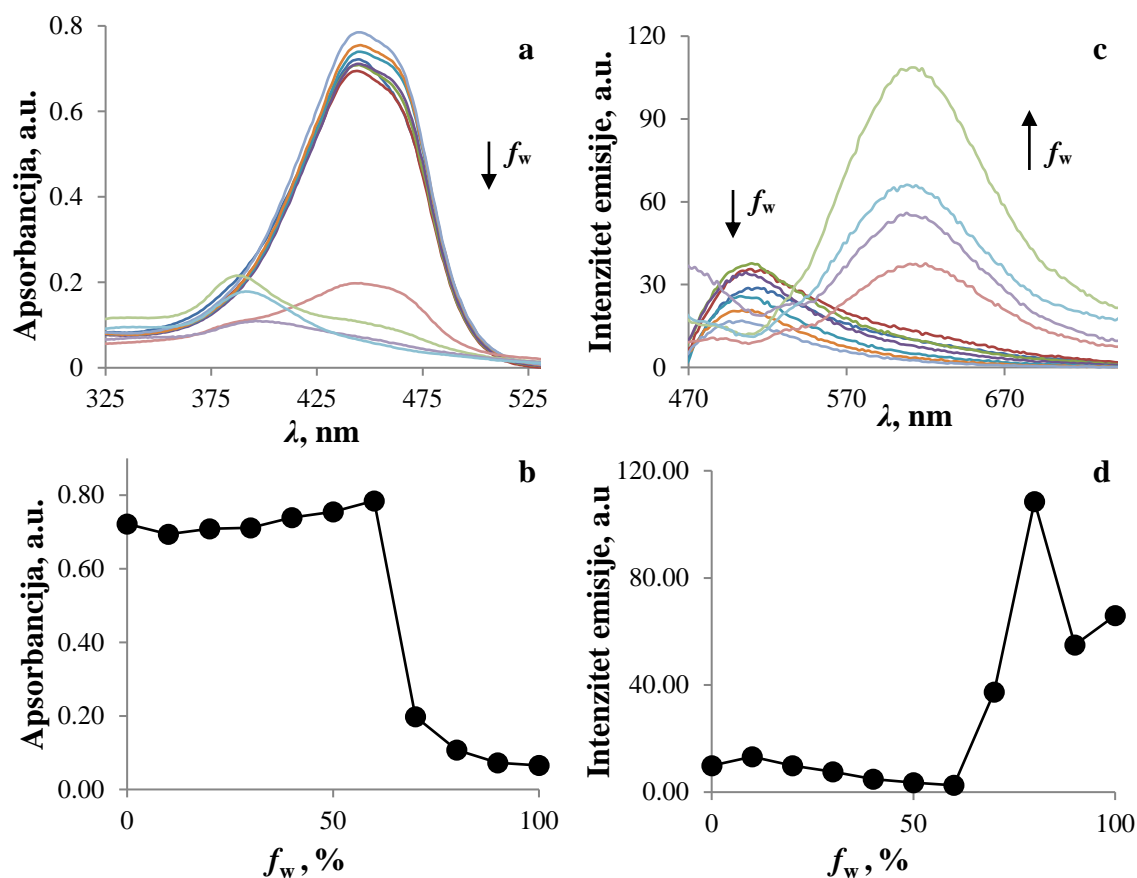
Dok su apsorpcijski spektri ukazivali na pojavu agregata u vodi, emisijski spektri daju informaciju o eventualnoj emisiji agregata u vodi te otopljenih molekula spoja **3** u etanolu. Emisijski titracijski spektri pokazuju dva maksimuma. Veći maksimum pri 486 nm odgovara emisiji spoja **3** koji je dispergirani u etanolu, dok manji maksimum pri 610 nm odgovara emisiji agregata. Pošto je spoj **3** na 610 nm pokazao dobru fluorescenciju u čvrstoj fazi te pošto je Tyndallovim fenomenom dokazano postojanje nanoagregata u otopini vode možemo biti sigurni kako maksimum na 610 nm valja pripisati agregatima spoja **3**. Osim toga, taj se pik pojavljuje tek pri udjelima vode većih od 70% jer agregati nastaju upravo u vodi, a ne u etanolu. Stoga maksimum na 610 nm nije vidljiv pri titracijama u kojima je veći udio etanola.

Iz spektara se vidi kako je intenzitet emisije najveći u 100%-tnom etanolu te sa povećanjem udjela vode intenzitet emisije postepeno pada. Dakle, povećanje udjela vode prati kontinuirani hipokromni pomak. Uz to, spektar spoja **3** u etanolu (100%) pokazuje maksimum strmog uspona te blagog pada koji povećanjem udjela vode polako nestaje. Osim što je maksimum apsorpcije za spoj **3** u etanolu relativno širok, maksimum emisije agregata u vodi također je velike širine. Pored toga, na grafu **d** također se vidi pad intenziteta emisije povećanjem udjela vode na 610 nm, ali nakon udjela vode od 60% počinje rast intenziteta emisije zbog stvaranja agregata. Na istom se grafu također vidi kako je najveći intenzitet emisije postignut pri udjelu vode od 80%, a ne 100%. Razlog tomu može biti promjena veličine agregata ili promjena načina pakiranja agregata zbog utjecaja većeg udjela vode (veća polarnost sustava). Treći uzrok tomu moglo bi biti i taloženje spoja **3** u vodi, zbog čega bi makročestice imale tendenciju padati na dno kivete ili se nakupljati u području meniskusa, što bi rezultiralo manjom izmjenom emisijom svjetlosti. Zbog jednog ili više navedenih razloga titracijska krivulja grafa **d** nema očekivani 'V'-oblik.

Zaključak

Apsorpcijski spektar pokazuje da u vodi nastaju agregati dok emisijski spektar pokazuje da ti agregati emitiraju na 610 nm, no ta je emisija znatno manja nego emisija spoja **3** u etanolu (jer nemamo AIE). Osim toga, apsorpcijski spektri pokazuju kako agregati spoja **3** slabije apsorbiraju svjetlost nego molekule istog spoja dispergirano u otopini etanola, a emisijski spektri pokazuju da agregati emitiraju slabije nego zasebne molekule spoja **3** u etanolu. Apsorpcijski i emisijski spektri u ovom slučaju zaista potkrepljuju jedan drugoga. Ne samo da iz toga možemo zaključiti kako agregati spoja **3** slabo apsorbiraju elektromagnetsko zračenje, već ga slabo i emitiraju. Stoga možemo biti sigurni kako se spoj **3** ne može primijeniti u otopljenom obliku kao kemosenzor (slabi signali).

Spoj 3-sustav voda/DMSO



Slika 46. Četiri priložena grafa pružaju brojne informacije o apsorpcijskim i emisijskim svojstvima spoja **3** u sustavu voda/DMSO prilikom titracije.

Smjer strjelice pored maksimuma pokazuje smjer u kojem raste udio vode u sustavu voda/etanol (f_w). Koncentracija spoja **3** u svim titracijama iznosi 10^{-5} M. Emisijski titracijski spektri snimani su pri slitovima od 10-20 i pri pobudi od 390 nm.

a-apsorpcijski titracijski spektri spoja **3**

b-graf prikazuje ovisnost apsorpcije svjetlosti valne duljine od 445 nm spoja **3** o udjelu vode u sustavu voda/DMSO

c-emisijski titracijski spektri spoja **3**

d- graf prikazuje ovisnost intenziteta emisije svjetlosti valne duljine od 614 nm spoja **3** pri pobudi od 390 nm o udjelu vode u sustavu voda/DMSO

Za razliku od etanola koji je polarno protonsko otapalo, DMSO je polarno aprotično otapalo koje pritom ima i duplo slabiju tendenciju stvaranja vodikovih veza.

a) Apsorpcijski titracijski spektri spoja **3** u sustavu voda/DMSO (grafovi **a** i **b**)

Apsorpcijski titracijski spektri spoja **3** u sustavu voda/DMSO gotovo da se i ne razlikuju od apsorpcijskih spektara u sustavu voda/etanol. S povećanjem udjela vode dolazi do stvaranja agregata, što uzrokuje nastanak hipokromnog i hipsokromnog pomaka maksimuma apsorpcije. Do nagle promjene intenziteta apsorpcije dolazi u titracijama nakon 60% vode. Maksimumi su sličnog intenziteta te oblika kao i kod sustava voda/etanol.

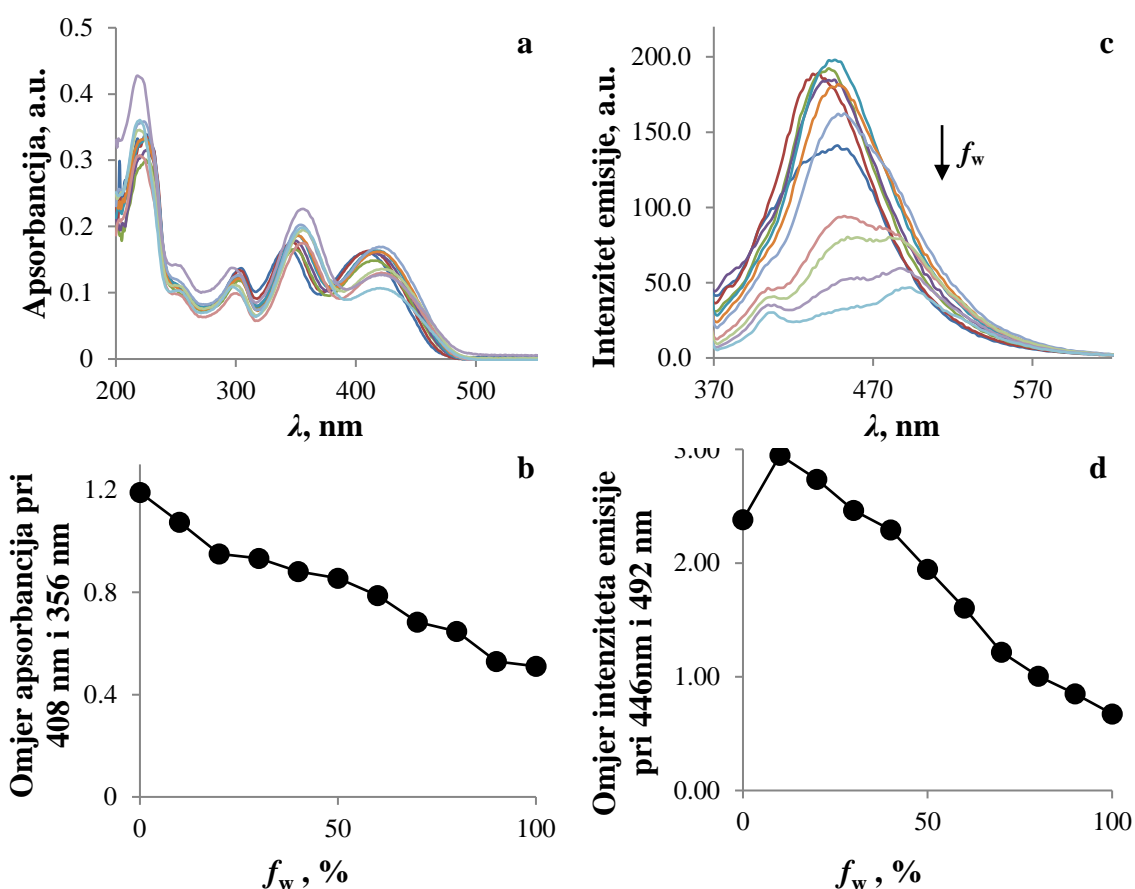
b) Emisijski titracijski spektri spoja **3** u sustavu voda/DMSO (grafovi **c** i **d**)

Emisijske titracijske krivulje sustava voda/DMSO također pokazuju slična svojstva kao i u sustavu voda/etanolu. Prisutna su dva maksimuma, jedan za slučaj spoja **3** u molekularnom obliku te drugi maksimum oko 610 nm koji predstavlja agregate u vodi. U slučaju sustava voda/etanol spektri snimani pri slitovima od 10-10 imaju veće intenzitete nego emisijski spektri snimljeni u sustavu voda/DMSO pri slitovima 10-20. Stoga se može reći kako je došlo do hipokromnog pomaka u odnosu na emisijske spektre snimljene u etanolu. Zanimljivo je kako u slučaju pobude na 390 nm emisijski spektar agregata pokazuje veće intenzitete od emisije molekularnog spoja **3**, što nije slučaj u sustavu voda/etanol. Iako je graf **d** nešto drugačiji nego u prethodnom sustavu, vidljivo je kako je najveći intenzitet emisije agregata također pri titraciji od 80% vode.

Zaključak

Apsorpcijski i emisijski titracijski spektri u sustavu voda/DMSO ne pokazuju bitne razlike nego spektri snimljeni u sustavu voda/etanol. Vidi se kako nastaju agregati te kako je maksimalni intenzitet emisije agregata pri titraciji udjela vode od 80% na 610 nm. Dakle, na formiranje agregata spoja **3** praktički utječe samo voda. Neovisno o otapalu prisutnog u sustavu, bilo ono protično ili aprotično te pravilo li ono vodikove veze ili ne, formiranje agregata počinje nakon 60% udjela vode.

Spoj 15-sustav voda/etanol



Slika 47. Četiri priložena grafa daju informacije o apsorpcijskim i emisijskim svojstvima spoja **15** u sustavu voda/etanol prilikom titracije. Smjer strjelice pored maksimuma pokazuje smjer u kojem raste udio vode u sustavu voda/etanol (f_w).

Koncentracija spoja **15** u svim titracijama iznosi 10^{-5} M. Prikazani emisijski titracijski spektri snimani su pri slitovima od 10-10 i pri pobudi od 356 nm. Snimani su emisijski spektri i pri pobudi od 408 nm, ali nisu prikazani pošto ne pružaju bitne informacije.

a-apsorpcijski titracijski spektri spoja **15**

b-graf prikazuje ovisnost omjera apsorbancija svjetlosti (valne duljine od 408 nm te od 356 nm) spoja **15** o udjelu vode u sustavu voda/etanol

c-emisijski titracijski spektri spoja **15**

d- graf prikazuje ovisnost omjera intenziteta emisije svjetlosti (valne duljine od 446 nm i 492 nm) spoja **15** pri pobudi od 356 nm o udjelu vode u sustavu voda/etanol

Spoj **15** također je detaljnije proučavan pošto je pokazao pomake u spektru zbog promjene otapala, dobru emisiju u čvrstom stanju te Tyndallov fenomen, koji dokazuje prisustvo nanoagregata (iako je vidljivo samo u mraku). Dakle, za spoj **15** napravljeni su apsorpcijski i emisijski titracijski spektri u sustavu voda/etanol kako bi se bolje proučio utjecaj spomenutih otapala na spektre.

a) Apсорpcijski titracijski spektri spoja **15** u sustavu voda/etanol (grafovi **a** i **b**)

Apsorpcijski spektar spoja **15** po mnogo je toga drugačiji od spektra spoja **3**. Uočljivo je kako su intenziteti apsorpcije puno manji nego kod spoja **3** (spoj **3** ima apsorpciju do 0,8 a.u. dok spoj **15** uglavnom apsorpira do 0,35 a.u.). Nadalje, sa promjenom udjela vode ne događa se ništa značajno u spektru, odnosno ne pojavljuju se novi maksimumi kao kod spoja **3**. Iz apsorpcijskih titracijskih vrpca vidi se kako ne nastaju agregati u otopini vode, jer da nastaju pokazao bi se novi maksimum pri drugoj valnoj duljini.

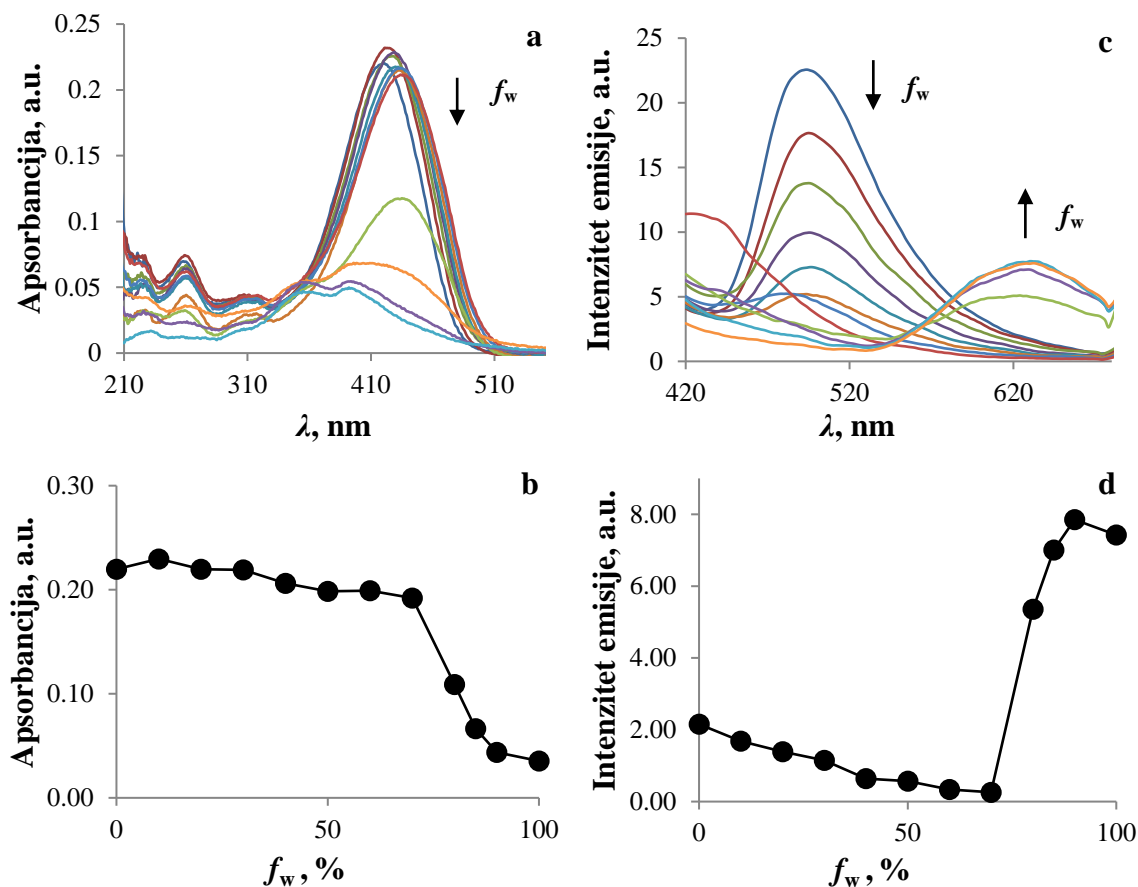
b) Emisijski titracijski spektri spoja **15** u sustavu voda/etanol (grafovi **c** i **d**)

Dok su apsorpcijski spektri pokazali kako u vodenoj otopini spoja **15** nema agregata, emisijski spektar pokazuje kako se ne pojavljuje novi maksimum u desnom (crvenom) dijelu spektra. Naime, spoj **3** pokazao je maksimum u crvenom dijelu spektra koji odgovara emisiji agregata (čvrste faze spoja **3**), no spoj **15** nema maksimuma u tom području. Dakle, spoj **15** niti stvara agregate niti pokazuje njihovu emisiju, što je i logično. Stoga se spoj **15** isključuje iz daljnjih istraživanja. Iako je spoj **15** u krutom stanju pokazao maksimum fluorescencije na valnoj duljini od 560 nm on ga u vodi nije pokazao (jer nema agregata).

Zaključak

Apsorpcijski titracijski spektri spoja **15** u sustavu voda/etanol ne ukazuju na postojanje agregata spoja **15** u otopini vode. Sukladno tomu, emisijski titracijski spektri ne pokazuju novi maksimum emisije (prema crvenom području). Grafovi **b** i **d** pokazuju pad intenziteta apsorpcije odnosno emisije sa porastom udjela vode u titracijama. To potvrđuje da nisu nastali agregati i da nema emisije.

Spoj 17- sustav voda/etanol



Slika 48. Četiri prikazana grafa daju informacije o apsorpcijskim te emisijskim svojstvima spoja **17** u sustavu voda/etanol prilikom titracije.

Smjer strjelice pored maksimuma pokazuje smjer u kojem raste udio vode u sustavu voda/etanol (f_w). Koncentracija spoja **17** u svim titracijama iznosi $5 \cdot 10^{-6}$ M pošto spoj **17** pri koncentraciji od 10^{-5} M pokazuje taloženje. Prikazani emisijski titracijski spektri snimani su pri slitovima od 10-10 i pri pobudi od 355 nm.

a-apsorpcijski titracijski spektri spoja **17**

b-graf prikazuje ovisnost apsorpcije svjetlosti valne duljine od 419 nm spoja **17** o udjelu vode u sustavu voda/etanol

c-emisijski titracijski spektri spoja **17**

d- graf prikazuje ovisnost intenziteta emisije svjetlosti valne duljine od 626 nm spoja **17** pri pobudi od 355 nm o udjelu vode u sustavu voda/etanol

Spoj **17** pokazao je stvaranje agregata (u apsorpcijskom spektru), pokazuje Tyndallv fenomen (u mraku) i pokazuje dobru čvrstofaznu emisiju. Kao spoj sa dobrim optičkim svojstvima istraživana je detaljnije te su mu snimljeni apsorpcijski i emisijski titracijski spektri. Titracijski apsorpcijski i emisijski spektri daju bolji uvid u svojstva spoja **17**.

a) Apсорpcijski titracijski spektri spoja **17** u sustavu voda/etanol (grafovi **a** i **b**)

U apсорpcijskim titracijskim spektrima spoja **17** vidi se sličnost sa spojem **3**. To je zato jer dolazi do hipsokromnog te hipokromnog pomaka. Maksimum u etanolu pomiče se prema manjim valnim duljinama pošto dolazi do formiranja H-agregata, no ti agregati apсорbiraju manje nego dispergirane molekule spoja **17** u etanolu. Također, nastali maksimumi u vodi razvučeni su prema većim valnim duljinama, što je još jedna sličnost sa spojem **3**. Dakle, nakon udjela vode od 70% dolazi do formiranja agregata i spektar se počinje znatno mijenjati u odnosu na spektar spoja **17** u etanolu. Sukladno tomu, na grafu **b** vidi se da nakon udjela vode od 70% apсорbancija počinje naglo padati te ona nastavlja dalje padati sve do udjela vode od 100%, gdje je vrijednost apсорbancije najniža. Kod spoja **3** promjena spektara nastupa ranije odnosno nakon udjela vode od 60%. Osim toga, spektri spoja **17** razlikuju se od spektara spoja **3** po tome što se u slučaju većeg udjela vode (90% i 100% vode) javljaju dva dodatna maksimuma, a ne jedan. Kod spoja **3** se pri titraciji od 80% vode pojavio drugi (manji) maksimum, no on je nestao kada se udio vode povećao te ga nije bilo u narednim titracijama. Dakle, za razliku od spoja **3**, spoj **17** zadržao je oba maksimuma u vodi.

b) Emisijski titracijski spektri spoja **17** u sustavu voda/etanol (grafovi **c** i **d**)

Priloženi emisijski spektri pokazuju slabi intenzitet emisije. Intenzitet emisije u etanolu je kao i u svim primjerima do sada veći, a intenzitet emisije u vodi praktički je zanemarivo mali. Slično kao i kod spoja **3** dolazi do pojavljivanja novog maksimuma koji je smješten u crvenom području spektra. No, kod spektralne vrpce spoja **17** u vodi vidi se također mali maksimum oko 486 nm koji praktički odgovara maksimumu u etanolu. Spoj **3** nije imao taj maksimum. Također kao i kod spoja **3** titracijski spektri pokazuju da dodatkom vode nastaju agregati te da oni posjeduju slabu emisiju, no tu se ne radi o AIE pojavi jer bi intenzitet emisije agregata u vodi trebao nadjačati intenzitet emisije molekula istog spoja u etanolu. Na grafu **d** se vidi kako intenzitet emisije na 626 nm sustavno pada kako raste udio vode sve do udjela vode od 70%. Nakon udjela vode od 70% intenzitet emisije počinje rasti relativno brzo

do udjela vode od 90%. Naime, pri udjelu vode od 90% intenzitet emisije postiže svoj maksimum, nakon čega počinje padati na nešto nižu vrijednost (u 100%-tnoj vodi). Razlika između spoja **3** i spoja **17** je u tome što spoj **3** ima maksimum emisije na 80% udjela vode, dok je u slučaju spoja **17** maksimum na 90% udjela vode.

Zaključak

Iz titracijskih apsorpcijskih i emisijskih spektara vidi se kako spojevi **3** i **17** pokazuju agregate u apsorpcijskom dijagramu. Agregati također pokazuju maksimum ($\lambda_{\max} > 600$ nm) u emisijskom spektru. Agregati spoja **3** pokazuju maksimum intenziteta emisije pri udjelu vode od 80%, dok spoj **17** pokazuje maksimum emisije pri 90% vode. U slučaju agregata ovih spojeva u vodenoj otopini ne možemo govoriti o AIE pojavi te su intenziteti emisije agregata premali za primjenu, primjerice u sensorima. Pošto su praškasti uzorci spojeva **3** i **17** pokazali dobar intenzitet fluorescencije, nadalje će biti istraživana potencijalna primjena ovih spojeva u krutom obliku.

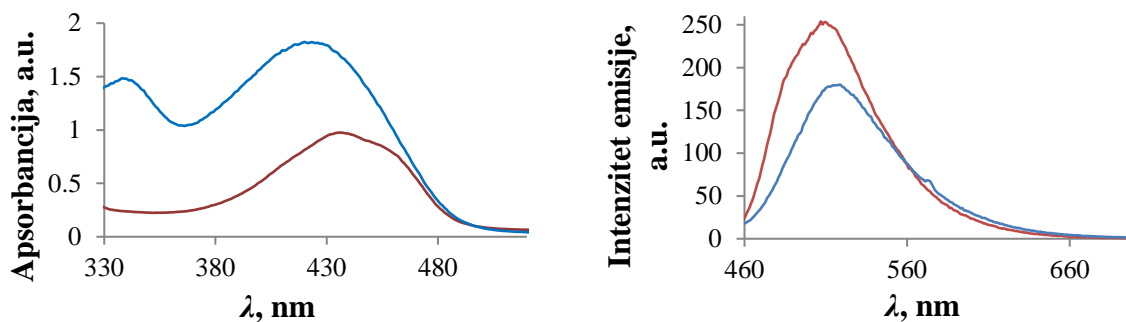
Za razliku od spojeva **3** i **17**, spoj **15** nije pokazao maksimum koji dokazuje formiranje agregata pa samim time nije mogao niti pokazati njihovu emisiju. Zbog toga će se daljnja istraživanja fokusirati samo na spoj **3** i spoj **17** koji su pokazali bolja fotofizička svojstva.

4.6. Ispitivanja vezana uz kruto stanje spojeva 3 i 17

Dosadašnja ispitivanja odnosila su se na ispitivanje fotofizičkih svojstava (apsorpcijski emisijski spektri) Schiffovih baza kako bi se na kraju otkrili spojevi sa najpogodnijim svojstvima za neki primjenu, a takvima su se pokazali spojevi **3** i **17**. Ovi spojevi ne pokazuju AIE pojavu u vodi te stoga nisu primjenjivi kao AIE kemosenzori. Naime, intenziteti emisije agregata u vodi premali su za primjenu u analitičke svrhe koja zahtijevaju intenzivan signal. Pošto su spojevi **3** i **17** pokazali AIE svojstva kao krutine (u obliku praha), oni posjeduju intenzivniju fluorescenciju nego kad su otopljeni u vodi. Stoga se u pogledu primjene ovih spojeva treba osloniti na polimerne filmove i slične materijale, a ne na otopine. Osim toga, mnogi AIEgeni posjeduju i druga zanimljiva svojstva poput mehanokromizma, odnosno mehanokromatske luminiscencije koja su vezana uz kruto stanje tvari.

4.6.1. PMMA filmovi

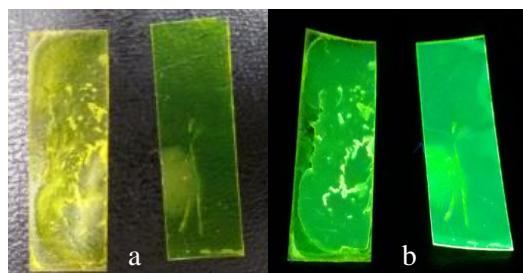
Pošto su spojevi **3** i **17** postigli bolje rezultate emisije u krutom stanju logično je pretpostaviti kako bi mogli imati dobru emisiju i u filmovima. Stoga su pripremljeni PMMA (polimetilmetakrilat) filmovi spojeva **3** i **17** te su im snimljeni apsorpcijski i emisijski spektri.



Slika 49. Prikazani su apsorpcijski te emisijski spektri PMMA filmova spojeva **3** i **17**. Crvena krivulja odgovara PMMA filmu spoja **3**, dok plava se plava krivulja odnosi na PMMA film spoja **17**. Emisijski spektri snimljeni su pri pobudama od 436 nm (spoj **3**) te 420 nm (spoj **17**) pri slitovima od 5.5-2.5.

Tablica 8. Prikazani su valne duljine maksimuma emisije i apsorpcije.

spoj	λ_{\max} apsorpcije/nm	λ_{\max} emisije/nm
3	436	507
17	420	518



Slika 50. Prikazani su PMMA filmovi spojeva **3** i **17**. Na obje slike je sa lijeve strane PMMA film spoja **17**, dok je na desnoj strani PMMA film spoja **3**. Slika 'a'-film spoja **17** žute je boje, dok je film spoja **3** zelen, b-fotografija filmova pod UV lampom (254 nm)

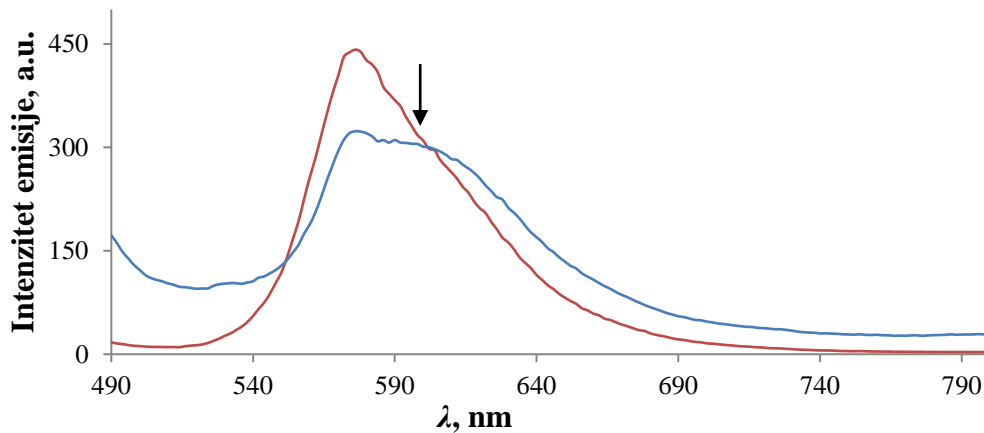
Zaključak o PMMA filmovima spojeva 3 i 17

Iz priloženih se ispitivanja vidi kako spoj **17** bolje apsorbira, dok spoj **3** bolje emitira. Nadalje, pripremljeni filmovi imaju maksimume apsorpcije i emisije na bliskoj udaljenosti. Spoj **3** apsorbira bolje pri većim valnim duljinama dok spoj **17** bolje emitira pri većim valnim duljinama. Valne duljine maksimuma apsorpcije i emisije pokazuju sličan položaj spram otopina spojeva **3** i **17** u etanolu, dok emisija ne pokazuje maksimume na mjestu gdje emitiraju krutine ovih spojeva. Emisija PMMA filmova spojeva **3** i **17** čak se i pri malim slitovima pokazuje dosta intenzivnom. Ispitivani spojevi pokazuju kako ih je moguće primijeniti u filmovima, no za primjenu u smislu senzora potrebno je napraviti detaljnija ispitivanja za kemoselektivnost s obzirom na metalne katione te bi se trebao ispitati utjecaj pH na boju i emisiju filmova.

4.6.2. Mehanokromatska svojstva

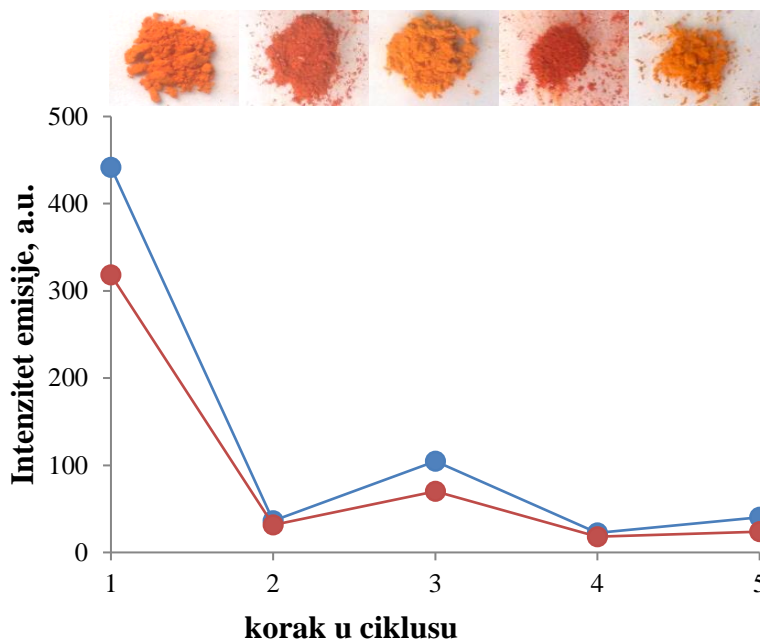
U brojnim je studijama rečeno kako mnogi AIEgeni pokazuju mehanokromatska svojstva. Pošto je ustanovljeno kako je uzrok emisije spojeva **3** i **17** u krutom stanju AIE pojava, vrijedi ispitati posjeduju li ovi spojevi i mehanokromatska svojstva. Naime, spojevima sa mehanokromatskim svojstvima mijenjaju se boja i emisija nakon mljevenja od nekoliko minuta ili nakon nedugog grebanja po samom krutom materijalu. Ne samo to, već podizanje temperature tih mljevenih krutina ili njihovo napanje uzrokuje povratak boje tih spojeva (na boju kakvu su imali i prije mljevenja). Tako da je kod tih spojeva prisutan ne samo mehanokromizam, već i termokromizam i vapokromizam, a možda i druge vrste kromizma (već ovisno o uzroku promjene boje).

Mehanokromatska svojstva spoja 17



Slika 51. Prikazani su emisijski spektri početnog spoja **17** i njegovog mljevenog oblika. Crvena emisijska vrpca pripada početnom spoju (snimljena pri slitovima 5-5) dok plava emisijska vrpca pripada mljevenom spoju (snimljena pri slitovima 10-10).

U ovom spektru vidi se novi široki pik mljevenog spoja koji je pomaknut prema crvenom dijelu spektra (označen strjelicom). Također se vidi kako i mljeveni spoj sadrži maksimum karakterističan za napareni spoj (napareni spoj ima isti spektar kao i početni spoj). Oba oblika spoja **17** pobuđena su svjetlošću valne duljine od 420 nm.



Slika 52. Prikazan je intenzitet emisije spoja **17** gledano kroz pojedine korake ciklusa (1-5).

Ciklusi mljevenja i naparavanja u ovom slučaju obuhvaćaju sljedeće korake:

1-prvi korak ciklusa-početni spoj (iz bočice)

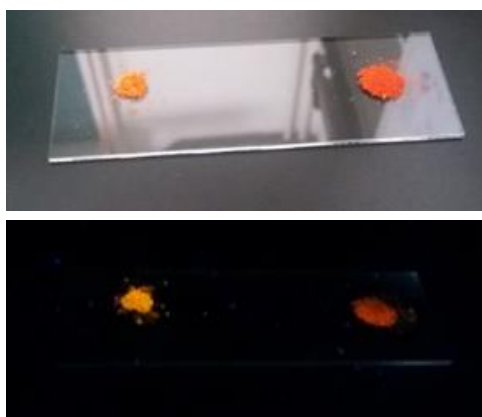
2-drugi korak ciklusa-mljeveni oblik

3- treći korak ciklusa-napareni oblik

4-četvrti korak ciklusa-mljeveni oblik

5-peti korak ciklusa-napareni oblik

Intenzitet na y-osi zapravo se odnosi samo na intenzitete maksimuma karakterističnih za oba pojedina oblika spoja (napareni te mljeveni oblika spoja **17**). Točnije, intenzitet se odnosi samo na maksimume pri 576 nm (plava krivulja) te pri 598 nm (crvena krivulja). Maksimum pri 576 nm odgovara naparenom obliku spoja **17**, dok se maksimum na 598 nm odnosi na mljeveni oblik. Graf je nastao iz pet emisijskih spektara snimljenih pri slitovima 5-5 pri pobudi od 420 nm. Iznad pojedinih koraka (točaka) priložene su pripadajuće fotografije praškastih uzoraka spoja **17** fotografiranih pri uvjetima svjetlosti u laboratoriju. Kontrast i svjetlina fotografija podešene su kako bi se praškasti uzorci bolje vidjeli. Iz grafa se mogu uočiti dvije stvari. Prvo je da intenzitet pada sa svakim korakom, a drugo je da se nakon naparavanja intenziteti uvijek povisuju. Pri koracima 2 i 4 ciklusa mljevenja i naparavanja intenziteti su za oba maksimuma vrlo bliska jer je došlo do porasta intenziteta maksimuma (598 nm) koji se odnosi na mljeveni oblik. Nasuprot tomu, pri koracima 1, 3 i 5 ciklusa mljevenja i naparavanja dominantan je intenzitet maksimuma naparenog oblika spoja **17** jer su to upravo ti koraci vezani uz naparavanje uzorka.



Slika 53. Dvije fotografije prikazuju napareni oblik spoja **17** sa lijeve strane, dok je mljeveni oblik sa desne strane. Gornja je slika fotografirana pri uvjetima svjetla u laboratoriju, dok je donja slika fotografirana pod UV lampom (254 nm).

Zaključak o mehanokromatskim svojstvima spoja **17**

Iz priloženih emisijskih spektara te drugog grafa vidi se kako mljevenje uzrokuje pojavu novog maksimuma emisije pomaknutog prema crvenom dijelu spektra. Maksimum emisije naparenog oblika nalazi se na $\lambda=572$ nm, dok se maksimum mljevenog oblika nalazi na $\lambda=598$ nm. Dakle, spoj **17** posjeduje mehanokromatska svojstva jer pokazuje pomak u valnoj duljini maksimuma emisije od 24 nm prema crvenom dijelu spektra.

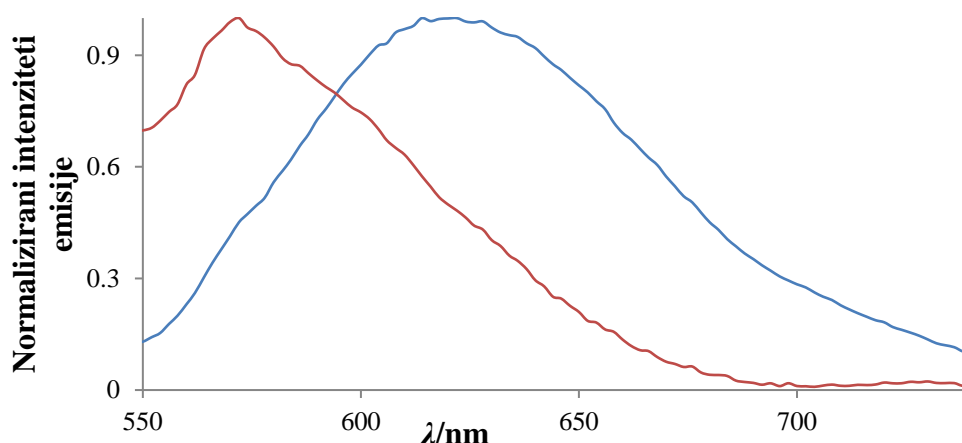
Osim spomenutog, emisijski spektri spoja **17** pokazuju i sljedeće osobine:

- Maksimum koji se odnosi na napareni oblik prisutan je i kod spektra mljevenog spoja, što znači uzorak nije smeljen u potpunosti.
- Prilikom svakog koraka u ciklusu mljevenja i napanavanja dolazi do smanjenja intenziteta emisije dok položaj maksimuma ostaje nepromijenjen.
- Napanavanje mljevenog uzroka uvijek uzrokuje porast intenziteta emisije.
- Ciklusi mljevenja i napanavanja pokazuju ponovljivost jer se nakon napanavanja maksimum mljevenog oblika gubi, a isti se maksimum ponovo javlja ukoliko spoj ponovno smelje.

Pošto spoj **17** pokazuje mehanokromatska svojstva može se zaključiti kako ovaj spoj posjeduje barem dvije različite kristalne forme, ovisno o tome dali je mljeven ili ne. Početni

spoj **17** ima strukturu 'A' koja je mljevenjem prešla u strukturu 'B', pri čemu je došlo do promijene boje praškastog uzorka iz narančasto-žute u ciglasto-crvenu. Naparavanjem mljevenog spoja **17** struktura 'B' vraća se u strukturu 'A', što uzrokuje povratak boje iz ciglasto-crvene u narančasto-žutu. Postojanje različite strukture 'A' i 'B' trebalo bi se također vidjeti u spektrima rendgenske difrakcije. Naime, AIE pojava je osim o strukturi same molekule ovisna i o načinu pakiranja spoja **17** u kristalnu strukturu. Mljevenjem praškastog uzorka mijenja se način pakiranja molekula u kristalnu strukturu, a to se vidi kroz promjenu emisijskog spektra (pojava novog maksimuma). Dakle, mljevenje direktno utječe na AIE emisiju spoja **17**, odnosno uzrokuje pomak emisije za 24 nm prema crvenom području.

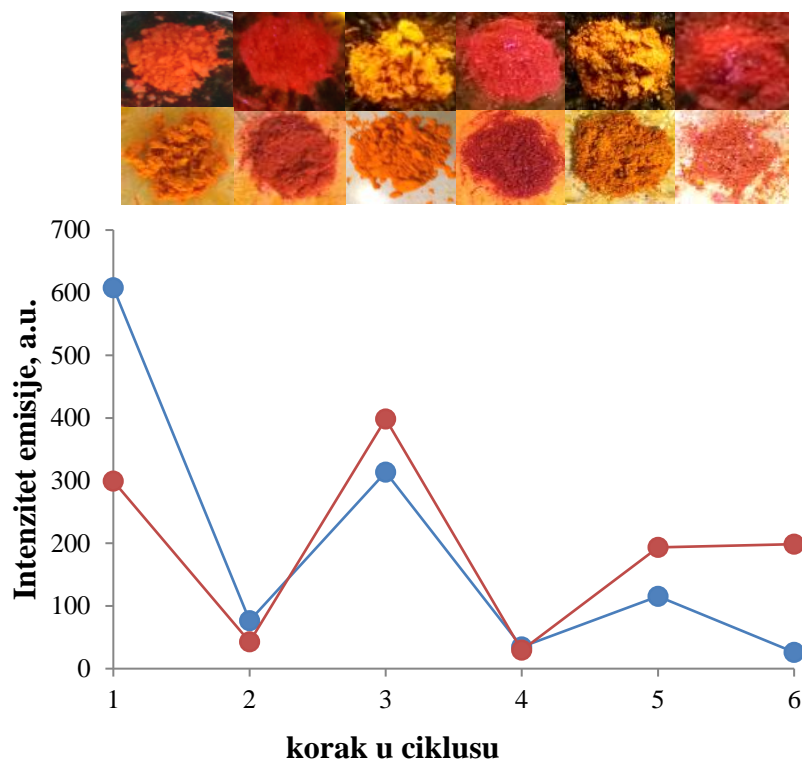
Mehanokromatska svojstva spoja **3**



Slika 54. Prikazani su normalizirani emisijski spektri praškastog uzorka spoja **3** iz koraka 1 (mljeveni oblik) i 5 (napareni oblik). Prikazani emisijski spektri snimani su pri pobudi od 390 nm i pri slitovima 10-10. Plava krivulja normalizirana je po maksimumu od 620 nm (mljeveni oblik), dok je crvena krivulja normalizirana po maksimumu od 574 nm (napareni oblik).

Kod emisijskih spektara praškastog spoja **3** javlja se slična pojava kao i kod spoja **17**. Na grafu se jasno vidi razlika u valnoj duljini maksimuma emisije za oba oblika spoja. Napareni oblik daje maksimum prema plavom području dok mljeveni oblik daje maksimum prema crvenom području. Za razliku od prethodnog slučaja emisijski spektri spoja **3** pokazuju zasebne maksimume, odnosno svaki spektar sadrži jedan maksimum, a ne dva. To znači da je cijeli uzorak spoja prešao u isti oblik nakon svakog koraka. Maksimumi oba oblika spoja

pokrivaju veće valno područje te su poprilično široki. Slično kao i kod spoja **17** napareni oblik spoja **3** daje oštriji pik od mljevenog oblika spoja.



Slika 55. Prikazan je intenzitet emisije spoja **3** gledano kroz pojedine korake ciklusa (1-6):

Prikazani graf sadrži 6 koraka ponavljanih ciklusa mljevenja i naparavanja:

1-prvi korak ciklusa-početni spoj (iz bočice)

2-drugi korak ciklusa-mljeveni oblik

3- treći korak ciklusa-napareni oblik

4-četvrti korak ciklusa-mljeveni oblik

5-peti korak ciklusa-napareni oblik

6-šesti korak ciklusa-mljeveni oblik

Intenzitet se odnosi samo na maksimume pri 620 nm (plava krivulja) te pri 572 nm (crvena krivulja). Maksimum na 572 nm odnosi se na napareni oblik spoja **3**, dok se maksimum na

620 nm odnosi na mljeveni oblik. Ovaj je graf napravljen iz šest emisijskih spektara snimljenih pri slitovima od 10-10 pri pobudi od 390 nm. Iznad pojedinih koraka (točaka) priložene su pripadajuće fotografije praškastih uzoraka spoja **3** fotografiranih pri uvjetima svjetlosti u laboratoriju (donji red) te pod UV lampom (gornji red). Kontrast i svjetlina fotografija podešene su kako bi se praškasti uzorci bolje vidjeli.

Iz grafa se mogu uočiti dvije stvari. Prvo je da intenzitet pada sa svakim korakom, a drugo je da se nakon napanavanja intenziteti uvijek povisuju. U prvom koraku spoj **3** bolje emitira na 620 nm te je stoga plava krivulja iznad crvene. U drugom koraku ciklusa praškasti uzorak i nakon mljevenja bolje emitira na 620 nm. U trećem koraku je mljeveni spoj iz koraka '2' napanavan te se prvi puta javlja maksimum na 572 nm, stoga je crvena krivulja po intenzitetu dominantnija od plave. U četvrtom koraku spoj je opet mljeven te intenzitet emisije naglo pada. Oba su maksimuma u četvrtom koraku sličnih su intenziteta te relativno niske vrijednosti. U petom koraku praškasti je spoj ponovno napanavan te pošto se u emisijskom spektru javlja maksimum na 572 nm, crvena krivulja postaje opet dominantnija od plave po intenzitetu. U šestom koraku (treće mljevenje) dolazi do razilaženja plave i crvene krivulje. Maksimum se na 572 nm gotovo ne mijenja u odnosu na prethodni korak ('5'), dok se maksimum na 620 gotovo potpuno gubi (nema emisije).

Iako u slučaju spoja **3** nakon prvog mljevenja nije došlo do promjene spektra, prva promjena nastaje nakon prvog napanavanja, pri čemu se javlja maksimum pomaknut u plavo područje u odnosu na početni praškasti spoj. Stoga se čini kako je početni spoj već bio u mljevenom stanju te zbog toga nije došlo do promjene spektra nakon prvog mljevenja.

Dakle, nakon mljevenja ili napanavanja dolazi do promjene boje, promjene fluorescencije te dolazi do pada intenziteta emisije. Naime, pošto je intenzitet početnog maksimuma (prvi korak) oko 600 a.u., a kod šestog koraka on iznosi 30 a.u., intenzitet emisije pada za 95% u odnosu na početnu vrijednost nakon tri ciklusa mljevenja.

Zaključak o mehanokromatskim svojstvima spoja 3

Iz priloženih se slika i emisijskih spektara vidi kako spojevi **3** i **17** imaju puno toga zajedničkog. Maksimum emisije naparenog oblika spoja **3** nalazi se na $\lambda=572$ nm, dok se maksimum mljevenog oblika nalazi na $\lambda=620$ nm. Dakle, spoj **3** također posjeduje mehanokromatska svojstva jer pokazuje pomak u valnoj duljini maksimuma emisije od 48 nm prema crvenom dijelu spektra, što je dvostruko veća promjena nego kod spoja **17**.

Osim spomenutog, emisijski spektri spoja **3** pokazuju i sljedeće osobine:

- Svaki pojedini spektar (za pojedini korak) pokazuje samo jedan maksimum, što znači da je prisutan potpuni prijelaz iz naparenog oblika u mljeveni i obratno.
- Spektri spoja **3** razlikuju se od spektara spoja **17** po tome što je nakon prvog mljevenja nije došlo do promjene emisije. To je vjerojatno zato što nije došlo do promjene kristalne strukture, odnosno početni spoj je i prije i nakon mljevenja praktički isti. Osim toga, boja fluorescencije spoja **3** u koraku 1 i 2 izgleda poprilično slično. Do promjene emisije dolazi tek nakon prvog naparavanja.
- Ostale stavke spomenute kod spoja **17** vrijede i za spoj **3**.

Spoj **3** vjerojatno posjeduje dvije različite strukture baš kao i spoj **17**. Početni spoj **3** ima strukturu 'A' koja je nakon prvog mljevenja ostala ista. Dakle, koraci 'jedan' i 'dva' imaju istu strukturu i fluorescenciju. Naparavanjem mljevenog spoja **3** struktura 'A' mijenja se u strukturu 'B' prilikom čega nastaje promjena boje iz crvene u narančasto-žutu, a dolazi i do promjene emisije. Stoga je promjena strukture i emisije spoja **3** ista kao i kod spoja **17**, ali je redoslijed obrnut. Kod spoja **17** imamo promjenu redom ABABA, a kod spoja **3** imamo AABABA.

Kod spoja **3** mljevenje također ima direktan utjecaj na valnu duljinu AIE emisije koja je uzrokovana promjenom načina pakiranja molekula u kristalnu rešetku.

Zaključak o mehanokromatskim svojstvima spojeva 3 i 17

Oba spoja pokazuju mehanokromatska svojstva koja se očituju kako u promjeni boje (u smislu promjene apsorbancije) tako i u promjeni boje fluorescencije. Osim što pokazuju mehanokromizam, ovi spojevi pokazuju i vapokromizam pošto im se boja vraća na 'staro' prilikom napanavanja. Za bolje razumijevanje ponašanja ovih spojeva prilikom ciklusa mljevenja i napanavanja potrebno je razlikovati dvije vrste ponovljivosti, a to su ponovljivost valne duljine emisije i ponovljivost intenziteta. Oba spoja pokazuju ponovljivost s obzirom na valnu duljinu, ali ne pokazuju ponovljivost ako gledamo intenzitet emisije. Naime, intenzitet emisije tijekom ciklusa pada, ali ne kontinuirano, već padanje intenziteta emisije ima vlastiti uzorak koji se ponavlja i koji se možda može matematički opisati funkcijom. Smanjenje intenziteta emisije dobro se vidi na grafu koji prikazuje intenzitete emisija pojedinih maksimuma tijekom ciklusa mljevenja i napanavanja. Graf u cjelosti cijelosti donekle izgleda kao pravokutni trokut (položen na stranicu dulje katete) na čijim su rubovima smještene točke (intenziteti emisije). To je zato jer mljevenje uvijek drastično smanjuje intenzitet emisije, dok napananjem intenzitet emisije raste. Razlog što graf podsjeća na spomenuti oblik je to što intenzitet pada svakim ciklusom mljevenja i napanavanja, odnosno to je razlog zbog čega emisija na kraju gravitira nuli. Zbog toga što intenzitet emisije pada primjena ovih spojeva (**3** i **17**) kao mehanokromatskih materijala ograničena je, odnosno mogli bi se vjerojatno upotrebljavati samo jednokratno.

Tablica 9. Prikazane su vrijednosti valnih duljina maksimuma za mljeveni i napaneni oblik spojeva **3** i **17** kao i razlika tih valnih duljina.

spoj	λ_{max}/nm napaneni oblik	λ_{max}/nm mljeveni oblik	$\Delta\lambda/nm$
3	572	620	48
17	574	598	24

Razlika između spojeva **3** i **17** je u tome što je spoj **17** pokazivao uvijek dva maksimuma, dok je spoj **3** pokazivao samo jedan maksimum. To da je spoj **17** djelomično prešao iz oblika 'A' u oblik 'B' dok je kod spoja **3** prijelaz iz jednog oblika u drugi potpun (nakon sličnog vremena

utrošenog prilikom mljevenja i napanavanja) predstavlja prvu prednost spoja **3**. Druga prednost spoja **3** je u intenzitetu jer on sveukupno pokazuje veći intenzitet maksimuma u pojedinim koracima kroz cikluse mljevenja i napanavanja. Treća prednost spoja **3** je u iznosu $\Delta\lambda$ koja je dva puta veća kod spoja **3** nego kod spoja **17**.

Dakle, spoj **3** boljih je mehanokromatskih svojstava od spoja **17** zbog tri razloga:

- 1) Potpun prijelaz iz mljevenog oblika u napareni i obrnuto.
(kod spoja **17** prijelaz je djelomičan)
- 2) Veći intenzitet emisije.
- 3) Veći pomak u valnoj duljini maksimuma emisije
(veći $\Delta\lambda$ između naparenog i mljevenog oblika spoja).

Valja spomenuti kako oba ispitivana spoja pokazuju tri važne zajedničke osobine:

- 1) Mljevenjem praškastog uzorka dolazi do pojave maksimuma emisije pomaknutog prema crvenom području spektra (dok je valna duljina maksimuma naparenog oblika pomaknuta prema plavom djelu spektra).
- 2) Svakim korakom u ciklusu mljevenja i napanavanja dolazi do padanja intenziteta emisije u odnosu na početnu vrijednost. Napanavanje uvijek uzrokuje porast intenziteta emisije.
- 3) Oba spoja pokazuju ponovljivost valne duljine maksimuma, ali nisu ponovljivi s obzirom na iznos intenziteta emisije.

5.Zaključak

U sklopu ovog rada napravljena je karakterizacija optičkih svojstava serije Schiffovih baza koju čini 11 različitih derivata benzimidazola, spojeva sintetiziranih od strane istraživačke grupe koju je predvodila izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec.

Seriji Schiffovih baza (spojevi **3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 i 17**) snimljeni su apsorpcijski i emisijski spektri (u vodi i etanolu) u cilju karakterizacije potencijalne AIE pojave. Zaključak donesen na temelju tih spektara je da nijedna Schiffova baza ne pokazuje AIE pojavu u otopini vode u svom klasičnom smislu. jer u emisijskim spektrima spojeva otopljenih u vodi novimaksimuminisu visokog intenziteta fluorescencije. Iako se ne mogu opisati kao AIEgeni, sama promjenavalne duljine maksimuma apsorpcije u vodi u odnosu na maksimum spektra u etanolukod spojeva**3, 15, 16 i 17** ukazuje na pojavu vrlo slabo emitirajućih agregata. Osim toga, iako su se emisijski intenziteti pokazali zanemarivima, kod nekih je spojeva došlo do pojave maksimuma čija valna duljina prelazi 600 nm (kojih nema u spektrima snimljenih u etanolu, spojevi **3, 10 i 17**). Pored toga, neki su se spojevi isticali sa većim vrijednostima molarnog apsorpcijskog koeficijenta u etanolu (spojevi **3, 10, 15, 16 i 17**). To daje naslutiti kako neke spojeve iz serije vrijedi detaljnije istraživati, a neke eliminirati. Stoga su se spojevi **8, 9, 11, 12, 13 i 14** eliminirali iz daljnjih ispitivanja, dok su se ispitivanja nastavila sa spojevima **3, 10, 15, 16 i 17**.

Pošto je srž AIE fenomena stvaranje agregata te njihova fluorescencija, spojevi**3, 10, 15, 16 i 17**su testirani na Tyndallov fenomen, pri čemu je donesen zaključak kako svi spojevi slabo prave agregate (jer se laserska zraka vidi gotovo isključivo u mraku), ali je spoj **10** pokazao relativno slabiji intenzitet refleksije laserske zrake na koloidnim česticama u otopini vode. Osim toga, ispitivanj se seriji pratio intenzitet fluorescencije pod UV lampom. Ispitivanje je pokazalo kako svi spojevi pokazuju emisiju, no spojevi **10 i 16** pokazuju relativno slabu emisiju, pri čemu se može spomenuti kako spoj **10** gotovo da i ne pokazuje emisiju. Zbog navedenih razloga spoj **10** isključen je iz daljnjeg istraživanja. Stoga preostaju spojevi **3, 15, 16 i 17** kojima je snimljena i fluorescencija čvrstog stanja nebi li se ustanovila AIE pojava u krutom stanju spoja, pošto je dokučeno da AIE pojave nema u vodenim otopinama ovih spojeva.

Emisijski spektri praškastih uzoraka dali su informacije o valnim duljinama emisijskih maksimuma. Spoj **16** najbolje emitira pri 530 nm, spoj **15** emitira pri 560 nm, spoj **17** pri 580 nm te spoj **3** pri 620 nm. Priložene emisije pripisuju se AIE pojavi prisutnoj u krutom stanju

ovih praškastih spojeva. No, spoj **16** pokazao je relativno slabiji intenzitet emisije te je isključen iz daljnjeg istraživanja.

Pripravljeni su titracijski spektri spojeva **3**, **15** i **17** u sustavu voda/etanol (za spoj **3** je pripravljena i titracija u sustavu voda/DMSO). Apsorpcijski titracijski spektri pokazali su kako u slučaju spojeva **3** i **17** u vodi nastaju agregati kojih nema u etanolu. Osim toga, nastali agregati spojeva **3** i **17** pokazali su relativno slabu apsorpciju u odnosu na molekularni oblik spoja u etanolu, a pored toga su pokazali i slabiji intenzitet emisije nego molekularni oblik. No, spojevi **3** i **17** imali su u svojim spektrima nešto zajedničko, a to je da je u apsorpcijskim spektrima pri titracijama sa većim udjelom vode nastao novi manji pik pomaknut u plavo područje spectra. Također su u vodi pokazali maksimum emisije u području nakon 600 nm, a radi se o piku kojeg u etanolu nema. Ipak, spoj **16** nije dao takav odziv te je zaključeno kako ovaj spoj ne pravi agregate u vodi pa samim time i ne pokazuje emisiju. Stoga su daljnja ispitivanja fokusirana samo na spojeve **3** i **17**.

Pošto je dokazano kako u vodi niti jedan spoj iz serije Schiffovih baza ne pokazuje AIE, pa tako i spojevi **3** i **17**, daljnja istraživanja odnosila su se na kruto stanje ovih spojeva pošto su pokazali dobru emisiju u praškastom stanju. Stoga se pripravljeni PMMA filmovi spojeva **3** i **17**. Ispitivanje je pokazalo kako PMMA filmovi ovih spojeva pokazuju dobru emisiju i apsorpciju svjetlosti, no nisu uočene naznake AIE fenomena. Spektralna svojstva spojeva u PMMA filmu se mogu uspoređivati sa spojevima u organskih otapalima.

Pošto je u brojnoj literaturi spomenuto kako mnogi AIE spojevi posjeduju mehanokromatska i druga slična svojstva, spojevi **3** i **17** su ispitani na utjecaj vanjske mehaničke sile. Zaista, oba su spoja pokazala ne samo promjenu boje već i promjenu valne duljine emisije. Stoga je napravljen eksperiment vezan za ponovljivost valne duljine emisije ovih spojeva pomoću ciklusa mljevenja i napanjanja. Nakon svakog koraka kroz ponavljanje ciklusa snimljeni su emisijski spektri praškastih uzoraka spojeva **3** i **17** podvrgnutih ispitivanju. Zaključeno je kako spojevi pokazuju ponovljivost glede maksimuma emisijskih spektara, no ne pokazuju ponovljivost intenziteta emisije, što ove mehanokromatske vrste čini praktički samo jednokratno upotrebljivima. Osim toga valja spomenuti kako je spoj **17** pokazao promjenu valne duljine maksimuma emisije za 24 nm, dok je spoj **3** pokazao promjenu valne duljine maksimuma emisije od 48 nm. Pored toga, spoj **17** pokazao je potpuni prijelaz iz jednog oblika u drugi prilikom procesa mljevenja i napanjanja, za razliku od spoja **17** kod kojega je ta promjena djelomična (u spektru mljevenog spoja prisutan je i pik koji odgovara napanom

obliku spoja). Spoj **3** pokazuje i veće iznose intenziteta emisije nego spoj **17**. Zbog tri navedena razloga može se reći kako je spoj **3** poželjnijih mehanokromatskih svojstava. Naime, spojevi **3** i **17** međusobno su vrlo sličnih struktura (benzimidazolni prsten je imino mostom povezan sa benzenskom jezgrom), no razlika je u tome što spoj **17** sadrži dimetilnu skupinu na benzenskoj jezgri, dok spoj **3** sadrži dietilnu skupinu na jezgri uz hidroksilnu grupu koja pravi intramolekularnu vodikovu vezu sa dušikom iz imino-mosta. Spomenuta intramolekularna veza između dušika (imino-mosta) i vodika (hidroksilne grupe na benzenskoj jezgri) vjerojatno je ključna strukturna razlika jer je upravo ona zaslužna za stvaranje ESIPT procesa koji dodatno uječe na već prisutnu AIE pojavu. Stoga se može reći kako spoj **3** pokazuje bolja fotofizička svojstva zahvaljujući u pravo ESIPT procesu kojeg nema kod spoja **17**.

Literatura

1. Chi, Z., Zhang, X., Xu, B., Zhou, X., Ma, C., Zhang, Y., Liu, S., Xu, J., Recent advances in organic mechanofluorochromic materials, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 3878–3896
2. Gong, Y., Tan, Y., Liu, J., Lu, P., Feng C., Yuan, W., Z., Lu, Y., Sun, J., S., He, G., Zhang, Y., Twisted D-p-A solid emitters: efficient emission and high contrast mechanochromism, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 4009-4011
3. Klaić, B., Rječnik stranih riječi, Nakladni Zavod MH, Zagreb, 1988., str.822.
4. http://www.tf.uni-kiel.de/matwis/amat/admat_en/kap_5/advanced/t5_2_4.pdf (pristup 3. srpanj 2017.)
5. Holler, F.J., Skoog, D.A., Crouch, S.R., Principles of Instrumental Analysis, 6th edition, str.9.-10.
6. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Osnove analitičke kemije, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., str.585.-593.
7. Frackowiak, A., The Jablonski diagram, *Journal of Photochemistry and Photobiology, B.*, 2 (1998) 399- 408
8. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., Osnove analitičke kemije, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 589-593 str.
9. Zajac, M., Hrobarik, P., Magdolen, P., Foltinova, P., Zahradnik, P., Donor–p-acceptor benzothiazole-derived dyes with an extended heteroaryl-containing conjugated system: synthesis, DFT study and antimicrobial activity, *Tetrahedron*, **64** (2008) 10605–10618.
10. Holler, F.J., Skoog, D.A., Crouch, S.R., Principles of Instrumental Analysis, 6th edition, str.9.-10.
11. McDonagh, C., Burke, C. S., MacCraith, B. D., Optical Chemical Sensors, *Chemical Reviews*, **108** (2008) 400-422.
12. Hulanicki, A., Głab, S., Ingman, F., Chemical sensors: definitions and classification, *Pure & App. Chem.*, **63** (1991) 1247-1250.
13. Schulman, J.H., Encyclopedia of science & technology, 10th edition, McGRAW-HILL, 7 FAB-GEN, str.236.-237.
14. Wencel, D., Abel, T., McDonagh, C., Optical Chemical pH Sensors, *Anal. Chem.*, XXXX, XXX, XXX–XXX
15. Mei, J., Hong, Y., Lam, J. W. Y., Qin, A., Tang, Y., Tan, B. T., Aggregation-Induced Emission: The Whole Is More Brilliant than the Parts, 2014 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, *Adv. Mater.* 2014.
16. Eisfeld, A., Briggs, J., S., The J- and H-bands of organic dye aggregates, *Chemical Physics* **324** (2006) 376-384

17. Shimizu, M., Takeda, Y., Higashi M., Hiyama, T., 1,4-Bis(alkenyl)-2,5-dipiperidinobenzenes: Minimal Fluorophores Exhibiting Highly Efficient Emission in the Solid State, *Angew. Chem.*, 2009, **121**, 3707–3710
18. Padalkar, V., S., Seki, S., Excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT)-inspired solid state emitters, *Chem. Soc. Rev.*
19. Alam, P., Kachwal, V., Laskar, I., R., A Multi-stimuli Responsive “AIE” Active Salicylaldehyde-based Schiff Base for Sensitive Detection of Fluoride, *Sensors and Actuators B*
20. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., *Osnove analitičke kemije*, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 493-494 str.
21. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., *Osnove analitičke kemije*, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 496-497 str.
22. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., *Osnove analitičke kemije*, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 500 str.
23. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., *Osnove analitičke kemije*, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 536-537 str.
24. Skoog, D., A., West, D.M., Holler, F.J., *Osnove analitičke kemije*, 6. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1999., 516-517 str.
25. <https://www.scribd.com/document/274158863/06-Chapter-1> (pristup 3.5. 2017.)
26. Hranjec, M., Starčević, K., Pavelić, S., K., Lučin, P., Pavelić, K., Zamola, G., K., Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation in vitro of novel Schiff bases related to benzimidazoles, *European Journal of Medicinal Chemistry* **46** (2011) 2274-2279
27. <http://www.dstuns.iitm.ac.in/teaching-and-presentations/teaching/undergraduate%20courses/cy306-structure-and-energetics-of-biomolecules/presentations/H-%20and%20J-%20Aggregates.pdf> (pristup 14.6. 2017.)

Popis simbola

ACQ (engl. *aggregation-caused quenching*)-gašenje emisije izazvana agregacijom

AEE (engl. *aggregation enhanced emission*)-poboljšanje emisije izazvano agregacijom

AIE (engl. *aggregation induced emission*)-emisija izazvana agregacijom

D-A-donor-akceptor

DCM-diklormetan

DMF-dimetilformamid

DMSO-dimetilsulfoksid

D- π -A-donor- π -akceptor

ESIPT (engl. *excited-state intramolecular proton transfer*)-intramolekularni prijenos protona u pobuđenom stanju

EtOH-etanol

EZI (engl. *photo-induced E-Z isomerization process*)-fotoinducirana E-Z izomerizacij

HOMO (engl. *highest occupied molecular orbital*)-najviša popunjena MO

HPQ-2-(2'-Hidroksifenil)-4-(3H)-kinazolinon

HPS-heksafenilsilol

IC (engl. *infrared*)-infracrvena svjetlost

ICT (engl. *ion charge transfer*)- intramolekularni prijenos naboja

JAF (engl. *J-aggregate formation*)-formiranje J-agregata

L-(E)-2-[piridin-(2-ilimino)metil]fenol

LE (engl. *local excited state*)-lokalno pobuđeno stanje

LED (engl. *light emitting diode*)-svjetloemitirajuća dioda

LUMO (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*)-najniža nepopunjena MO

MCH-metilcikloheksan

MO (engl. *molecular orbital*)-molekulska orbitala

NLO uređaji (*non-linear optical devices*)- nelinearni optički uređaji

OLEDs (engl. *organic light emitting diodes*)-organske svjetleće diode

PBI-perilen bisimid

PIC- pseudoizocijanin

PMMA-polimetilmetakrilat

RCT (eng. *restricted charge transfer*)-ograničenje prijenosa naboja

RIM (engl. *restriction of intramolecular motions*)-ograničavanje intramolekularnih kretnji

RIR (engl. *restriction of intramolecular rotation*)-ograničavanje intramolekularnih rotacija

RIV (engl. *restriction of intramolecular vibrations*)-ograničavanje intramolekularnih vibracija

RTICT (eng. *restriction of twisted intramolecular charge transfer*)- ograničenje TICT procesa

THBA -10,10',11,11'-tetrahidro-5,5'-bidibenzo[a,d] [7]anuleniliden

THF-tetrahidrofuran

TICT (engl. *twisted intramolecular charge transfer*)-odnosno intramolekularni prijenos naboja izvijanjem

TPAN- trifenilakrilonitril

TPE-tetrafeniletilen

UV (engl. *ultra-violet*)-ultraljubičasta svjetlost

Vis (engl. *visible light*)-vidljiva svjetlost

WHO (engl. *World Health Organization*)-Svjetska zdravstvena organizacija

XRD (engl. *X-ray diffraction*)-rendgenska difrakcija

ŽIVOTOPIS

████████████████████ Pohadao sam osnovnu školu „Luka II“ u Zagrebu (Sesvete). Maturirao sam u Općoj gimnaziji Sesvete. Godine 2012. upisao sam preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradio sam u Plivi d.o.o 2015. godine. Iste godine završio sam preddiplomski studij stekavši titulu prvostupnika primjenjene kemije, a iste godine upisao sam i diplomski studij primjenjene kemije (modul Zaštita okoliša).