

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: 2. Fyzika

Iridescence motýlích křídel a její inspirace ve fotonice

**Lukáš Andráši
Jihomoravský kraj**

Brno 2025

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: 2. Fyzika

Iridescence motýlích křídel a její inspirace ve fotonice

Iridescence of butterfly wings and its inspiration in photonic science

Autor: Lukáš Andráši

Škola: Gymnázium Brno, Křenová 304/36

Kraj: Jihomoravský

Konzultant: Ing. Nikola Papež, Ph.D.

Brno 2025

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracoval(a) samostatně a použil (a) jsem pouze podklady (literaturu, projekty, SW atd.) uvedené v seznamu vloženém v práci SOČ.

Nemám závažný důvod proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V dne podpis:

Poděkování.

Děkuji za obětavou pomoc a připomínky, které mi během práce poskytovala především moje rodina a také za odborné vedení, přístup a za veškerou pomoc, kterou mi v průběhu zpracování práce poskytl vedoucí práce Ing. Nikola Papež, Ph.D.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory JCMM a JmK.

jihomoravský kraj



**STŘEDOŠKOLSKÁ
ODBORNÁ ČINNOST**

Anotace

Tato středoškolská odborná práce se zabývá významem iridescentního zbarvení u motýlů z čeledi modráskovitých, modráska kozincového (*Glaucopsyche alexis*) a ohniváčka černočárného (*Lycaena dispar*), a běláška zelného (*Pieris brassicae*) z čeledi běláskovitých. Práce detailně popisuje iridescentní zbarvení a zabývá se fyzikální podstatou jeho vzniku a jeho inspirací ve fotonice. Dále pojednává o elektronových mikroskopech SEM a TEM, mikroskopu atomárních sil AFM a spektrofotometru, popisuje jejich konstrukci a fungování. Jádro výzkumu spočívá v analýze získaných snímků, grafů, shrnutí výsledků a jejich interpretaci v kontextu zkoumaného jevu a přináší podrobný obraz o struktuře křídel, interakci se světlem, vzniku iridescentních barev a vlivu pigmentace.

Klíčová slova: AFM; difrakční mřížka; fotonické krystaly; IR; iridescence; nanostruktury; pigmentace; SEM; spektrofotometr; struktury motýlích křídel (šupiny, hřebeny, žebra); UV; VIS.

Anotation;

This high school thesis examines the significance of iridescent coloration in butterflies from family Lycaenidae, *Glaucopsyche alexis* and *Lycaena dispar*, and *Pieris brassicae* from the family Pieridae. This paper describes iridescent coloration in detail and discusses the physical basis of its origin and its inspiration in photonics. It also discusses the SEM and TEM electron microscopes, the AFM atomic force microscope and the spectrophotometer, describing their construction and functioning. The core of the research lies in the analysis of the images and graphs obtained, the summary of the results and their interpretation in the context of the phenomenon under investigation and provides a detailed picture of the structure of the wings, interaction with light and the formation of iridescent colours and the influence of pigmentation.

Keywords: AFM; diffraction grating; IR; iridescence; nanostructures; photonic crystals; pigmentation; SEM; spectrophotometer; structures of butterfly wings (scales, ridges, ribs); UV; VIS.

OBSAH

1. Úvod	6
2. Fyzikální úvod	8
3. Strukturální zbarvení	9
3.1 Optická (difrakční) mřížka	9
3.2 Braggův zákon	11
3.3 Vícevrstevné odrazové plochy	11
3.4 Fotonické krystaly	12
3.5 Nanostruktury na křídlech motýla Morpho rhetenor	13
4. Elektronový mikroskop	15
4.1 Typy elektronových mikroskopů	16
4.1.1 Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop (SEM)	16
4.1.2 Transmisní (prozařovací) elektronový mikroskop (TEM)	16
4.2 Konstrukce	17
5. Mikroskop atomárních sil (AFM)	21
6. Spektrofotometr	23
7. Materiály a metody	24
7.1 Biologické materiály	24
7.2 Použité přístroje a software	25
8. Výsledky měření	26
8.1 Měření mikroskopem atomárních sil (AFM)	26
8.2 Měření skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM)	35
8.3 Měření reflektance pomocí spektrofotometrie	44
9. Diskuze	47
10. Závěr	48
11. Zdroje	50
12. Seznam obrázků a tabulek	54

1. ÚVOD

Iridescence je slovo pocházející z latinského „iris“ a starořeckého „ίρις“ označení pro duhu, spojeného s příponou -escent z latinského -escens znamenající: začínající, začínající být ve stavu [1]. Charakteristická vlastnost iridescence je změna odstínu předmětu měnící se změnou úhlu pohledu [2]. Iridescence může být definována také jako jev vytvářející různé barvy pomocí difrakce [3]. Novější teorie vztažená na motýly z rodu *Morpho*¹ popisuje iridescenci jako vícevrstevnou interferenci světla s horizontálními lamelami a difrakci světla na vertikálních hřebenech šupin. Optické jevy a chování šupin při interakci se světlem u těchto motýlů je velmi komplexní a přesně popsat optickou odezvou fotonických struktur na křídlech je poměrně složité, přesto má své využití při technologickém vývoji nanomateriálů [4].

Všechny iridescentní barvy vznikají podobnými základními mechanismy, asi nejlépe pochopitelnými na produkci barev u živočichů. Termínem světlo nazýváme elektromagnetické vlnové délky viditelné okem živočichů (mezi 400 a 780 nm). Kromě bioluminiscence vytváří všichni živočichové své barvy pomocí dvou základních mechanismů: pigmentovým zbarvením, strukturálním zbarvením nebo jejich kombinací. Pigmentové zbarvení vzniká ukládáním pigmentů do buněk a jejich schopností interakce se světlem a úrovní absorpce určitých vlnových délek. Například karotenoidní pigmenty absorbují kratší vlnové délky a propouští nebo odráží delší vlnové délky, čímž vzniká červené, oranžové nebo žluté zbarvení. Oproti tomu melaninové pigmenty s vysokou absorpcí viditelných vlnových délek (a ještě vyšší absorpcí u neviditelných vlnových délek) vytváří hnědé až černé zbarvení. Strukturální zbarvení vzniká interakcí světla s nanostrukturami vytvářejícími tenké vrstvy nebo difrakční mřížky. Studium tohoto jevu zlepšuje naše chápání evoluce komunikačních strategií zvířat a fyzikální optiky. Své využití nachází například v biomimetických² technologiích [5, 6].

Mezi vynálezy inspirované motýly a povrchem jejich křídel patří například: interferometrický modulátorový displej (IMOD) používaný v zařízeních Mirasol od společnosti Qualcomm inspirovaných interferencí světla s nanostrukturami na křídlech motýlů. IMOD je zařízení skládající se z pohyblivé reflexní membrány a tenké vrstvy umístěné na průhledném podkladu. Dopadající světlo se na konstrukci odráží od horní části tenké vrstvy a od pohyblivé membrány. Při změně polohy membrány se světlo odráží jiným směrem než od tenké vrstvy, v závislosti na velikosti změny polohy spolu určité odražené vlnové délky konstruktivně nebo destruktivně interferují a vzniká požadovaná barva [7].

¹Rod *Morpho* (čeleď Nymphalidae neboli babočkovití) je skupina velkých jihoamerických tropických motýlů s iridescentními křídly, obvykle s výraznou modrou barvou [32].

² Biomimetika je obor, zabývající se napodobováním přírodních materiálů a struktur [33].

Tato práce si klade za cíl shrnout problematiku iridescentního zbarvení nejen z biologického, ale i z fyzikálního hlediska. Motivací k výběru tohoto tématu bylo spojení přírody a jejích evolucí dosažených „vynálezů“, které lze vysvětlit na základě fyzikálně-optických jevů. Práce by měla autorovi vytvořit vědomostní základ a představu o strukturálním zbarvení motýlů. Iridescence a obecně interakce světla se strukturami na křídlech motýlů už byly detailně prozkoumány, ale přesto neumíme tyto optické jevy, které se na křídlech motýlů odehrávají dokonale vysvětlit a popsat, protože motýli nikdy nevyužívají pouze jeden z nich a kombinují je i s pigmentovým zbarvením.

K zobrazení povrchu křídel budou využity moderní zobrazovací technologie, jako elektronový mikroskop (SEM), mikroskop atomárních sil (AFM) a spektrofotometr. Tyto přístroje umožňují detailní pozorování nanostruktur na povrchu. Pomocí SEM lze zjistit informace o tvaru, velikosti a vzdálenosti nanostruktur, AFM umožňuje měřit výškový profil a přesněji mapovat povrch vzorku a spektrofotometr umožňuje analyzovat optické vlastnosti materiálu.

2. FYZIKÁLNÍ ÚVOD

Hlavní téma této práce je strukturální zbarvení motýlů vytvářející iridescenci. Při zkoumání barevných jevů na jejich křídlech je po fyzikální stránce důležitá optika a klíčovou roli v ní hraje právě světlo. Světlo je část elektromagnetického záření³. Elektromagnetická vlna je tvořena oscilujícími elektrickými a magnetickými poli, která jsou na sebe kolmá a zároveň kolmá ke směru šíření vlny; tato pole kmitají ve fázi. Elektromagnetická vlna je definována svojí vlnovou délkou, periodou a frekvencí. Elektromagnetické vlny lišící se různou vlnovou délkou (frekvencí) tvoří spektrum. Člověk má schopnost vidět záření o vlnových délkách od 400 po 700 nm. Kratší vlnové délky (pod 400 nm) nesou označení ultrafialové záření (UV záření) a delší vlnové délky (nad 780 nm) se označují jako infračervené záření (IR záření). Ve spektru viditelného záření odpovídá každé vlnové délce určitá barva. Nejkratší vlnové délky odpovídají fialové a dále následuje modrá, zelená, žlutá, oranžová a červená s nejdelší vlnovou délkou. Pokud na oční sítnici dopadá záření o určité vlnové délce, oko ho vnímá jako konkrétní barvu. Dopadem více různých vlnových délek naráz vznikají kombinace barev. Pokud jsou přítomny všechny vlnové délky, vnímáme je jako bílou barvu. Můžeme tedy říct, že věci jsou barevné proto, že jejich povrch pohlcuje všechny vlnové délky dopadajícího elektromagnetického záření kromě jedné, kterou odráží. Tento odražený paprsek dopadá na oční sítnici a člověk vnímá barvu předmětu [10].

Pokud světlo dopadá na rozhraní dvou optických prostředí (prostředí s různým indexem lomu⁴), mohou nastat situace, jako je lom nebo odraz světla. Odraz světla popisuje jev, při kterém se paprsek od rozhraní odrazí. Lom světla se liší od odrazu tím, že paprsek prochází skrz rozhraní a změní svůj směr o určitou velikost úhlu závisující na úhlu dopadu a indexu lomu [8, 9]. Směr světla se ale může měnit i jinak než lomem nebo odrazem. Pokud světlo narazí na překážku se srovnatelnou vlnovou délkou, může dojít k ohybu světla (difrakci), díky které se světelný paprsek může šířit do prostoru (geometrického stínu osvětleného tělesa) za překážkou. Tento jev velmi dobře prokazuje teorii chování světla jako elektromagnetické vlny, protože při přímočarém šíření by se paprsek do tohoto místa dostat nemohl. Dalším důležitým jevem, který také dokazuje toto chování světla neboli skládání (interferování) vlnění je interference. Interference může být konstruktivní v případě, kdy se setkají vlnění se stejnou fází a jejich složením vzniká interferenční maximum (zesílení intenzity světla), nebo naopak destruktivní, když se setkají dvě vlny s opačnou fází, vzniká interferenční minimum (zeslabení intenzity světla nebo jeho vymizení) [10].

³ Elektromagnetické záření je děj, při němž se prostorem šíří příčné vlnění elektrického a magnetického pole.

⁴ Index lomu je v optice důležitá látková konstanta, vyjadřující poměr rychlostí světla v optických prostředích.

3. STRUKTURÁLNÍ ZBARVENÍ

Pokud se na motýlí šupiny (lamely) podíváme z blízka, zjistíme, že se jedná o běžně se vyskytující, modifikované chloupky (makrotrichie). Tyto šupinky jsou pomocí krátké stopky ukotveny na membránu křídel. Jejich rozmanitý vzhled závisí na jejich funkci a jejich uspořádání by se dalo přirovnat k taškám na střeše, protože se v řadách překrývají. Vnější a vnitřní vrstvy šupin jsou propojeny pilířovitými sloupky, které zajišťují stabilitu vnitřních prostor. Struktura šupin je složitá a u jednotlivých skupin různá. U některých skupin jsou šupiny plné a u jiných uvnitř duté. Pro motýly mají důležitou funkci v podobě termoregulace pomocí vzduchových dutin uvnitř šupin a také jsou aerodynamicky výhodné, protože kladně ovlivňují obtékání vzduchu při letu [11].

Pro motýly je význačná barevnost, kterou jejich křídla získávají nejen díky pigmentu, ale také pomocí strukturálního zbarvení. Strukturální a pigmentové šupiny se vyskytují téměř u všech druhů a díky jejich součinnosti dosahují motýlí křídla barevnosti v širokém, pro člověka viditelném i neviditelném (ultrafialovém a infračerveném), rozsahu světelného spektra. Strukturální zbarvení je na rozdíl od pigmentového založené na fyzikálně optických jevech (lom, odraz, rozptyl, interference světelných paprsků) na povrchu pravidelně uspořádaných nanostruktur, ve kterých se světelné vlny mohou šířit jinak než v běžných materiálech [11]. Obecně se mechanismy strukturálního zbarvení rozdělují do několika kategorií optických jevů, jako jsou vícevrstevné odrazové plochy, difrakční (optické mřížky) a fotonické krystaly [12].

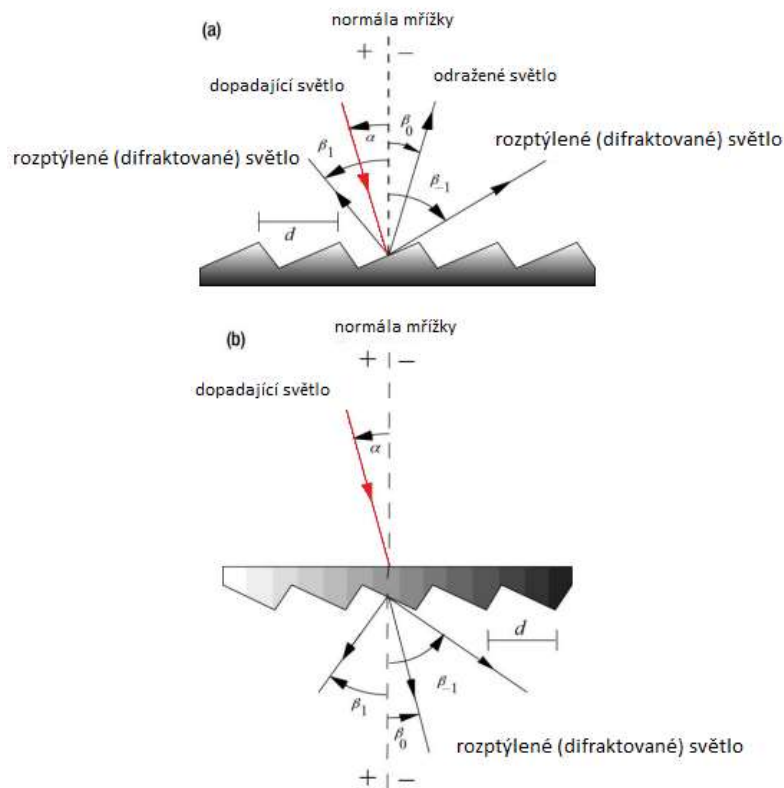
3.1 Optická (difrakční) mřížka

Difrakční mřížka je složená z opakujících se nanostruktur, v nichž vzdálenost mezi jednotlivými strukturami je srovnatelná s vlnovou délkou světla. Po kontaktu světelných paprsků s povrchem dochází k ohybu (difrakci) kvůli různým indexům lomu uvnitř a na povrchu mřížky. Podle směru šíření světelných paprsků rozlišujeme difrakční mřížku reflexní a transmisní (viz obr. 1) [13, 14].

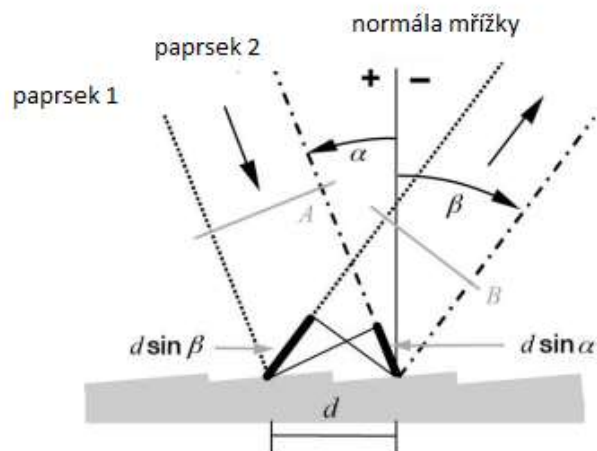
Tyto vztahy jsou popsány mřížkovou rovnicí:

$$m\lambda = d(\sin\alpha + \sin\beta), \quad (1)$$

kde d je vzdálenost mezi vrypy mřížky, m řád difrakce, λ vlnová délka. Pro její pochopení využijeme ilustrace mřížkové difrakce pomocí vlnových čar znázorněných na obrázku 2. Můžeme pozorovat, že geometrický rozdíl mezi drahami světla ze sousedních drážek se rovná $d \sin\beta + d \sin\alpha$. Princip konstruktivní interference říká, že pouze tehdy, když se tento rozdíl rovná vlnové délce λ světla nebo jejímu celočíselnému násobku, bude světlo ze sousedních drážek ve fázi, což vede ke konstruktivní interferenci. Při všech ostatních úhlech budou Huygensovy vlnové čáry vycházející z ploch drážek interferovat destruktivně [14].



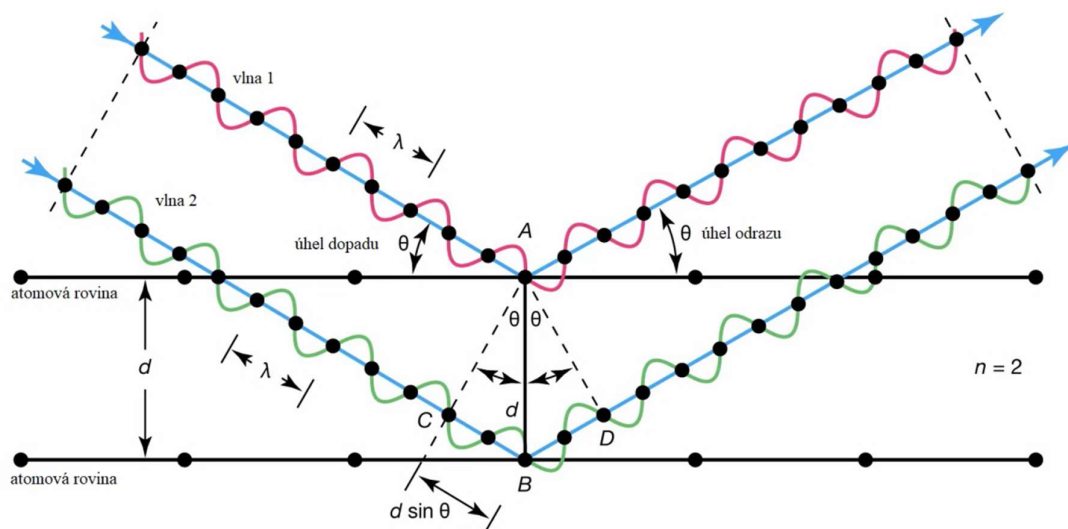
Obrázek 1: Difrakce na rovině mřížek. Svazek monochromatického světla o vlnové délce λ dopadá na mřížku a difraktuje po několika různých dráhách. Úhly jsou označeny α a β a jejich orientace + a -. (a) Reflexní mřížka: dopadající a difraktované paprsky leží na stejné straně mřížky. (b) Transmisní mřížka: difraktované paprsky leží na opačné straně mřížky než paprsky dopadající. Překresleno dle [14]



Obrázek 2: Ilustrace difrakce, zobrazující roviny vlnových čar. Dva rovnoběžné paprsky, označené 1 a 2, dopadají na mřížku ve vzdálenosti rovné jedné drážce d a jsou ve vzájemné fázi na vlnové rovině A. Při difrakci z principu konstruktivní interference vyplývá, že tyto paprsky jsou ve fázi na difraktované vlnové rovině B, pak rozdíl jejich délek drah $d \sin \alpha + d \sin \beta$ je celočíselný počet vlnových délek a tím se vracíme k rovnici difrakční mřížky. (Huygensovy vlnové čáry nejsou na obrázku zobrazeny). Překresleno dle [14].

3.2 Braggův zákon

Braggův zákon je fyzikální vztah mezi vzdáleností atomových rovin v krystalech a úhlech dopadu světla (vlnění), ve kterých roviny vytvářejí nejintenzivnější odrazy elektromagnetického záření, a částicových vln. Pokud zůstávají vlny ve fázi, vzniká konstruktivní interference, při níž světlo dopadá současně na odpovídající body (např. hřebeny a prohlubně). Braggův zákon poprvé formuloval anglický fyzik Lawrence Bragg.



© Encyclopædia Britannica, Inc.

Obrázek 3: Znázornění vln 1 a 2, které se ve vzájemné fázi odrážejí od atomů A a B krystalu, jehož atomové neboli mřížkové roviny jsou od sebe vzdáleny o d . Difrakční (odrazový) úhel θ , je roven úhlu dopadu θ . Překresleno podle Encyklopedie britannica [15].

Braggův zákon je tedy rovnice:

$$n\lambda = 2d \sin \theta, \quad (2)$$

Podmínkou toho, aby obě vlny zůstaly po odrazu ve fázi, je, že délka dráhy CBD je celočíselný počet (n) vlnových délek (λ) neboli $n\lambda$. Z geometrie vyplývá, že CB a BD jsou rovny sobě navzájem a vzdálenosti d krát sinus odraženého úhlu θ , neboli $d \sin \theta$. Pokud je počet n neceločíslný, budou odražené vlny mimo fázi a dochází k destruktivní interferenci [15].

3.3 Vícevrstevné odrazové plochy

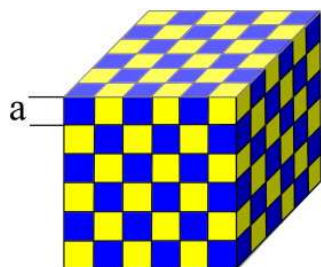
Vícevrstevné odrazové plochy jsou složeny z periodicky uspořádaných tenkých vrstev. Ke konstruktivní interferenci v nich dochází díky odrazům světla od různých rozhraní soustav tenkých vrstev se střídavě vysokým a nízkým indexem lomu [12, 16].

Podmínkou vzniku konstruktivní interference je také splnění již zmiňovaného Braggova zákona.

3.4 Fotonické krystaly

Fotonické krystaly lze považovat za speciální případ kompozitu. Je tvořen ze dvou materiálů s indexy lomu n_1 a n_2 . Vyznačuje se indexem lomu neměnném při prostorových translacích krystalické mřížky (viz obr. 4). Periodičnost struktury musí být srovnatelná s rozsahem vlnových délek, ve kterém bude vykazovat chování fotonického krystalu. V přesně definovaných frekvenčních pásmech, nazývaných „stop pásma“, mohou tyto materiály, nazývané také materiály s fotonickou mezerou v pásmu (Photonic Band Gap, PBG), bránit šíření elektromagnetických vln v určitých směrech, a to i při velmi mírných kontrastech indexu lomu, vyskytujících se u biologických materiálů. Pro úplnou fotonickou mezeru jsou obvykle zapotřebí složitější struktury. Struktura (viz obr. 4) slouží pouze jako ilustrace principu trojrozměrného PBG. PBG materiály mohou mít řadu aplikací, od optických počítačů, přes laditelné fotonické obvody, účinnější lasery a vlákna pro optickou komunikaci.

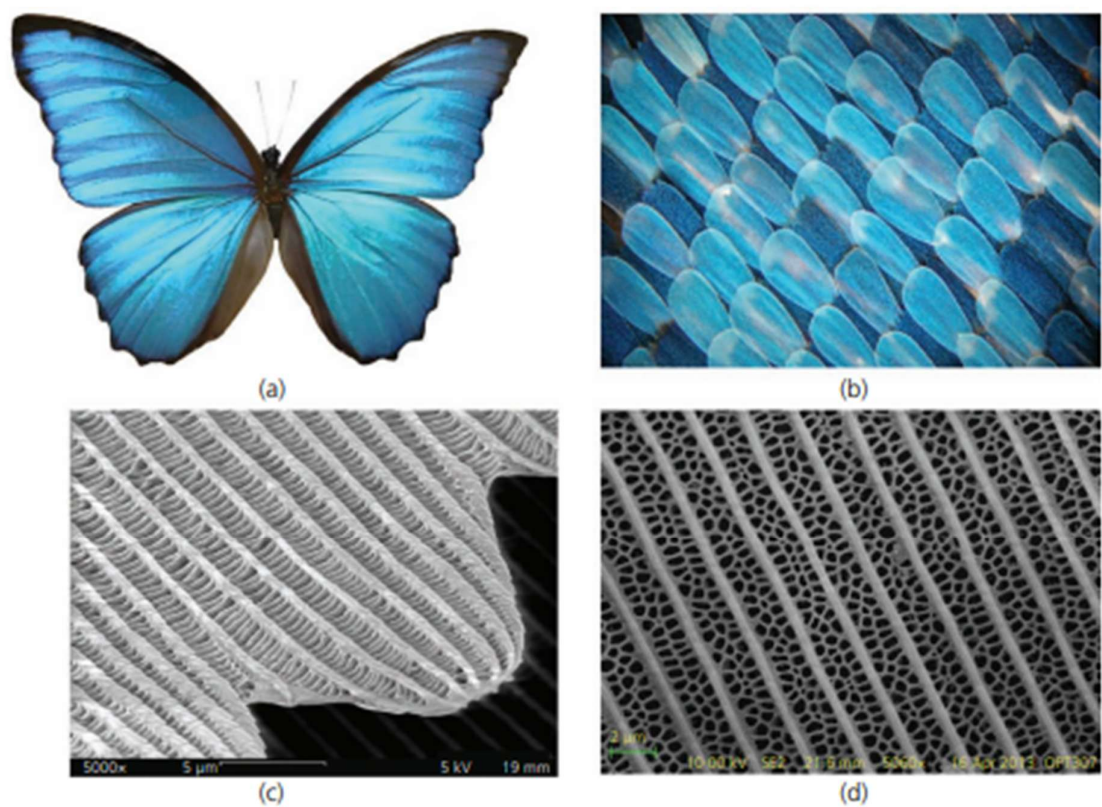
Výroba velkoplošných fotonických krystalů pracujících ve viditelném spektru je na výrobu stále náročná a nákladná, přesto se periodické dielektrické struktury, které pracují v tomto rozsahu vlnových délek, vyvinuly u zvířat, jako jsou někteří motýli, například rod *Morpho*, ptáci, brouci a i rostliny [17].



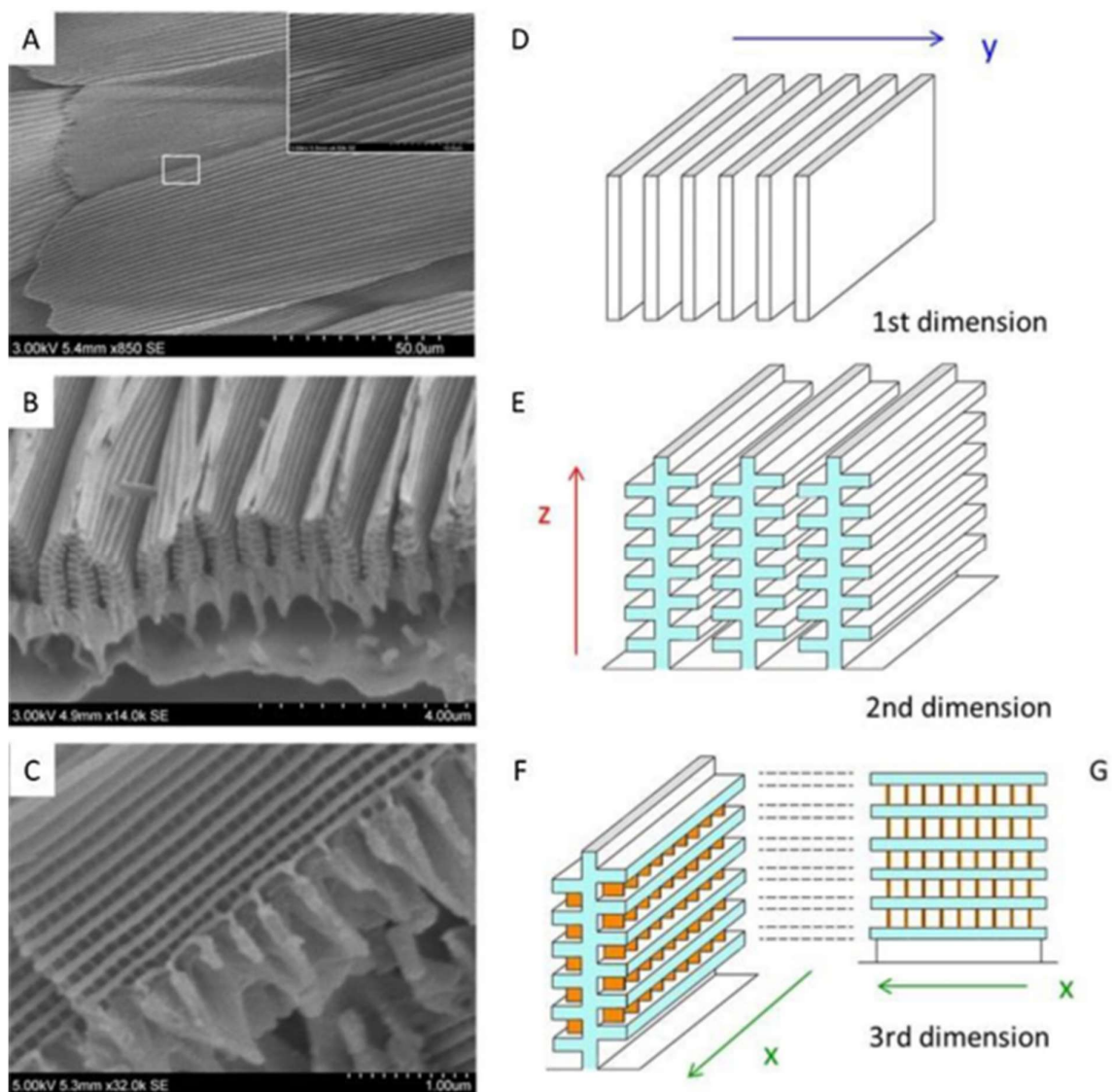
Obrázek 4: Schéma modelu 3D fotonického krystalu. Mřížkový parametr a musí být řádově stejné velikosti jako vlnová délka, pro kterou se PBG vytvoří. Plnohodnotný PBG obvykle tvoří složitější struktury než jednoduchý krychlový případ, který je zde použit pro ilustraci. [17].

3.5 Nanostruktury na křídlech motýla *Morpho rhetenor*

Iridescence lze ukázat na křídlech tropického motýla *Morpho rhetenor* (viz obr. 5). Hřbetní část křídel se vyznačuje využíváním nanostruktur na křídlech (viz obr. 6) společně s konstruktivní interferencí pro vytvoření intenzivní iridiscentní, pro lidské oko modré, barvy.



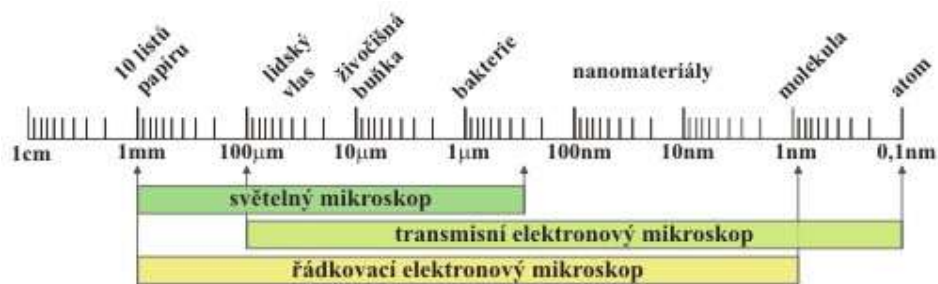
Obrázek 5: Snímky křídel samce motýla *Morpho rhetenor* ukazují z různých vzdáleností složitou strukturu křídel [36].



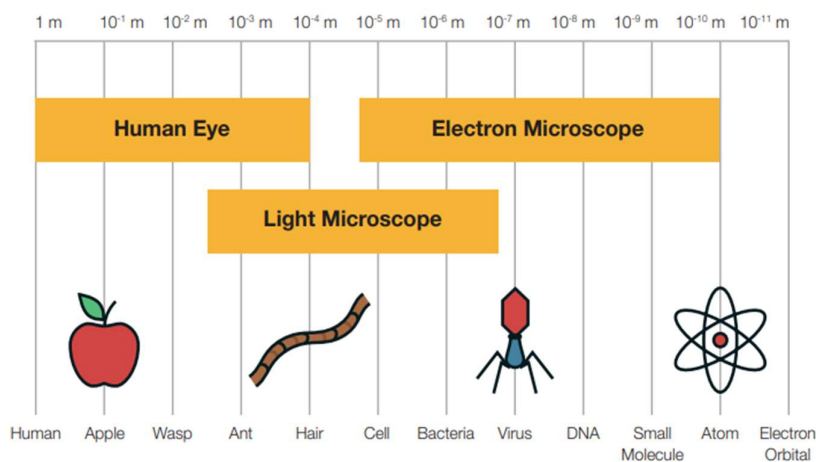
Obrázek 6: Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) a schematické znázornění tří periodických opakovaní šupiny motýla *Morpho rhenetor*: hřebenové mřížky (a, d), vícevrstvé lamely (průřez hřebeny), (b, e), a membrány mezi lamelami mikrožebrování (c, f, g). Periodická struktura se skládá ze vzduchu a chitinového komplexu. Periodicky střídající se dva různé indexy lomu (vzduchu a chitinu) jsou přítomny v různých délkových měřítcích a směrech: směr y pro hřebenovou mřížku (modře), směr z pro vícevrstvou lamelu (červeně) a směr x pro mikrožebra (oranžově) [18]

4. ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP

Přestože uspořádání optických a elektronových mikroskopů je v zásadě podobné, v praxi se velmi liší. Elektronové mikroskopy jsou přístroje, které místo světelného svazku (fotonů) používají elektrickým polem urychlené elektrony a skleněné čočky jsou nahrazeny čočkami elektromagnetickými. Jednou z dalších hlavních charakteristik mikroskopů je mezní rozlišovací schopnost⁵ (viz obr. 7 a 8), jež je úměrná vlnové délce použitého záření. Elektronové záření má kratší vlnovou délku ($\sim 0,01 - 0,001$ nm) než viditelné světlo ($400 - 780$ nm) a díky tomu umožňuje větší rozlišení. Aby nedocházelo k interakcím elektronů s molekulami v atmosféře, které ovlivňují dráhu letících elektronů, musí být vzorek, elektronové dělo a svazek elektronů umístěny ve vakuu. Elektronový mikroskop je velmi všestranný nástroj pro zkoumání mikrosvěta, zejména výzkumu materiálů a nanomateriálů a poskytuje nám informace o mikrostruktuře, krystalografii, chemickém složení, a dalších vlastnostech zkoumaného vzorku [19].



Obrázek 7: Porovnání schopnosti rozlišení elektronových mikroskopů se světelným [19].



Obrázek 8: Porovnání schopnosti rozlišení mikroskopů s lidským okem, světelným a elektronovým mikroskopem [37].

⁵ Mezní rozlišovací schopnost, schopnost mikroskopu rozlišit dva, body neboli minimální vzdáleností dvou bodů, které je mikroskop schopen rozlišit.

4.1 Typy elektronových mikroskopů

Existují dva hlavní druhy elektronových mikroskopů, prozařovací nebo skenovací. Základní princip urychlení svazku elektronů a průchod skrz elektromagnetické čočky je u obou metod stejný [19].

4.1.1 Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop (SEM)

Rastrovací elektronová mikroskopie spočívá v produkování svazku ostře fokusovaných (zaostrěných) elektronů, které jsou postupně vychylovány speciální skenovací cívkou a řádkují tak povrch vzorku bod po bodu. Jedná se o metodu nepřímou, protože pro získání informací je využito sekundárních (SE) nebo zpětně odražených (BSE) elektronů, které jsou zachycovány pomocí detektorů. Tato metoda je vhodná pro zkoumání povrchu vzorku z hlediska topografie, chemického a fázového složení. Výhodou SEM je vysoká rozlišovací schopnost při zachování velké hloubky ostrosti. Výsledný obraz se nám tak jeví jako trojrozměrný [19].

Nevýhodou je zde možnost zkoumání pouze povrchu vzorku a nutnost elektricky vodivých vzorků [19]. Náboj vzniklý rozdílem mezi množstvím elektronů dopadajících v elektronovém svazku a množstvím elektronů emitovaných má vliv na zobrazení preparátu, a proto musí být vzorek vodivý nebo mít na sobě vodivou vrstvu, aby mohl náboj odvádět na uzemněný manipulátor [20].

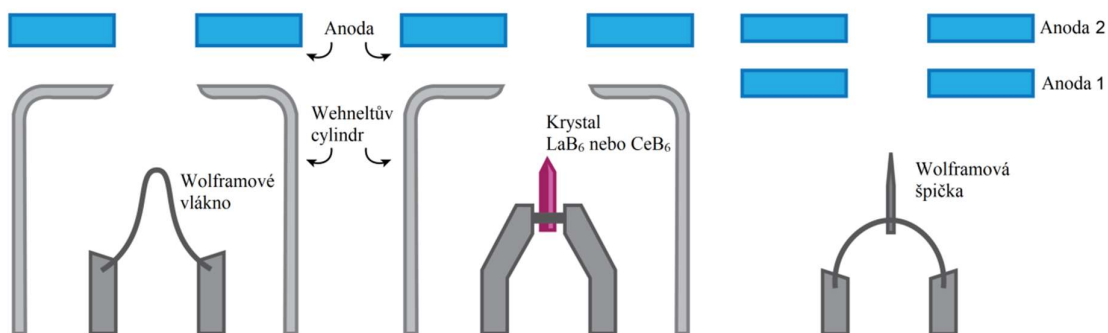
4.1.2 Transmisní (prozařovací) elektronový mikroskop (TEM)

Zdrojem elektronů je většinou termoemisní zdroj využívající vysoké napětí k urychlení elektronů. Elektrony jsou dále usměrňovány pomocí elektromagnetických čoček a dopadají na velmi tenký ($0,5\ \mu\text{m}$ a méně) vzorek, který je speciálně připraven. Elektrony vzorkem prochází nebo dochází k jejich difrakci (rozkladu paprsku elektronů) a výsledný obraz je zachycen na stínítku, ze kterého je obraz převeden na PC monitor.

Metoda TEM slouží k zobrazení vnitřní struktury zkoumaného materiálu a též je vhodná pro zobrazení jednotlivých atomů. Rozlišovací schopnost je přímo závislá na velikosti urychlovacího napětí a použitém detektoru (při napětí 200 kV se pohybuje okolo $0,2\ \text{nm}$). Nevýhodou této metody je velmi náročná příprava vzorků z důvodu nutnosti ultratenkých lamel [19].

4.2 Konstrukce

Elektronový mikroskop se skládá ze dvou hlavních částí: Elektronového zdroje (děla) a elektromagnetických čoček, složených ze solenoidové čočky⁶ a magnetického pólového nástavce [21, 22]. Elektronové mikroskopy SEM a TEM využívají nejčastěji termoemisní a autoemisní elektronové zdroje (viz obr. 9).



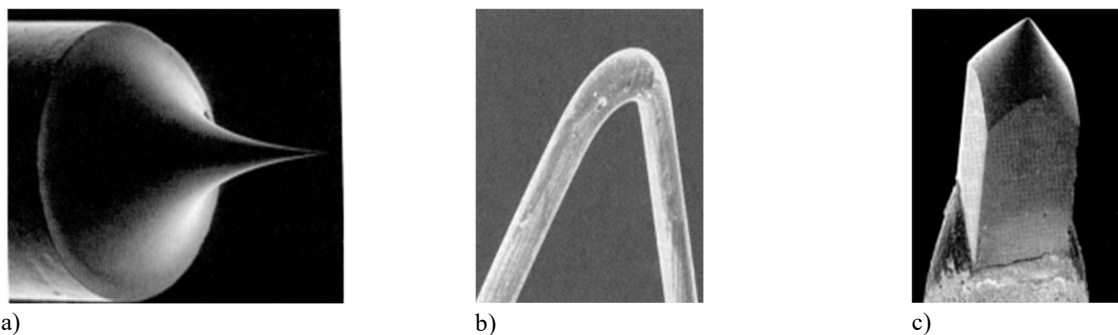
Obrázek 9: Porovnání termoemisních zdrojů elektronů (wolframové vlákno a krystal LaB₆ nebo CeB₆) a autoemisního zdroje (Wolframová špička). Wehneltův cylindr usměřňuje elektrony na anodu a autoemisní zdroj používá dvě anody, jednu k urychlení a druhou k usměrnění elektronů [23].

Termoemisní zdroje využívají teplo pro emitování elektronů. Skrz vlákno nebo krystal se pus-tí proud a postupně se zahřívá, dokud nemá materiál dostatečnou teplotu pro emitování elektronů. Aby elektrony byly emitovány jen v jednom směru, využívá se jako další součást obou mikroskopů anoda. Zdroj funguje v tomto případě jako katoda, proto jsou elektrony přitahová-ny skrz anodu a rozdíl v napětí mezi zdrojem a anodou elektrony urychluje. Mezi termo-emisní zdroje patří wolframové vlákno (viz obr. 10b), má nejkratší životnost a díky vysoké operační teplotě má obecně větší rozptyl elektronového svazku, nižší jas a kvalitu výsledného obrazu, ale je levné a dá se jednoduše vyměnit. Krystal hexaboridu lanthanu (LaB₆), (viz obr. 10c), a ceria (CeB₆) mají oproti wolframu nižší operační teplotu a díky tomu mají menší roz-ptyl elektronového paprsku, ale potřebují vysoké vakuum⁷ a proto mají dražší celkovou pro-vozní cenu [23, 24].

⁶ Solenoidová (Elektromagnetická) cívka je rovnoměrně navinutá cívka z drátu ve tvaru válce, jehož délka je mnohem větší než průměr. Průchod stejnosměrného elektrického proudu vodičem vytváří magnetické pole, které vtahuje do/skrz solenoid požadované předměty.

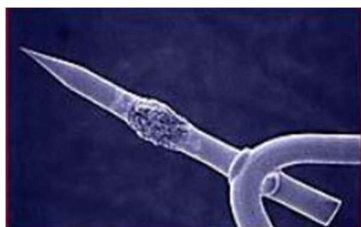
⁷ Vysoké vakuum (10^{-3} až 10^{-7} hPa) [34].

Autoemisní zdroje, například studené wolframové vlákno (viz obr. 10a), využívající silné elektrostatické pole k indukci emitování elektronů, pole se vytvoří na ostrém hrotu, kde se díky kvantově mechanickému tunelování uvolňují elektrony s velkou energií. Šířka proudu elektronů je oproti termoemisním zdrojům podstatně menší, což má za následek velký jas a díky tomu i lepší kvalitu obrazu. Další výhodou oproti termoemisním zdrojům je výdrž až rok bez potřeby výměny a z těchto důvodů má nejširší využití, ale nevýhodou je cena, z důvodu nutnosti udržování ultra vysokého vakua⁸ [23, 24].



Obrázek 10: a) Studené wolframové vlákno vyleptané do špičky, b) wolframové vlákno, c) krystal LaB6 [24].

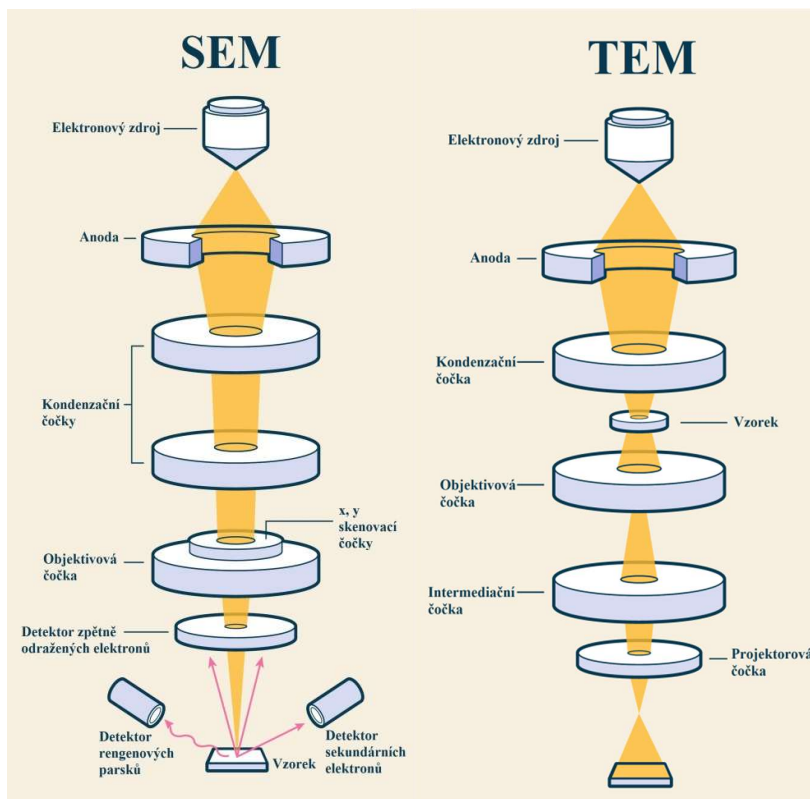
Schottkyho zdroj (obr. 11) je zdroj kombinující výhody termo a auto-emisních zdrojů. Zdroj je wolframová špička pokrytá oxidem zirkoničitým, který usnadňuje emitování elektronů. Přestože Schottkyho zdroje mají kratší životnost než autoemisní zdroje, a za určitých podmínek horší kvalitu obrazu (větší rozptyl energie při nižším napětí), mají obecně lepší stabilitu [23, 24].



Obrázek 11: Schottkyho zdroj [24].

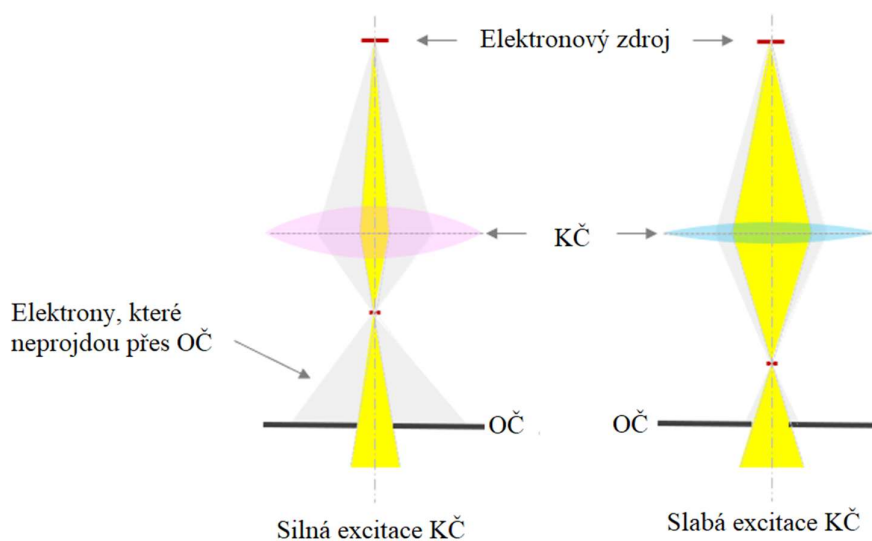
Další pro fungování potřebné součásti konstrukce elektronového mikroskopu jsou: anoda, elektromagnetické kondenzorová, objektivové a další čočky (viz obr. 12). Anoda, elektroda s kladným nábojem umístěná přímo pod zdrojem elektronů, její funkce je usměrnění elektronů emitovaných zdrojem směrem dolů skrz její střed. Elektromagnetické čočky [25], se skládají ze solenoidové cívky a magnetického pólového nástavce. Používají se k upravení trasy elektronů, pomocí přeměny elektrického proudu na magnetické pole. Proud elektronů může díky tomu být usměrňován změnou velikostí proudů v jednotlivých čočkách [26].

⁸ Ultra vysoké vakuum (10^{-7} až 10^{-12} hPa)[34].



Obrázek 12: Porovnání konstrukce SEM a TEM [22].

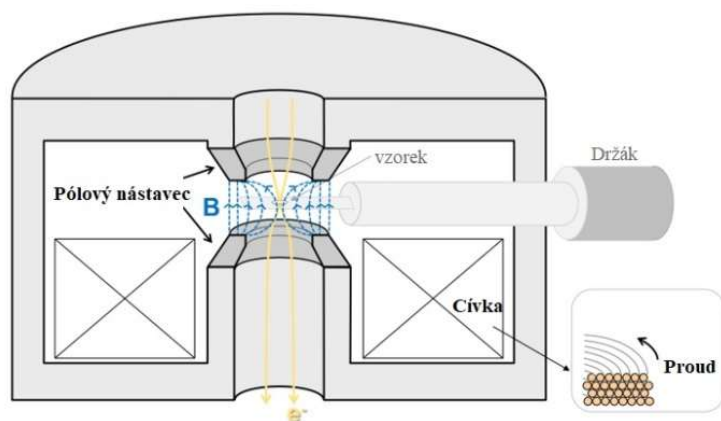
Kondenzorová čočka (KČ) je čočka, která řídí proud a průměr elektronového svazku společně s objektivovou čočkou (OČ), (viz obr. 13). Když je excitace silná, šířka elektronového svazku je malá a zaostřovací vzdálenost čočky krátká. Využívá se pro prvkovou analýzu. Zatímco když je excitace slabá, šířka elektronového svazku je užší. Využívá se při zkoumání vyžadujícím vysoké rozlišení [25].



Obrázek 13: Porovnání excitací kondenzační čočky. Silná excitace vlevo a slabá vpravo [25].

SEM vybavený termoemisním zdrojem používá vícestupňový systém kondenzátorových čoček k řízení průměru elektronového svazku v širokém rozsahu. SEM s termoemisním zdrojem využívá systém více kondenzačních čoček k řízení průměru elektronového svazku v širokém rozsahu. Termoemisní zdroj generuje svazek velký až $20\text{ }\mu\text{m}$, ten je potřeba demagnetizovat přibližně na $1/1000$ původní velikosti. SEM vybavený Schottkyho emisním zdrojem vytváří elektronový svazek o velikosti $15 - 20\text{ nm}$. V tomto případě stačí na soustředění paprsku jen jedna kondenzační čočka. SEM vybavený autoemisním zdrojem má dostatečně úzký elektronový svazek a kondenzační čočka je využívána jen pro usměrnění elektronového svazku [25].

Objektivová čočka, která vytváří obraz pomocí elektronů vycházejících ze vzorku, je nejdůležitější čočkou zobrazovací soustavy, protože její výkon určuje výslednou kvalitu obrazu. Skládá se z pólového nástavce⁹ usměrňujícího proud elektronů za pomoci magnetického pole, které je generované elektrickým proudem za pomoci cívek (viz obr. 14) [25].



Obrázek 14: Objektivová čočka [25].

Mezi další součásti elektronových mikroskopů, ve kterých se mikroskopy SEM a TEM při využívání rozcházejí, patří: intermediační, projektorová čočka v TEM a detektory zpětně odražených, sekundárních elektronů a rentgenových paprsků nacházející se pouze v SEM

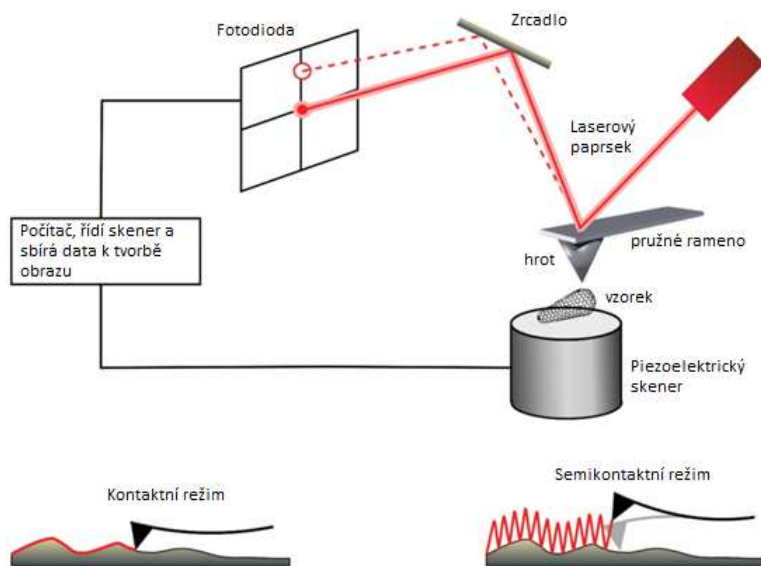
Intermediační čočka, leží mezi objektivovou a projektorovou čočkou a skládá se ze tří částí. První část vybírá polohu zaostření, druhá část zvětšuje zaostřený obraz a třetí část upravuje obraz do stavu bez otočení. Čočka lze použít v rozsahu zvětšení přibližně od $0,5\times$ do $100\times$ [25].

Projektorová čočka je poslední čočka zobrazovacího systému TEM nacházející se mezi intermediační čočkou a fluorescenčním senzorem, její funkce je další zvětšení obrazu, zafixované na $\sim 150\times$ [25].

⁹ Pólový nástavec je vyrobený z magnetického materiálu, soustřeďuje magnetický proud skrz otvor uprostřed.

5. MIKROSKOP ATOMÁRNÍCH SIL (AFM)

Metoda, při níž získáváme obraz pomocí sondy (hrotu). Hrot je upevněný na pružném rameni a pohybuje se v těsné blízkosti povrchu zkoumaného vzorku v pravidelném rastru. Vlivem nerovností povrchu se držák s hrotem mírně prohýbá, tento pohyb je detekován pomocí laseru (viz obr. 15). Ze závislosti prohnutí na poloze hrotu získáváme povrchový reliéf. Obraz vzniká postupně, bod po bodu [27].



Obrázek 15: Ilustrace konstrukce a fungování AFM a 2 možné režimy [38].

Měření AFM má tři režimy kontaktní, semikontaktní a bezkontaktní. V kontaktním režimu je sonda tažena po povrchu, během skenování se udržuje konstantní ohyb kantilievery (pružného ramena) a skener posouvá relativní polohu sondy nebo vzorku tak, aby byla zachována konstantní výchylka. Nevýhody této metody mohou být 1. možnost kontaminace povrchu a s ní spojená potřebná síla k překonání tohoto znečištění. 2. kombinace normálové a boční síly vznikající v důsledku taženého pohybu hrotu po vzorku společně s malými kontaktními plochami mají za následek vysoké kontaktní napětí, které může ve výsledku poškodit jak vzorek, tak i hrot. Při bezkontaktním režimu je ramínko rozkmitáno v blízkosti své rezonanční frekvence (140 – 390 kHz). Vzdálenost hrotu a amplituda jsou řádově 1 – 10 nm. Hrot kmitá těsně nad povrchem vzorku. Frekvence a amplituda kmitajícího ramínka se mění při přiblížení k povrchu, z důvodu interakcí s van der Waalovými silami¹⁰ [28].

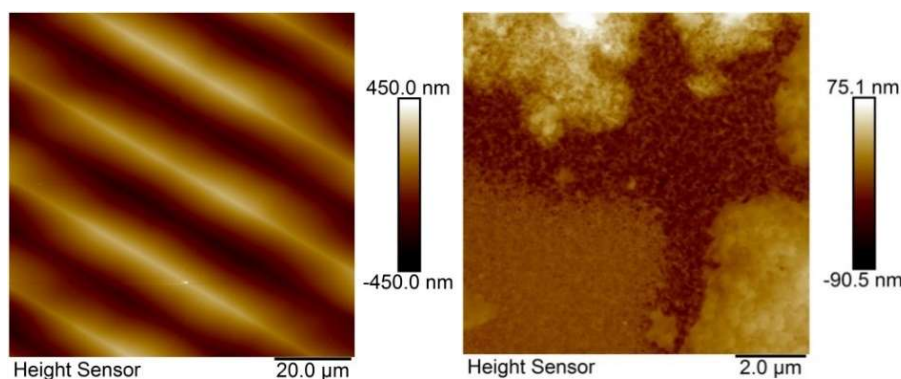
Nevýhody tohoto režimu jsou za prvé slabé interaktivní síly ovlivňující výsledný signál, ten poté může poskytovat nestabilní zpětnou vazbu a nekvalitní výsledný snímek, za druhé nižší

¹⁰ van der Waalovy síly, relativně slabé elektrické síly, které k sobě přitahují neutrální molekuly v plynech a téměř ve všech organických kapalinách a pevných látkách [35].

rozlišení než u kontaktního nebo semikontaktního režimu z důvodu oddělení hrotu od vzorku. Další režim je semikontaktní (poklepový) režim. Ten je vhodný pro zobrazování měkkých vzorků. Přestože rozlišení je podobné jako v kontaktním režimu, síly působící na hrot jsou nižší. Ramínko také kmitá v blízkosti své rezonanční frekvence jako u bezkontaktního režimu, ale amplituda kmitů je o 20 – 200 nm větší, než v bezkontaktním režimu. Hrot je v kontaktu se vzorkem jen velmi krátkou dobu a interakce hrotu se vzorkem také mění amplitudu a rezonanční frekvenci. Amplituda ramínka je taková, aby si sonda zachovala dostatek energie k tomu, aby hrot pronikl povrchovou vrstvou znečištění a vrátil se z ní. [28].

Příprava vzorků nevyžaduje speciální přípravu a AFM může pracovat i se vzorky v kapalném prostředí při bezkontaktním režimu, což umožňuje studium biologických preparátů ve svém přirozeném fyziologickém prostředí [27].

Nevýhodou AFM obecně je velmi omezený rozsah měření a tím i velikosti obrazu (stovky mikrometrů), ale také pomalá rychlost snímání (měření jednoho obrazu trvá z pravidla v řádu minut). Omezen je také vertikální rozsah měření, limitující maximální výšku vzorku na desítky mikrometrů. Další nevýhodou je blízkost hrotu a vzorku, při které může dojít k poškození vzorku, zachycení hrotu či jeho znečištění a v důsledku toho nepřesnému měření nebo úplné ztrátě kontaktu hrotu se vzorkem [27].

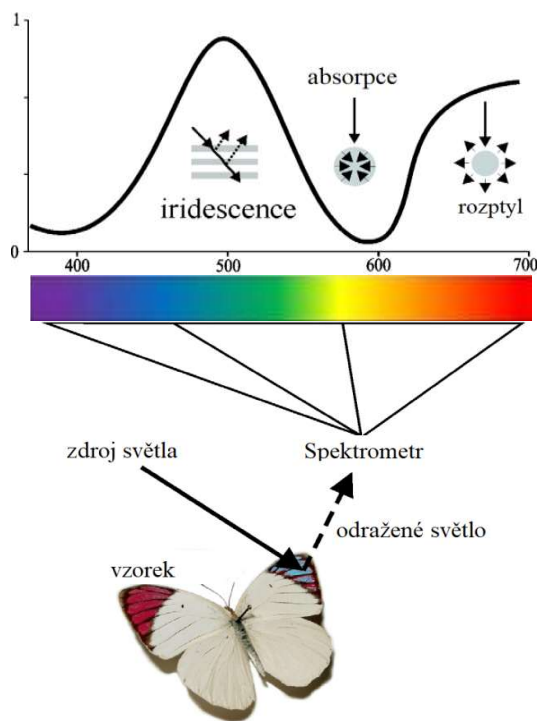


Obrázek 16: Ukázky změřených vzorků pomocí AFM [27].

6. SPEKTROFOTOMETR

Spektrofotometrie je kvantitativní měření interakce ultrafialového (UV), viditelného a infračerveného (IR) záření s materiálem. Povaha této interakce závisí na fyzikálních vlastnostech materiálu, jako je průhlednost, hrubost, čistota a tloušťka. Spektrofotometrická měření lze tedy použít k určení fyzikálních vlastností materiálu. Možnosti spektrofotometrických měření zahrnují spektrální reflektanci (odrazivost), propustnost, absorpci, rozptyl a fluorescenci. Tyto vlastnosti lze klasifikovat jako optické vlastnosti materiálu. Spektrofotometrická měření lze také použít ke zkoumání vnitřní fyzikální povahy materiálu, jako je například index lomu [29].

Spektrofotometr je přístroj obsahující monochromatograf. Zařízení, které vyzařuje světelný paprsek v úzkém pásmu se zvolenou vlnovou délkou, a měří poměr intenzity tohoto paprsku při jeho dopadu a po odrazu od vzorku (viz obr. 17) [30].

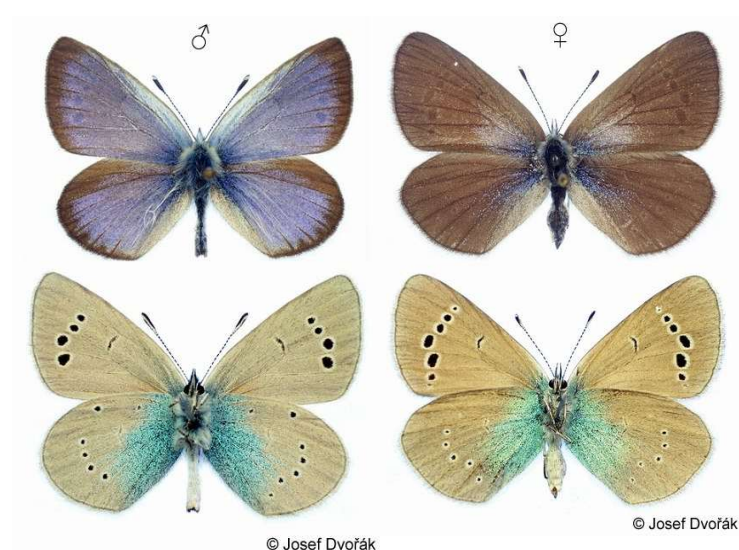


Obrázek 17 : Interpretace měření spektrální reflektance pomocí spektrofotometru a tři fyzikálně-chemické jevy, které způsobují různorodost barev motýlích křídel. Jasné bílé světlo vyzařované zdrojem je zaměřeno na vzorek. Odražené světlo je zachyceno a vedeno do spektrometru, který ho rozdělí na různé vlnové délky. Vzniklý graf ukazuje relativní intenzitu jednotlivých vlnových délek. V případě motýla *Colotis regina* vícevrstvé struktury vytvářejí ostrý vrchol v grafu způsobený konstruktivní interferencí určitých vlnových délek (modrá), pigment obsažený ve strukturách absorbuje světlo v daném rozsahu vlnových délek (UV a žluto-zelená) a zbytek je rozptýlen neuspořádaně (oranžová-červená) [31].

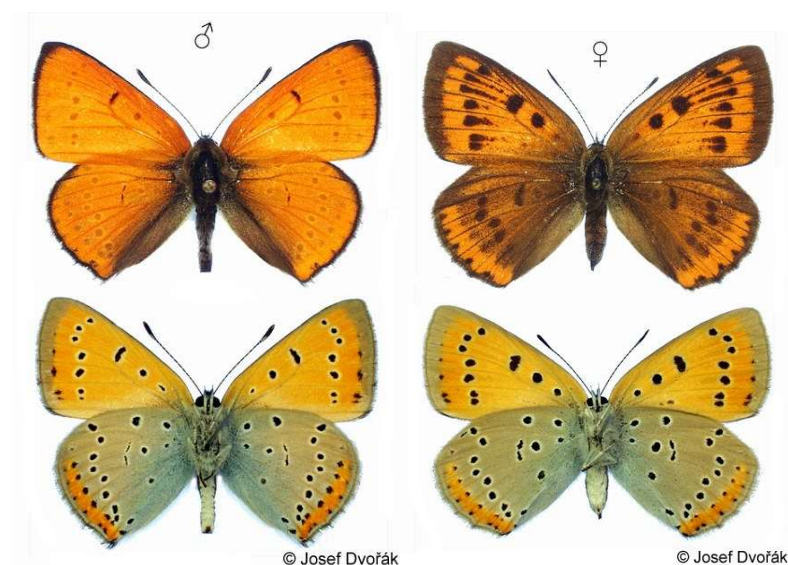
7. MATERIÁLY A METODY

7.1 Biologické materiály

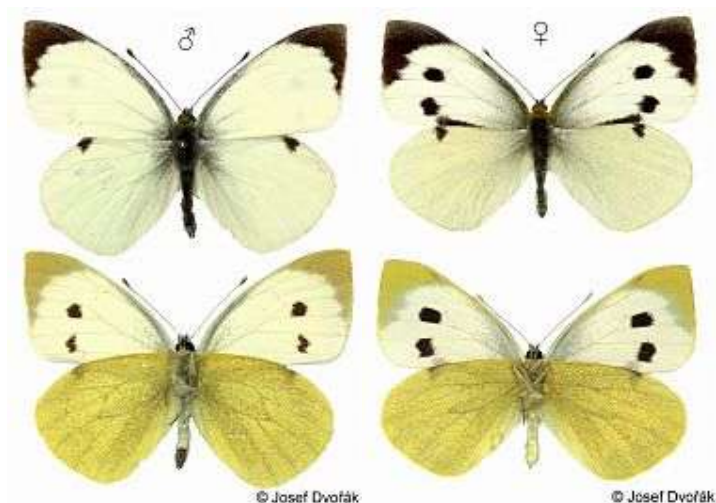
Mezi zkoumané vzorky patřila křídla motýlů modráška kozincového (viz obr. 18) a ohniváčka černočárného (viz obr. 19), oba z čeledi modráškovitých (Lycaenidae), a běláška zelného (viz obr. 20) z čeledi běláškovitých (Pieridae). Vzorky pro pozorování skenovacím elektronovým mikroskopem byly připraveny za pomoci naprašovacího zařízení, použitý materiál byl uhlík a vrstva měla tloušťku 20 nm. Snímána a měřena byla křídla těchto motýlů, konkrétně nanostruktury na jejich křídlech.



Obrázek 18: Modrásek kozincový lat. *Glaucopsyche alexis* [39].



Obrázek 19: Ohniváček černočárný lat. *Lycaena dispar* [39].



Obrázek 20: Bělásek zelný lat. *Pieris brassicae* [39].

7.2 Použité přístroje a software

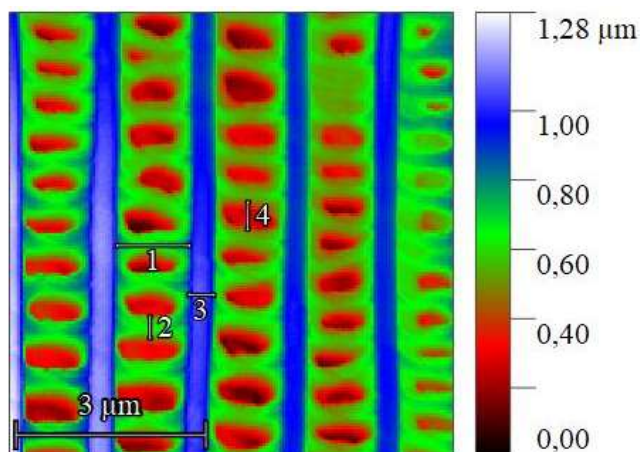
- Skenovací elektronový mikroskop TESCAN Lyra3, urychlovací napětí 2 kV.
- Mikroskop atomárních sil NTEGRA Prima, semikontaktní režim, křemíkové semikontaktní sondy NSG10, poloměr zakřivení hrotu 10 nm, rychlost skenování 7 $\mu\text{m/s}$.
- Naprašovací přístroj Leica EM ACE600, použitý materiál uhlík, nanesená vrstva o tloušťce 20 nm.
- Optický tříkanálový spektrometr Ocean Insight JAZ se stabilizovaným deuteriovým zdrojem světla, spektrální rozsah 200 – 1000 nm. Spektra byla akumulována pro snížení šumu.
- Software Gwyddion pro analýzu snímků AFM a měření parametrů struktur. Vytváření grafů ze snímků AFM a výsledků spektrofotometrie.

8. VÝSLEDKY MĚŘENÍ

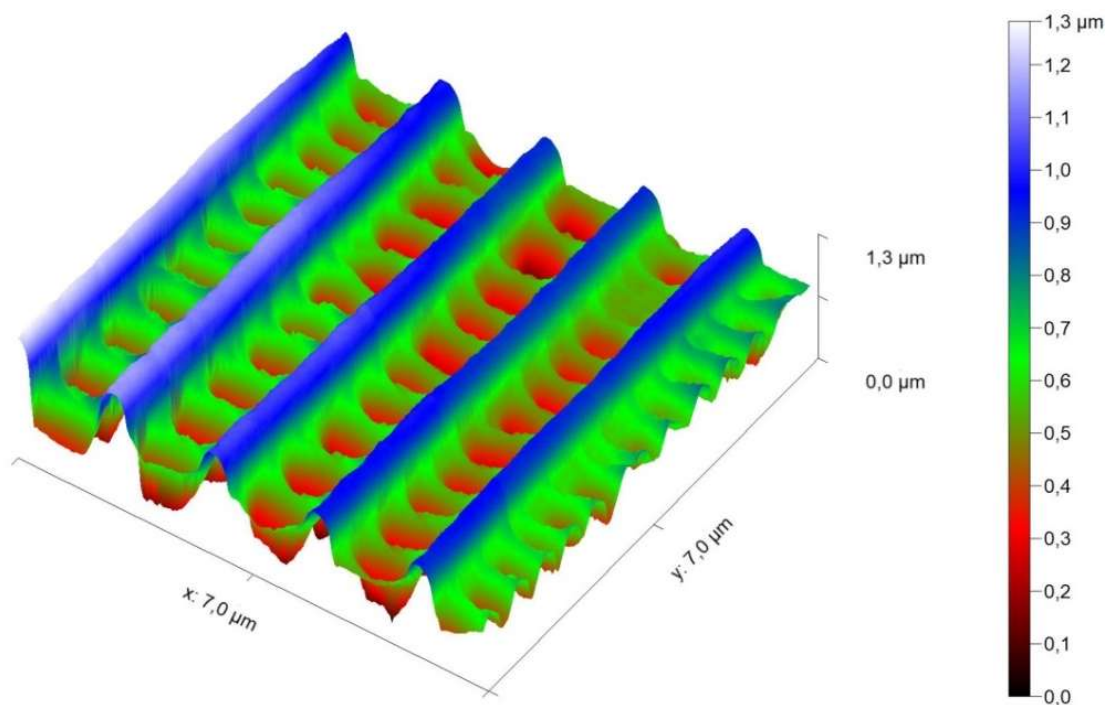
8.1 Měření mikroskopem atomárních sil (AFM)

Cílem pozorování bylo ověření, zda se na křídlech zkoumaných motýlů nacházejí fotonické krystaly a porovnání nanostruktur křídel motýlů.

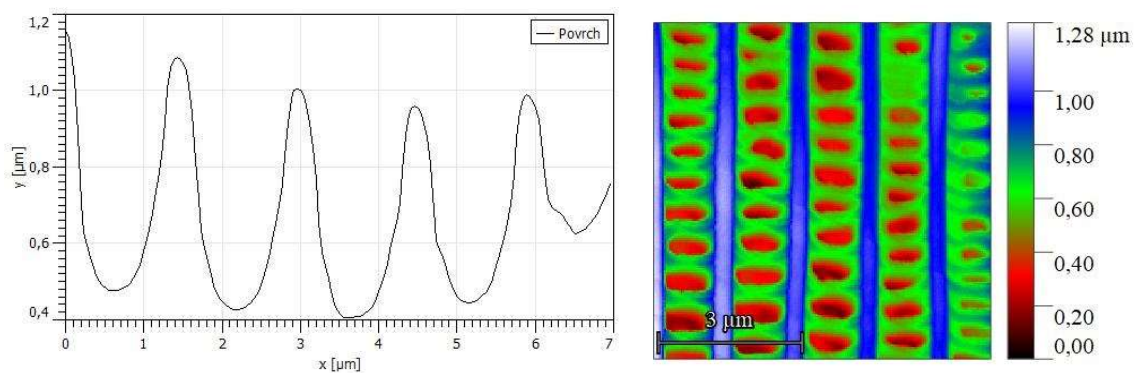
Jako první byl zkoumán modrásek kozincový, za pomoci mikroskopu atomárních sil (AFM). Na obrázku 21 jsou vyznačeny tři úseky čísly 1 – 4. Úsek 1 reprezentuje vzdálenost $1,167\text{ }\mu\text{m}$ mezi jednotlivými hřebeny, úsek 2 šířku $0,317\text{ }\mu\text{m}$ jednoho žebra, úsek 3 šířku $0,357\text{ }\mu\text{m}$ jednoho hřebene a úsek 4 vzdálenost $0,335\text{ }\mu\text{m}$ mezi žebry. Průměrná vzdálenost z 10 měření mezi hřebeny je $1,070\text{ }\mu\text{m}$, průměrná šířka jednoho hřebene $0,309\text{ }\mu\text{m}$, průměrná vzdálenost mezi žebry $0,382\text{ }\mu\text{m}$ a šířka žeber $0,314\text{ }\mu\text{m}$.



Obrázek 21: Detail čtverce o straně $7\text{ }\mu\text{m}$ z povrchu křídla modráška kozincového pozorovaný na mikroskopu atomárních sil.



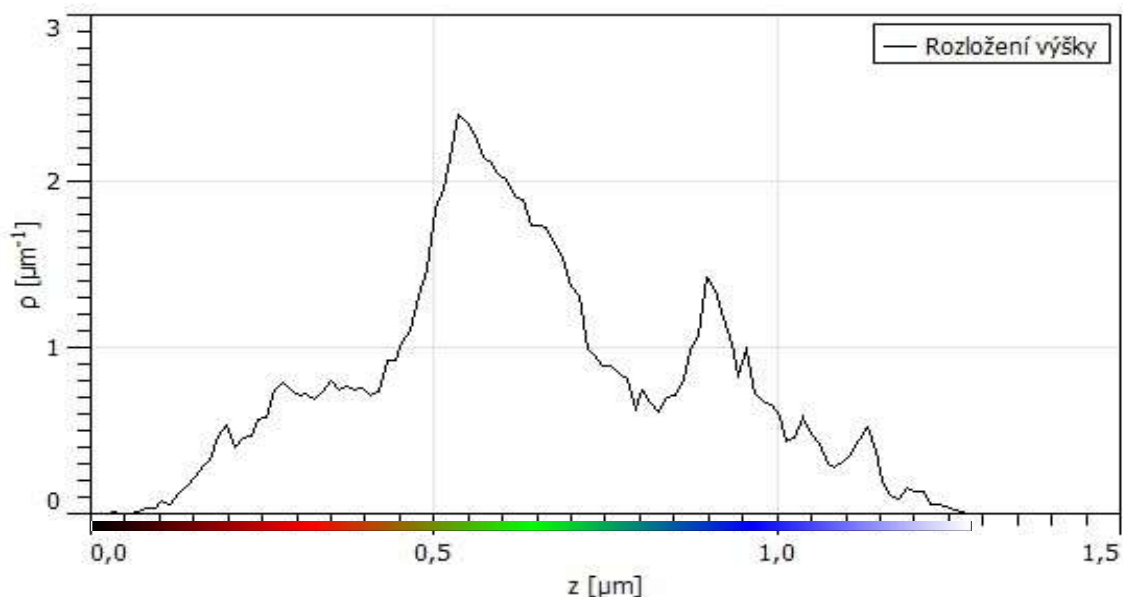
Obrázek 22: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 21.



Obrázek 23: Graf povrchu snímku modrásky kozincového

Z barevných škál na obrázcích a grafu na obrázku 23 vyplývá, že mezi nejnižším bodem a nejvyšším je vzdálenost 1,28 μm .

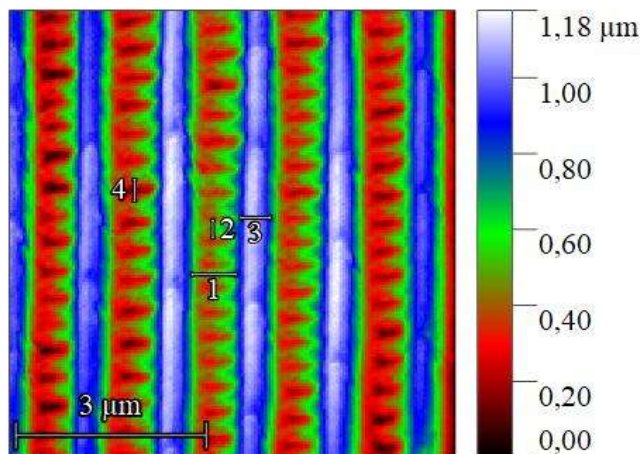
V grafu na obrázku 23 můžeme také pozorovat, jak vypadá povrch nanostruktur na křídle modrásky kozincového, ale účelem grafu je spíše ukázka výškových rozdílů mezi hřebeny a žebry na povrchu křídla.



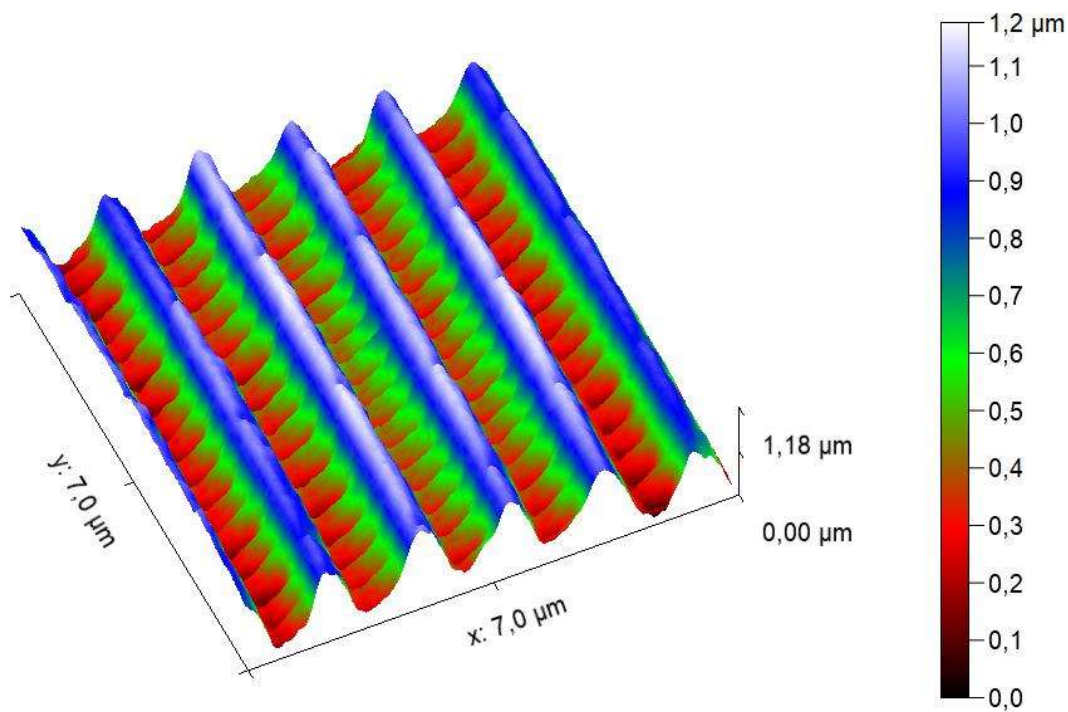
Obrázek 24: Graf rozložení výšek povrchu křídla ze snímku modrásky kozincového doplněný barevnou škálou.

Graf na obrázku 24 zobrazuje rozložení výšky struktury povrchu křídla. V grafu můžeme vidět, že $0,54 \mu\text{m}$ a $0,9 \mu\text{m}$ jsou vybraná maxima křivky, reprezentující nejvýše zastoupenou výšku (modrá a zelená). Z rozdílu mezi těmito výškami společně s grafem povrchu vyplývá, že hřebeny a žebra jsou od sebe výškově vzdáleny $\approx 0,36 \mu\text{m}$.

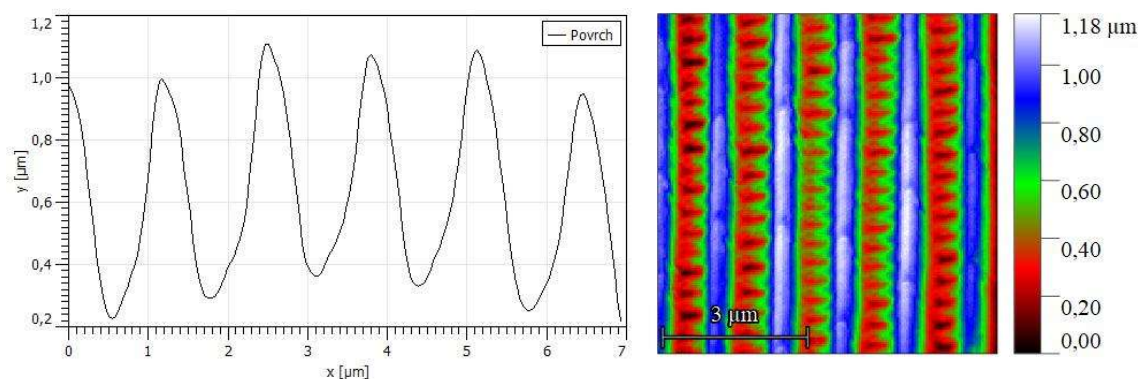
Pro porovnání byl pozorován pomocí AFM i ohniváček černočárný. Na obrázku 25 jsou vyznačeny tři úseky čísla 1 – 4. Úsek 1 reprezentuje vzdálenost $0,690 \mu\text{m}$ mezi jednotlivými hřebeny, úsek 2 šířku $0,258 \mu\text{m}$ jednoho žebra, úsek 3 šířku $0,453 \mu\text{m}$ jednoho hřebene a úsek 4 vzdálenost $0,335 \mu\text{m}$ žeber. Průměrná vzdálenost z 10 měření mezi hřebeny je $0,837 \mu\text{m}$, průměrná šířka jednoho hřebene $0,402 \mu\text{m}$, průměrná vzdálenost žeber $0,289 \mu\text{m}$ a průměrná šířka žeber $0,213 \mu\text{m}$.



Obrázek 25: Detail čtverce o straně 7 μm z povrchu křídla ohniváčka černočárného pozorovaný na mikroskopu atomárních sil.

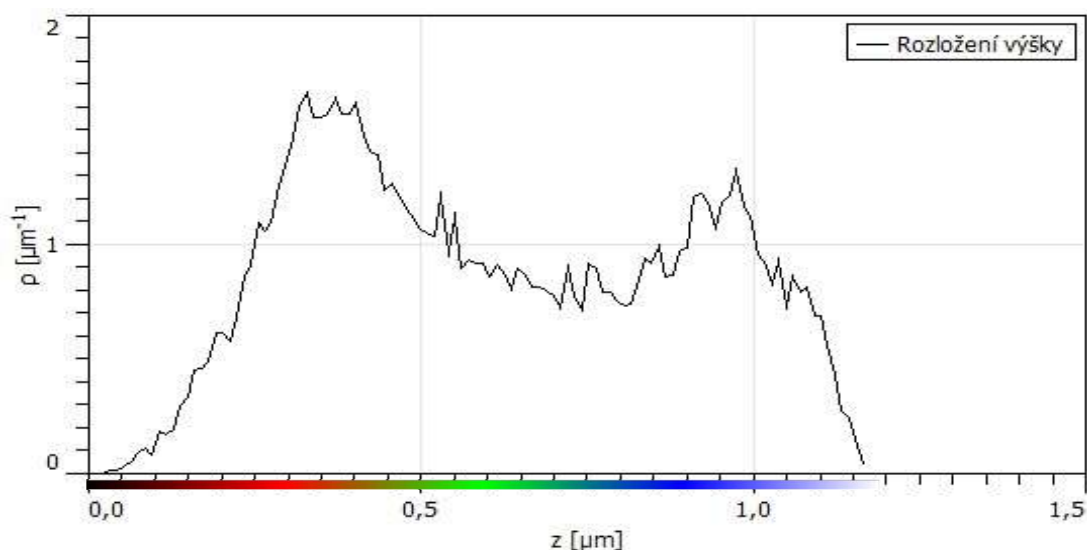


Obrázek 26: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 25.



Obrázek 27: Graf povrchu ohniváčka černočárného.

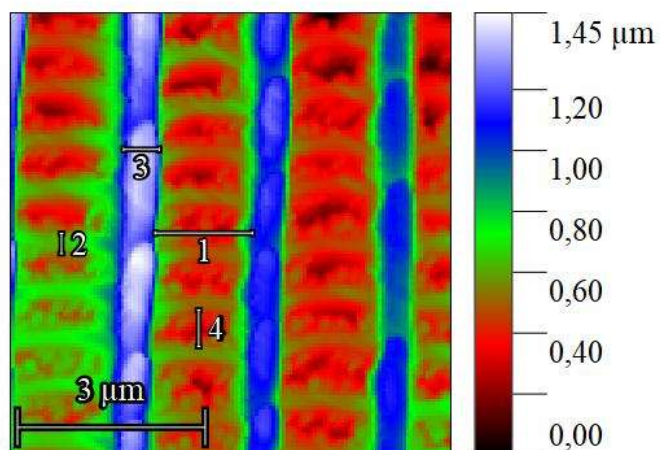
V grafu na obrázku 27 můžeme pozorovat, jak vypadá povrch nanostruktur na křídle ohniváčka černočárného.



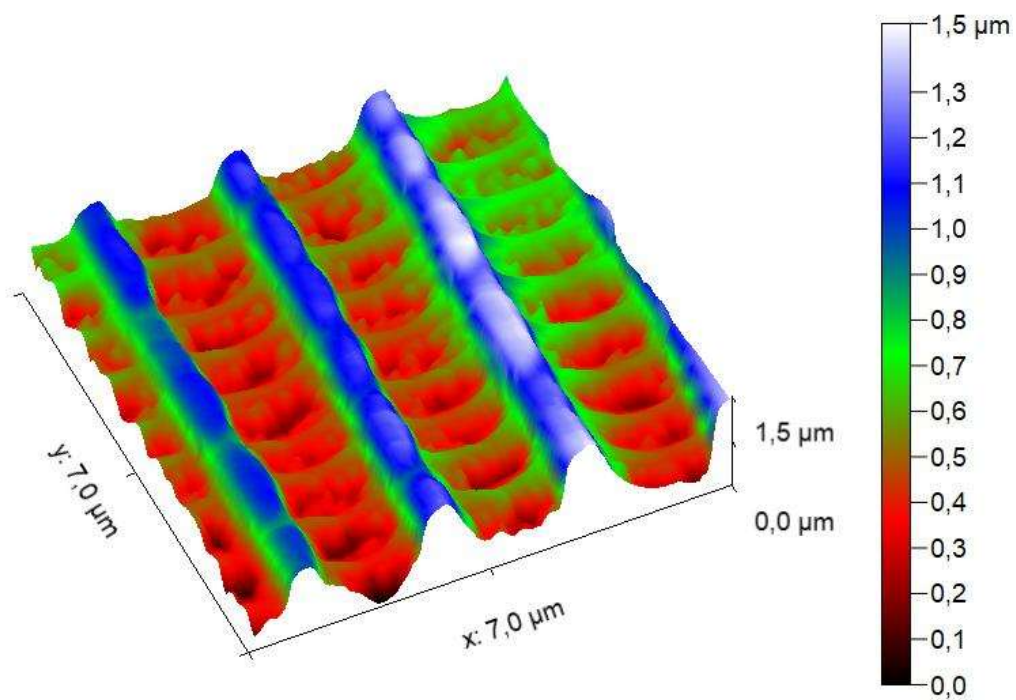
Obrázek 28: Graf rozložení výšek povrchu křídla ze snímku ohniváčka černočárného.

Graf na obrázku 28 zobrazuje rozložení výšky struktury povrchu křídla. V grafu můžeme vidět, že $0,33 \mu\text{m}$, $0,53 \mu\text{m}$ a $97 \mu\text{m}$ jsou nejvíce zastoupené výšky. Ve srovnání s modráskem kozincovým v grafu převažují prohlubně ilustrované červenou barvou nad zelenou barvou představující výšku žebrovaní. Z grafu vyplývá, že hřebeny a prohlubně jsou od sebe výškově vzdáleny $\approx 0,54 \mu\text{m}$ a žebra jsou od hřebenů výškově vzdáleny $\approx 0,34 \mu\text{m}$.

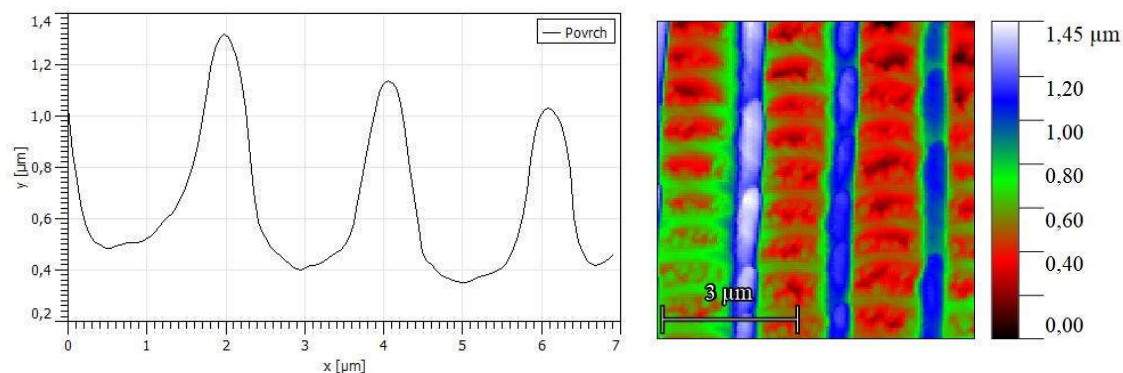
Dalším pomocí AFM pozorovaným motýlem byl bělásek zelný. Na obrázku 29 jsou vyznačeny čtyři úseky čísla 1 – 4. Úsek 1 reprezentuje vzdálenost $1,557 \mu\text{m}$ mezi jednotlivými hřebeny, úsek 2 šířku $0,321 \mu\text{m}$ jednoho žebra, úsek 3 šířku $0,572 \mu\text{m}$ jednoho hřebene a úsek 4 vzdálenost $0,579 \mu\text{m}$ žeber. Průměrná vzdálenost z 10 měření mezi hřebeny je $1,558 \mu\text{m}$, průměrná šířka jednoho hřebene $0,507 \mu\text{m}$, průměrná vzdálenost žeber $0,644 \mu\text{m}$ a průměrná šířka žeber $0,223 \mu\text{m}$.



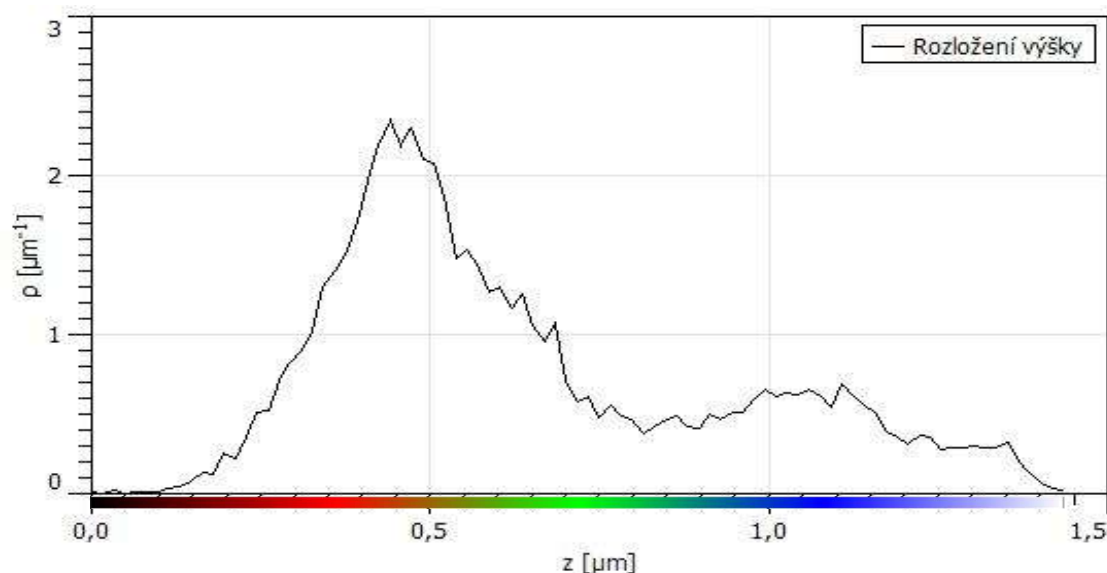
Obrázek 29: Detail čtverce o straně 7 μm z povrchu křídla bělásky zelného pozorovaný na mikroskopu atomárních sil.



Obrázek 30: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 29.

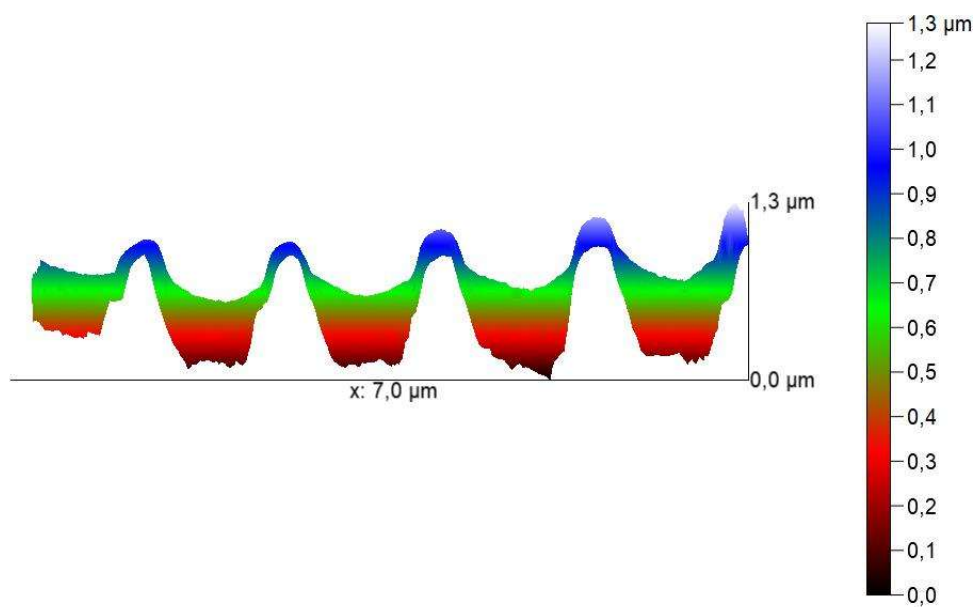


Obrázek 31: Graf povrchu snímku běláška zelného.

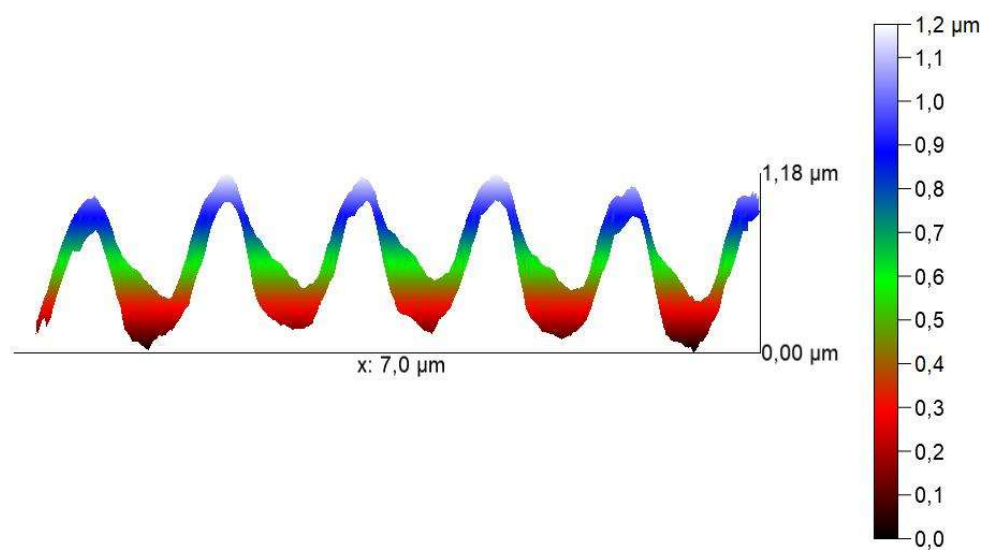


Obrázek 32: Graf rozložení výšek povrchu křídla ze snímku běláška zelného.

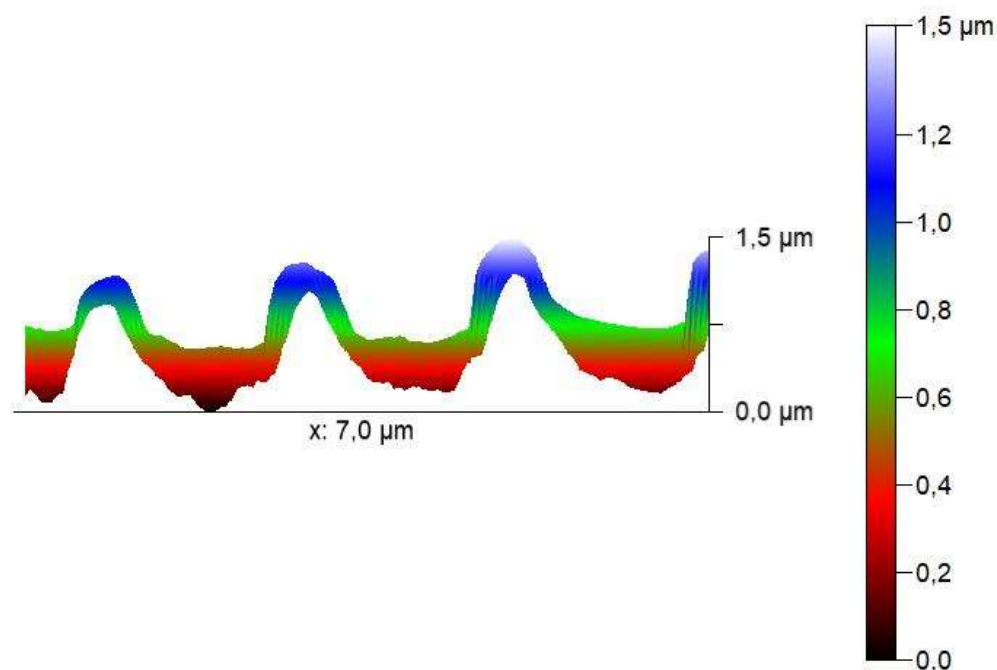
Graf na obrázku 32 zobrazuje rozložení výšky struktury povrchu křídla. V grafu můžeme vidět, že $0,45 \mu\text{m}$, $0,68 \mu\text{m}$ a $1,10 \mu\text{m}$ jsou nejvíce zastoupené výšky. Ve srovnání s motýly z čeledi modráskovitých v grafu převažují prohlubně ilustrované červenou barvou nad zelenou a modrou barvou představující výšku žebrování a hřebenů. Další odlišností je rovnoměrnější rozložení výšek, křivka má jen jeden výrazný vrchol. Z grafu vyplývá, že hřebeny a prohlubně jsou od sebe výškově vzdáleny $\approx 0,65 \mu\text{m}$ a žebra jsou od hřebenů výškově vzdáleny $\approx 0,45 \mu\text{m}$.



Obrázek 33: 3D ilustrace povrchu modráska kozincového na obrázku 20 v příčném průřezu.



Obrázek 34: 3D ilustrace povrchu ohniváčka černočárného na obrázku 24 v příčném průřezu.

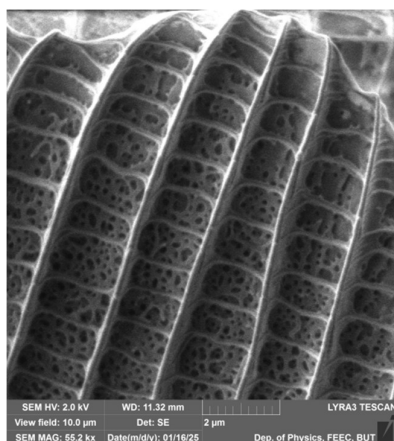


Obrázek 35: 3D ilustrace povrchu běláška zelného na obrázku v příčném průřezu.

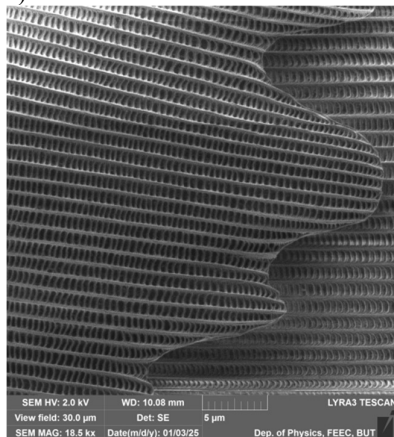
Obrázky 33, 34 a 35 slouží jako substitute průřezu křídly pozorovaných motýlů podobně jako grafy povrchu. Na první pohled vypadají křídla motýlů velmi podobně, ale při bližším pozorování můžeme vidět, že příčný průřez křídla modráška kozincového vypadá jako písmeno U, protože jeho hřebeny jsou více zakulacené a prohlubně širší než struktury na křídlech ohniváčka, ty replikují spíše tvar písmena V. U běláška zelného můžeme pozorovat struktury také připomínající písmeno U, ale širší než u modráška kozincového.

8.2 Měření skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM)

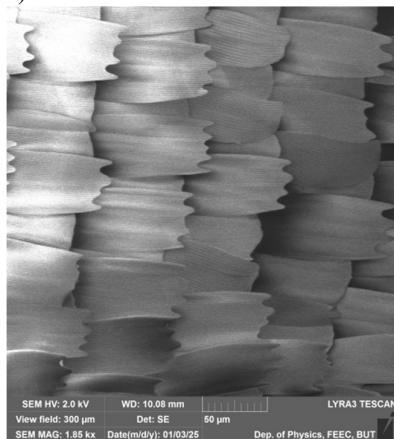
Modrásek kozincový byl pozorován také skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM). Všechny pozorované vzorky byly pouhličeny z důvodů nabíjení. Jelikož se nejedná o vodivý materiál, byl pozorován s nastavenou nízkou velikostí urychlovacího napětí 2 kV. Výsledné snímky s velikostí plochy oblasti: 10, 20, 30, 50, 300 a 500 μm (viz obr. 36).



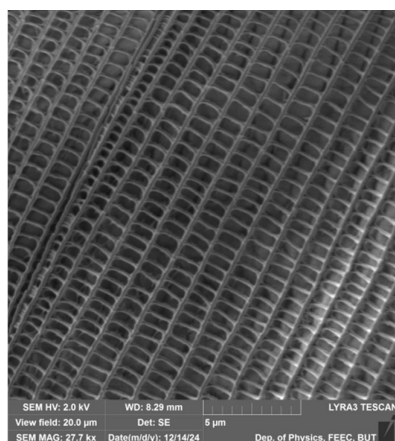
a)



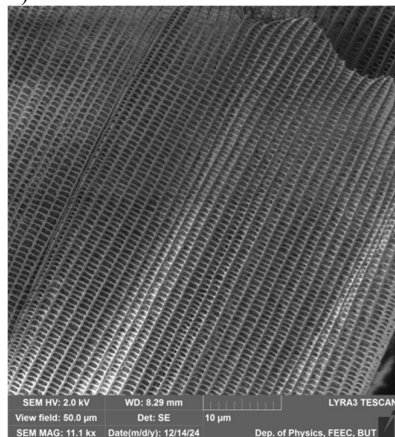
c)



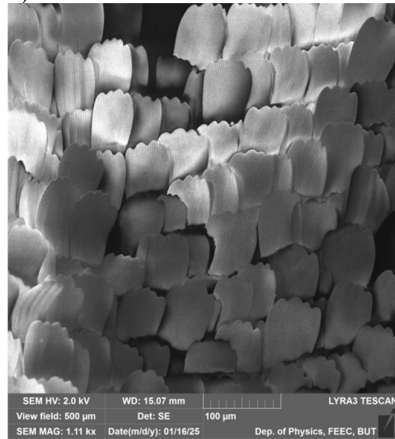
e)



b)



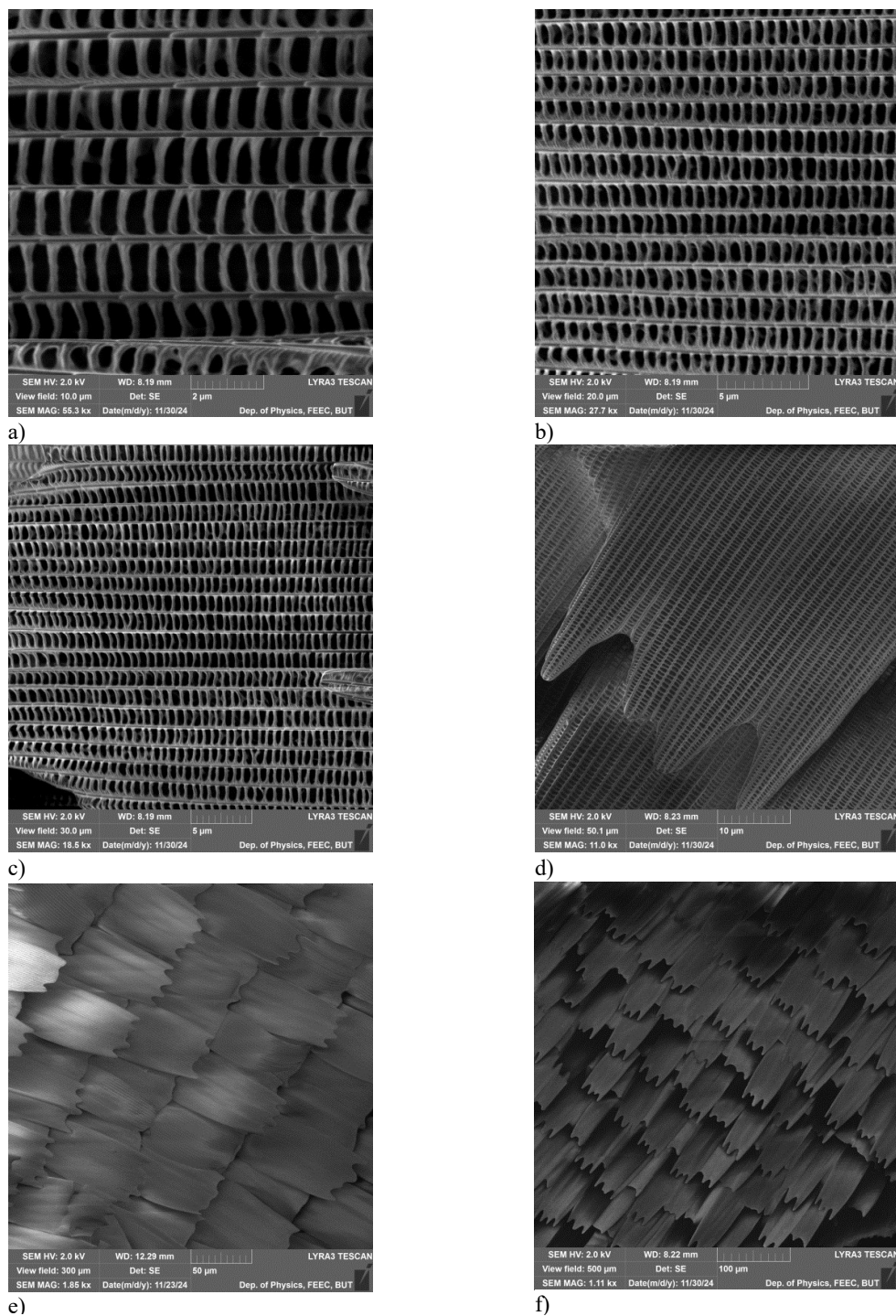
d)



f)

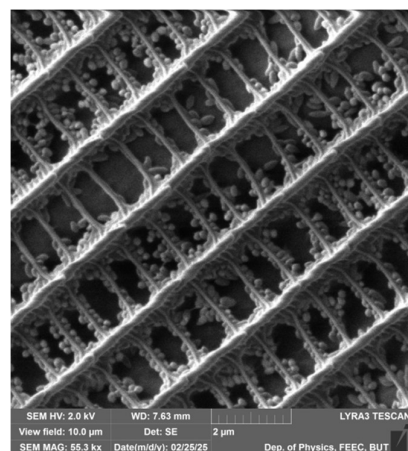
Obrázek 36: Detaily křídla modráška kozincového s velikostí plochy oblasti snímku: a) 10 μm , b) 20 μm , c) 30 μm , d) 50 μm e) 300 μm , f) 500 μm

Skenovacím elektronovým mikroskopem byl také pozorován ohniváček černočárný, se stejným urychlovacím napětím. Výsledné snímky s velikostí plochy oblasti: 10, 20, 30, 50, 300 a 500 μm (viz obr. 37).

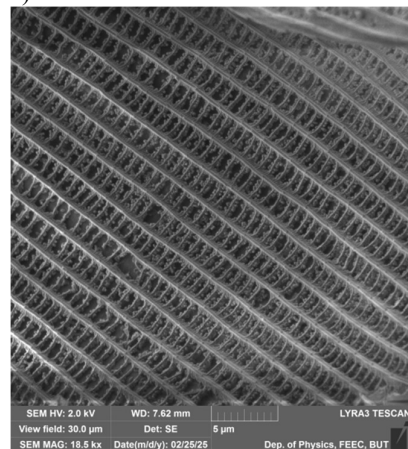


Obrázek 37: Detaily křídla ohniváčka černočárního s velikostí plochy oblasti snímku: a) 10 μm , b) 20 μm , c) 30 μm , d) 50 μm e) 300 μm , f) 500 μm

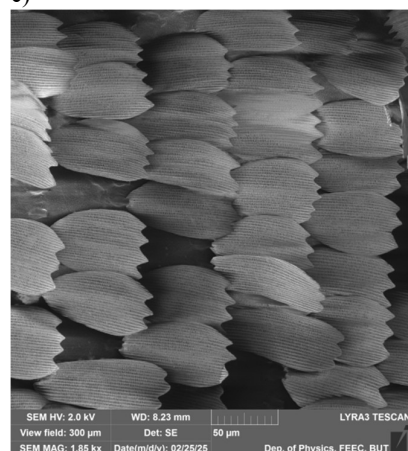
Pro porovnání mezi motýly se strukturálním a pigmentovým zbarvením byl pozorován bělásek zelný, jehož zbarvení vzniká díky pigmentovým zrnům, dobře viditelným na snímcích. Pozorován byl se stejným urychlovacím napětím. Výsledné snímky s velikostí plochy oblasti: 10, 20, 30, 50, 300 a 500 μm (viz obr. 38).



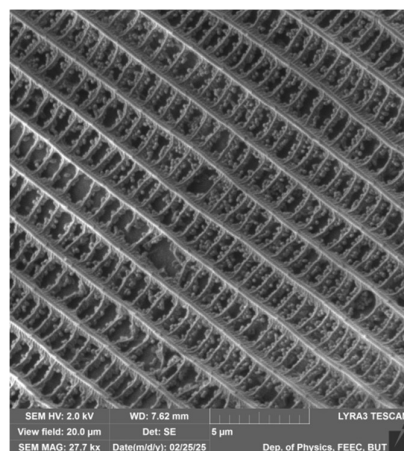
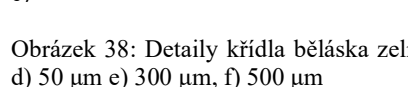
a)



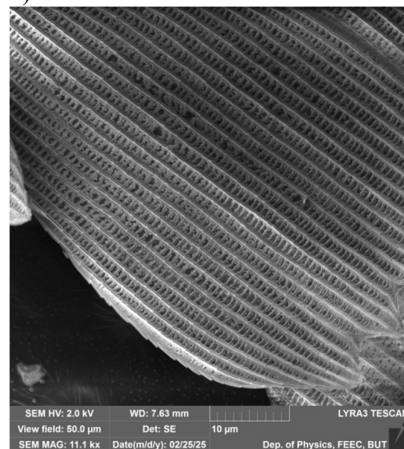
b)



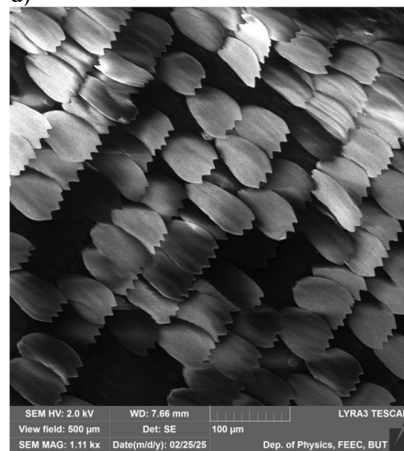
c)



d)



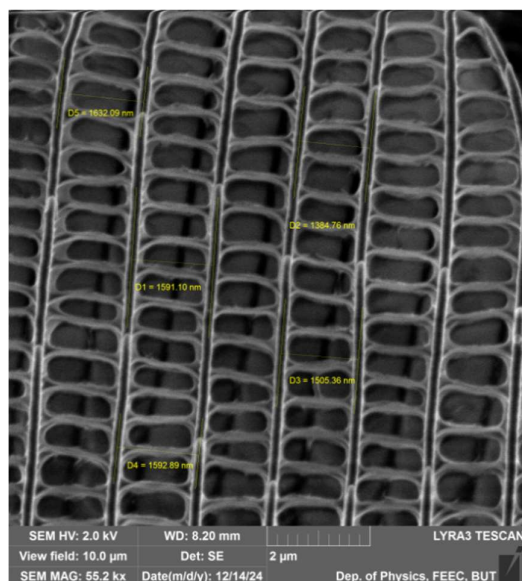
e)



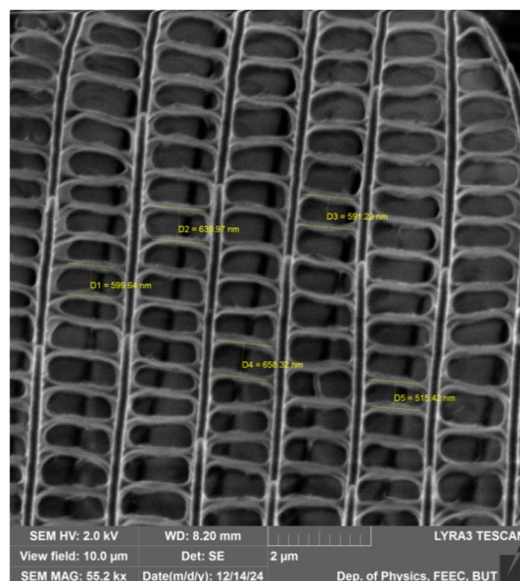
f)

Obrázek 38: Detaily křídla běláška zelného s velikostí plochy oblasti snímku: a) 10 μm , b) 20 μm , c) 30 μm , d) 50 μm e) 300 μm , f) 500 μm

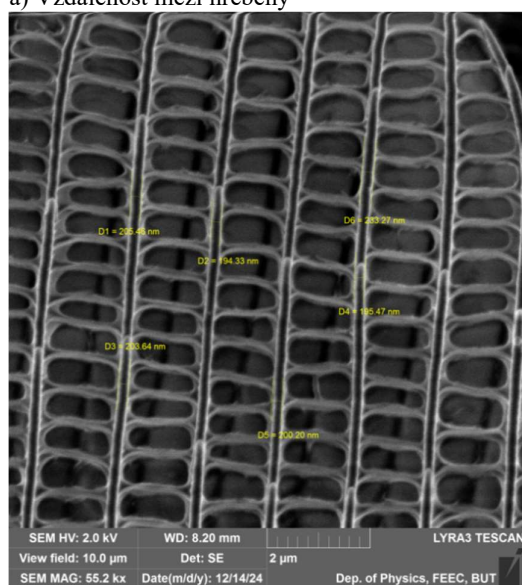
Měření struktur byla provedena na snímku modráška kozincového o velikosti $10 \times 10 \mu\text{m}$ z elektronového mikroskopu SEM. Vzdálenost mezi jednotlivými hřebeny a žebry byla měřena 5krát a šířka hřebenů a žebry 6 krát. (viz obr. 39 a-d). Průměrná vzdálenost mezi jednotlivými žebry byla $0,60 \mu\text{m}$ a šířka jednoho žebra $0,18 \mu\text{m}$. Průměrná vzdálenost mezi hřebeny byla rovná $1,54 \mu\text{m}$ a jejich šířka $0,21 \mu\text{m}$.



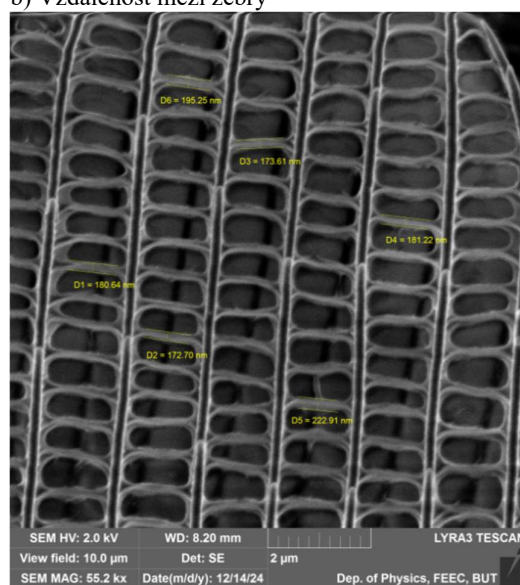
a) Vzdálenost mezi hřebeny



b) Vzdálenost mezi žebry



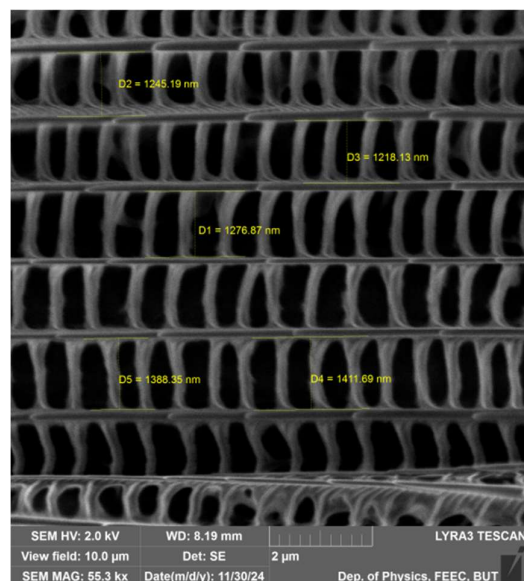
c) Šířka hřebenů



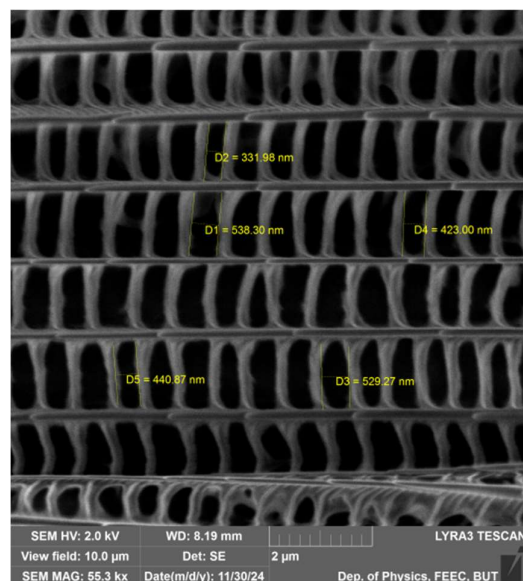
d) Šířka žebry

Obrázek 39: Měřené úseky na křídlech modráška kozincového a-d

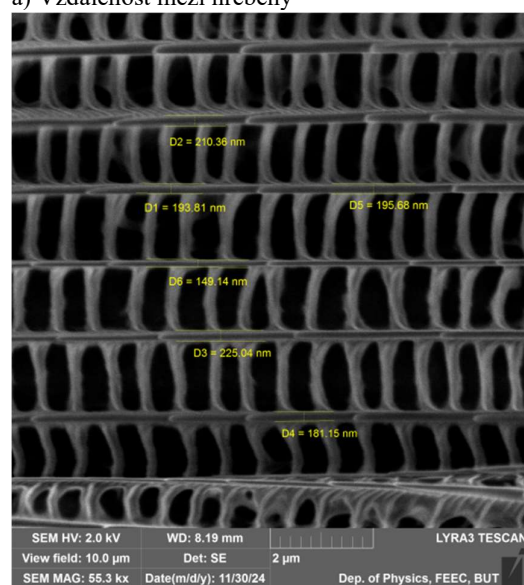
Měření byla dále provedena i na snímku ohniváčka černočárného o velikosti $10 \times 10 \mu\text{m}$ z elektronového mikroskopu SEM. Vzdálenost mezi jednotlivými hřebeny a žebry byla měřena 5krát a šířka hřebenů a žebry 6 krát. (viz obr. 40 a-d). Průměrná vzdálenost mezi jednotlivými žebry byla $0,45 \mu\text{m}$ a šířka jednoho žebra $0,25 \mu\text{m}$. Průměrná vzdálenost mezi hřebeny byla rovná $1,31 \mu\text{m}$ a jejich šířka $0,19 \mu\text{m}$.



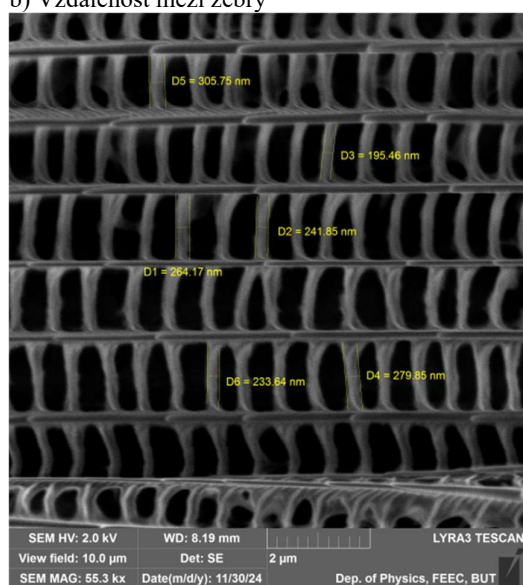
a) Vzdálenost mezi hřebeny



b) Vzdálenost mezi žebry



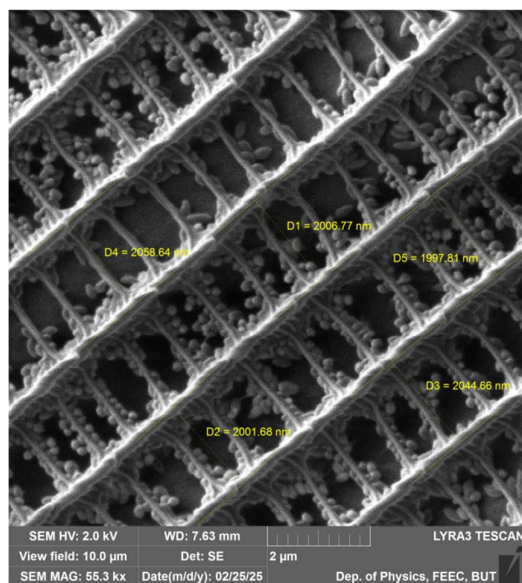
c) Šířka hřebenů



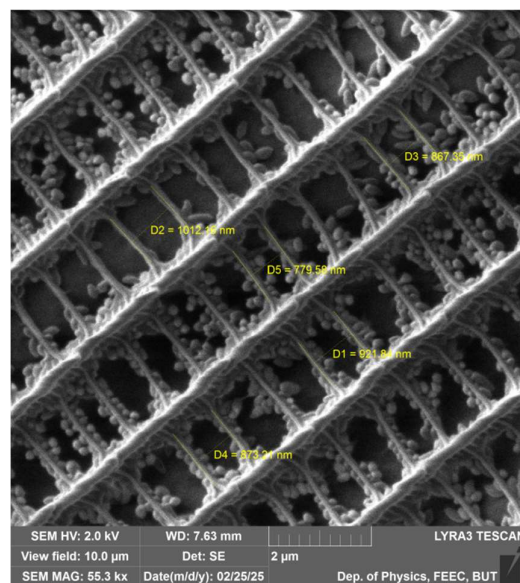
d) Šířka žebry

Obrázek 40: Měřené úseky na křídlech ohniváčka černočárného a-d

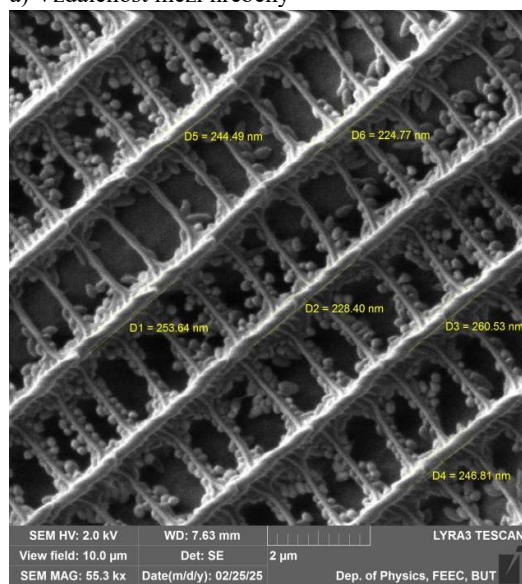
Nakonec bylo provedeno měření na snímku běláška zelného o velikosti $10 \times 10 \mu\text{m}$ z elektronového mikroskopu SEM. Vzdálenost mezi jednotlivými hřebeny a žebry byla měřena 5krát a šířka hřebenů a žebor 6 krát. (viz obr. 41 a-d). Průměrná vzdálenost mezi jednotlivými žebry byla $0,89 \mu\text{m}$ a šířka jednoho žebra $0,13 \mu\text{m}$. Průměrná vzdálenost mezi hřebeny byla rovná $2,02 \mu\text{m}$ a jejich šířka $0,24 \mu\text{m}$.



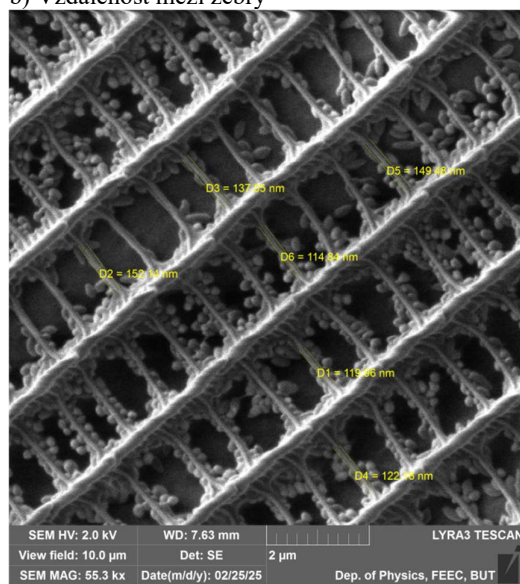
a) Vzdálenost mezi hřebeny



b) Vzdálenost mezi žebry



c) Šířka hřebenů



d) Šířka žebor

Obrázek 41: Měřené úseky na křídlech běláška zelného a-d

Porovnání výsledných hodnot a měření mezi motýly z čeledi modráskovitých.

Pozorování motýli	Modrásek kozincový	Ohniváček černočárný	Rozdíl hodnot
Vzdálenost mezi hřebeny (SEM)	1,541 μm	1,308 μm	0,233 μm
Vzdálenost mezi hřebeny (AFM)	1,070 μm	0,837 μm	0,233 μm
Vzdálenost mezi žebry (SEM)	0,592 μm	0,453 μm	0,139 μm
Vzdálenost mezi žebry (AFM)	0,382 μm	0,289 μm	0,093 μm
Šířka hřebene (SEM)	0,206 μm	0,193 μm	0,013 μm
Šířka hřebene (AFM)	0,309 μm	0,402 μm	0,093 μm
Šířka žebra (SEM)	0,181 μm	0,253 μm	0,072 μm
Šířka žebra (AFM)	0,314 μm	0,251 μm	0,063 μm

Tabulka 1: Průměrné hodnoty šířek a vzdáleností hřebenů a žeber ze snímků modráseků z obou mikroskopů (AFM a SEM) a rozdíly mezi nimi.

Vzdálenost mezi hřebeny na snímcích pořízených oběma mikroskopy (SEM a AFM) u modráska kozincového je o 0,223 μm větší než u ohniváčka černočárného. I když se výsledné hodnoty mezi jednotlivými mikroskopy liší, jejich rozdíl zůstává podobný. Vzdálenost mezi žebry je u modráska kozincového také větší než u ohniváčka černočárného, pro SEM činí rozdíl 0,139 μm a pro AFM 0,093 μm . Šířka hřebenů je na snímcích z mikroskopu SEM

u obou motýlů téměř shodná, s rozdílem pouze 0,013 μm , zatímco u mikroskopu AFM je rozdíl o něco větší, kdy šířka hřebenů u modráška kozincového převyšuje šířku hřebenů u ohniváčka černočárného o 0,093 μm . V šířce žebor se mikroskopy rozcházejí: pro SEM je šířka žebor u ohniváčka černočárného o 0,072 μm větší než u modráška kozincového, zatímco pro AFM je šířka žebor modráška kozincového větší o 0,063 μm než u ohniváčka černočárného.

Porovnání výsledných hodnot a motýlů z čeledi modráskovitých s běláskem zelným

Pozorování motýli	Modrásek kozincový	Bělásek zelný	Rozdíl hodnot	Ohniváček černočárný	Bělásek zelný	Rozdíl hodnot
Vzdálenost mezi hřebeny (SEM)	1,541 μm	2,022 μm	0,481 μm	1,308 μm	2,022 μm	0,714 μm
Vzdálenost mezi hřebeny (AFM)	1,070 μm	1,588 μm	0,518 μm	0,837 μm	1,588 μm	0,751 μm
Vzdálenost mezi žebry (SEM)	0,592 μm	0,892 μm	0,300 μm	0,453 μm	0,892 μm	0,439 μm
Vzdálenost mezi žebry (AFM)	0,382 μm	0,644 μm	0,262 μm	0,289 μm	0,644 μm	0,355 μm
Šířka hřebene (SEM)	0,206 μm	0,243 μm	0,037 μm	0,193 μm	0,243 μm	0,050 μm
Šířka hřebene (AFM)	0,309 μm	0,507 μm	0,198 μm	0,402 μm	0,507 μm	0,105 μm
Šířka žebra (SEM)	0,181 μm	0,133 μm	0,048 μm	0,253 μm	0,133 μm	0,120 μm
Šířka žebra (AFM)	0,314 μm	0,223 μm	0,091 μm	0,251 μm	0,223 μm	0,028 μm

Tabulka 2 : Průměrné hodnoty šířek a vzdáleností hřebenů a žebor ze snímků modrášků a běláška zelného z obou mikroskopů (AFM a SEM) a rozdíly hodnot.

Vzdálenost mezi hřebeny a žebry na snímcích pořízených oběma mikroskopy (SEM a AFM) byla u obou motýlů z čeledi modráskovitých výrazně menší než u běláška zelného. Šířky žebry a hřebenů jsou u motýlů z čeledi modráskovitých téměř stejné jako u běláška zelného. Výsledné hodnoty se mezi jednotlivými mikroskopy liší, jejich rozdíl ale zůstává podobný.

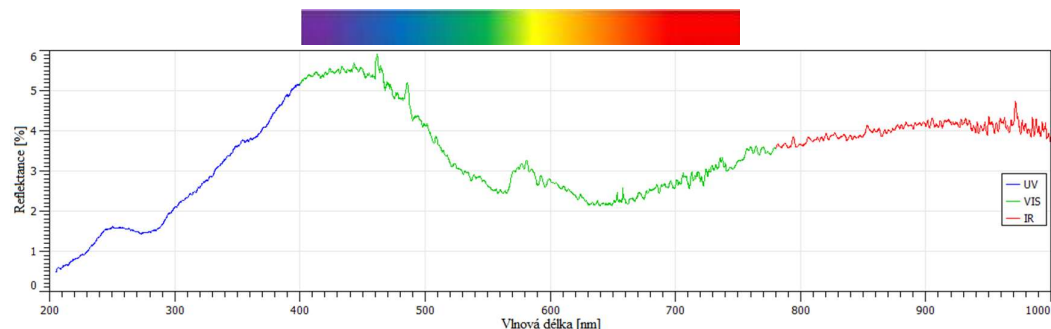
Rozdíl vzdálenosti hřebenů je u běláška větší než u motýlů z čeledi modráskovitých o 0,481 a 0,714 μm , pro AFM 0,518 a 0,751 μm . Šířka hřebenů je na snímcích z mikroskopu SEM menší u běláška, ale jen o velmi málo, rozdíl byl pouze 0,037 a 0,050 μm . U mikroskopu AFM je rozdíl šířek hřebenů o něco větší. Bělásek má větší šířku hřebenů o 0,198 a 0,105 μm .

Ve vzdálenosti a šířce žebry na snímcích z obou mikroskopů se velikosti struktury příliš neliší, pro SEM je vzdálenost žebry u běláška větší o 0,300 a 0,439 μm a pro AFM je šířka žebry běláška větší o 0,262 a 0,355 μm než u motýlů z čeledi modráskovitých. Šířka žebry je u běláška menší na obou mikroskopech. Při srovnání s motýly z čeledi modráskovitých byly naměřeny na obou mikroskopech podobné hodnoty, u SEM: 0,048 a 0,120 μm a u AFM: 0,091 a 0,028 μm .

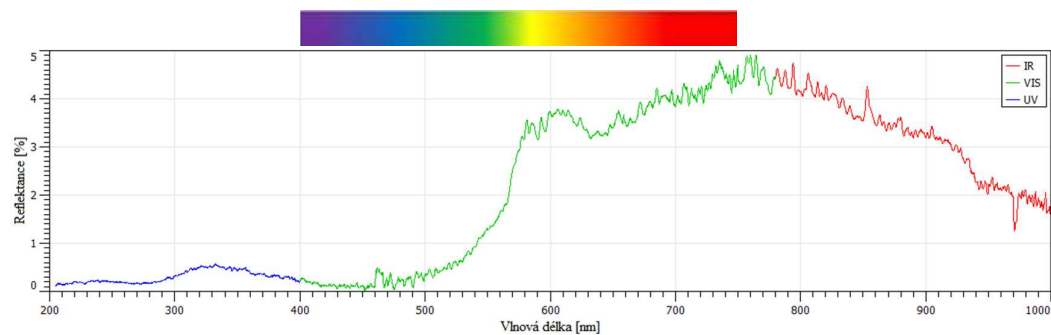
Hodnoty změřené za pomoci obou mikroskopů se mohou lišit z několika důvodů. Prvním důvodem je nemožnost pozorování identického vzorku na identickém místě vzhledem k rozdílné přípravě vzorků pro oba mikroskopy. Dalším důvodem je, že jednotlivé nanostruktury se periodicky opakují, ale nejsou zcela identické, proto bylo měření prováděno vícekrát a výsledky vycházejí z průměru těchto několika manuálně měřených úseků. Obzvláště menší vzdálenosti jako šířky žebry a hřebenů mohou být ovlivněny nepřesností měření a lišit se v řádech desetin mikrometru (např. při měření vzorku AFM o velikosti $7 \times 7 \mu\text{m}$ s rozlišením 180×180 pixelů odpovídá jeden pixel vzdálenosti 0,04 μm).

8.3 Měření reflektance pomocí spektrofotometrie

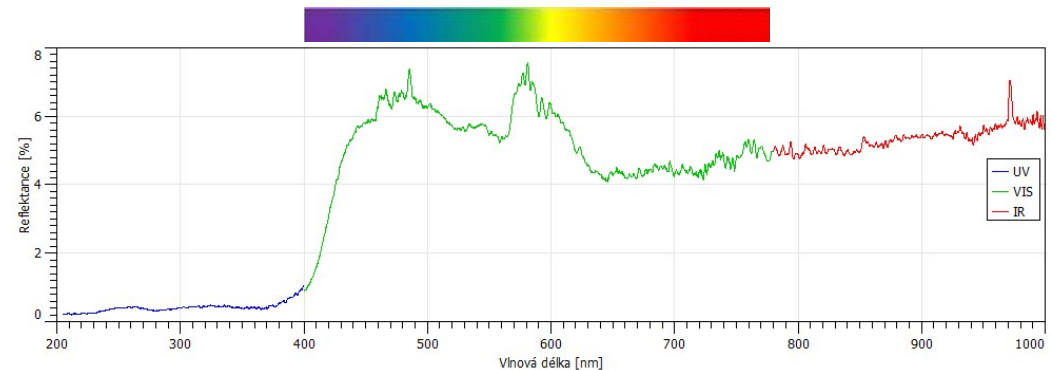
Měření reflektance povrchu křídel obou motýlů, bylo provedeno v kolmém úhlu k povrchu ve třech oblastech světla: UV v rozmezí vlnových délek 200 – 400 nm, VIS (viditelné světlo) v rozmezí 400 – 780 nm a IR v rozmezí 780 – 1000 nm. Naměřené hodnoty reflektance modráška kozincového (viz obr. 42), ohniváčka černočárného (viz obr. 43) a běláška zelného (viz obr. 44) jsou znázorněny na následujících třech grafech níže. Na závěr byly grafy propojeny za účelem porovnání (viz obr. 45).



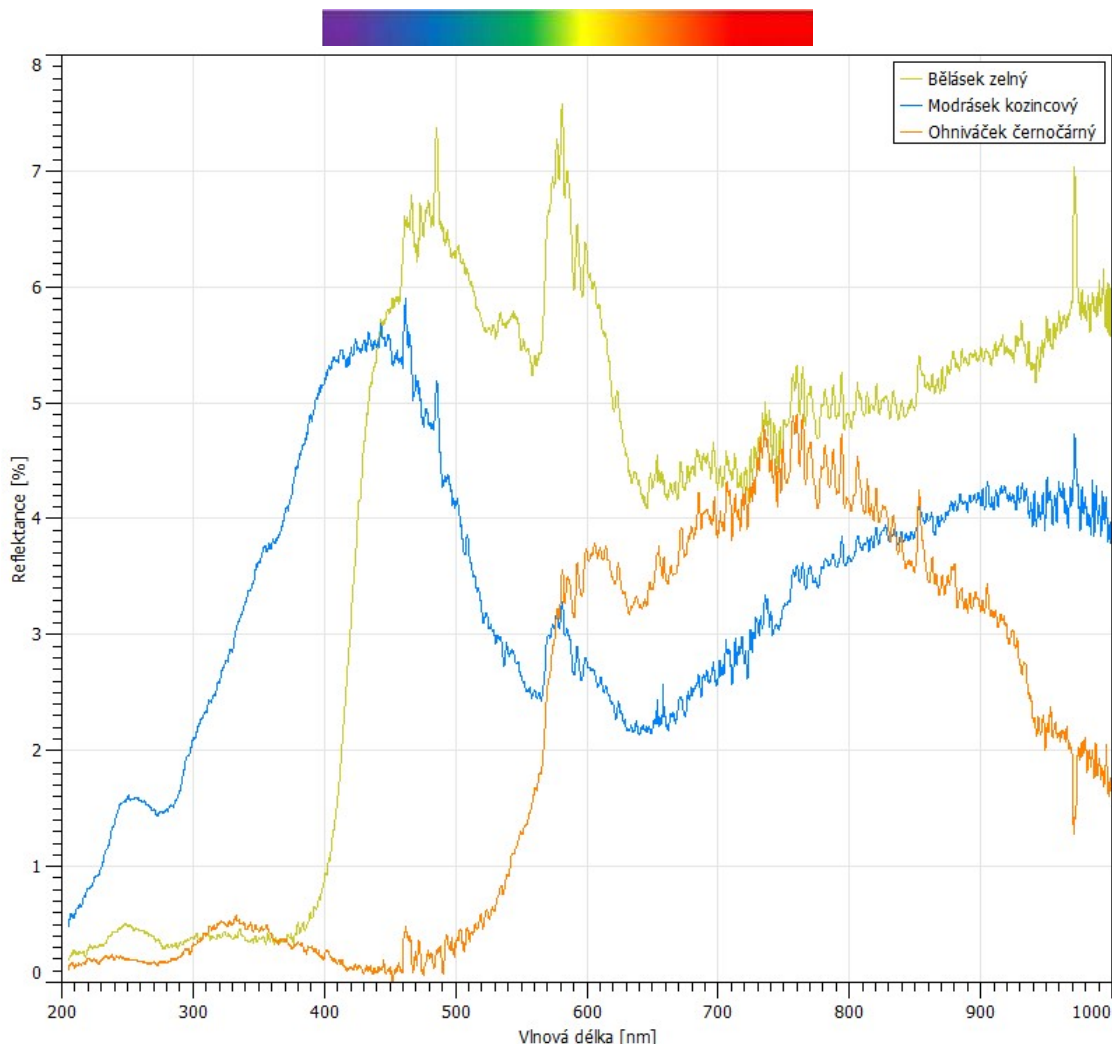
Obrázek 42: Graf intenzity reflektance v závislosti na vlnové délce modráška kozincového, pozorovaná z kolmého úhlu v rozmezí vlnových délek 200 – 1000 nm.



Obrázek 43: Graf intenzity reflektance v závislosti na vlnové délce ohniváčka černočárného, pozorovaná z kolmého úhlu v rozmezí vlnových délek 200 – 1000 nm.



Obrázek 44: Graf intenzity reflektance v závislosti na vlnové délce běláška zelného, pozorovaná z kolmého úhlu v rozmezí vlnových délek 200 – 1000 nm.



Obrázek 45: Porovnání grafů reflektancí modráška kozincového s ohniváčkem černočárným a běláskem zelným.

Z pozorování reflektance obou motýlů vyplývá, že u modráška kozincového se vyskytuje vysoká intenzita reflektance UV záření a viditelného světla vlnových délek v rozmezí 400 – 480 nm, což odpovídá fialové, modré, až zelené barvě. U ohniváčka černočárného se objevuje reflektance světla s jinou vlnovou délkou v rozmezí 580 – 850 nm, korespondující s oranžovou, červenou barvou a IR zářením. Tyto reflektance nebyly tak intenzivní jako reflektance nižších vlnových délek u modráška, přesto dokazují, že také u ohniváčka je zbarvení ovlivněné strukturou na křídlech. Hodnoty reflektance pigmentového zbarvení by se lišily od výše naměřených především intenzitou, jako je vidět také v práci od Girlando a kol. [31].

Pigmentové zbarvení obvykle vytváří (u motýlů), žluté až červené barvy, tedy barvy odrážené v dlouhovlnné části viditelného spektra. Na strukturách křídel těchto motýlů se vyskytují zrna, jejichž pigment absorbuje světlo v určitém rozsahu vlnových délek. Na příklad u žluťásků (Coliadinae) se objevují pigmentová zrna, která absorbují ultrafialové i modré vlnové délky. U bělásků tyto struktury se zrny světlo rozptylují, čímž vzniká bílá barva. Pigment ve

špičkách křídel *Colotis regina* (viz obr. 17) pohlcuje rozptýlené světlo, ale ne v červené části spektra. Zbývající červené světlo spolu s modrou iridescencí na přítomné periodické struktuře křídla vytváří fialovou barvu. Výsledná barva tedy vzniká jak vlivem pravidelných struktur, tak pomocí pigmentu [31]. Naměřené hodnoty reflektance běláška zelného, potvrzují odlišnost motýlů se strukturálním zbarvením. Struktury díky bílému pigmentu pohlcují UV záření a z pozorovaných motýlů vykazují nejvyšší intenzitu reflektance v oblasti viditelného spektra a také rozptyl v IR oblasti světla charakteristický plochou křivkou.

Na snímcích struktur křídel modráška kozincového ani ohniváčka černočerného ze SEM se žádná pigmentová zrna nevyskytla. Fialové, modré a modrozelené zbarvení je běžně spojované s iridescencí, ale iridescentní červená barva ohniváčka černočerného je méně obvyklá. Vysvětlení je v parametrech nanostruktur, jako jsou tloušťka vrstvy, periodičnost, rozměry a tvar. Výsledná barva ohniváčka se posouvá do delších vlnových délek – tedy od modré směrem k zelené, žluté a nakonec k převažující oranžovo-červené.

9. DISKUZE

Tato práce se pokusila shrnout problematiku iridescentního zbarvení a vysvětlit ji na základě fyzikálně-optických jevů. Konkrétní představu o rozdílu mezi strukturálním a pigmentovým zbarvením motýlů měly vytvořit vzorky křídel modráska kozincového, ohniváčka černočerného a běláška zelného. Struktury jejich křídel byly zdokumentovány pomocí snímků ze SEM a AFM s velikostí plochy oblasti v rozmezí 10 – 500 μm a také pomocí měření reflektance spektrometrem.

Počáteční hypotéza předpokládala, že výsledky pozorování každého z motýlů budou rozdílné vzhledem k odlišnému typu zbarvení. Strukturální barvy byly doposud prokázány převážně u tropických motýlů rodu *Morpho*, což potvrzuje řada vědeckých studií, například: Thomé a kol. [18], Kinoshita a kol. [12]. Tato práce byla naopak zaměřená na výše zmíněné ještě neprozkoumané zástupce.

Iridescentní modré zbarvení u modráska kozincového vzniká podle teoretických předpokladů díky interferencím na fotonických krystalech a optické (difrakční) mřížce. Tato teorie byla prokázána různými způsoby pozorování. Za prvé pozorováním periodicky opakujících se nanostruktur s velikostí srovnatelnou s vlnovou délkou viditelného světla na snímcích ze SEM a AFM, za druhé pomocí grafů reflektance, ve kterých se vyskytuje vysoká odrazivost UV záření a části spektra viditelného světla s vlnovými délkami v rozmezí 400–480 nm, korespondující s fialovou, modrou, případně modro-zelenou barvou. Podobně jako ve výzkumech Biró a kol. [17], Kinoshita a kol. [12], Thomé a kol. [18], Vlach [8], Giraldo a kol. [31], kteří také prokázali existenci a princip fungování optické (difrakční) mřížky a fotonických krystalů, ale zkoumali jiné zástupce motýlů a brouků. Stejným způsobem byl zkoumán i ohniváček černočárný, jehož struktura křídel se v některých rozměrech a tvaru průřezu jen mírně lišila od modráska. Graf reflektance však potvrdil vyšší odrazivost v rozmezí 580–850 nm. Vzhledem k intenzitě reflektance a struktuře křídla je jeho zbarvení také strukturální, i když jeho reflektance převažuje v jiné části barevného spektra než u modráska kozincového. U běláška zelného se struktura lišila od předchozích dvou motýlů přítomností pigmentových zrn a také z grafu jeho reflektance vyplývá, že pigmentace ovlivňuje vznikající barvy, což bylo také prokázáno v práci Giraldo a kol. [31]

Omezením pozorování nanostruktur byla nedostupnost vzorku s vertikálním průřezem křídla. Kvůli tomu nebylo možné pozorovat další dimenzi periodičnosti struktur vzorku jako je tomu v práci od jiných autorů Thomé a kol. [18], Kinoshita a kol. [12]. Průřez byl v této práci nahrazen pohledem ze strany na 3D ilustraci z AFM.

10. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo vytvořit vědomostní základ pro studium problematiky strukturálního zbarvení motýlů se zaměřením na iridescenční zbarvení, způsob, jakým vzniká a studium konkrétních vzorků. Analýzou třech odlišných druhů motýlů se podařilo identifikovat a prokázat přítomnost fotonických krystalů u modráška kozincového, který vykazuje okem viditelné modré iridescenční zbarvení, a porovnat struktury na jeho křídlech se strukturami ohniváčka černočárného, které také vykazovaly parametry typické pro iridescenční zbarvení. Tyto periodické struktury u něj vytvářejí intenzivní oranžové zbarvení. Struktury motýlů z čeledi modráskovitých se přesto na první pohled nejeví při porovnávání dostupných vzorků pod mikroskopy jako výrazně odlišné. Struktury křídel běláška zelného se od předchozích výrazně liší přítomností pigmentových zrn.

Podrobné zkoumání vzorků umožnily mikroskopy SEM a AFM. Pořízením asi stovky snímků bylo možné zdokumentovat a porovnat detailní struktury povrchu vzorků. Výsledky získané pomocí SEM byly využity k měření strukturálních parametrů vzorků. Průměrné hodnoty těchto parametrů pak byly využity v tabulce pro přehlednější porovnání výsledků mezi motýly. Analýza snímků z AFM s využitím softwaru Gwyddion umožnila vytvoření grafů, ilustrací povrchu a modelů průřezu povrchu. Přestože se tedy na první pohled jevily struktury obou vzorků motýlů z čeledi modráskovitých jako téměř identické, při detailnějším prozkoumání, včetně grafů, ilustrací a statistického zprůměrování rozměrů, byly odhaleny určité rozdíly. Modrásek kozincový měl větší vzdálenost mezi hřebeny i žebry na nanostrukturách, ale jejich šířka se u obou druhů shodovala. Zásadní rozdíl byl obzvláště v profilu struktur, u modráška tvořily prohlubně mezi hřebeny tvar písmene U, kdežto u ohniváčka černočárného spíše připomínaly tvar písmene V. Tyto rozdíly mezi strukturami nutně ovlivňují vznik odlišných barev těchto motýlů. U běláška zelného byl průřez strukturou mírně odlišný. Jeho zbarvení vzniká pomocí jiných principů.

Poslední analýzou vzorků bylo zjištění jejich reflektancí. Výsledky prokázaly výskyt fotonických krystalů u modráška kozincového, které intenzivně odrážejí světlo v rozmezí vlnových délek 400 – 480 nm, což odpovídá fialové, modré až modrozelené barvě, a také vykazují zvýšenou reflektanci i v oblasti UV záření. Oproti tomu ohniváček černočárný nevykazoval reflektanci vlnových délek 200 – 550 nm, zatímco v rozsahu 550 – 780 nm, odpovídající oranžové až červené barvě a v IR oblasti spektra byla jeho reflektance relativně vysoká, což mohlo být způsobeno vlivem mírně odlišných periodických struktur. Reflektance běláška zelného ovlivněná pigmentací se lišila od motýlů z čeledi modráskovitých absorpcí v oblasti UV záření a vyšší reflektancí všech vlnových délek v oblasti viditelného světla a IR záření, v rozmezí 450 – 1000 nm.

Na závěr lze tedy zdůraznit, že výsledky této práce přispívají k lepšímu porozumění strukturálního zbarvení motýlů a mohou být uplatněny v dalších studiích zaměřených na biomimetiku, fotoniku a optické vlastnosti přírodních materiálů. Z hlediska biologie by se daly výsledky

využít pro zkoumání chování motýlů, funkce jejich křídel, iridescence a UV reflektance i k ne zcela na první pohled zjevným účelům, jako například k regulaci vnitřních procesů a teploty, nebo při hledání partnerů a posuzování jejich kvality.

Zajímavý potenciál budoucího výzkumu by představovala možnost pozorovat příčné průřezy křídel a porovnání různých oblastí téhož vzorku, obzvlášť pokud se pouhým okem jeví jako barevně výrazně odlišné. Dále by mohlo být přínosem také pozorování a porovnání dalších vzorků motýlů z jiných čeledí, případně i brouků nebo výpočty, které by mohly vést k využitelným výsledkům například pro výrobu biomimetických materiálů.

11. ZDROJE

- [1] KLEIN, Ernest. A comprehensive etymological dictionary of the English language : dealing with the origin of words and their sense development thus illustrating the history of civilization and culture [online]. 1971, 844 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://archive.org/details/AcomprehensiveEtymologicalDictionaryOfTheEnglishLanguageByErnestKlein/page/n279/mode/2up>
- [2] MASON, C. W. Structural Colors in Insects. II. *The Journal of Physical Chemistry* [online]. 2002, **31**(3), 321–354 [vid. 2025-01-18]. ISSN 0092-7325. Dostupné z: doi:10.1021/J150273A001
- [3] TORRE-BUENO, J. R. de la., Stephen W.. NICHOLS, George S.. TULLOCH a Randall T.. SCHUH. *The Torre-Bueno glossary of entomology* [online]. New York: New York Entomological Society in cooperation with the American Museum of Natural History, 1989 [vid. 2025-01-18]. ISBN 0-913424-13-7. Dostupné z: <https://www.cambridge.org/core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/abs/torre-bueno-glossary-of-entomology-compiled-by-stephen-w-nichols-and-randall-t-schuh-managing-editor-new-york-new-york-entomological-society-in-cooperation-with-the-american-museum-of-natural-history-1989-xviii-840pp-hard-cover-45-isbn-0913424137/02B4332DB87C4F6AC708D46925C0984F>
- [4] PRIS, Andrew D., Yogen UTTURKAR, Cheryl SURMAN, William G. MORRIS, Alexey VERT, Sergiy ZALYUBOVSKIY, Tao DENG, Helen T. GHIRADELLA a Radislav A. POTYRAILO. Towards high-speed imaging of infrared photons with bio-inspired nanoarchitectures. *Nature Photonics* [online]. 2012, **6**(3), 195–200 [vid. 2025-01-18]. ISSN 1749-4893. Dostupné z: doi:10.1038/nphoton.2011.355
- [5] DOUCET, Stéphanie M. a Melissa G. MEADOWS. Iridescence: a functional perspective. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 2009, **6**(SUPPL. 2) [vid. 2025-01-18]. ISSN 17425662. Dostupné z: doi:10.1098/RSIF.2008.0395.FOCUS
- [6] JUNGOVÁ, Irena. *Ochrana oka před škodlivými účinky vybraných složek elektromagnetického vlnění blízkých viditelné oblasti spektra* [online]. Brno, 2016 [vid. 2025-01-18]. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/c2aig/BP_Jungova.pdf.
- [7] CHOWDHURY, Srinjoy Nag, Kshitij Manohar KUHIKAR a Akshay AGNIHOTRI. *IMOD DISPLAY: AN OVERVIEW* [online]. B.m.: ECE Department, CCE Department, Manipal University, Manipal, Karnataka, India, 2015 [vid. 2025-01-18]. ISBN 978-93-82702-74-0. Dostupné z: https://www.digitalxplore.org/up_proc/pdf/130-142624178257-61.pdf
- [8] VLACH JAN. *Výskyt a význam iridescence a UV reflektantního zbarvení u brouků (Coleoptera)*. Praha, 2015. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze.

- [9] BUBNÍK LUKÁŠ, KLAJBL JIŘÍ a MAZUCH PETR. *Optoelektrotechnika* [online]. 30. duben 2015 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://publi.cz/books/185/Impresum.html>
- [10] DVOŘÁK TOMÁŠ. *DIFRAKCE A INTERFERENCE SVĚTLA PRO VÝUKU LABORATORNÍCH CVIČENÍ* [online]. Brno, 2014 [vid. 2025-01-18]. Bakalářská práce. TECHNOLOGY FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=88003
- [11] MACEK JAN a JUREČKA PETR JAN. Příběhy z elektronového mikroskopu. 4. Krása motýlích křídel. *Živa* [online]. 2011, **3**, 125–127 [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/2011-3/pribehy-z-elektronoveho-mikroskopu-4-krasa-motylich-kridel.html>
- [12] KINOSHITA, S., S. YOSHIOKA a J. MIYAZAKI. Physics of structural colors. *Reports on Progress in Physics* [online]. 2008, **71**. ISSN 00344885. Dostupné z: doi:10.1088/0034-4885/71/7/076401
- [13] VLACH JAN. *Výskyt a role UV reflektantního zbarvení u listorohých brouků (Coleoptera: Scarabaeidae)* [online]. Praha, 2021 [vid. 2025-01-19]. Diplomová Práce. Univerzita Karlova. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/151332/120400901.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [14] PALMER CHRISTOPHER. *DIFFRACTION GRATING HANDBOOK* [online]. 8. vyd. 2020 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/339913143_DIFFRACTION_GRATING_HANDBOOK_eighth_edition
- [15] The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Bragg law* [online]. 27. prosinec 2024 [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/Bragg-law>
- [16] PARKER, Andrew Richard. 515 million years of structural colour. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics* [online]. 2000, **2**(6) [vid. 2025-01-19]. ISSN 1464-4258. Dostupné z: doi:10.1088/1464-4258/2/6/201
- [17] BIRÓ, L. P., K. KERTÉSZ, Z. VÉRTESY, G. I. MÁRK, Zs BÁLINT, V. LOUSSE a J. P. VIGNERON. Living photonic crystals: Butterfly scales — Nanostructure and optical properties. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2007, **27**(5–8), 941–946 [vid. 2025-01-19]. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/J.MSEC.2006.09.043
- [18] THOMÉ, Magali, Elodie RICHALOT a Serge BERTHIER. Light guidance in photonic structures of Morpho butterfly wing scales. *Applied Physics A: Materials Science and Processing* [online]. 2020, **126**. ISSN 14320630. Dostupné z: doi:10.1007/s00339-020-03948-x
- [19] LIGAS ALEŠ. *STUDIUM KOVOVÝCH MATERIÁLŮ POMOCÍ NÍZKONAPĚŤOVÉ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE* [online]. Brno, 2012 [vid. 2025-01-18]. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=54463.

- [20] ZADRAŽIL MARTIN. ZOBRAZOVÁNÍ NEVODIVÝCH PREPARÁTŮ METODOU NENABÍJEJÍCÍ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE [online]. Brno, 2002 [vid. 2025-01-18]. Zkrácená verze PHD THESIS. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. Dostupné z: https://www.vut.cz/vutium/spisy?action=ukazka&id=939&publikace_id=449.
- [21] BRADBURY, Savile a David C. JOY. *Electron microscope | Uses, Advantages & Limitations | Britannica* [online]. nedatováno [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/technology/electron-microscope>
- [22] GLEICHMANN NICOLE. SEM vs TEM. <https://www.technologynetworks.com> [online]. 24. leden 2020 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/sem-vs-tem-331262>
- [23] ILITCHEV, Alex. How Do You Make an Electron Beam? <https://www.thermofisher.com> [online]. 11. květen 2019 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/blog/materials/electron-source-fundamentals/>
- [24] NĚMEČEK, Jiří. Metody skenovací elektronové mikroskopie SEM a analytické techniky. In: [online]. Praha. 2017 [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: http://ksm.fsv.cvut.cz/~nemecek/teaching/dmpo/lectures/D32MPO_02.pdf
- [25] Glossaries of Electron Microscope Terms. *JEOL* [online]. [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: <https://www.jeol.com/words/>
- [26] NANAKOUDIS ANTONIS. What is SEM? Scanning Electron Microscopy Explained. <https://www.thermofisher.com/> [online]. 14. listopad 2019 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/blog/materials/what-is-sem-scanning-electron-microscopy-explained/>
- [27] AFM - MATCA. *MATCA* [online]. [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: <https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/afm/>
- [28] JAGTAP RAMANAND a AMBRE AVINASH. Atomic force microscopy (AFM): Basics and its important applications for polymer characterization: An overview. *Indian Journal of Engineering and Materials Sciences* [online]. 2006, 4(13), 368–384 [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/228370294_Atomic_force_microscopy_AFM_Basics_and_its_important_applications_for_polymer_characterization_An_overview
- [29] GERMER, Thomas A., Joanne C. ZWINKELS a Benjamin K. TSAI. Experimental Methods in the Physical Sciences. In: *Experimental Methods in the Physical Sciences* [online]. B.m.: Academic Press, 2014, s. 1–9. ISSN 10794042. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-386022-4.00001-7
- [30] DE LANGE, A. J. Color. In: *Brewing Materials and Processes: A Practical Approach to Beer Excellence* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 2016, s. 199–249. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-799954-8.00011-3
- [31] GIRALDO, Marco Antonio. Butterfly wing scales: Pigmentation and structural properties [online]. 2008 [vid. 2025-02-14]. Dostupné

z: <https://research.rug.nl/en/publications/butterfly-wing-scales-pigmentation-and-structural-properties>

- [32] The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Morpho* [online]. 1. březen 2024 [vid. 2025-01-19]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/animal/morpho-insect>
- [33] KAŠPAROVÁ-ŠVÍGLEROVÁ PAVLA a SEDLÁK MILOŠ. Biomimetika a biominerály. *Vesmír* [online]. 2003, **82** [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2003/cislo-11/biomimetika-biominerally.html>
- [34] ACTIVAIR. Informace o vakuu. <https://www.activair.cz> [online]. [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.activair.cz/cz/technicke-informace/informace-o-vakuu>
- [35] The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Van der Waals forces | Intermolecular Interactions & Applications | Britannica* [online]. 3. leden 2025 [vid. 2025-01-14]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/van-der-Waals-forces>
- [36] DAS, Sekhar, Nachimutu SHANMUGAM, Ajay KUMAR a Seiko JOSE. *Review: Potential of biomimicry in the field of textile technology* [online]. B.m.: ICE Publishing. březen 2017. ISSN 20459866. Dostupné z: doi:10.1680/jbibn.16.00048
- [37] *Electron Microscopy Exploring Uncharted Realms with Electron Microscopy* [online]. B.m.: Thermo Fisher scientific. [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MSD/Handbooks/Exploring-uncharted-realms-with-electron-microscopy.pdf>
- [38] ROUSSO, Itay a Akshay DESHPANDE. Applications of Atomic Force Microscopy in HIV-1 Research. *Viruses* 2022, Vol. 14, Page 648 [online]. 2022, **14**(3), 648 [vid. 2025-01-18]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/V14030648
- [39] BENEŠ, Jiří a MARTIN KONVIČKA. *Webový klíč denních motýlů České republiky* [online]. [vid. 2025-01-18]. Dostupné z: <https://www.lepidoptera.cz/klic/>

12. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1: Difrakce na rovině mřížek. (a) Reflexní mřížka (b) Transmisní mřížka [14].....	10
Obrázek 2: Ilustrace difrakce, zobrazující roviny vlnových čar [14].....	10
Obrázek 3: Znárodnění vln 1 a 2, odraz ve vzájemné fázi odrážejí od atomů A a B [15].....	11
Obrázek 4: Schéma modelu 3 D fotonického krystalu [17].....	12
Obrázek 5: Snímky křídel samce motýla Morpho rhenetor [36].....	13
Obrázek 6: Snímky SEM a schematické znázornění tří periodických opakování [18].....	14
Obrázek 7: Porovnání schopnosti rozlišení elektronových mikroskopů se světelným [19].....	15
Obrázek 8: Porovnání lidského oka se světelným a elektronovým mikroskopem [37].....	15
Obrázek 9: Porovnání termoemisních zdrojů elektronů a autoemisního zdroje [23].....	17
Obrázek 10: Studené wolframové vlákno – vyleptané, wolframové vlákno, krystal LaB6 [24].....	18
Obrázek 11: Schottkyho zdroj [24].....	18
Obrázek 12: Porovnání konstrukce SEM a TEM [22].....	19
Obrázek 13: Porovnání excitací kondenzační čočky. Silná excitace vlevo a slabá vpravo [25].....	19
Obrázek 14: Objektivová čočka [25].....	20
Obrázek 15: Ilustrace konstrukce a fungování AFM a 2 možné režimy [38].....	21
Obrázek 16: Ukázky změřených vzorků pomocí AFM [27].....	22
Obrázek 17 : Obrázek vysvětlující způsob měření pomocí spektrofotometru [33].....	23
Obrázek 18: Modrásek kozincový lat. Glaucopsyche alexis [39].....	24
Obrázek 19: Ohniváček černočárny lat. Lycaena dispar [39].....	24
Obrázek 20: Bělásek zelný lat. Pieris brassicae [39].....	25
Obrázek 21: Detail čtverce o straně 7 μm z povrchu křídla modráška kozincového.....	26
Obrázek 22: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 21.....	27
Obrázek 23: Graf povrchu snímku modráška kozincového.....	27
Obrázek 24: Graf rozložení výšek v obrázku 21 doplněný barevnou škálou.....	28
Obrázek 25: Detail čtverce o straně 7 μm z povrchu křídla ohniváčka černočerného.....	29
Obrázek 26: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 25.....	29
Obrázek 27: Graf povrchu ohniváčka černočárny.....	30
Obrázek 28: Graf rozložení výšek v obrázku 24 doplněný barevnou škálou.....	30
Obrázek 29: Detail čtverce o straně 7 μm z povrchu křídla běláška zelného.....	31
Obrázek 30: 3D ilustrace povrchu čtverce o straně 7 μm z obrázku 29.....	31
Obrázek 31: Graf povrchu snímku běláška zelného.....	32
Obrázek 32: Graf rozložení výšek v obrázku 29 doplněný barevnou škálou.....	32
Obrázek 33: 3D ilustrace povrchu modráška kozincového na obrázku 20 ze strany.....	33
Obrázek 34: 3D ilustrace povrchu ohniváčka černočárny na obrázku 24 ze strany.....	33
Obrázek 35: 3D ilustrace povrchu běláška zelného na obrázku ze strany.....	34
Obrázek 36: Detaily křídla modráška kozincového a-f.....	35
Obrázek 37: Detaily křídla ohniváčka černočárny a-f.....	36
Obrázek 38: Detaily křídla běláška zelného a-f.....	37
Obrázek 39: Měření úseky na křídlech modráška kozincového a-d.....	38
Obrázek 40: Měření úseky na křídlech ohniváčka černočárny a-d.....	39
Obrázek 41: Měření úseky na křídlech běláška zelného a-d.....	40
Obrázek 42: Graf inenzity reflektance modráška kozincového.....	44
Obrázek 43: Graf inenzity reflektance ohniváčka černočárny.....	44
Obrázek 44: Graf inenzity reflektance běláška zelného.....	44
Obrázek 45: Porovnání grafů reflektancí motýlů z čeledi modráškovitých a běláška zelného.....	45

Tabulka 1: Průměrné hodnoty šířek a vzdáleností hřebenů a žeber ze snímků modrásků z obou mikroskopů (AFM a SEM) a rozdíly mezi nimi.	41
Tabulka 2 : Průměrné hodnoty šířek a vzdáleností hřebenů a žeber ze snímků modrásků a běláška zelného z obou mikroskopů (AFM a SEM) a rozdíly hodnot.	42