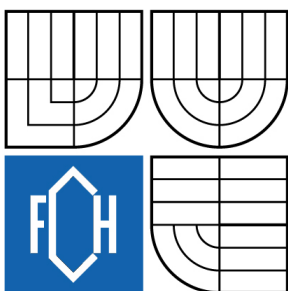


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

ANALÝZA DEGRADAČNÍCH PRODUKTŮ ORGANICKÉHO BARVIVA PO ROZKLADU V DIAFRAGMOVÉM VÝBOJI

ANALYSIS OF ORGANIC DYE DEGRADATION PRODUCT AFTER DECOMPOSITION IN
DIAPHRAGM
DISCHARGE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

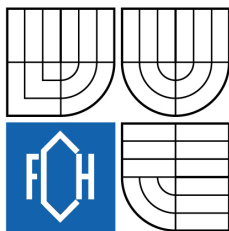
Bc. MARTIN NEJEZCHLEB

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JOSEF ČÁSLAVSKÝ, CSc.

BRNO 2009



Zadání diplomové práce

| | | |
|------------------------------|---|----------------------------------|
| Číslo diplomové práce: | FCH-DIP0287/2008 | Akademický rok: 2008/2009 |
| Ústav: | Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí | |
| Student(ka): | Bc. Martin Nejezchleb | |
| Studijní program: | Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805) | |
| Studijní obor: | Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002) | |
| Vedoucí diplomové práce: | doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc. | |
| Konzultanti diplomové práce: | Ing. Zdenka Kozáková, Ph.D. | |

Název diplomové práce:

Analýza degradačních produktů organického barviva po rozkladu v diafragmovém výboji

Zadání diplomové práce:

1. Seznámení s analytickými metodami vhodnými pro využití v analýze organických barviv s důrazem na HPLC/MS
2. Rozklad textilního barviva Saturnová červeň L4B v diafragmovém výboji
3. Analýza rozkladných produktů zkoumaného barviva metodou HPLC/MS
4. Porovnání vlivu podmínek rozkladu na výsledné produkty

Termín odevzdání diplomové práce: 22.5.2009

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Martin Nejezchleb
Student(ka)

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.10.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Barviva jsou důležité průmyslové produkty, které mají velmi širokou škálu použití a ročně se jich vyprodukuje ohromná množství. Azobarviva tvoří přes 50 % všech vyráběných barviv a uplatňují se ve většině koloristických tříd. Azobarviva jsou velmi stabilní sloučeniny, odolné vůči chemickým procesům. Je velmi důležité je odstranit z průmyslových odpadních vod. Konvenční metody čištění odpadních vod však nejsou velmi účinné a je vhodné je kombinovat s jinými metodami označovanými jako Advanced Oxidation Processes.

Tato práce je zaměřena na identifikaci degradačních produktů organického barviva Saturnová červeň L4B - Direct Red 79, vznikajících v diafragmovém výboji, pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií HPLC-MS.

ABSTRACT

Dyes are important industrial products that have very wide spectrum of application and yearly they are produced enormous amounts. Azo - dye forms over 50 % of all producing dyes and found their use oneself in the most of colouristic class. Azo - dyes are very stable substances, resistant against chemical processes. It is very important to remove these dyes from industrial wastewaters. However, conventional methods of wastewater treatment are not very effective and it is useful to combine them with alternative methods like Advanced Oxidation Processes.

This diploma thesis is focused on the identification of degradation products of organic dye Saturn Red L4B – Direct Red 79 resulting by degradation in diaphragm discharge, using high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection.

KLÍČOVÁ SLOVA

Diafragmový výboj, Saturnová červeň L4B, Direct Red 79, identifikace degradačních produktů, vysoce účinná kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, elektrosprej

KEY WORDS

Diaphragm discharge, Saturn red L4B, Direct Red 79, degradation products identification, high performance liquid chromatography, mass spectrometry, electrospray

NEJEZCHLEB, M. *Analýza degradačních produktů organického barviva po rozkladu v diafragmovém výboji*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 57 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis diplomanta

OBSAH:

| | |
|--|-----------|
| 1. ÚVOD | 6 |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST | 8 |
| 2.1. Diafragmový výboj v roztocích | 8 |
| 2.1.1. Generace elektrického výboje ve vodě | 8 |
| 2.1.2. Procesy iniciované elektrickým výbojem ve vodné fázi | 11 |
| 2.1.2.1. Reakce OH radikálů | 12 |
| 2.1.2.2. Rozkladné reakce organických barviv | 12 |
| 2.2. Organická barviva | 14 |
| 2.2.1. Historie | 14 |
| 2.2.2. Rozdělení barviv | 14 |
| 2.2.2.1. Podle vzniku a výskytu | 14 |
| 2.2.2.2. Podle struktury | 15 |
| 2.2.2.3. Podle způsobu použití | 15 |
| 2.2.3. Azobarviva | 15 |
| 2.3. Metody stanovení organických barviv a rozkladných produktů | 16 |
| 2.3.1. Kapalinová chromatografie | 16 |
| 2.3.1.1. Kapalinový chromatograf | 17 |
| 2.3.1.2. Detektory v HPLC | 18 |
| 2.3.1.3. HPLC-MS | 19 |
| 2.3.1.4. Separace barviv HPLC-MS | 23 |
| 2.3.2. Další metody stanovení organických barviv | 23 |
| 2.3.2.1. Kapilární elektroforéza CE | 23 |
| 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 24 |
| 3.1. Výbojová komora | 24 |
| 3.2. Zdroj vysokého napětí | 27 |
| 3.3. Příprava roztoků | 27 |
| 3.4. Odebírání vzorků | 27 |
| 3.5. Analýza rozkladných produktů HPLC/MS | 28 |
| 3.5.1. Chemikálie, přístroje | 28 |
| 3.5.2. Studované barvivo | 28 |
| 3.5.3. Analýza vzorků | 29 |
| 3.5.3.1. Parametry HPLC/MS analýzy | 30 |
| 4. VÝSLEDKY A DISKUZE | 31 |
| 4.1. Určení vhodného fragmentoru | 31 |
| 4.2. Vlastní analýza rozkladných produktů a interpretace spekter | 31 |
| 4.2.1. Identifikace píků rozkladných produktů | 32 |
| 4.2.2. Interpretace ESI-MS spekter | 35 |
| 4.2.2.1. Produkty vzniklé v negativním výboji | 36 |
| 4.2.2.2. Produkty vzniklé v pozitivním výboji | 44 |
| 5. ZÁVĚR | 48 |
| 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ | 49 |
| 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK | 51 |
| 8. SEZNAM PŘÍLOH | 52 |
| 9. PŘÍLOHY | 53 |

1. ÚVOD

V současné době je kladen stále větší důraz na kvalitu životního prostředí. Jednou ze sledovaných složek jsou vodní toky a také odpadní vody, které jsou do nich vypouštěné. V odpadních vodách z domácností a průmyslu, ať už těžkého či chemického, jsou často obsaženy škodlivé látky organické povahy, jako například barviva z textilního průmyslu. Tyto sloučeniny mohou být nebezpečného nebo dokonce toxického charakteru a mohou způsobovat vážné problémy v životním prostředí. Je proto nutné tyto škodlivé organické látky ve vodách nejen sledovat, ale i vyvíjet nové metody pro jejich odstraňování.

Azobarviva jsou velmi stabilní sloučeniny, odolné vůči chemickým procesům. Je velmi důležité je odstranit z průmyslových odpadních vod. Konvenční metody čištění odpadních vod však nejsou velmi účinné a je dobré je kombinovat s jinými metodami jako např. Advanced Oxidation Processes - pokročilé oxidační procesy (AOP's).

Metody běžně používané k úpravě vody se dělí na biologické, fyzikální a chemické.

- **Biologické metody** – Tvoří základ nejrozšířeněji používaných technik úpravy vody. Biologické čištění odpadních vod využívá mikroorganismů, které rozkládají a odstraňují organické znečištění. Rozkladný proces je velmi složitý a skládá se z řady reakcí. Je to v podstatě biochemický proces, při kterém se využívá schopnosti mikroorganismů rozkládat a postupně mineralizovat organické znečištění přítomné v odpadních vodách. Při biologickém způsobu čištění se využívá dvou různých postupů.
 - **Anaerobní rozklad** – rozklad bez přítomnosti kyslíku. Organické látky se oxidují na oxid uhličitý a vodu, zatím co jiné se redukuje na organické plyny, jako např. methan
 - **Aerobní rozklad** – při aerobním čištění probíhají převážně biologické pochody, kdy se organické látky odbourávají za přítomnosti kyslíku rozpuštěného ve vodě na anorganické látky, CO₂ a H₂O.
- **Fyzikální metody** – Techniky fyzikální úpravy vody jsou založeny na separaci odpadních látek z vody buď prostřednictvím určitého podpůrného systému, nebo jejich přeměnou do jiné fáze.
- **Chemické metody** – Chemické oxidační procesy jsou často používány k úpravě pitné vody, odpadních vod i podzemních vod znečištěných organickými sloučeninami. Rozklad biologicky nerozložitelných látek ve vodě umožňuje přímá oxidace vodných roztoků obsahujících tyto látky prostřednictvím reaktantů s vysokým oxidačním potenciálem. Nejběžněji používanými oxidanty jsou chlór, oxid chloričitý, chloraminy, ozón a manganistan draselný. Jejich využití k rozkladu odpadních látek je omezené.

V současné době se proto rozvíjejí nové možnosti úpravy vody oxidačními procesy. Tyto techniky se nazývají AOP's (Advanced Oxidation Processes - pokročilé oxidační procesy). Základem je uvolňování vysoké energie (ať už chemické, elektrické nebo radiační) do vodní fáze za generace vysoce reaktivních částic. Nejdůležitějšími takto produkovanými částicemi jsou hydroxylové radikály, které jsou schopny oxidovat organické škodlivé látky i za pokojové teploty. Mezi důležitá silná oxidační činidla produkovaná v AOP's patří kromě OH radikálů i kyslíkové radikály $\cdot\text{O}$, ozón O_3 a peroxid vodíku H_2O_2 .

Obecným rysem procesů využívaných v AOP's k produkci reaktivních částic (OH radikálů aj.) je potřeba významného množství energie. K zajištění dostatečně velké energie nutné k tvorbě vysoce reaktivních částic jsou rozvíjeny nové metody založené na aplikaci netermálního plazmatu generovaného různými typy elektrických výbojů.

Princip metod elektrických výbojů v kapalně fázi spočívá v aplikaci silného elektrického pole do systému upravovaného vodního média. Důsledkem je iniciace chemických a fyzikálních procesů jako je generace UV záření, rázové vlny a hlavně tvorba různorodých chemických částic. V této práci je zkoumán elektrický výboj generovaný ve velmi malém otvoru dielektrické diafragmy umístěné symetricky mezi dvě ploché elektrody, tzv. diafragmový výboj. Výhodou diafragmového výboje je potřeba menšího napětí nutného k iniciaci výboje.. Další výhodou tohoto typu výboje je fakt, že generované plazma není nutně v přímém kontaktu s elektrodami, nedochází tedy k jejich velkému opotřebování.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Diafragmový výboj v roztocích

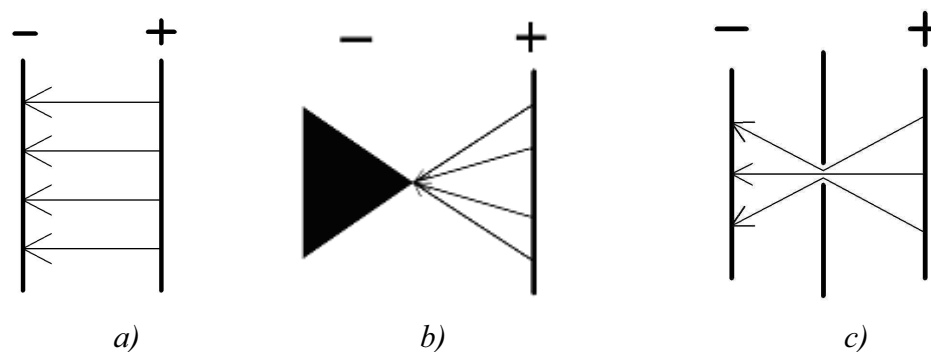
2.1.1. Generace elektrického výboje ve vodě

Detailní mechanismus iniciace výbojů v kapalně fázi stále ještě není zcela prozkoumán v porovnání se znalostí výbojů v plynné fázi. Rozdíl mezi chápáním výboje v kapalně a v plynné fázi je způsoben hlavně podstatně vyšší hustotou kapaliny vedoucí k mnohem vyšší srážkové frekvenci a nižší pohyblivosti nábojů, protože pohyblivost iontů je mnohem menší než u elektronů. Dále je voda vysoce polární kapalina s velkou elektrickou permitivitou a specifickou vodivostí. Molekuly vody mají dipólový moment a orientují se ve směru aplikovaného elektrického pole. To vede ke generaci elektronových tlakových vln, které vytvářejí nehomogenitu v hustotě v blízkosti elektrody s vysokým napětím. Proto ionty přítomné v kapalině silně mění šíření plazmového kanálu („streameru“) v důsledku vyrovnávání prostorového náboje elektrického pole na čele „streameru“ [1].

Elektrický výboj v kapalině představuje komplex jevů zahrnující kombinaci různých fyzikálních procesů, které závisí na velkém počtu faktorů: vodivosti, polaritě a oxidačnímu stavu elektrod, vlastnostech kapaliny apod.

Elektrické výboje v kapalinách mohou být realizovány v rozličných konfiguracích elektrod a s různým charakterem vstupního napětí. V této práci byl zkoumán diafragmový výboj, jenž vzniká v malém otvoru dielektrické přepážky oddělující dvě ploché elektrody. Výboj byl iniciován aplikací konstantního stejnosměrného napětí.

Princip elektrického výboje v kapalině (nejčastěji vodném roztoku) spočívá v přivádění energie do tohoto média, její akumulaci a následném zapálení výboje. Energie je do systému přiváděna ze zdroje vysokého napětí. Do kapalně fáze je transformována formou plazmového kanálu tvořeného výbojem mezi dvěma elektrodami ponořenými v kapalině. Pro zapálení výboje jsou vhodná tři uspořádání elektrod, která zaručují vznik silného elektrického pole. První uspořádání je sestaveno ze dvou dostatečně velkých plochých elektrod [Obr. 1 a)]. Tento systém ale vyžaduje aplikaci příliš velkého napětí nebo malou vzdálenost elektrod, není tudíž vhodný pro praktické použití. Další dvě uspořádání elektrod jsou již vhodná pro experimentální využití, protože se v nich intenzita elektrického pole určitým způsobem koncentruje a není tedy nutno aplikovat příliš velká napětí. V systému hrot-rovina [Obr. 1 b)] se intenzita koncentruje na špičce bodové elektrody. U dvou plochých elektrod oddělených přepážkou s velmi malým otvorem dochází k zesílení elektrického pole právě v tomto otvoru [Obr. 1 c)].



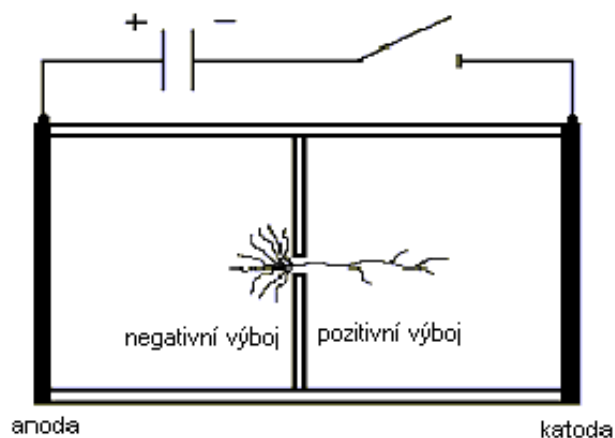
Obrázek č. 1: Typy uspořádání elektrod: a) dvě ploché elektrody, b) hrot-rovina, c) dielektrická diafragma s malým otvorem mezi dvěma plochými elektrodami.

Pro elektrické výboje v kapalně fázi byly navrženy dva obecné typy teorií: elektronové teorie a tepelné (bublinové) teorie.

Podle elektronových teorií jsou vlivem vysokého elektrického pole urychlovány volné elektrony v prostoru výboje. Urychlené volné elektrony se mohou srážet s okolními molekulami a ionizovat je. Takto se produkuje více volných elektronů způsobujících lavinu elektronů („streamerový“ nebo plazmový kanál). Ta vede k průrazu vody.

U tepelné teorie se předpokládá, že proud v oblasti vysokého elektrického pole způsobuje ohřívání a vypařování kapaliny, tvoří se bubliny a „streamerový“ výboj se ve vodě šíří skrze bubliny způsobem podobným jako v plynné fázi. V modelu založeném na elektrickém poli podporovaném disociací vody na ionty H^+ a OH^- , které tak tvoří vysoce vodivou oblast, z níž se „streamer“ šíří jako ionizační vlna. Odtud vyplývá, že fyzikální povaha „streamerů“ je plynná.

V diafragmovém typu výboje se začíná plazma generovat v malých dírkách vyrobených v izolační dielektrické desce oddělující elektrodu s vysokým napětím a uzemněnou elektrodu. Elektrody jsou většinou plochého tvaru. Bezelektrový výboj ve vodě začíná s časovým zpožděním, které je mnohem delší než u výboje ve vzduchu. Od momentu zapnutí napětí po objevení se „streamerů“ se předvýbojový proud koncentruje v otvoru, což vede k lokálnímu zahřívání vody a jejímu varu. Silnými tepelnými účinky je způsobena tvorba bublin plynu, v nichž následně dochází k výboji - průrazu. Nepulsní „streamerový“ výboj se objevuje na špendlíkové dírce, protože je na otvoru velmi vysoké elektrické pole [Obr. 1 c)]. Z něj se ve směru mezi katodou a anodou začnou šířit ionizační kanály zvané kladné a záporné „streamery“. Zjednodušené schéma diafragmového výboje je zobrazeno na obr. 2. Foto výboje je na obr. 3.



Obrázek č. 2: Zjednodušené schéma diafragmového („bezelektrodového“) výboje.



Obrázek č. 3: Fotografie diafragmového („bezelektrodového“) výboje

2.1.2. Procesy iniciované elektrickým výbojem ve vodné fázi

Elektrickými výboji v kapalinách (např. ve vodě a ve vodných roztocích) je generováno plazma, které je následně příčinou vzniku různých fyzikálních a chemických jevů. Jedná se např. o silné ultrafialové záření, rázové vlny a zvláště pak o tvorbu různých reaktivních chemických částic. Tyto částice působí na biologické buňky a chemické sloučeniny, jež jsou ve vodě obsaženy. Zmíněné jevy hrají důležitou úlohu v různých oblastech použití v kapalinách a velikost jejich příspěvku značně závisí na energii výboje.

Fyzikální procesy

V elektrických výbojích, v nichž se velikost dodávané energie pohybuje v oblasti $\text{MW}\cdot\text{l}^{-1}$, je velká část energie spotřebována na tvorbu vysokoteplotních plazmových kanálů (několik set tisíc Kelvinů), jež emitují světlo z široké oblasti vlnových délek včetně silného vyzařování v UV oblasti. Toto záření může způsobit fotolytický efekt, který vede k disociaci molekul vody a k tvorbě hydroxylových radikálů. Oxidační degradace organických sloučenin uskutečňovaná tímto typem výbojů je přisuzována hlavně ultrafialové fotolýze, elektrohydraulické kavitaci a nadkritické oxidaci vody [1].

Chemické procesy

Elektrické výboje buzené vysokým napětím o energiích řádově $\text{kW}\cdot\text{l}^{-1}$ vedou převážně k produkci různých reaktivních chemických částic. Mezi ně patří radikály ($\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{H}$, $\cdot\text{O}$, $\cdot\text{HO}_2$), molekuly (H_2O_2 , H_2 , O_2) a ionty (O_2^-), zpravidla navíc v excitovaných stavech [3]. Za nejdůležitější z těchto částic jsou považovány hydroxylové a kyslíkové radikály ($\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}$), ozón (O_3) a peroxid vodíku (H_2O_2), které se významně podílejí na oxidačních procesech probíhajících v kapalně fázi během výboje.

Tvorba chemických reaktantů

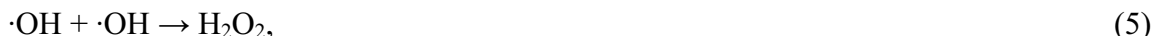
Generace hydroxylových, vodíkových a kyslíkových radikálů elektrickým výbojem ve vodě byla prokázána optickou emisní spektroskopií [6]. Na tvorbu radikálů mají vliv změny parametrů výboje. Intenzita emise $\cdot\text{OH}$ radikálů může být ovlivněna velikostí aplikovaného napětí, jeho polaritou nebo vodivostí kapaliny [5].

Tvorba peroxidu vodíku byla prokázána chemickými metodami, např. s využitím spektrofotometrie [5]. Bylo zjištěno, že peroxid vodíku vzniká rekombinací $\cdot\text{OH}$ radikálů [4].

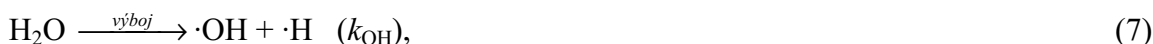
Mechanismus tvorby $\cdot\text{OH}$ a $\cdot\text{H}$ radikálů:



kde e^{-*} značí elektron s vysokou kinetickou energií. Tyto reakce jsou reakcemi iniciačními, které primárně iniciuje elektrický výboj ve vodě. V závislosti na rozložení energie elektronů na čele kanálu („streameru“) mohou radikály reagovat buď mezi sebou, a vytvářet tak výsledné molekuly H_2 a H_2O_2 , nebo znovu vytvářet vodu, anebo difundovat od sebe a být dostupné pro reakce s roztokem [1]:



Systém lze proto považovat za sled dvou oddělených reakcí probíhajících současně. Konkrétně se jedná o reakce [1]:



2.1.2.1. Reakce OH radikálů

Hlavními oxidačními činidly, která řídí většinu procesů aplikovaných při úpravě vody, jsou hydroxylové radikály. Reagují s většinou organických a velkým množstvím anorganických sloučenin. Tyto reakce mohou být rozděleny podle mechanismu na tři různé typy [3]:

- odtržení atomu vodíku:



- elektrofilní adice na dvojnou (trojnou) vazbu:

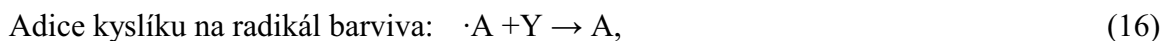
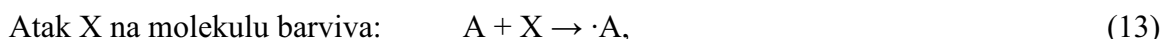
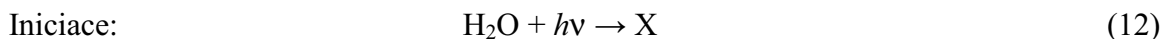


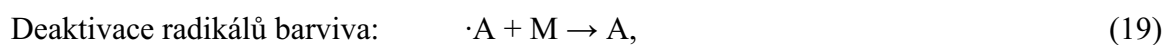
- přenos elektronu:



2.1.2.2. Rozkladné reakce organických barviv

Obecné schéma reakčního mechanismu OH radikálů a jiných aktivních částic produkovaných výbojem ve vodě s organickými barvivy, např. antrachinonovými, je dáno následujícími rovnicemi [2]:





kde A a B představují barevnou a odbarvenou látku, X aktivní částici, Y kyslík a M je inertní molekula, např. rozpouštědla, jejíž koncentrace může být považována za konstantní.

Při použití stejnosměrného proudu je také důležitým faktorem rozkladu organického barviva elektrolyza:



2.2. Organická barviva

Barviva jsou charakterizována svou schopností absorbovat viditelné elektromagnetické záření (nebo-li světlo) ve vlnovém rozsahu 380 - 780 nm. Pro intenzivní vybarvení substrátu (např. textilie) musí mít barvivo dostatečně velké absorpční koeficienty ($10000 - 40000 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Ani tato vlastnost ovšem z barevné látky neučiní barvivo. Konstituce barviva musí být taková, aby barvivo mělo substantivitu (afinitu, přilnavost) k substrátu, dále pak dobrou stabilitu v praní, otěru a rovněž dobrou světlostálost. Zdravotní neškodnost je samozřejmostí a celé třídy barviv dříve používaných byly zakázány na základě prokázání jejich karcinogenity.

Nejvíce barviv se používá k vybarvování textilních vláken rostlinného a živočišného původu (bavlny, lnu, vlny, hedvábí), dále k barvení vláken z regenerované celulosy a chemických vláken. Používá se jich také k barvení usní, papíru, kaučuku, plastických hmot, tuků, vosků, mýdla, tužek, polygrafických barev, lakařských hmot, k přípravě inkoustů, tuše, při výrobě materiálů pro barevnou fotografii, jako senzibilizátorů, desenzibilizátorů. Stále více se barviva používají v medicíně, biochemii, konverzi slunečního záření, v optice při výrobě barevných laserů, apod.

2.2.1 Historie

Barviva jsou důležité průmyslové produkty, které mají velmi širokou škálu použití a ročně se jich vyprodukuje ohromná množství. Jejich třídění je založeno na chemické struktuře nebo na oblasti použití (potravinářská, textilní atd.).

Jedno z nejstarších barviv je indigo, které se používá již více než 4000 let. Bylo používáno k barvení hábitů egyptských mumií. Když v roce 55 před Kristem napadl Julius Caesar Británii, zjistil, že místní lidé, kteří se nazývali Piktové, mají těla pomalována modrou barvou, formou indiga. Dnes se indigo, samozřejmě již vyráběné synteticky, používá například k barvení modrých riflí.

Prvním synteticky vyrobeným barvivem byl anilinový purpur, také zvaný mauverin. V roce 1856 se ho podařilo syntetizovat teprve osmnáctiletému W. H. Perkinovi, když připravoval deriváty uhelného dehtu pro svého profesora. Protože okamžitě rozpoznal jeho možný potenciál, opustil školu a založil tak průmysl barviv vyráběných z uhelného dehtu. Tento průmysl se začal rapidně rozrůstat a poskytoval celou škálu barviv brilantních odstínů, které dříve nebylo možno z přírodních látek vyrobit. Tato barviva také měla mnohem lepší odolnost.

2.2.2. Rozdělení organických barviv

2.2.2.1. Podle vzniku a výskytu

Podle vzniku a výskytu dělíme barviva na:

- Přírodní - extrakty rostlinného nebo živočišného původu (např. šafrán, indigo...)
- Syntetická - barviva vyráběná člověkem cestou organických syntéz

2.2.2.2. Podle struktury

Podle struktury rozeznáváme:

- Azobarviva
- Arylmetanová barviva
- Anthrachinonová barviva
- Indigoidní barviva
- Pyrrolová barviva
- Polyenová barviva
- Chinonová barviva
- Indolová barviva
- Pyranová barviva
- Oligopyrrolová barviva
- Pteridinová barviva
- a další

2.2.2.3. Podle způsobu použití:

- **Přímá barviva** jsou barviva, jimiž se textilní výrobky barví prostým ponořením do barvicí lázně. Tato barviva se dále dělí na kyselá, zásaditá, substantivní a reaktivní.
- **Mořidlová barviva** vyžadují před vybarvováním výrobku jeho úpravu tzv. mořidly. Pro kyselá barviva se jako mořidla používají především hydroxidy některých kovů (Al, Cr, Fe). Pro barviva zásaditá se používá nejčastěji přírodní cukerná látka – tanin.
- **Barviva vyvíjená na vláknu**, jejichž barevná forma vzniká vyvíjením z tzv. leukoformy barviva (též „kypa“) oxidací přímo na vláknu. „Kypa“ je roztok barviva zredukovaného pomocí redukčních činidel (např. dithioničitan sodný) na rozpustnou leukoformu barviva, kterou vlákno snadno adsorbuje a poutá vodíkovými můstky. Oxidací tkaniny napuštěné „kypou“ se regeneruje původní ve vodě nerozpustné barvivo – barevná forma. To je pak na vláknu vázáno fyzikálními silami podobně jako leukoforma. Nejznámějším kypovým barvivem je indigo. Mezi barviva vyvíjená na vláknu patří rovněž některá azobarviva, která se „vyvíjejí“ z příslušné diazoniové soli (chlazené ledem) alkalickým roztokem některého fenolu.

2.2.3. Azobarviva

Azobarviva jsou organické sloučeniny charakterizované azoskupinou $-N=N-$, která je spojena se systémem sp^2 hybridizovaných uhlíků. Podle počtu azoskupin se dělí na monoazobarviva, disazobarviva, tisazobarviva, a polyazobarviva. Obvykle je azoskupina napojena na benzenový nebo naftalenový kruh, a v posledních letech i na heterocyklus. Azobarviva tvoří přes 50 % všech vyráběných barviv a uplatňují se ve většině koloristických tříd.

2.3. Metody stanovení organických barviv a rozkladných produktů

Kvůli nepřetržitému vývoji nových barviv s lepšími barvicími vlastnostmi a menším rizikem pro složky životního prostředí je důležité mít i vhodné analytické přístroje a postupy pro určení struktury barviv, vedlejších produktů, nečistot a také degradačních produktů.

2.3.1. Kapalinová chromatografie

Kolonová kapalinová chromatografie (*liquid column chromatography, LC*) je metoda již dlouho známá. V klasickém provedení (kolony délky až 0,5 m, vnitřní průměr kolem 10 mm, průměr částic stacionární fáze 0,05 až 0,1 mm) se používala až do poloviny šedesátých let. Mobilní fáze se pohybovala gravitací, průtok činil řádově jednotky mililitrů za minutu. Separace byly málo účinné (desítky teoretických pater) a doba analýzy dlouhá (až několik hodin). Klasická kapalinová chromatografie se stále používá pro separace jednoduchých směsí, např. k oddělení rušících složek před spektrofotchemickým nebo elektrochemickým stanovením. Pro separaci komplikovaných směsí látek je ale tato metoda prakticky nepoužitelná. K těmto účelům v současné době slouží vysokoúčinná kapalinová chromatografie (*high performance liquid chromatography, HPLC*) [8].

Moderní analytická vysokoúčinná kapalinová chromatografie se od klasické kolonové kapalinové chromatografie odlišuje především tím, že pracuje s kratšími kolonami (3 – 30 cm) a menším vnitřním průměrem (0,5 – 4 mm) a s vysokou účinností (více než 40 000 teoretických pater). Vysoké účinnosti se dosahuje použitím náplní s malými částicemi (střední průměr 1 – 10 μm) s úzkou distribucí velikostí. S těmito kolonami se musí pracovat při vyšších tlacích (až do 100 MPa), aby bylo možno dosáhnout přijatelného průtoku a doby analýzy [9].

Separace složek vzorku je založena na distribuci vzorku mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, z nichž jedna je mobilní a druhá stacionární. Rozdíly v distribuci jednotlivých složek mezi oběma fázemi vedou k tomu, že složky migrují kolonou s různými rychlostmi a vystupují z kolony v různém čase. To se na časové závislosti odezvy detektoru (chromatogramu) projeví vzájemně oddělenými elučními vlnami (píky) [9].

Mobilní fáze je v HPLC kapalná a stacionární fáze jsou zpravidla tuhé organické polymerní sorbenty či anorganické oxidy, nejčastěji s chemicky modifikovaným povrchem. Kapalnou stacionární fáze se v současné praxi téměř nepoužívají. Kombinaci použité stacionární a mobilní fáze označujeme jako chromatografický systém. Charakter a složení stacionární a mobilní fáze v HPLC určují termodynamický aspekt separačního procesu, tj. interakce mezi složkami vzorku a mobilní i stacionární fází. Podle interakcí, které v chromatografických systémech převažují, můžeme rozlišit čtyři základní typy chromatografických systémů [9]:

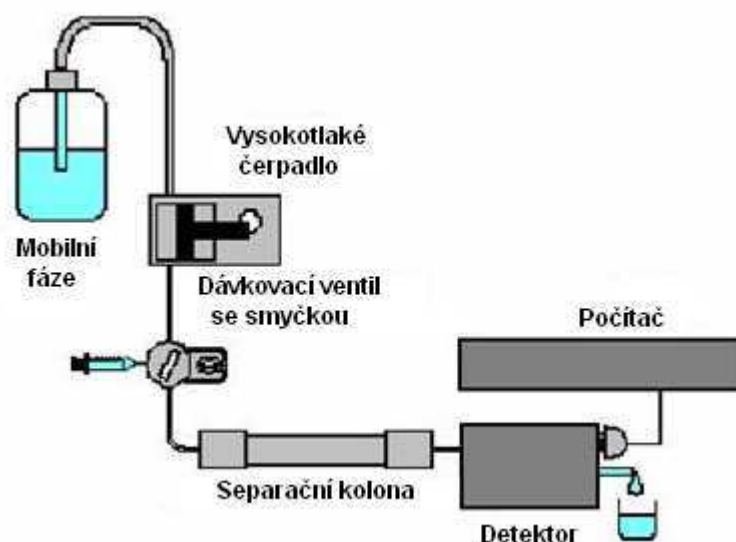
- Rozdělovací chromatografie
 - Chromatografie v systémech s normálními fázemi
 - Chromatografie v systémech s obrácenými fázemi

- Adsorpční chromatografie
- Chromatografie iontové výměny
- Gelová chromatografie

Základní vlastností, určující chromatografické chování, je polarita složek vzorku a fází. Pokud je polarita stacionární fáze větší než polarita fáze mobilní, jedná se o systém s normálními fázemi. Systémy, kde je mobilní fáze polárnější než fáze stacionární, se označují jako systémy s obrácenými fázemi [9].

2.3.1.1. Kapalinový chromatograf

Kapalinový chromatograf [Obr. 4] je tvořen zásobníky mobilní fáze, směšovacím zařízením, čerpadlem, dávkovacím zařízením, kolonou a detektorem. Novější typy kapalinových chromatografů obsahují také odplyňovač. Pokud kapalinový chromatograf degaser neobsahuje, musí být mobilní fáze odplyněna v ultrazvuku.



Obrázek č. 4: Schéma HPLC [13].

Kapalinový chromatograf může obsahovat zásobníky více kapalin. Systémy ovládané mikroprocesory jsou schopny přesně přivádět mobilní fázi buď s konstantním složením (izokratická eluce), nebo se složením, které se mění podle předem daného programu (gradientová eluce).

Mobilní fáze se do kolony čerpá pístovými nebo membránovými čerpadly. Pístové čerpadlo je válec, do něhož je definovanou rychlostí zasouván píst. Rychlost pístu je přímo úměrná průtoku mobilní fáze. Membránové čerpadlo se liší tím, že má prostor s pístem naplněný hydraulickou pracovní kapalinou. Ten je oddělen od pracovního prostoru pro mobilní fázi membránou. Obvykle pracují dvě čerpadla tak, aby na sebe navazovaly fáze výtlačku a fáze sání [7;10].

Roztok vzorku se dávkuje do protékající mobilní fáze na horní konec kolony nebo blízko něho. Dávkování injekční stříkačkou přes pryžové septum (těsnění) proti vysokému tlaku

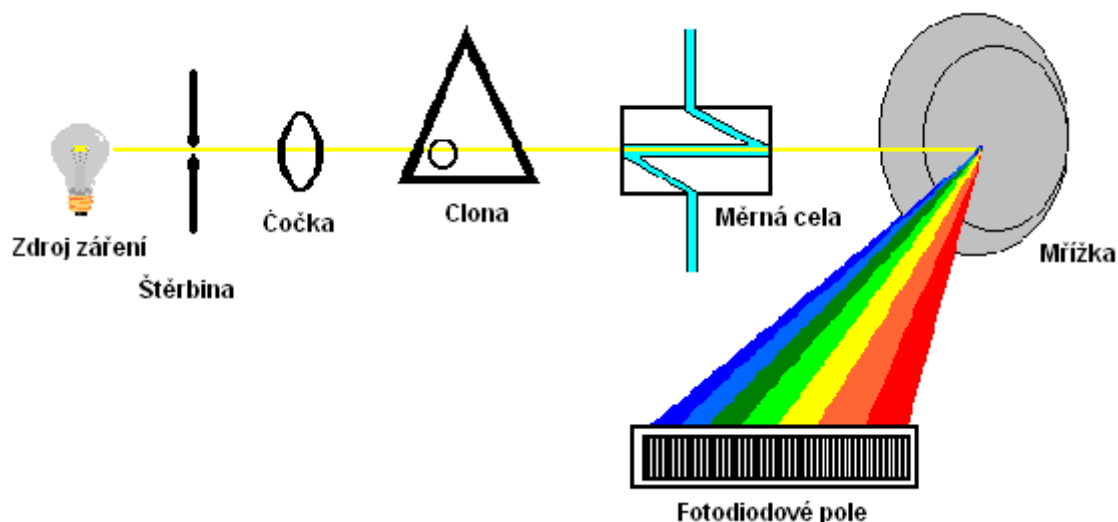
je možné z hlediska těsnosti do tlaků 10 MPa [7]. Ruční dávkování však může způsobit horší přesnost nastříkovaného objemu. Výhodnější je dávkování obtokovým dávkovacím kohoutem [7]. Dávkovací vysokotlaké obtokové ventily umožňují dávkovat i při tlaku 60 až 80 MPa. Automatické dávkovače spojené se zásobníkem vzorků, ve kterém jsou umístěny vialky uzavřené pryžovým septem, se nazývají autosamplery [6;7].

Dávkované vzorky jsou unášeny mobilní fází do kolony. Kolony jsou obvykle vyrobeny z nerezové oceli, avšak mohou být i skleněné nebo plastové. Jejich vnitřní průměr se pohybuje řádově od 0,5 do 4 mm [9]. Z kolony je eluát veden do detektoru. Signál detektoru se vyhodnocuje počítačem [8].

2.3.1.2. Detektory v HPLC

Na detektory pro HPLC jsou kladeny mimořádné požadavky jako je nízká mez detekce (detekce látek v roztoku v koncentracích ng až $\mu\text{g/ml}$), reprodukovatelnost a linearita odezvy, nezávislost odezvy na složení mobilní fáze při gradientové eluci a také univerzálnost (detekce všech oddělených složek vzorku).

Nejčastěji se v současné praxi HPLC používají *spektrofotometrické detektory* pracující v ultrafialové a viditelné oblasti elektromagnetického záření. Spektrofotometrický detektor měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony, a proto musí detekovaná látka absorbovat záření použité vlnové délky a současně musí toto záření co nejméně absorbovat mobilní fáze. Detektor může mít pevnou vlnovou délku (nejčastěji 254 nm), u složitějších je možné nastavení vlnové délky pomocí monochromátoru a nejdokonalejší může proměřit absorpční spektrum v určené oblasti vlnových délek pomocí diodového pole (*Diode Array Detector - DAD*) [Obr. 5]. Nejčastěji se používají dvoupaprskové spektrofotometry s průtokovou detekční celou. Cela musí být dostatečně malá při dostatečně dlouhé optické dráze (pro zachování potřebné citlivosti detekce). Detektor s diodovým polem opakovaně zaznamenává celá spektra během průchodu látky květou. Získají se tak trojrozměrné chromatogramy (retenční čas, absorbance, vlnová délka). Tyto detektory mají význam především při určení homogenity píku. Spektrofotometrické detektory jsou poměrně jednoduché, provozně spolehlivé, lze jimi detekovat velký počet látek a jsou kompatibilní s gradientovou elucí [8-11].



Obrázek č. 5: Schéma spektrofotometrického detektoru diodového pole [12].

Jedním z nejcitlivějších detektorů používaných v kapalinové chromatografii je *fluorimetrický detektor*. Používá se k detekci látek vykazujících přirozenou fluorescenci nebo látek, které lze na fluoreskující deriváty převést. Detekovaná látka v cele detektoru absorbuje budící záření z ultrafialové oblasti, jehož část pak vyzáří ve formě fluorescenčního záření o vyšší vlnové délce. Toto záření se zpravidla měří pod úhlem 90° k záření budicímu. Zdrojem budícího záření může být rtuťová výbojka, deuteriová, wolframová nebo xenonová lampa nebo laser. Tento detektor je využíván tehdy, je-li vyžadována současně vysoká selektivita a citlivost měření, tj. při stopových analýzách látek v komplikovaných maticích, např. při sledování metabolitů léčiv, při analýze aminokyselin, složek nukleových kyselin atd. [8-10].

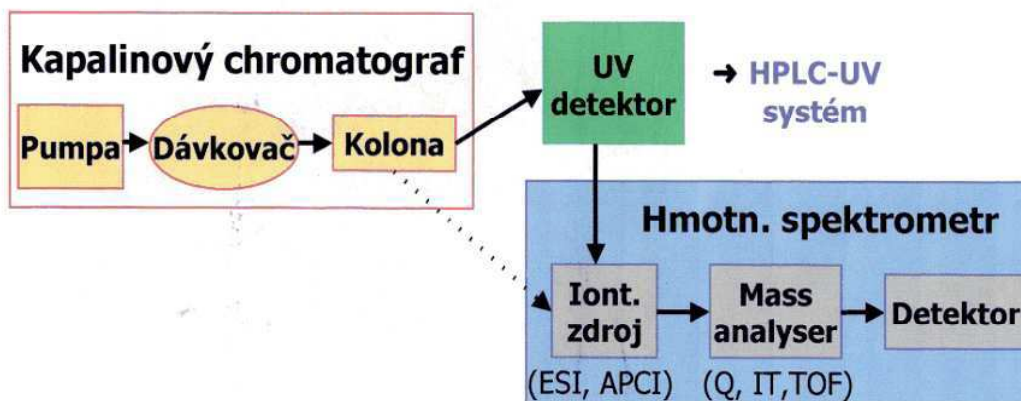
2.3.1.3. HPLC-MS

V posledních letech byl zaznamenán velký pokrok v oblasti přímého spojení separačních a spektrálních technik. V prvním kroku se směs látek rozdělí separační technikou vhodnou pro danou směs (např. GC, HPLC, kapilární elektroforéza, planární chromatografie) a ve druhém kroku po rozdělení látek se vhodnou spektrální metodou (např. hmotnostní spektrometrie, UV/VIS spektrometrie, IČ spektrometrie) získají strukturální informace o jednotlivých sloučeninách. V optimálním případě je možné identifikovat jednotlivé složky neznámé směsi nebo alespoň částečně odvodit jejich struktury [14].

Velký úspěch techniky GC-MS podnítil intenzivní výzkum možností technicky náročnějšího spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS). Hmotnostní spektrometr pracuje za vysokého vakua (řádově 10^{-3} až 10^{-5} Pa), zatímco na výstupu z kapalinového chromatografu jsou analyzované látky nesené v proudu kapaliny za atmosférického tlaku (průtoky většinou 0,5 až 2 ml.min⁻¹). Převedení analyzovaných látek do plynné fáze a odstranění velkého nadbytku mobilní fáze jsou hlavní problémy spojení HPLC-MS [14].

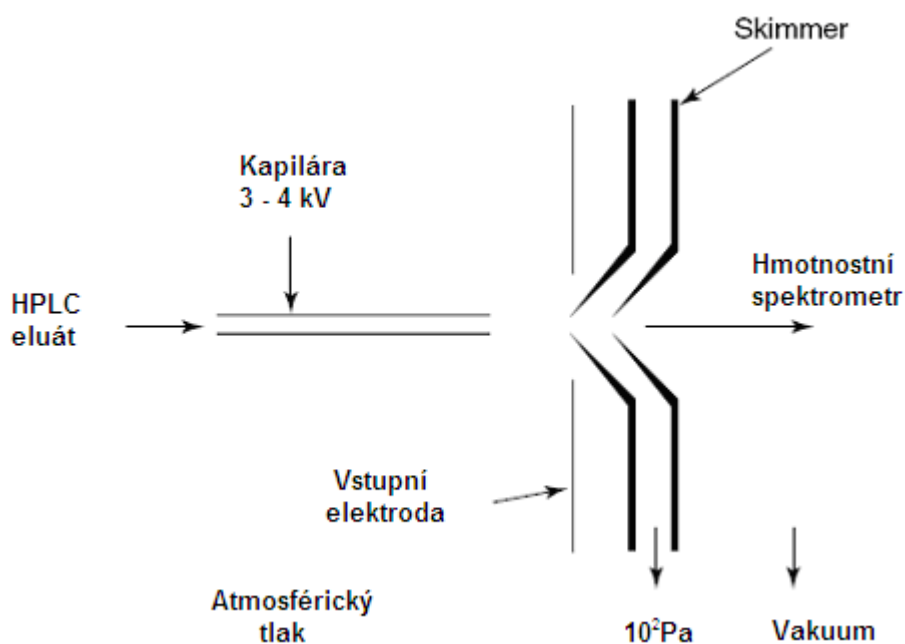
V posledních letech byly také navrženy speciální ionizační techniky pro spojení hmotnostní spektrometrie s HPLC (termosprej, elektrosprej, chemická ionizace za atmosférického tlaku), které patří mezi tzv. „měkké“ ionizační. Jednoduchost hmotnostních spekter získaných „měkkými“ ionizačními technikami je výhodná pro určení M_R neznámé látky, ale na druhé straně malé množství fragmentových iontů (případně jejich plná absence) může znesnadňovat odvození struktury, což lze vyřešit použitím spojení tandemové hmotnostní spektrometrie s HPLC (HPLC-MS-MS) [14].

Schéma HPLC/MS systému



Elektrosprej (ESI)

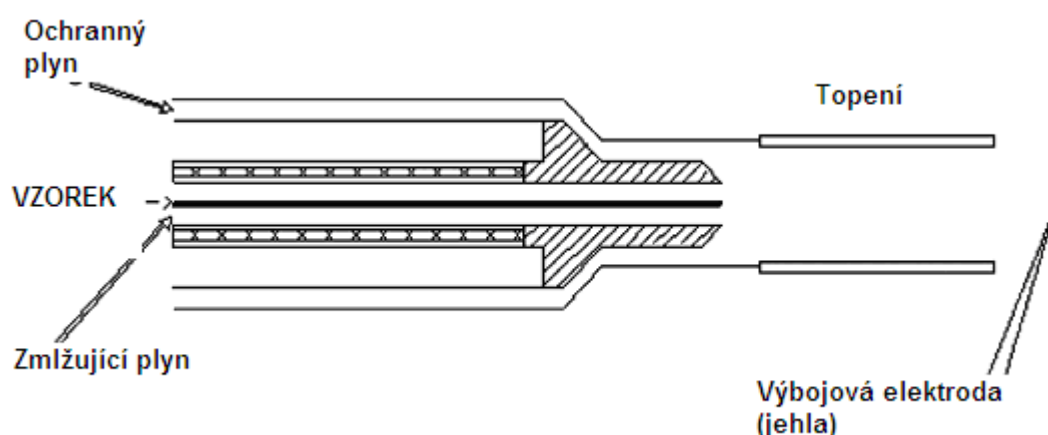
Při ionizaci elektrosprejem [Obr. 6] prochází eluát po výstupu z chromatografické kolony kovovou kapilárou, na které je vloženo vysoké napětí (3-4 kV), takže malé kapičky vznikající na výstupu z kapiláry nesou vlivem vysokého gradientu elektrického pole kladný nebo záporný náboj podle polarity napětí vloženého na kapiláru. Dalším odpařováním rozpouštědla dochází ke zmenšení velikosti kapiček a tím i ke zvýšení hustoty povrchového náboje, až dojde k rozpadu na menší kapičky (tzv. Coulombická exploze) a nakonec se uvolní protonovaný molekulární iont $[M+H]^+$ nebo adukt molekuly se sodným iontem $[M+Na]^+$ při snímání kladných iontů, resp. deprotonovaný molekulární iont $[M-H]^-$ při snímání záporných iontů. Fragmentové ionty bývají většinou málo intenzivní nebo zcela chybí [14].



Obrázek č. 6: Schématické znázornění elektrospreje [20]

Chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI)

Chemická ionizace za atmosférického tlaku [Obr. 7] (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) patří spolu s ESI mezi ionizační techniky, kdy ke vzniku iontů dochází za atmosférického tlaku. Uspořádání iontového zdroje je podobné jako u ESI, avšak na kapiláře není vloženo napětí a u jejího konce je umístěna výbojová jehla (elektroda). Na konci kapiláry dochází k rozprášení eluátu pneumatickým zmlžovačem. Vzniklý aerosol je rychle odpařen v krátké zóně vyhřívané na vysokou teplotu (300 až 600 °C). Vložením napětí na výbojovou jehlu dochází ke vzniku koronového výboje, jímž jsou ionizovány molekuly mobilní fáze přítomné v plynné fázi ve velkém nadbytku vůči analytu. Ionty vzniklé z mobilní fáze (tzv. reakční plyn) následně ionizují molekuly analytu, podobně jako při klasické chemické ionizaci. Na rozdíl od elektrospreje lze APCI použít i v systémech s normálními fázemi a tato ionizační technika je méně citlivá k obsahu solí v mobilní fázi. Dříve se místo koronového výboje používala k ionizaci radioaktivní folie ^{63}Ni jako zdroj β -záření [14].

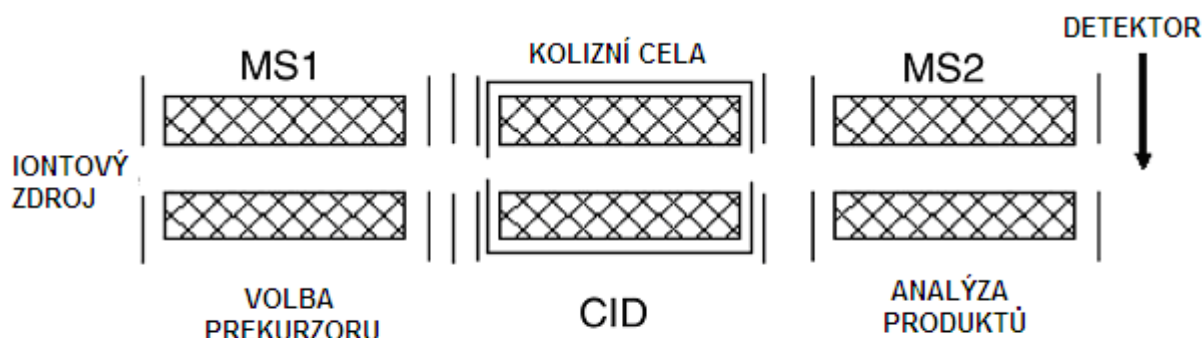


Obrázek č. 7: Základní schéma APCI sondy [21]

Trojítý kvadrupól [Obr. 8]

Zásadní nevýhodou použití měkkých ionizačních technik je většinou zanedbatelný rozsah fragmentace vznikajících iontů. Strukturní informace systému LC-MS s jedním hmotnostním analyzátozem je v naprosté většině případů omezena na určení molekulové hmotnosti separované látky. Pro účely podrobnějších strukturních studií je nutno použít komplexní systémy tandemové hmotnostní spektrometrie. Pro tyto účely slouží v LC-MS právě systém se třemi kvadrupóly [8].

Tento nástroj je pravděpodobně nepoužívanější a nejvšestranější v MS-MS. Skládá se jak už název napovídá ze tří kvadrupólů zapojených do série. První a třetí kvadrupól se používají jako hmotnostní analyzátoři a druhý jako kolizní cela. Pomocí prvního kvadrupolu se zvolí prekurzor, v kolizní cele dochází k jeho fragmentaci, přičemž potřebná energie se dodává kolizemi s molekulami kolizního plynu – tzv. kolizně indukovaná disociace (CID). Třetí kvadrupól pak slouží sejmutí produktového spektra [20, 21].



Obrázek č. 8: Schéma trojitého kvadrupólu [21]

2.3.1.4. Separace barviv HPLC-MS

Pravděpodobně nejvhodnější metodou pro analýzu barviv je použití ion-párové vysoce účinné kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií, při použití vhodné ionizační techniky.

Metodou HPLC-MS lze stanovit detailní strukturní informace jen pomocí iontového zdroje typu Particle Beam s elektronovou ionizací. Nic méně tato ionizační technika lze použít pouze pro azobarviva nízké polaroty. Nelze ji použít pro iontová barviva se dvěma nebo více sulfoskupinami.

Hmotnostní spektra získaná použitím měkkých ionizačních technik jako TSI, ESI, APCI nám poskytují informace pouze o molekulové hmotnosti a v některých případech i o počtu sulfoskupin na molekule barviva, a to pro širokou škálu polarit od nepolárních až k iontovým barvivům. Tyto techniky umožňují analýzu netěkavých iontových barviv s velkou molekulovou hmotností. Sulfoskupina je velmi kyselá a proto je ve vodném roztoku úplně disociovaná, takže tvorba iontů $[R-(SO_3)_n]^{n-}$ je velmi snadná. Z tohoto důvodu je sledování záporných iontů MS mnohem citlivější než iontů kladných. APCI a TSI dovolují stanovit sloučeniny obsahující až dvě sulfoskupiny a APCI spektra mohou obsahovat i fragmentové ionty.

Hmotnostní spektra při snímání záporných iontů při použití ESI mohou být použita pro stanovení sloučenin s jednou až osmi sulfoskupinami[15-19].

2.3.2. Další metody stanovení organických barviv

2.3.2.1. Kapilární elektroforéza (CE)

Ke stanovení syntetických barviv v se stále častěji využívá elektromigračních metod, a to především kapilární elektroforézy. Jedná se o kyselá (azo a triarylmethanová) aniontová barviva obsahující karboxy-, sulfo- nebo hydroxyskupiny, které tvoří negativně nabitě ionty. Kapilární elektroforéza je tedy ideální metodou ke stanovení těchto látek, neboť je schopna separovat všechna barviva s rozdílnými funkčními skupinami během jedné analýzy. Další výhodou je malá spotřeba rozpouštědel a malé množství vzorku pro analýzu [22].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Výbojová komora

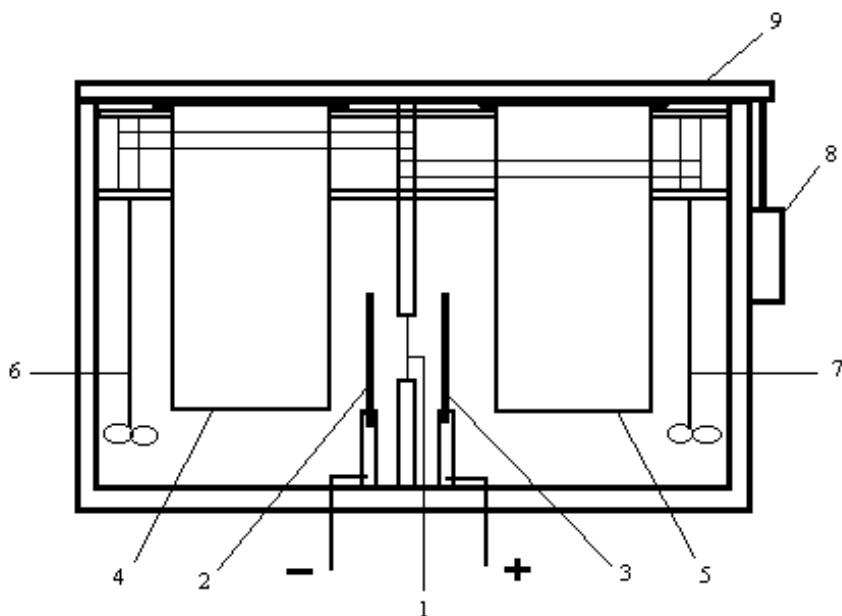
Schéma výbojové komory je na obr. 9 a její fotografie je na obr. 10. Hlavní část byla tvořena soustavou dvou plochých elektrod oddělených přepážkou s otvorem. Výbojová komora tak byla rozdělena na dvě části. V otvoru byla umístěna dielektrická diafragma s malou dírkou [Obr. 9c)]. Na jednu z elektrod (anodu) bylo přiváděno stejnosměrné kladné vysoké napětí ze zdroje, druhá elektroda (katoda) byla uzemněna. Obě ploché elektrody o rozměrech 50 x 120 mm byly vyrobeny z leštěné nerezavějící oceli a byly umístěny v držácích podél středové přepážky ve vzdálenosti 20 mm od diafragmy.

Stěny a středová přepážka výbojové komory byly vyrobeny z polykarbonátové desky o tloušťce 16 mm. Objem kapaliny jedné části komory byl 1500 ml. Ve středové přepážce se nacházel otvor o průměru 30 mm. Jeho poloha byla přibližně ve středu přepážky. Do něj byla umístěna diafragma z polyetylentereftalátu (PET) o tloušťce 0,25 mm a byla upevněna závitem. V diafragmě se nacházela jedna dírka definovaného průměru (0,65 mm).

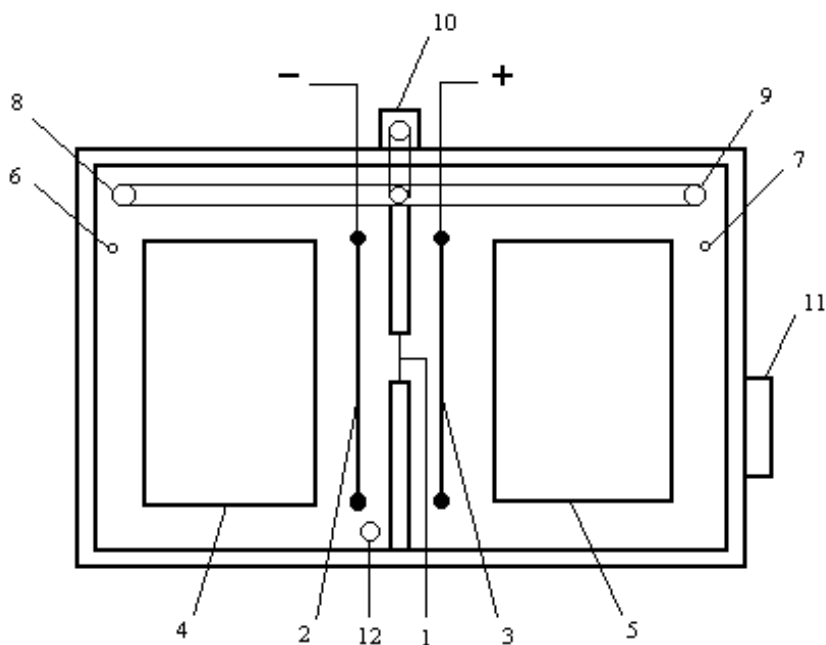
V průběhu výboje bylo nutno kapalinu ve výbojové komoře chladit, což bylo zajišťováno dvěma chladicími nádobami z nerezavějící oceli o rozměrech 85 x 115 x 145 mm. Každá z nich byla přibližně ve středu jedné části výbojové komory. Jako chladicí médium byly použity ledové kostky. Teploměr byl umístěn ve vnitřním rohu záporné části komory.

K promíchávání kapaliny byla použita dvě vrtulová míchadla, každé v jedné části komory.

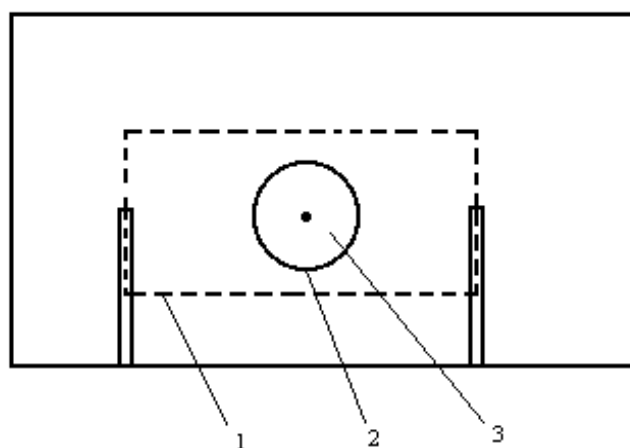
Aby při práci s výbojovou komorou nedošlo k nežádoucímu zranění vysokým napětím, byl do elektrického obvodu zařazen bezpečnostní spínač. Tento prvek elektrického obvodu byl zapojen za autotransformátor vysokonapětového zdroje. Vlastní spínací mechanismus byl umístěn z vnější strany na boku komory [Obr. 9]. K hornímu víku byla pevně připojena kovová spojka, jež v momentě zavření víka sepnula spínač, a obvodem tak mohl procházet elektrický proud. V okamžiku zvednutí horního víka se spínač rozepnul, obvod byl přerušen a ze zdroje přestalo být do výbojové komory dodáváno vysoké napětí.



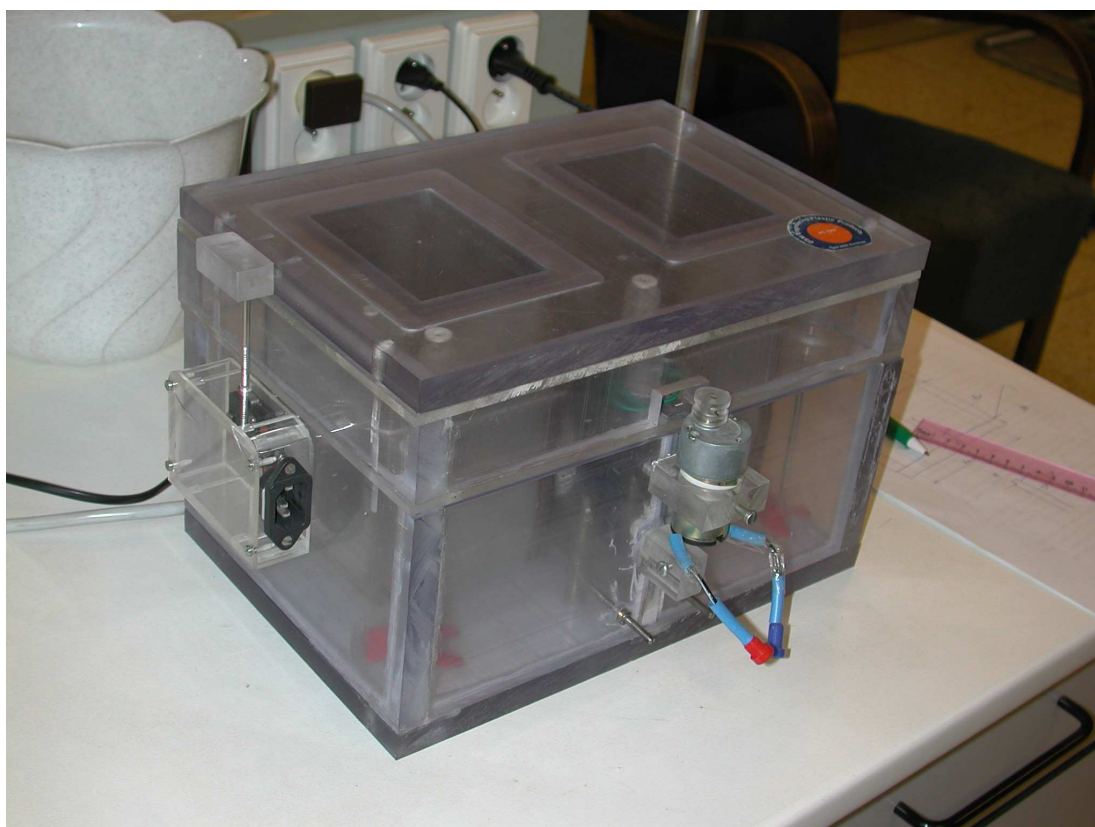
Obrázek č. 9 a): Schéma výbojové komory – nárys: 1 – dielektrická diafragma, 2 – záporná elektroda (katoda), 3 – kladná elektroda (anoda), 4, 5 – chladicí nádoby, 6, 7 – vrtulová míchadla, 8 – bezpečnostní spínač, 9 – víko.



Obrázek č. 9 b): Schéma výbojové komory – půdorys: 1 – dielektrická diafragma, 2 – záporná elektroda (katoda), 3 – kladná elektroda (anoda), 4, 5 – chladicí nádoby, 6, 7 – otvory pro odběr vzorků, 8, 9 – vrtulová míchadla, 10 – elektromotorek, 11 – bezpečnostní spínač, 12 – teploměr.



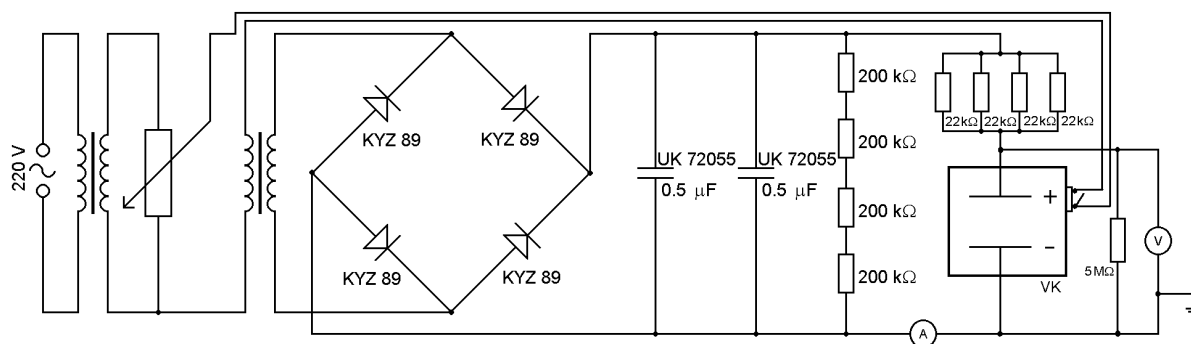
Obrázek č. 9 c): Schéma výbojové komory – přepážka rozdělující obě části výbojové komory:
 1 – elektroda, 2 – otvor v přepážce, 3 – dielektrická diafragma s dírkou (počáteční průměr
 0,65 mm).



Obrázek č. 10: Foto reaktoru (výbojová komora).

3.2. Zdroj vysokého napětí

Jako zdroj vysokého napětí byl použit stejnosměrný zdroj sestavený na ÚFP AV ČR v Praze. Maximální napětí, jež šlo z tohoto zdroje získat, bylo 3,5 kV a maximální stejnosměrný proud okolo 200 mA. Při vyšších hodnotách sice zdroj poškozen nebyl, ale silně se zahříval. Zapojení vysokonapěťového zdroje do elektrického obvodu s výbojovou komorou je na obr. 11.



Obrázek č. 11: Schéma zapojení zdroje stejnosměrného vysokého napětí do elektrického obvodu s výbojovou komorou.

3.3. Příprava roztoků

Experimentální roztok byl připravován rozpouštěním NaCl v deionizované vodě a barviva Saturnová červeň L4B, jehož přidávané množství do objemu připravovaného roztoku bylo vždy konstantní (0,200 g/l). Jako elektrolyty mohou být použity soli anorganických kyselin, v tomto případě NaCl. Navažované množství soli bylo odvozeno podle požadované vodivosti výsledného roztoku. Byl připraven roztok o vodivosti 500 μS navážka tedy činila 0,645 g NaCl. Objem připravovaného roztoku činil 3 litry, vždy 1,5 litru pro každou část výbojové komory. Připravený roztok byl vychlazen na 8 °C.

3.4. Odebírání vzorků

Vzorky byly odebírány současně z obou částí výbojové komory skrze speciální otvory (viz obr. 7 b)). K odběru byly použity dvě injekční stříkačky o objemu 5 ml, každá pro jednu část komory. Na stříkačce byl nasunut nástavec z plastové trubičky, jelikož vlastní stříkačkou nebylo možno otvorem dosáhnout až k hladině kapaliny v komoře. Pro správné odebrání vzorku bylo potřeba injekční stříkačku vždy několikrát řádně propláchnout opakovaným nasáváním kapaliny z komory (alespoň desetkrát). Vzorky byly odebírány v množství 3-4 ml a ihned byly vstříknuty do vialek. Vzorky byly odebírány před začátkem rozkladu, po 10, 20, 30, 40, 50 a po 60 minutách rozkladu výbojem. Po dobu odebírání vzorku a výměny chladicího média bylo napětí dodávané ze zdroje přerušeno, aby nedošlo k úrazu elektrickým proudem.

3.5. Analýza rozkladných produktů HPLC/MS

3.5.1. Chemikálie, přístroje

Chemikálie

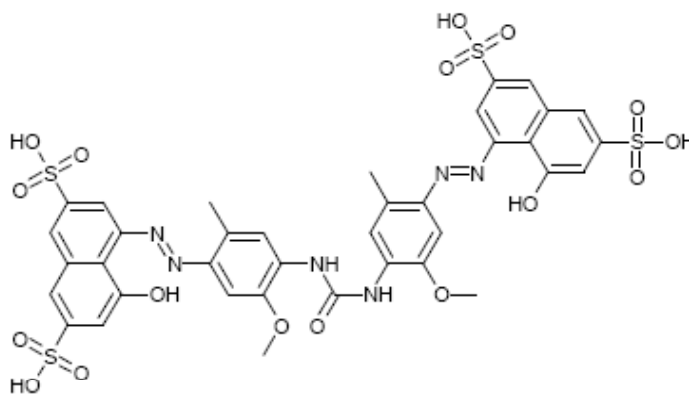
- Octan amonný LC-MS grade, BIOSOLVE, the Netherlands
- Methanol absolutní LC-MS grade, BIOSOLVE, the Netherlands
- Voda LC-MS grade, BIOSOLVE, the Netherlands
- Barvivo Direct Red 79, Synthesia, a.s., ČR

Kapalinová chromatografie s ESI-MS-MS detektorem

- LC modul Agilent 1200 Series, Agilent, USA
- Přístroj Agilent 6410 Triple Quad LC/MS, Agilent, USA
- Iontový zdroj ESI, Agilent, USA
- Kolona ZORBAX Eclipse XDB – C18, velikost 4,6 × 75 mm, velikost částic 3,5 μm, Agilent, USA

3.5.2. Studované barvivo

- Saturnová červeň L4B - C.I. Direct Red 79
- $C_{37}H_{32}O_{17}N_6S_4$ ($C_{37}H_{28}O_{17}N_6S_4Na_4$)
- $M_r = 960,94$ (1048,87)
- 4-hydroxy-5-[4-[[4-[(8-hydroxy-3,6-disulfo-1-naphthyl)azo]-2-methoxy-5-methylphenyl]carbamoylamino]-5-methoxy-2-methyl-phenyl]azo-naphthalene-2,7-disulfonic acid
- Počet sulfokupin ($-SO_3H$): 4
- Strukturní vzorec



3.5.3. Analýza vzorků

Vzorky roztoku barviva odebrané před rozkladem a ve výše popsáných časech rozkladu byly analyzovány pomocí spojení vysoko-účinné kapalinové chromatografie (HPLC) a hmotnostního spektrometru s ionizací elektrosprejem jako detektoru.

Vzorky byly analyzovány na přístroji Agilent 1200 Series (HPLC) spojeného s přístrojem Agilent 6410 Triple Quad (LC/MS) [obr. 12].



Obrázek č. 12: Kapalinový chromatograf Agilent 1200 Series s hmotnostním spektrometrem Agilent 6410 Triple Quad (LC-MS systém)

Analýza byla provedena na koloně Zorbax Eclipse XDB-C18. S touto kolonou je možné pracovat v širokém rozmezí pH od 2 do 9.

Parametry použité kolony Zorbax Eclipse XDB-C18:

- Velikost: $4,6 \times 75$ mm
- Velikost částic: $3,5 \mu\text{m}$
- Plošný povrch: $180 \text{ m}^2/\text{g}$
- Nejvyšší pracovní teplota: 60°C

3.5.3.1. Parametry HPLC/MS analýzy

- Mobilní fáze: methanol; 5 mM vodný roztok octanu amonného (AA)
- Průtok mobilní fáze: 0,3 ml/min
- Gradient: viz. Tabulka č.1
- Nástřik vzorku: 30 μ l
- Teplota kolony: 25°C
- Délka analýzy: 50 min. (40 min. vlastní analýza, 10 min. pro ustálení gradientu)

- Detekce snímání záporných iontů v rozsahu m/z od 70 do 1200 Da
- Iontový zdroj ESI
 - Ionizační mód ESI-
 - Teplota iontového zdroje (source temperature) 100°C
 - Teplota sušícího plynu 200°C
 - Průtok sušícího plynu (desolvation gas flow) 11 L/min
 - Tlak zamlžovacího plynu 35 psi
 - Napětí na kapiláře (capillary voltage) 4 kV
 - Fragmentor (cone voltage) 30 V

Tabulka č.1: Průběh gradientu mobilní fáze.

| Čas (min) | 5 mM AA (%) | methanol (%) |
|-----------|-------------|--------------|
| 0 | 90 | 10 |
| 20 | 20 | 80 |
| 40 | 20 | 80 |
| 50 | 90 | 10 |

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1. Určení vhodného fragmentoru

Fragmentor je určité napětí, které se vkládá na první skimmer a vyvolává fragmentaci. Tato hodnota musela být nastavena tak, aby odezva detektoru (intenzita iontů) byla maximální.

Experiment byl proveden nastříkáním 10 μ l roztoku barviva Direct Red 79 o koncentraci 0,200g/l rozpuštěného ve vodě a malém množství methanolu pomocí autosampleru přímo do ESI zdroje hmotnostního spektrometru (bez kolony).

Bylo vyzkoušeno několik různých hodnot napětí fragmentoru a byl určen optimální fragmentor, který byl pak používán při všech analýzách. Výsledné hodnoty odezvy na hlavní ionty pozorované v barvivu pro různé hodnoty fragmentoru jsou uvedeny v tabulce č.2.

Poměry m/z hlavních pozorovaných fragmentových iontů barviva Direct Red 79 a ESI-MS spektrum je uvedeno v Příloze č. 5 [15].

- $[M-2H]^{2-}$ m/z = 479
- $[M-3H]^{3-}$ m/z = 319
- $[M-4H]^{4-}$ m/z = 239

Tabulka č.2: Hodnoty odezvy detektoru pro různé hodnoty fragmentoru

| Hodnoty odezvy pro různé hodnoty fragmentoru | | | | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| m/z | Fr. 20 V | Fr. 30 V | Fr. 40 V | Fr. 50 V | Fr. 60 V | Fr. 80 V |
| 239 | $2,4 \cdot 10^5$ | $3,1 \cdot 10^5$ | $2,3 \cdot 10^5$ | $2,8 \cdot 10^5$ | $2,7 \cdot 10^5$ | $2,5 \cdot 10^5$ |
| 319 | $2,1 \cdot 10^5$ | $2,7 \cdot 10^5$ | $2,0 \cdot 10^5$ | $2,4 \cdot 10^5$ | $2,7 \cdot 10^5$ | $2,8 \cdot 10^5$ |
| 479 | $4,8 \cdot 10^4$ | $6,5 \cdot 10^4$ | $4,6 \cdot 10^4$ | $4,8 \cdot 10^4$ | $6,2 \cdot 10^4$ | $6,5 \cdot 10^4$ |

Ze získaných hodnot bylo optimální napětí fragmentoru stanoveno na 30 V a bylo používáno při všech dalších analýzách.

4.2. Vlastní analýza rozkladných produktů a interpretace spekter

Vzorky byly odebírány způsobem uvedeným v kapitole 3.4. Odebírání vzorků a analyzovány metodou uvedenou v kapitole 3.5.3.1. Parametry HPLC/MS analýzy. Stejnou metodou byl proměřen i blank (LC-MS voda) pro eliminaci píku které by mohly být způsobeny případnými nečistotami v mobilní fázi nebo mohly pocházet z kolony a nepatřily tedy ani nečistotám v barvivu DR79 ani rozkladným produktům tohoto barviva .

4.2.1. Identifikace píků rozkladných produktů

Po proměření blanku a vzorků v 0-60 minutách rozkladu diafragmovým výbojem se ze získaných chromatogramů se musely určit píky přítomné v blanku, v roztoku barviva před rozkladem a roztoku barviva po rozkladu a identifikovat vzniklé rozkladné produkty barviva pro obě části výbojové komory (pozitivní a negativní výboj). Celé chromatogramy pro blank, barvivo před rozkladem a po 60 minutách rozkladu výbojem jsou uvedeny v Přílohách č. 1-4.

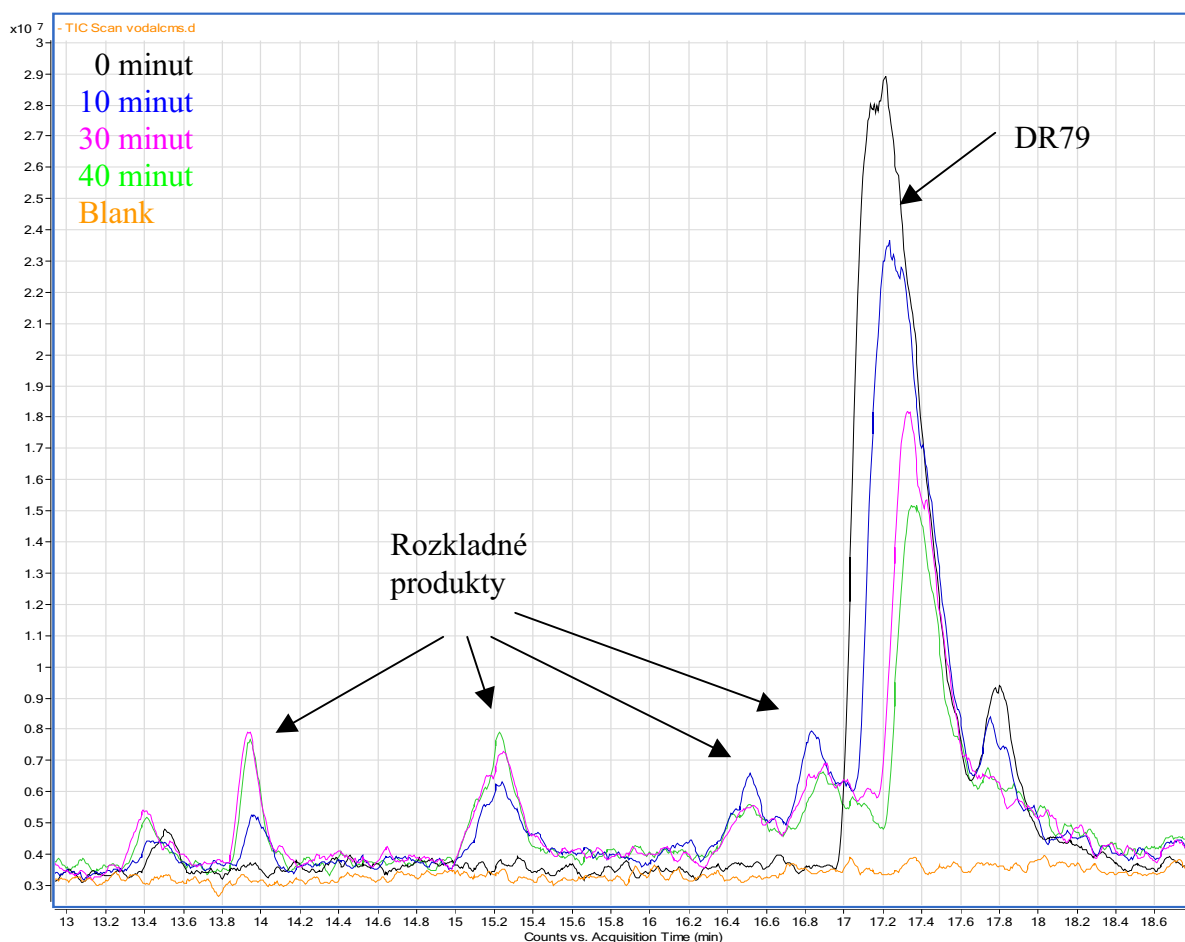
Porovnáním těchto chromatogramů, retenčních časů píků a ESI-MS spekter těchto píků bylo zjištěno které píky patří blanku a které roztoku barviva před rozkladem a po rozkladu pro obě části výbojové komory a byly z nich identifikovány píky patřící barvivu a jeho rozkladným produktům. Porovnání chromatogramů je uvedeno v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Porovnání retenčních časů píků v jednotlivých chromatogramech

| Chromatogram po nástřiku roztoku vzorku | | | | |
|---|-------|-------------------------------|--|--|
| Retenční čas píku (minuty) | Blank | Roztok po 0 minutách rozkladu | Roztok po 60 minutách rozkladu pozitivní výboj | Roztok po 60 minutách rozkladu negativní výboj |
| 2,00 | | | • | |
| 2,04 | | | | • |
| 2,10 | | | • | |
| 2,40 | | • | • | • |
| 2,88 | | • | • | • |
| 13,93 | | | | • |
| 14,88 | | | • | |
| 15,20 | | | | • |
| 16,50 | | | | • |
| 16,88 | | | | • |
| 17,30 | | DR79 | DR79 | DR79 |
| 17,79 | | • | • | • |
| 20,00 | • | • | • | • |
| 21,20 | | • | • | • |
| 21,60 | • | • | • | • |
| 22,90 | • | • | • | • |
| 24,10 | • | • | • | • |
| 26,40 | • | • | • | • |
| 27,60 | | • | • | • |
| 34,10 | • | • | • | • |

Z této tabulky bylo zjištěno že barvivo DR79 odpovídá pík s retenčním časem 17,30 minut.

Z chromatogramů pro různé časy odebrání vzorků je patrné jak je z časem barvivo DR79 degradováno a narůstá koncentrace rozkladných produktů. Je zde také vidět že v negativním výboji je barvivo degradováno s větší účinností než v pozitivním a že na začátku degradace vznikají produkty, které jsou s narůstajícím časem také degradovány [Obr. 13 a 14]

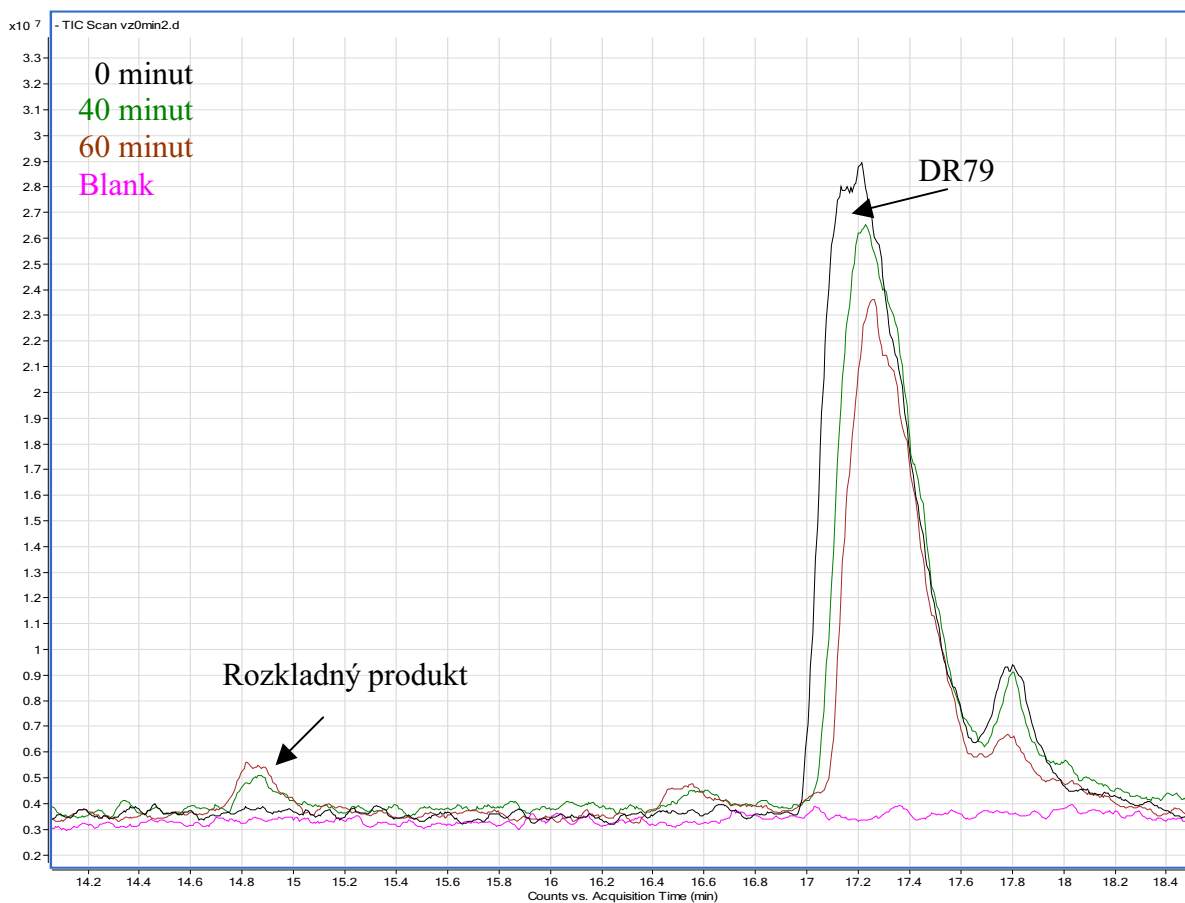


Obrázek č. 13: Degradace barviva a vznik rozkladných produktů pro negativní výboj

Po analýze roztoku vzorku po 60 minutách rozkladu negativním výbojem bylo po odečtení chromatogramů z analýzy blanku a roztoku před rozkladem identifikováno 5 rozkladných produktů. Jejich retenční časy a označení jsou uvedeny v Tabulce č. 4

Tabulka č. 4: Retenční časy a označení vzniklých rozkladných produktů pro negativní výboj

| Retenční čas (minuty) | Označení produktu |
|-----------------------|-------------------|
| 2,04 | A |
| 13,93 | B |
| 15,20 | C |
| 16,50 | D |
| 16,88 | E |



Obrázek č. 14: Degradace barviva a vznik rozkladných produktů pro pozitivní výboj

Po analýze roztoku vzorku po 60 minutách rozkladu pozitivním výbojem byly po odečtení chromatogramů z analýzy blanku a roztoku před rozkladem identifikovány 3 rozkladné produkty. Jejich retenční časy a označení jsou uvedeny v Tabulce č. 5

Tabulka č. 5: Retenční časy a označení vzniklých rozkladných produktů pro pozitivní výboj

| Retenční čas (minuty) | Označení produktu |
|-----------------------|-------------------|
| 2,00 | K |
| 2,10 | L |
| 14,88 | M |

4.2.2. Interpretace ESI-MS spekter a určení rozkladných produktů

Po určení píků rozkladných produktů se musela vyhodnotit naměřená ESI-MS spektra přiřazená těmto píkům. Tato metoda určení struktur vzniklých sloučenin není ovšem absolutní a k určení těchto struktur by byly nutné další analýzy např. jinou analytickou metodou nebo případně porovnání se standardy.

Podle ESI-MS spekter byly jako rozkladné produkty identifikovány podle molekulárních iontů $[M-H]^-$, $[M-2H]^{2-}$ a dalších fragmentací těchto iontů. Nejprve byla vždy určena molární hmotnost daného rozkladného produktu. U sulfonovaných sloučenin jsou většinou pozorovány molekulární ionty $[M-xH]^{x-}$. Podle nich je možné určit kolik je ve sloučenině sulfoskupin HSO_3^- .

Např. m/z hlavních pozorovaných molekulárních iontů barviva Direct Red 79. ESI-MS spektrum je uvedeno v Příloze č. 5 [15].

- $[M-2H]^{2-}$ m/z = 479
- $[M-3H]^{3-}$ m/z = 319
- $[M-4H]^{4-}$ m/z = 239 – z těchto molekulárních iontů bylo zjištěno že barvivo obsahuje čtyři sulfoskupiny

Takto bylo určeno zda rozkladné produkty obsahovaly nebo neobsahovaly sulfoskupiny a byly zkoumány další možné fragmentace vzniklých iontů podle ESI-MS spekter a tím bylo i určeno jestli by určená struktura mohla odpovídat těmto fragmentacím. Bohužel nemohla být naměřena MS-MS spektra pro bližší určení struktur z důvodu vady na regulátoru průtoku sušícího plynu přístroje Agilent 6410 Triple Quad.

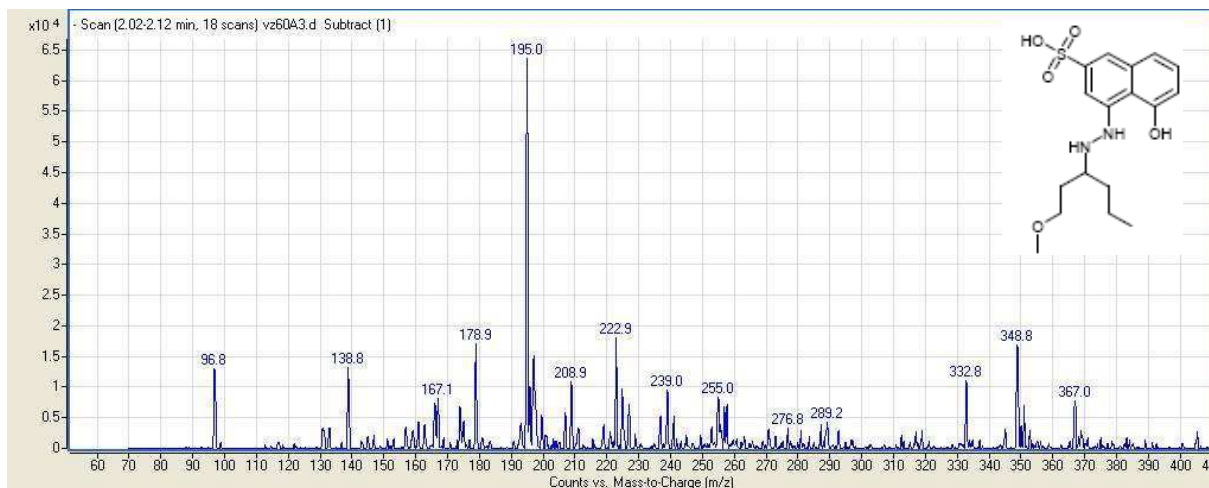
4.2.2.1. Produkty vzniklé v negativním výboji

V této části výboje bylo v chromatogramu identifikováno 5 rozkladných produktů a tyto produkty byly označeny podle hodnoty retenčního času jako A, B, C, D, E jak bylo již uvedeno v kapitole 2.2.1. *Identifikace piků rozkladných produktů.*

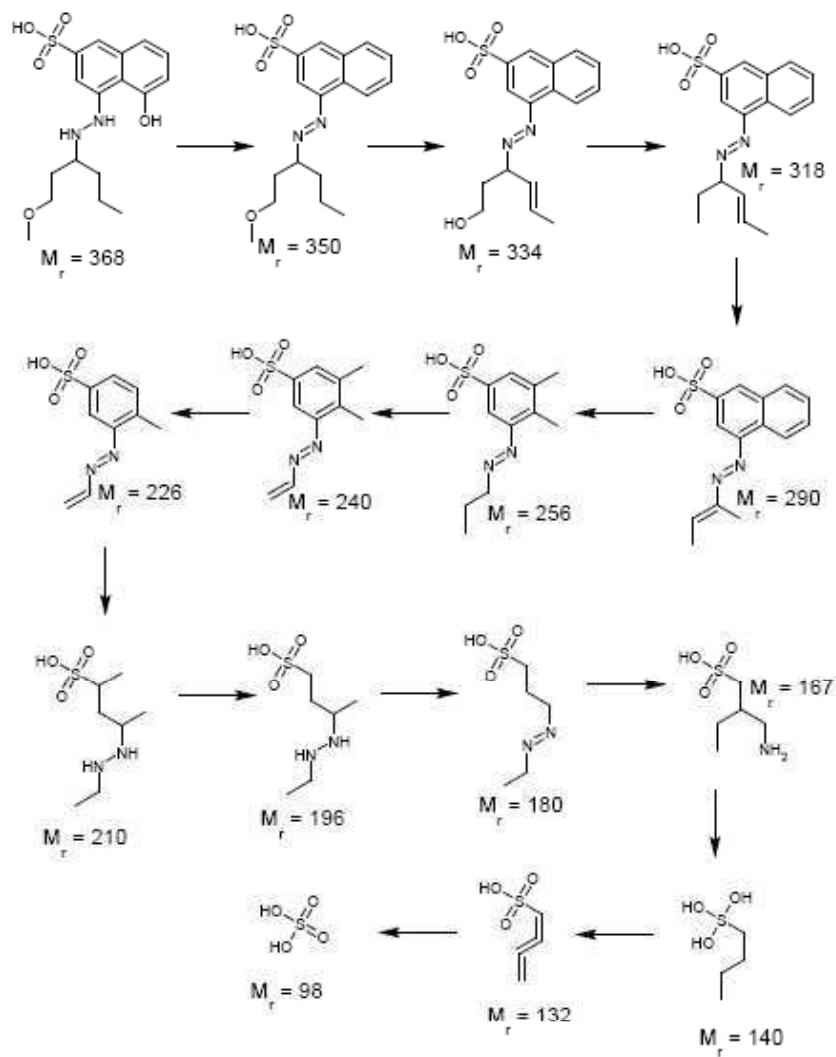
Rozkladný produkt A

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 15 a 16].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 368$.



Obrázek č. 15: ESI-MS spektrum rozkladného produktu A

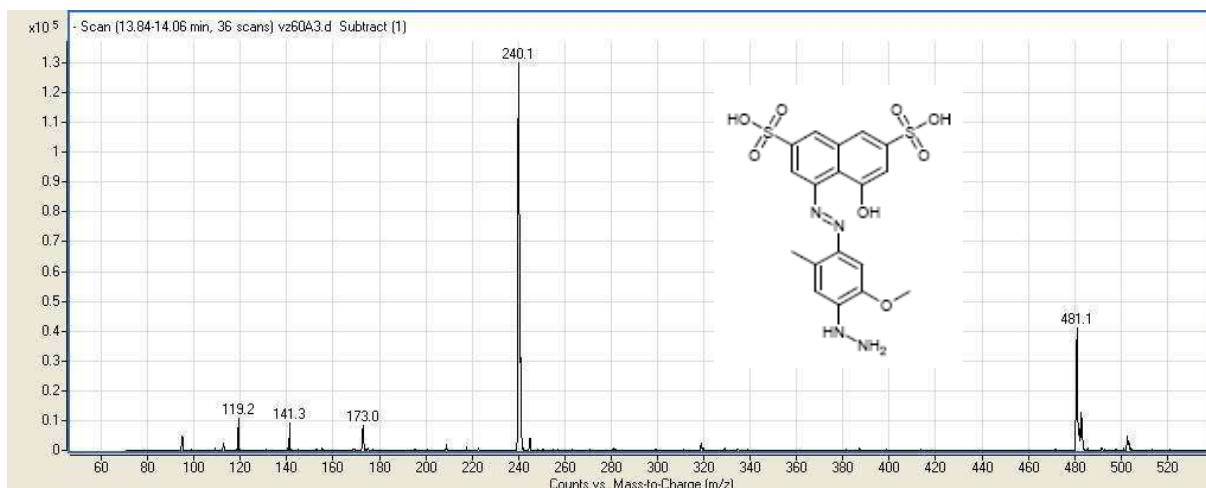


Obrázek č. 16: Fragmentační schéma rozkladného produktu A

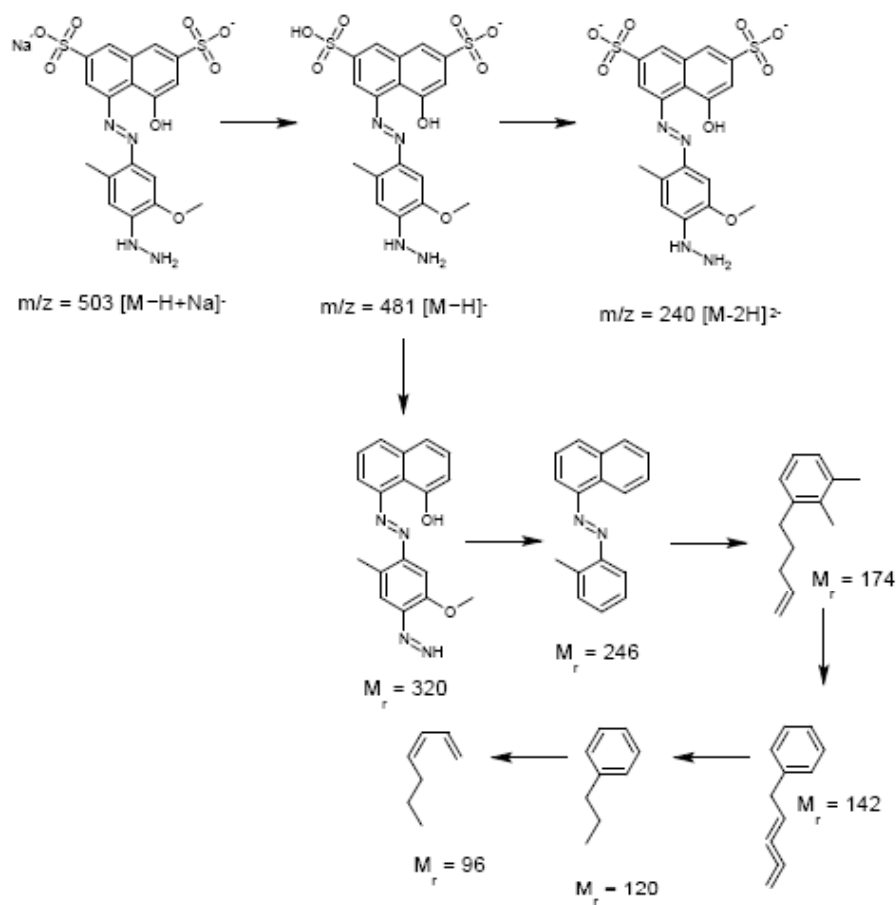
Rozkladný produkt B

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma pro tento produkt [Obr. 17 a 18].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 482$ a také že ve struktuře tohoto rozkladného produktu jsou dvě sulfoskupiny (molekulární ionty $m/z = 481 - [M-H]^-$ a $m/z = 240 - [M-2H]^{2-}$).



Obrázek č. 17: ESI-MS spektrum rozkladného produktu B

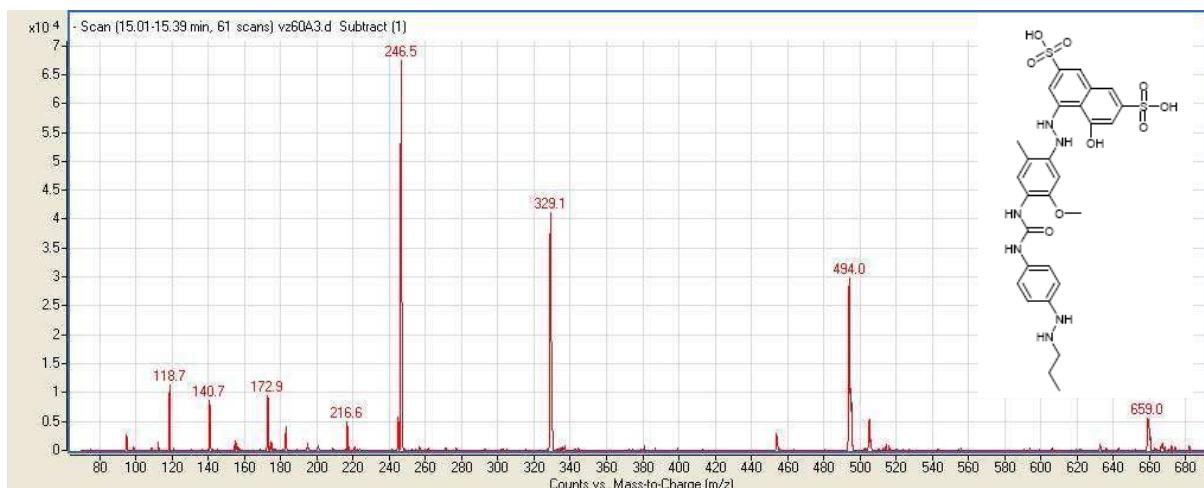


Obrázek č. 18: Fragmentační schéma rozkladného produktu B

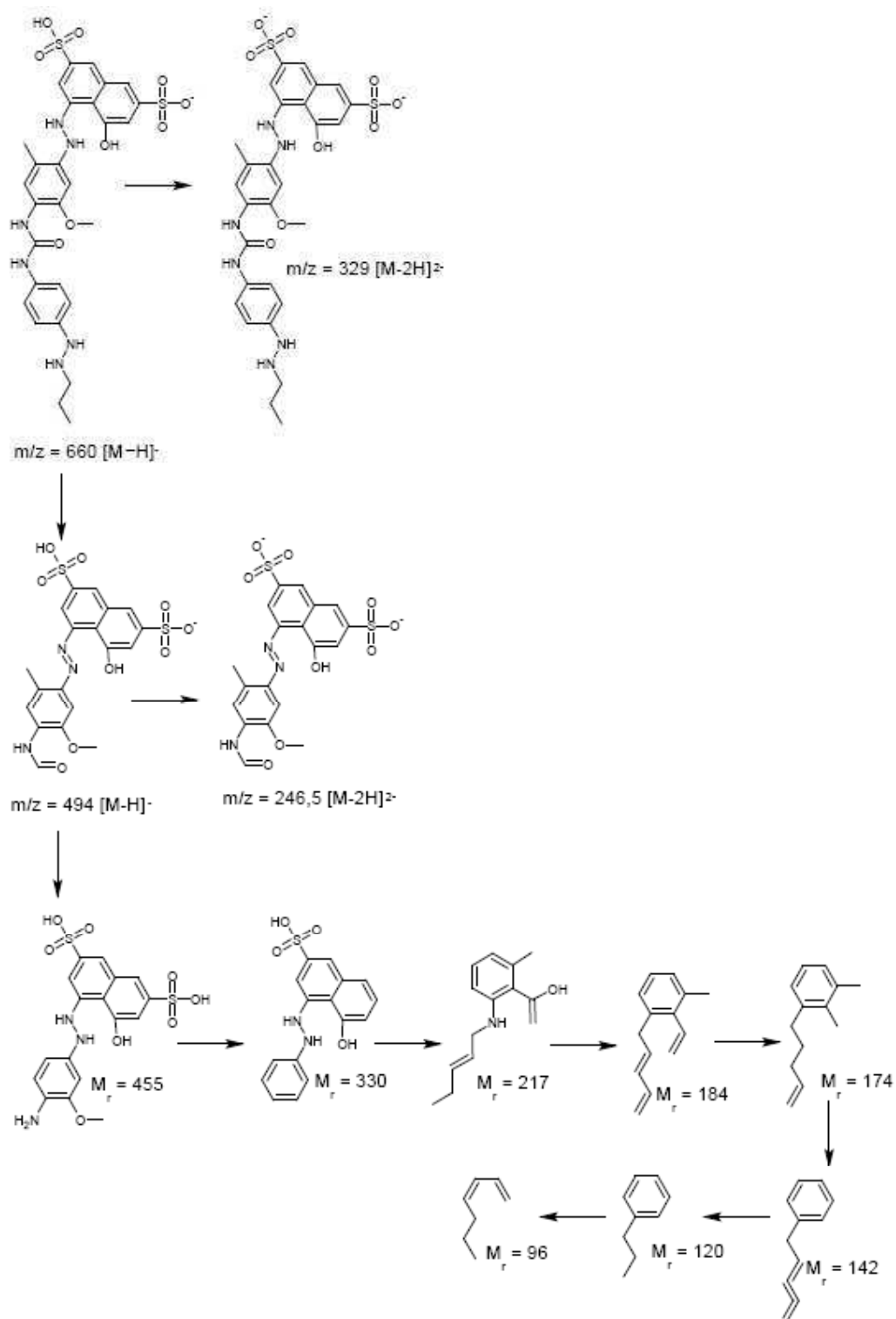
Rozkladný produkt C

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 19 a 20].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 660$ a také že ve struktuře tohoto rozkladného produktu jsou dvě sulfoskupiny (molekulární ionty $m/z = 659 - [M-H]^-$ a $m/z = 329 - [M-2H]^{2-}$).



Obrázek č. 19: ESI-MS spektrum rozkladného produktu C

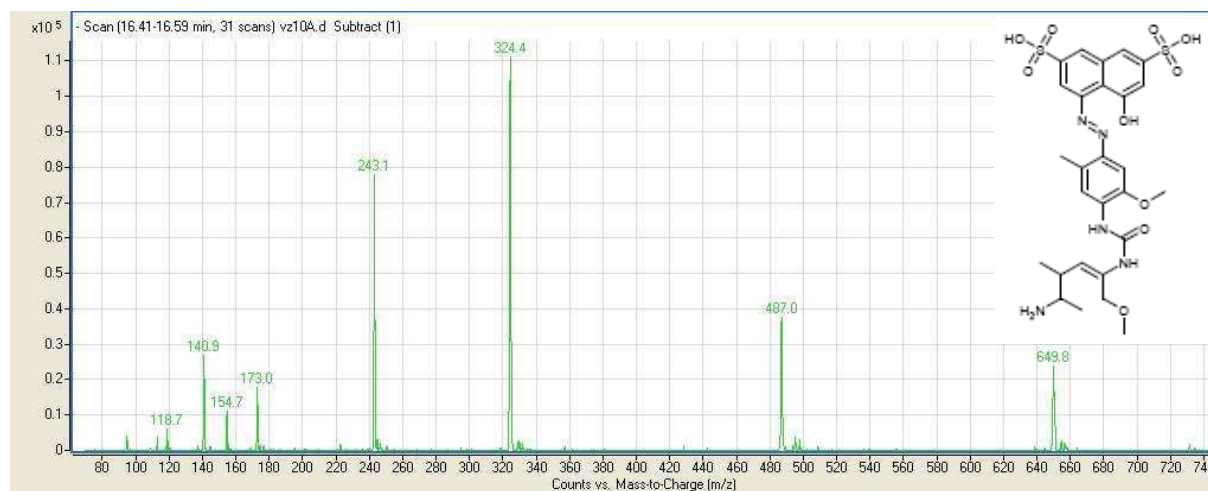


Obrázek č. 20: Fragmentační schéma rozkladného produktu C

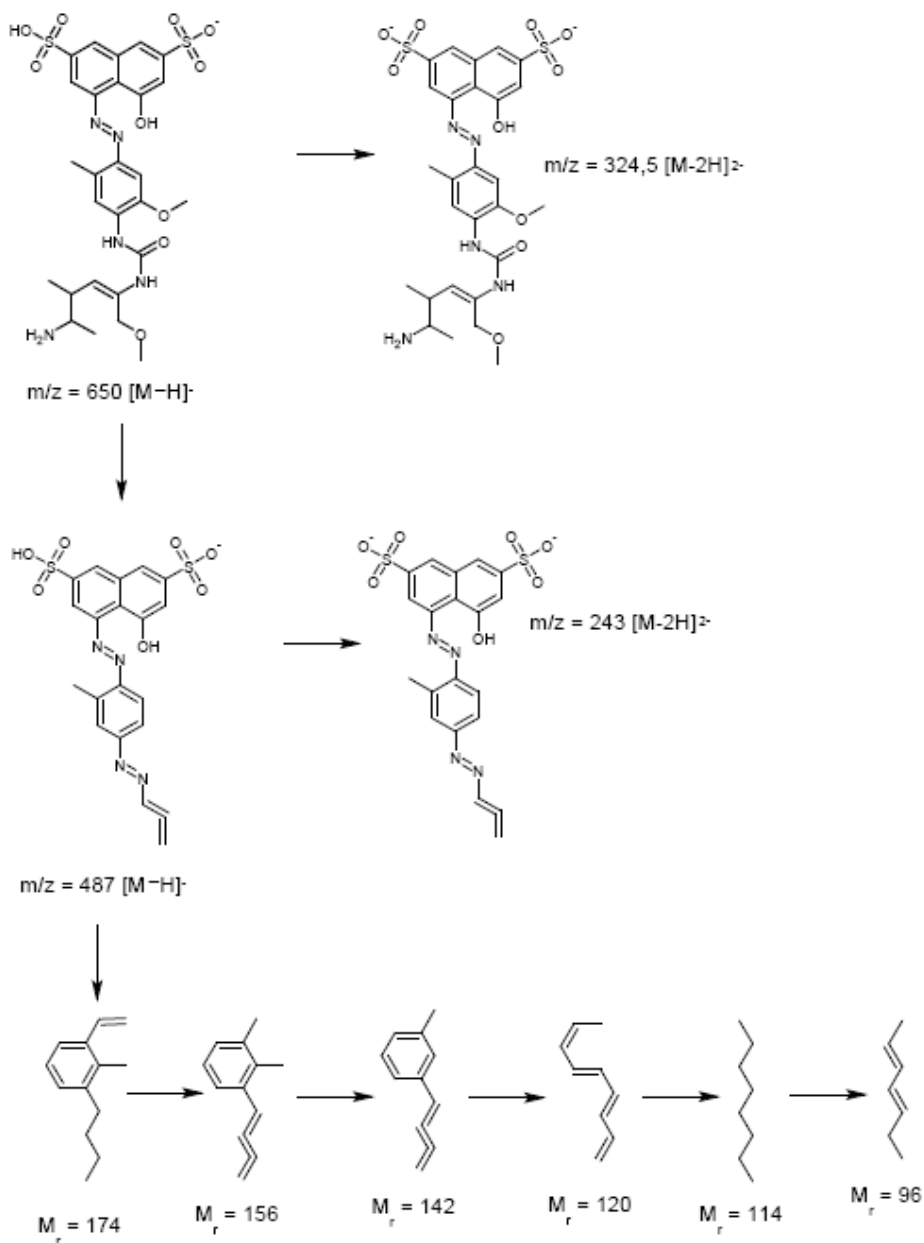
Rozkladný produkt D

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 21 a 22].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 651$ a také že ve struktuře tohoto rozkladného produktu jsou dvě sulfoskupiny (molekulární ionty $m/z = 649,8 - [M-H]^-$ a $m/z = 324,4 - [M-2H]^{2-}$).



Obrázek č. 21: ESI-MS spektrum rozkladného produktu D

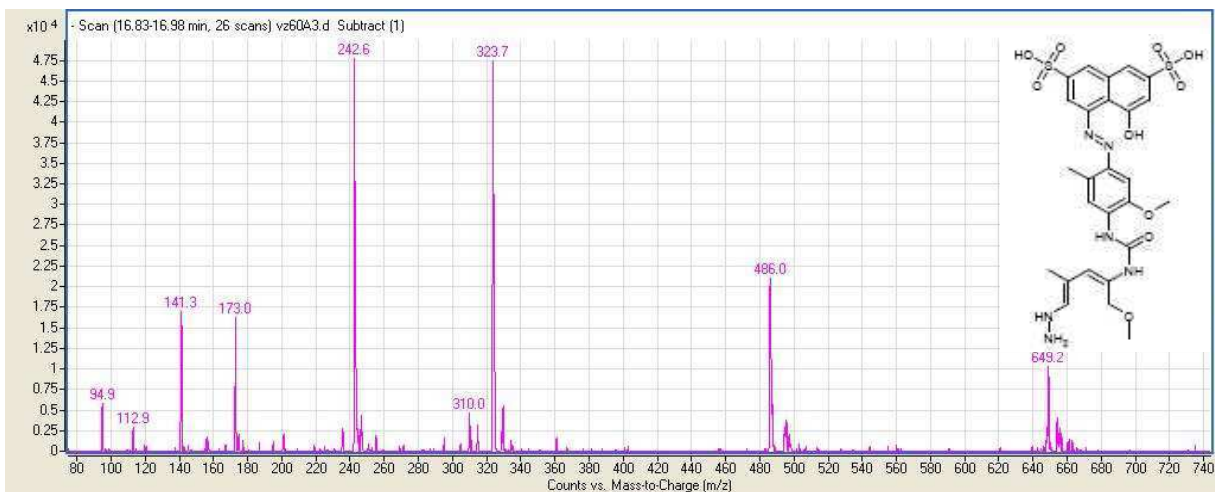


Obrázek č. 22: Fragmentační schéma rozkladného produktu D

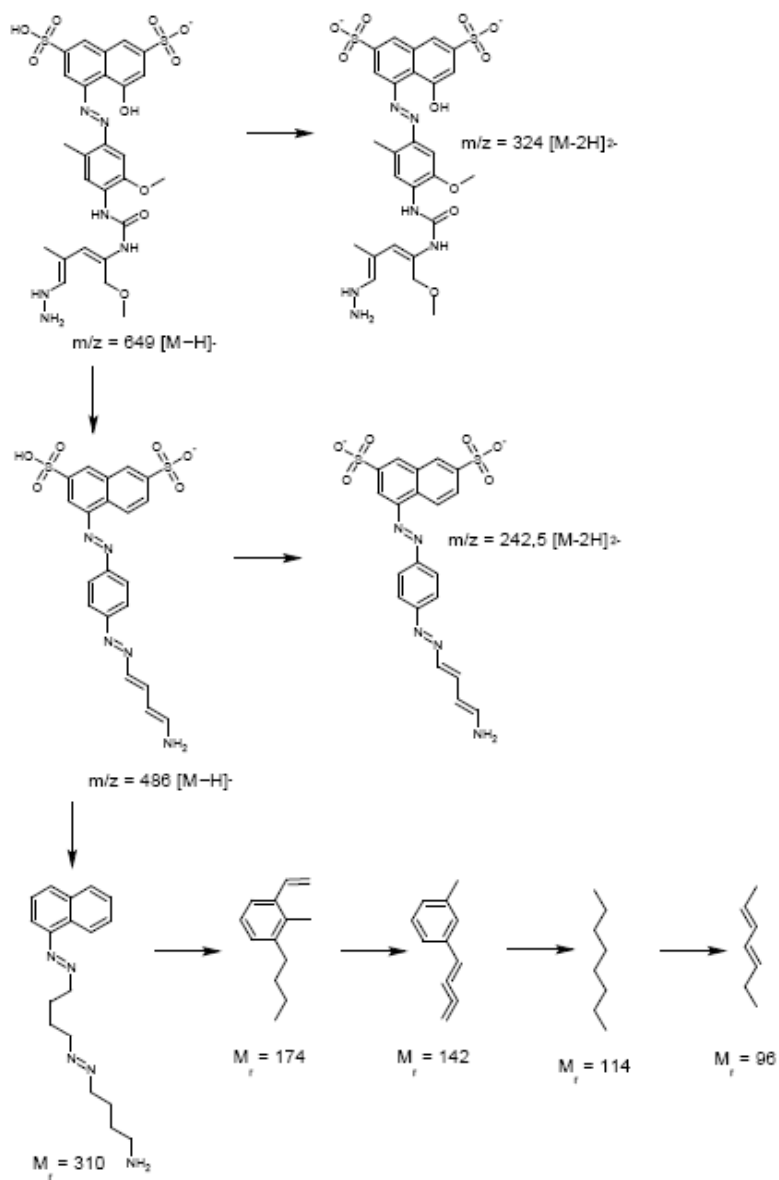
Rozkladný produkt E

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 23 a 24].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 650$ a také že ve struktuře tohoto rozkladného produktu jsou dvě sulfoskupiny (molekulární ionty $m/z = 649,2 - [M-H]^-$ a $m/z = 323,7 - [M-2H]^{2-}$).



Obrázek č. 23: ESI-MS spektrum rozkladného produktu E



Obrázek č. 24: Fragmentační schéma rozkladného produktu E

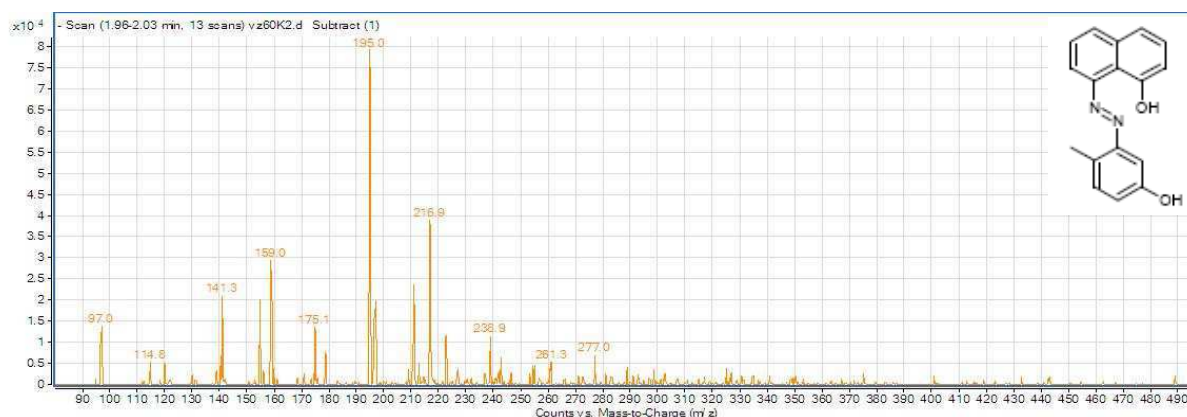
4.2.2.1. Produkty vzniklé v pozitivním výboji

V této části výboje byly v chromatogramu identifikovány 3 rozkladné produkty a tyto produkty byly označeny podle hodnoty retenčního času jako K, L, M jak bylo již uvedeno v kapitole 2.2.1. *Identifikace píků rozkladných produktů.*

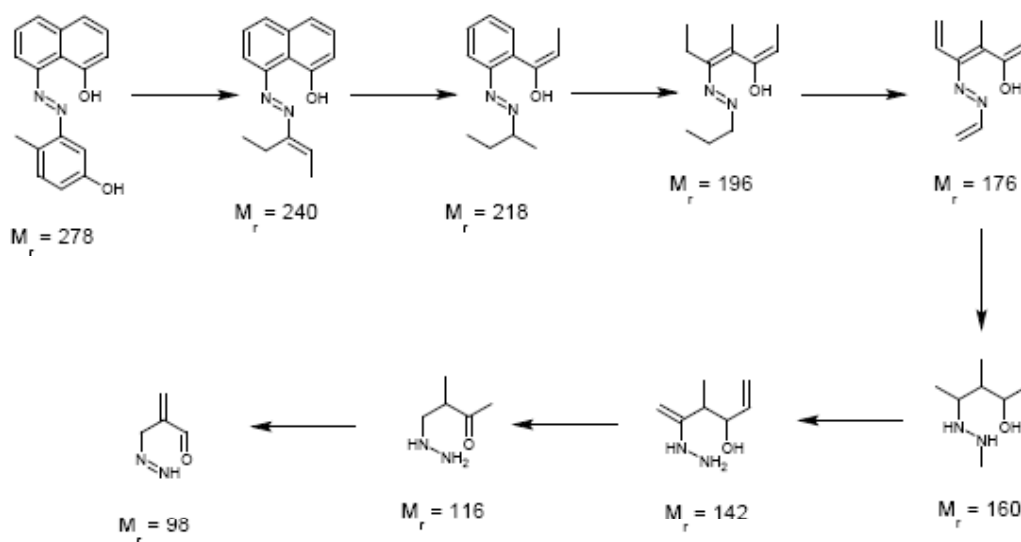
Rozkladný produkt K

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 25 a 26].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 278$.



Obrázek č. 25: ESI-MS spektrum rozkladného produktu K

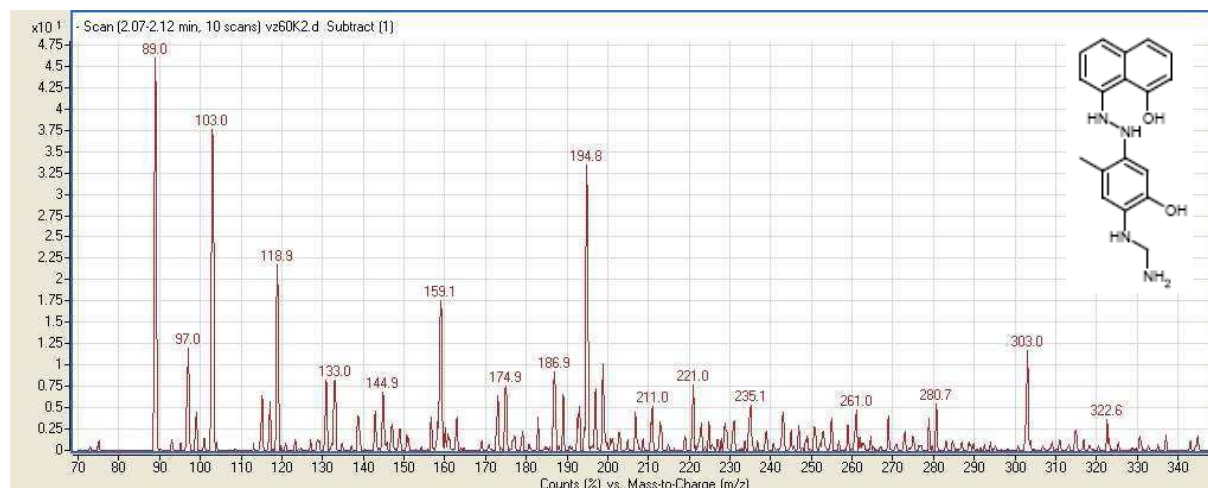


Obrázek č. 26: Fragmentační schéma rozkladného produktu K

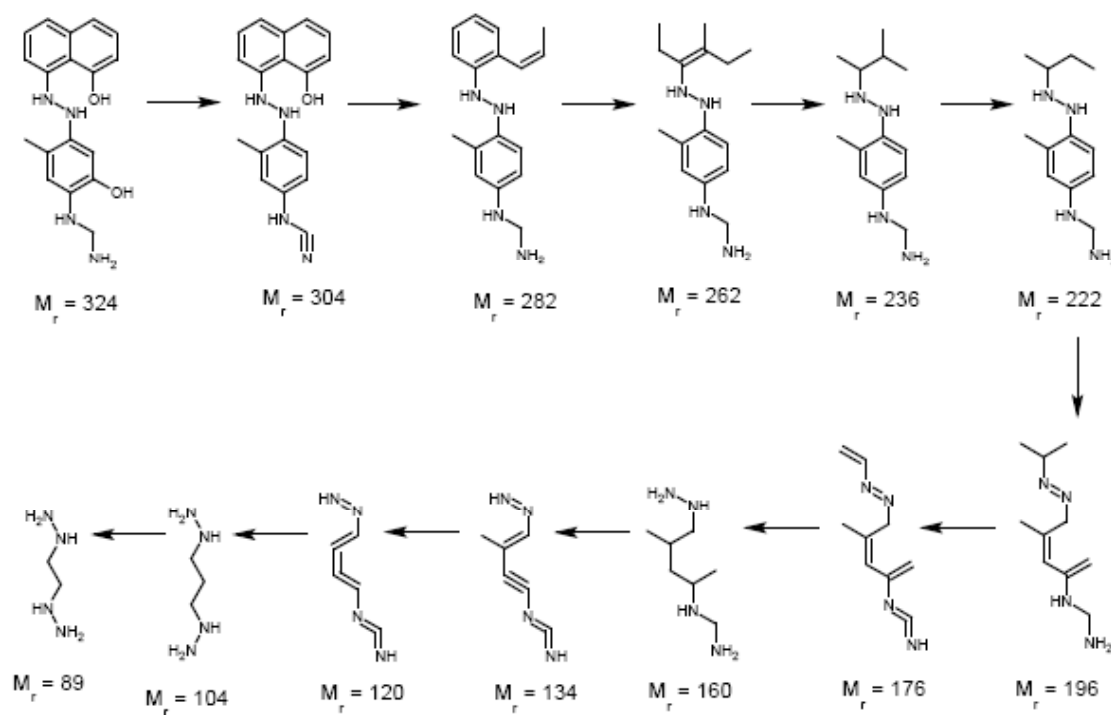
Rozkladný produkt L

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 27 a 28].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 324$.



Obrázek č. 27: ESI-MS spektrum rozkladného produktu L

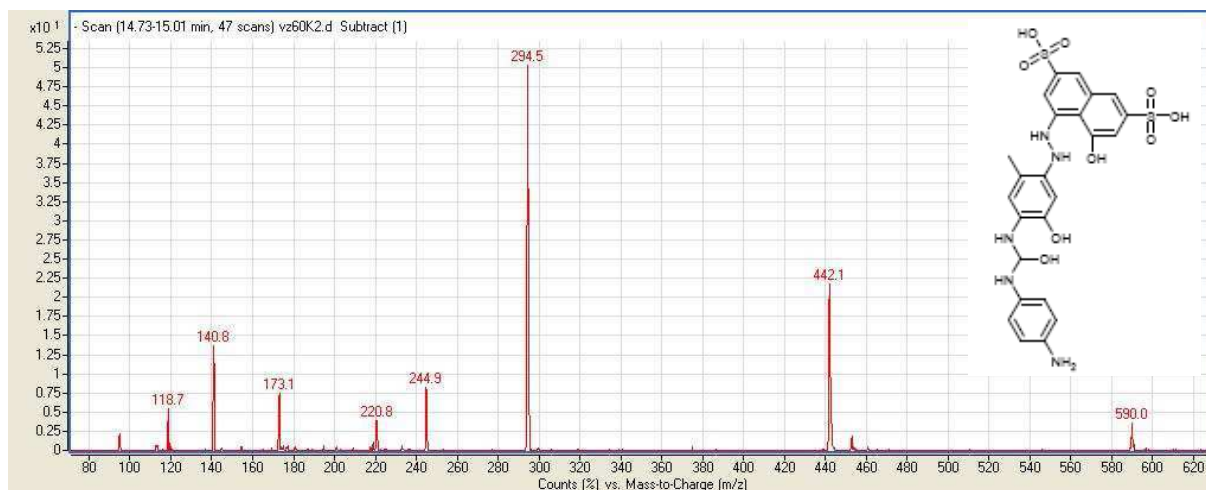


Obrázek č. 28: Fragmentační schéma rozkladného produktu L

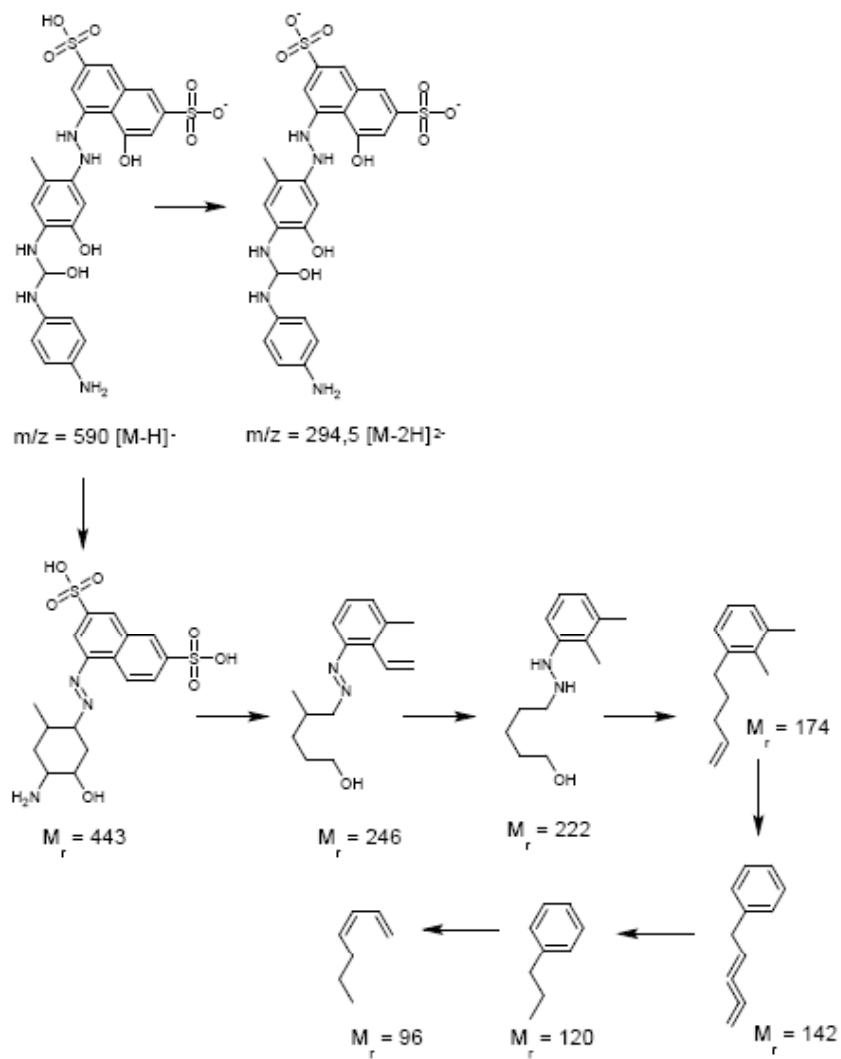
Rozkladný produkt M

Bylo naměřeno ESI-MS spektrum píku odpovídajícímu tomuto rozkladnému produktu a z něj byla odvozena možná struktura a fragmentační schéma po tento produkt [Obr. 29 a 30].

Z ESI-MS spektra bylo zjištěno že molární hmotnost rozkladného produktu $M_r = 591$ a také že ve struktuře tohoto rozkladného produktu jsou dvě sulfoskupiny (molekulární ionty $m/z = 590 - [M-H]^-$ a $m/z = 294,5 - [M-2H]^{2-}$).



Obrázek č. 29: ESI-MS spektrum rozkladného produktu M



Obrázek č. 30: Fragmentační schéma rozkladného produktu M

5. ZÁVĚR

Tématem této diplomové práce bylo stanovení rozkladných produktů organického azobarviva po rozkladu diafragmovým výbojem pomocí vhodné separační metody spojené s hmotnostní spektrometrií. Sledované barvivo a tato metoda jeho rozkladu byla vybrána proto, že azobarviva jsou sloučeniny velmi stálé a odolné vůči chemickým a biologickým procesům. Je ale důležité je odstranit je z odpadních vod hlavně z textilního průmyslu, kde jsou tato barviva nejvíce využívána a také vypouštěna do odpadních vod.

K separaci těchto barviv může být použita kapalinová chromatografie nebo některá z elektromigračních metod např. kapilární elektroforéza. Po zpracování literární rešerše byla jako separační metoda vybrána vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC).

Vlastní identifikace rozkladných produktů barviva Direct Red 79 – Saturnová červeň L4B byla provedena pomocí vysoko-účinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC-MS). Jako iontový zdroj byl použit elektrosprej (ESI) s detekcí negativních iontů (ESI-).

Bylo celkem identifikováno 8 rozkladných produktů z toho 5 pro negativní a 3 pro pozitivní polaritu výboje. Z ESI-MS spekter byly odvozeny možné struktury těchto rozkladných produktů a fragmentační schémata. Bohužel se nepodařilo naměřit MS-MS spektra z důvodu poruchy přístroje. Z MS-MS spekter by bylo možné struktury rozkladných produktů blíže popsat. Také by bylo možno určit, jestli struktury rozkladných produktů byly z ESI-MS spekter odvozeny správně.

Bylo také potvrzeno, že degradace barviva Direct Red 79 je účinnější v anodovém prostoru výbojové komory (negativní výboj).

Bylo by rovněž užitečné vyzkoušet pro separaci rozkladných produktů jinou separační metodu (CE) nebo jednodušší azobarvivo, které by bylo rozkládáno diafragmovým výbojem.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Lukeš P. (2001), Water treatment by pulsed streamer corona discharge, *Ph.D.Thesis*, VŠCHT Praha & Ústav fyziky plazmatu AV ČR Praha
- [2] Stará Z. (2004), Studium chemických procesů v elektrických výbojích v kapalinách, FCH VUT v Brně, Brno
- [3] Sun B., Sato M., Clements J. S. (1999), Use of pulsed high-voltage discharge for removal of organic compounds in aqueous solution, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 32 (15), 1908-1915
- [4] Sato M., Ohguyama T., Clemants J. S. (1996), Formation of chemical species and their effects on microorganisms using a pulsed high-voltage discharge in water, *IEEE Trans. Ind. Appl.* 32(1), 106-112
- [5] Sun B., Sato M., Clements J. S. (1997), Optical study of active species produced by a pulsed streamer corona discharge in water, *J. Electrostatics* 39 (3), 189-202
- [6] Šunka P., Babický V., Člupek M., Lukeš P., Šimek M., Schmidt J., Čermák M. (1999), Generation of chemically active species by electrical discharges in water, *Plasma Sources Sci. Technol.* 8 (2), 258-265
- [7] PERTILE, E., ČABLÍK, V.: *Instrumentální metody analýzy*. 1. vyd. Ostrava : VŠB, Technická univerzita Ostrava, 2006. 238 s. ISBN 80-248-1049-2.
- [8] ŠTULÍK, K., et al.: *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha : Karolinum, 2005. 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [9] JANDERA, P.: Pokroky v technice vysokoúčinné kapalinové chromatografie pro analýzu organických látek. In *Analýza organických látek, sborník přednášek z kurzu*. 2. upr. vyd. Český Těšín : 2THETA, 2005. s. 209-236. ISBN 80-86380-29-7.
- [10] POSPÍŠIL, M. *Instrumentální metody výzkumu a analýzy I*. 2. vyd. Praha : Vydavatelství ČVUT, 2004. 141 s. ISBN 80-01-02922-0.
- [11] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. upr. vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [12] *HPLC* [online]. [cit. 2008-03-01]. Dostupný z WWW: <<http://www.hplc.cz/>>.
- [13] *Separacionní metody v analytické chemii* [online]. [cit. 2009-03-20]. Dostupný z WWW: <http://tomcat.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/separa.htm>.

- [14] M. Holčapek, P. Jandera, Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS). *Chem. Listy*, 92 (1998) 278.
- [15] M. Holčapek, P. Jandera, J. Příkryl, Analysis of Sulphonated Dyes and Intermediates by Electrospray Mass Spectrometry, *Dyes Pigm.* 43 (1999) 127-137.
- [16] M. Holčapek, P. Jandera, P. Zderadička, High Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometric Analysis of Sulphonated Dyes and Intermediates. *J. Chromatogr. A* 926 (2001) 175-186
- [17] M. Holčapek, P. Jandera, J. Příkryl, Analysis of Sulphonated Dyes and Intermediates by Electrospray Mass Spectrometry. *Dyes Pigm.* 43 (1999) 127-137
- [18] D. Ansorgová, M. Holčapek, P. Jandera, Ion-pairing High-performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometry of Impurities and Reduction Products of Sulphonated Azodyes. *J. Sep. Sci.* 26 (2003) 1017-1027
- [19] A. Sakalis, D. Ansorgová, M. Holčapek, P. Jandera, A. Voulgaropoulos, Analysis of Sulphonated Azodyes and Their Degradation Products in Aqueous Solutions Treated with a New Electrochemical Method. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 84(11) (2004) 875-888.
- [20] Ardrey, R. E., *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*. London: J. Wiley, 2003. 276 s. ISBN: 0-471-49801-7.
- [21] W.M.A. Niessen, *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*, Third Edition, Chromatographic Science Series, Vol. 97, Taylor & Francis Inc., 2006. 632 s. ISBN: 978-0824740825
- [22] A. Šlampová, D. Smělá, A. Vondráčková, I. Jančařová, and V. Kubáň, Stanovení syntetických barviv v potravinách separačními metodami. *Chem. Listy*, 95 (2001) 163

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|------------|---|
| AA | Ammonium acetate – octan amonný |
| AOP's | Advanced Oxidation Processes - pokročilé oxidační procesy |
| APCI | Chemická ionizace za atmosférického tlaku |
| CI | Kolizně indukovaná disociace |
| DR79 | Barvivo Direct Red 79 |
| ESI | Ionizace elektrosprejem |
| GC | Plynová chromatografie |
| GC-MS | Spojení GC s hmotnostním spektrometrem |
| HPLC | Vysoce účinná kapalinová chromatografie |
| HPLC-DAD | Spojení HPLC s detektorem diodového pole |
| HPLC-MS | Spojení HPLC s hmotnostním spektrometrem |
| HPLC-MS-MS | Spojení HPLC s tandemovým hmotnostním spektrometrem |
| IT | Hmotnostního analyzátor iontová past |
| LC | Kapalinová chromatografie |
| LC-MS | Spojení LC s hmotnostní spektrometrií |
| MS | Hmotnostní spektrometrie |
| MS-MS | Tandemová hmotnostní spektrometrie |
| PET | Polyetylentereftalát |
| Q | Hmotnostního analyzátor kvadrupól |
| QQQ | Hmotnostního analyzátor trojitý kvadrupól |
| TOF | Hmotnostního analyzátor doby letu (Time Of Flight) |
| TSI | Ionizace termosprejem |

ESI-MS spektrum Spektrum naměřené hmotnostním spektrometrem s ESI ionizací

8. SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Chromatogram blanku – nástřik LC-MS vody

Příloha č. 2: Chromatogram roztoku barviva DR79 před rozkladem

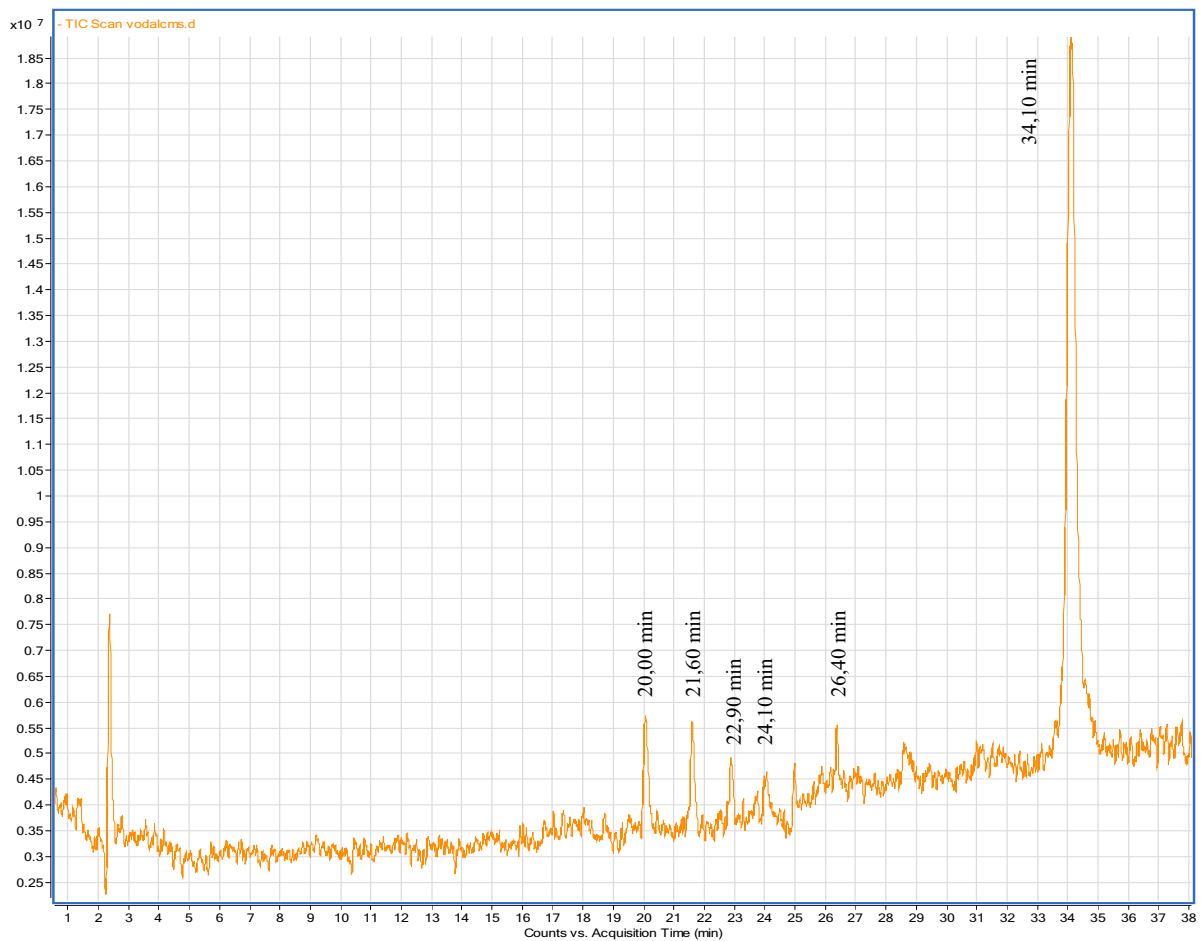
Příloha č. 3: Chromatogram roztoku barviva DR79 po 60ti minutách rozkladu pro pozitivní výboj (katodová část výbojové komory)

Příloha č. 4: Chromatogram roztoku barviva DR79 po 60ti minutách rozkladu pro negativní výboj (anodová část výbojové komory)

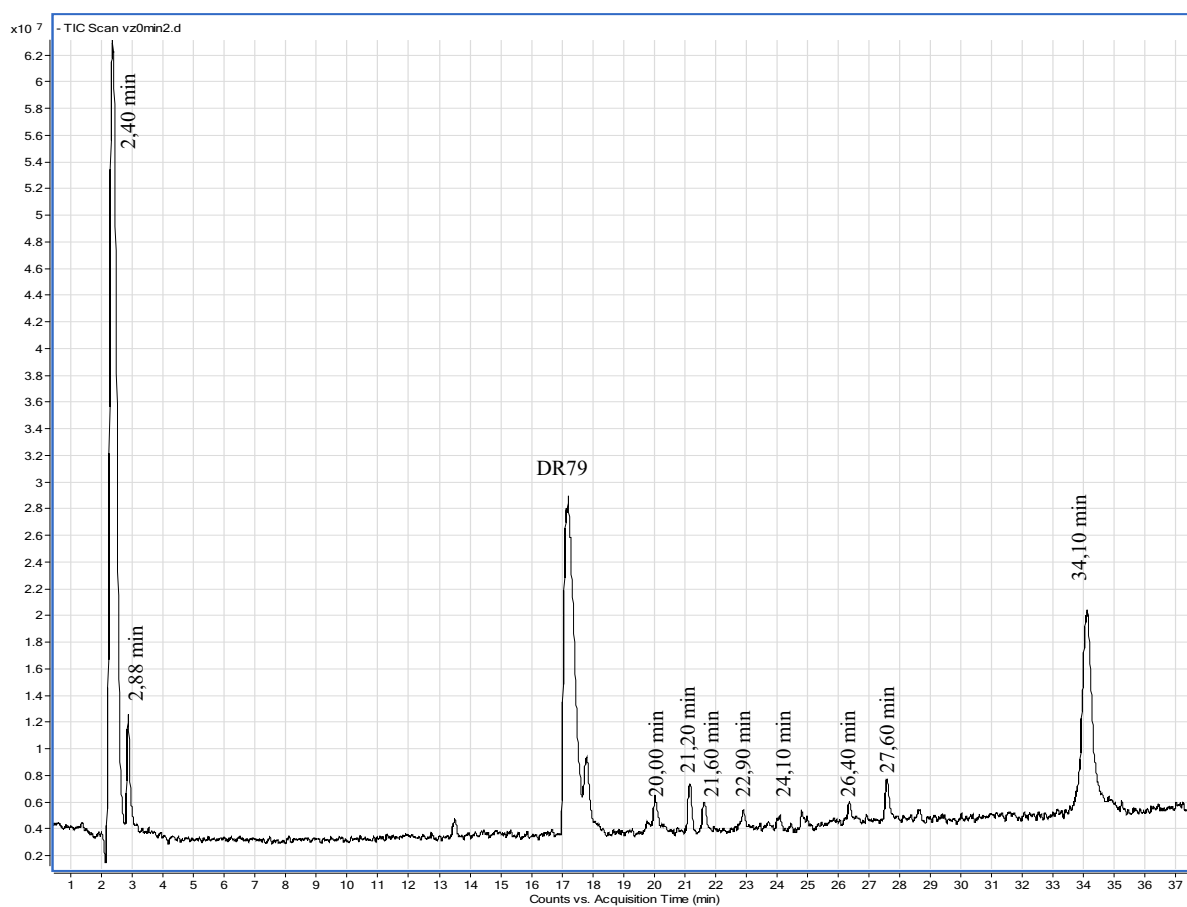
Příloha č. 5: ESI-MS spektrum barviva Direct Red 79 a struktura barviva

9. PŘÍLOHY

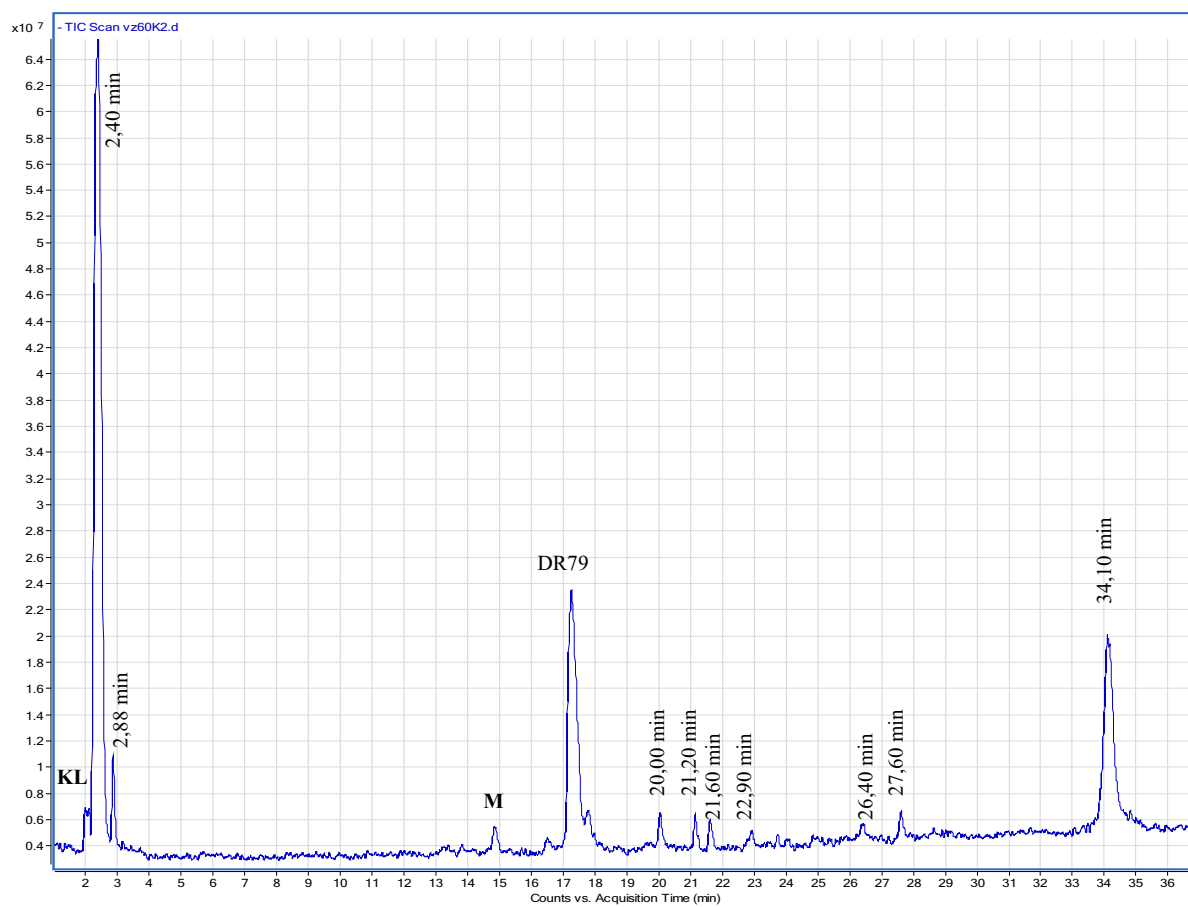
Příloha č. 1: Chromatogram blanku – nástřik LC-MS vody



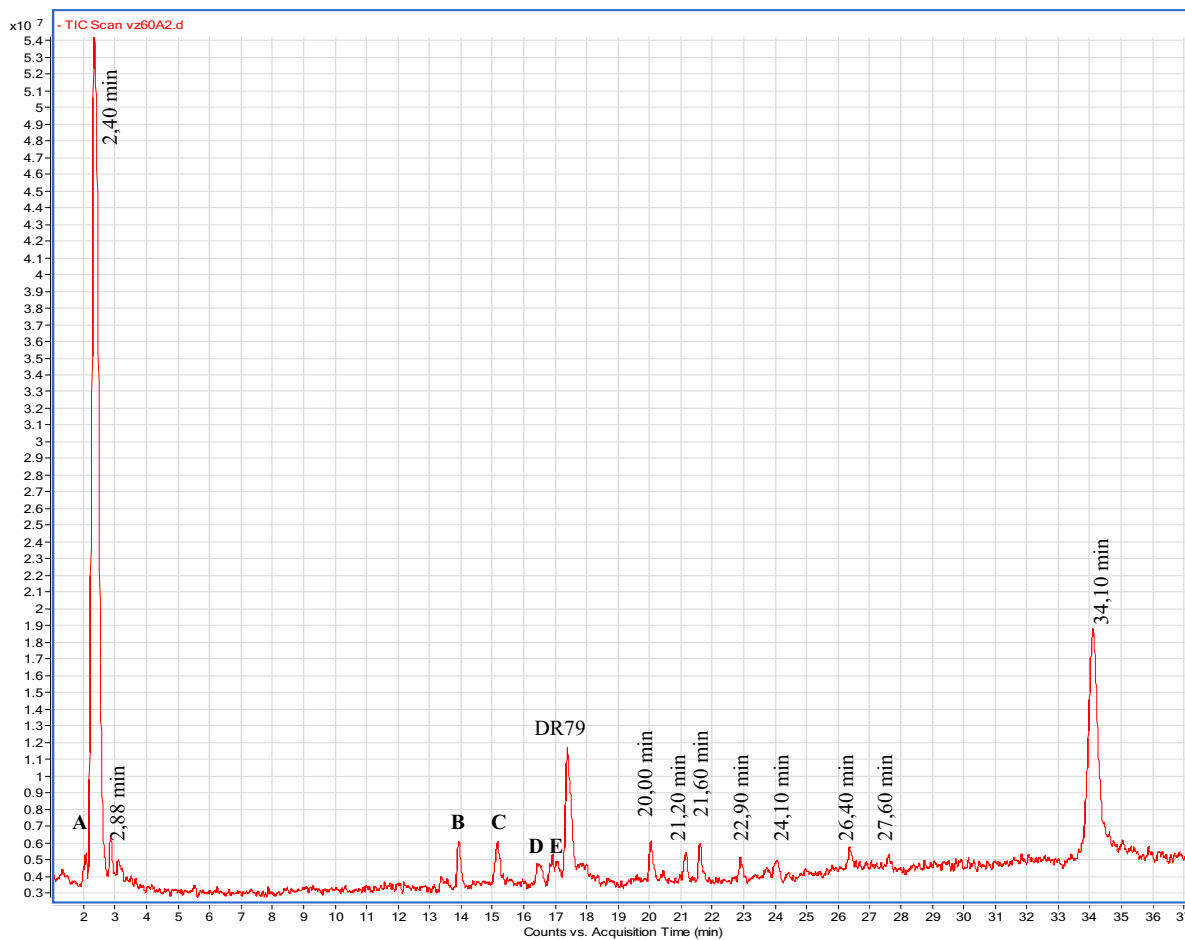
Příloha č 2: Chromatogram roztoku barviva DR79 před rozkladem



Příloha č 3: Chromatogram roztoku barviva DR79 po 60ti minutách rozkladu pro pozitivní výboj (katodová část výbojové komory)



Příloha č 4: Chromatogram roztoku barviva DR79 po 60ti minutách rozkladu pro negativní výboj (anodová část výbojové komory)



Příloha č. 5: ESI-MS spektrum barviva Direct Red 79 a struktura barviva

