



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
ENVIROMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ TENZIDŮ METODOU KAPILÁRNÍ ZÓNOVÉ ELEKTROFORÉZY

DETERMINATION OF SURFACTANS BY CAPILLARY ZONE ELECTROPHORESIS

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTOR

Bc. KLÁRA JARŮŠKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. VERONIKA ŘEZÁČOVÁ, Ph.D.

BRNO 2014

ABSTRAKT

Tenzidy jsou synteticky vyrobené povrchově aktivní látky obsažené v čisticích a pracích prostředcích. Snižují povrchové napětí a odstraňují nečistoty. Tenzidy lze rozdělit do čtyř základních tříd: aniontové, kationtové, neiontové a amfolytické. Nejvíce jsou používány aniontové. Díky masivnímu používání pronikají do odpadních vod a mohou narušovat životní prostředí. Tato práce je zaměřena na optimalizaci metody a vlastní stanovení tří aniontových tenzidů metodou kapilární zónové elektroforézy.

ABSTRACT

Surfactans are synthetically made surface-active ingredients contained in washing and cleaning products. They decrease the surface tension and remove dirt. Surfactans can be divided into four basic classes: anionic, cationic, non-ionic and amphoteric. The most commonly used are the anionic ones. Thanks to the massive use they penetrate into waste water and can disturb the environment. This thesis is focused on the optimization methods and the determination of three anionic surfactants by capillary zone electrophoresis.

KLÍČOVÁ SLOVA

aniontové tenzidy, kapilární zónová elektroforéza, optimalizace metody, prací a čisticí prostředky

KEYWORD

anionic surfactants, capillary zone electrophoresis, optimization of method, washing and cleaning products

JARUŠKOVÁ, K. Stanovení tenzidů metodou kapilární zónové elektroforézy. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 81 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.

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 studentky

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat vedoucí mojí práce Ing. Veronice Řezáčové, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při odborných konzultacích. Mé poděkování patří též Ing. Janě Zemanové, Ph.D. za její obětavost, ochotu a pomoc během provádění experimentů.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Vlastnosti vody	8
2.2	Tenzidy	9
2.2.1	Historie tenzidů	9
2.2.2	Charakteristika tenzidů	10
2.2.3	Povrchové jevy	10
2.2.4	Chemická struktura tenzidů	10
2.2.5	Klasifikace tenzidů	11
2.2.5.1	Klasifikace na základě hydrofobní složky	11
2.2.5.2	Klasifikace na základě iontového charakteru	12
2.2.5.3	Klasifikace podle hodnoty HLB	13
2.2.5.4	Klasifikace podle druhu aplikačního použití	14
2.2.5.5	Klasifikace podle biologické degradability	14
2.2.6	Fyzikálněchemické vlastnosti tenzidů	14
2.2.6.1	Adsorpce	14
2.2.6.2	Rozpustnost	14
2.2.6.3	Tvorba micel	15
2.2.6.4	Smáčení	15
2.2.6.5	Suspenze	15
2.2.6.6	Emulze	15
2.2.6.7	Pěna	15
2.2.6.8	Solubilizace	16
2.2.6.9	Detergence	16
2.2.7	Tenzidy a životní prostředí	17
2.2.7.1	Biodegradace tenzidů	17
2.2.7.2	Toxicita tenzidů	17
2.2.7.3	Eutrofizace vod	18
2.2.7.4	Rizikové limity tenzidů ve vodách	18
2.2.8	Právní předpisy	19
2.2.9	Stanovení tenzidů	20
2.2.9.1	SKUPINOVÉ STANOVENÍ	20
2.2.9.2	Titrační metody	21
2.2.9.3	Fotometrické metody	21
2.2.9.4	Polarografie	21
2.2.9.5	Chromatografické metody	22
2.3	Elektromigrační metody	23
2.3.1	Elektroforetická pohyblivost	24
2.3.2	Elektroosmotický tok (EOF)	24
2.3.3	Kapilární elektromigrační metody	26
2.3.3.1	Kapilární zónová elektroforéza (CZE)	26
2.3.3.2	Uspořádání v kapilární elektroforéze	28
2.3.3.3	Kapilára	30
2.3.4	Stanovení tenzidů metodou kapilární elektroforézy	32
2.3.4.1	Stanovení lineárních alkylbenzensulfonátů	33
2.3.4.2	Kapilární elektroforéza v nevodném prostředí	34

2.3.4.3	Zvýšení citlivosti kapilární elektroforézy	34
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
3.1	Použité přístroje, základní elektrolyty a standardy	36
3.1.1	Přístroje	36
3.1.2	Chemikálie	36
3.1.3	Použité elektrolyty	37
3.1.4	Standardy aniontových tenzidů	37
3.1.5	Vzorky čisticích a pracích prostředků	38
3.1.6	Vzorky povrchových vod	39
3.2	Podmínky separace	39
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	40
4.1	Vývoj separačních podmínek pro analýzu tenzidů	40
4.1.1	Kapilára	41
4.1.2	Volba základního elektrolytu	41
4.1.3	Teplota	43
4.1.4	Vložené napětí	43
4.1.5	Doba nástřiku	45
4.1.6	Vliv koncentrace základního elektrolytu na elektroosmotický tok	46
4.1.7	Vlnová délka pro UV detekci	48
4.1.8	Analýza standardů nepřímou detekcí	49
4.1.9	Parametry optimalizované metody	52
4.2	Analýza pracích a čisticích prostředků	53
4.2.1	Prostředek naruční mytí nádobí	53
4.2.1.1	Přímá detekce	53
4.2.1.2	Nepřímá detekce	55
4.2.2	Prostředek na mytí nádobí v automatických myčkách	59
4.2.2.1	Přímá detekce	59
4.2.2.2	Nepřímá detekce	61
4.2.3	Prací gel	64
4.2.3.1	Přímá detekce	64
4.2.3.2	Nepřímá detekce	66
4.3	Analýza povrchové vody z řeky Moravy	69
4.3.1	Přímá detekce	69
4.3.2	Nepřímá detekce	71
5	ZÁVĚR	74
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	76
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	79
8	PŘÍLOHY	81

1 ÚVOD

Voda je základní podmínkou života na zemi, je to cenná a životodárná surovina. Pokrývá více než dvě třetiny zemského povrchu, z čehož 97 % tvoří slaná voda moří a oceánů. Koloběh sladké vody potřebné pro většinu organismů je řízen přírodním vodním cyklem, který ovlivňuje teplo ze slunce a gravitace. Vodní pára se odpařuje z oceánů a vzdušnými proudy se dostane nad pevninu, kde se sráží v podobě deště a sněhu. Část srážek se vsákne do půdy a vytvoří podzemní vodu. Koloběh vody je největší energeticky významný látkový oběh v přírodě. Zdrojem pitné vody je povrchová a podzemní voda. Její složení je podrobeno přísným požadavkům, je zakotveno také v legislativě. Na kvalitu vody může mít vliv intenzivní zemědělská, živočišná a zejména průmyslová výroba. Pokud však její kvalita neodpovídá hygienickým normám, může způsobit různé zdravotní problémy.

Mezi látky, které se v hojné míře používají v průmyslu i v domácnostech patří tenzidy. Jsou to povrchově aktivní látky, které jsou běžnou součástí detergentů a čisticích přípravků. Snižují povrchové napětí, a tím odstraňují nečistoty z povrchů. Jako velmi široce používané látky se dostávají do povrchových a odpadních vod. Jejich přítomnost v odpadních vodách může způsobovat nežádoucí jevy jako například pění, eutrofizaci nebo úhyn vodních organismů čímž mohou narušovat rovnováhu životního prostředí. Tenzidy se rozdělují do čtyř tříd: aniontové, kationtové, neiontové a amfolytické. V ČR se nejvíce používají tenzidy aniontové, proto je tato práce zaměřena na jejich stanovení elektromigrační metodou kapilární zónové elektroforézy. Tato analytická metoda je instrumentálně nenáročná a rychlá, velkou výhodou je malá spotřeba vzorku a chemikálií.

Cílem diplomové práce je vývoj a optimalizace metody kapilární zónové elektroforézy tak, aby bylo možné ji použít pro stanovení aniontových tenzidů. Dílčím cílem práce je vybraný elektroforetický systém otestovat na vzorcích pracích a čisticích přípravků a v závěru práce také na vzorcích povrchové vody.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vlastnosti vody

Voda je sloučeninou dvou atomů vodíku a jednoho atomu kyslíku vázaných kovalentní vazbou. Jednou z vlastností vody je její polární charakter, který má význam pro rozpustnost látek ve vodě. Příčinou této vlastnosti je elektrický náboj, který molekula nese [1].

Další z mnoha vlastností vody je povrchové napětí, které je příčinou kapilární elevace neboli vzlínivosti vody v kapiláře. Povrchové napětí ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti vody. Snížení povrchového napětí způsobují povrchově aktivní látky zvané tenzidy. Snížení tohoto napětí je příčinou pění na turbulentních místech toku vod a také při čištění na ČOV. Tento děj má také nepříznivý vliv na vodní organismy [2].

Voda tvoří disperzní systém, v němž samavoda tvoří disperzní prostředí a cizorodé látky disperzní podíl.

Tabulka č. 1: Dělení disperzí podle velikosti částic [1]

Název disperze	Velikost částic	Částice
analytická (pravý roztok)	0,1 – 1 nm	rozpuštěné
koloidní	1 nm – 1 μm	koloidní
hrubá	1 μm	hrubě dispergované

K hrubým disperzím patří emulze, suspenze a pěny v závislosti na tom, zda je dispergovanou částicí kapalná, tuhá nebo plynná látka.

Látky ve vodách mohou být přirozeného nebo umělého původu. K přirozeným můžeme zařadit zbytky organismů, produkty rozkladu, metabolismu nebo zbytky hornin a půdy. Mezi umělé patří ty, které se běžně v přírodě nevyskytují, např. pesticidy, tenzidy atd.

Podle chemického složení látky ve vodě rozdělujeme na organické a anorganické. Organické látky obsahují atom uhlíku (ne však minerálního původu), jsou schopny se řetězit a tvoří makromolekuly. K anorganickým řadíme všechny ostatní sloučeniny [1].

2.2 Tenzidy

Název tenzidy je odvozen z latinského *tensio*- napětí. Tento název byl navržen v Německu, kde měl nahradit zdoluhavý název „povrchově aktivní látka“. Pro synteticky vyrobené povrchově aktivní látky se u nás také dříve používal název *saponát*, který je odlišoval od mýdla z přírodních tuků [2].

Látky označující se jako tenzidy, patří mezi skupinu organických látek, které se už při malé koncentraci hromadí na fázovém rozhraní a snižují povrchovou energii. V důsledku této adsorpce se snižuje povrchové napětí na fázovém rozhraní. Proto můžeme říct, že tenzidy vykazují povrchovou aktivitu, která se vizuálně projevuje pěněním[2]. Další označení, se kterým se můžeme setkat, je detergent. Detergent je směs tenzidů a dalších látek, která má detergentní vlastnosti. Detergence je schopnost převádět nečistoty z pevného povrchu do objemové fáze roztoku[3].

Tenzidy jsou hlavní součástí pracích, čistících, emulgačních, dispergačních a pěnicích prostředků. Součástí těchto prostředků jsou kromě tenzidů ještě doplňující složky, kvůli zlepšení účinků. Tenzidy tvoří zhruba třetinu veškerých látek [2].

2.2.1 Historie tenzidů

Mýdla alkalických kovů jsou známá již 2300 let. Začala se vyrábět ze zvířecího tuku, dřevěného popelu a z rostlin obsahujících uhličitany draselný či jiné soli alkalických kovů. Směs těchto látek se vařila, čímž došlo ke zmydelnění tuku na volné mastné kyseliny, které byly potom neutralizovány. Během první světové války, v Německu a v Anglii, kdy byl velký nedostatek rostlinných a živočišných tuků, se hledaly cesty syntézy z náhradních surovin. Reakcí propyl/butylalkoholu s naftalenem a následnou sulfonací byly připraveny alkylnaftalensulfonáty s krátkými řetězci. Tyto tenzidy mají výborné smáčecí schopnosti a používají se i dnes [5].

Na základě syntetických alkanů byly ve 30. letech minulého století vyrobeny první syntetické tenzidy k průmyslovým účelům. Během 2. světové války se začal v Anglii vyrábět první tekutý prací prostředek z petrochemických surovin [4]. V USA započala výroba alkylarylsulfonátů s benzenem. Aspekty, které rozhodovaly při výrobě, byly cena, dostupnost surovin, stabilita produktu a jednoduchost syntézy [5]. Postupně byly brány v potaz i negativní vlastnosti vyráběných tenzidů, a to hlavně těžká biologická rozložitelnost a vytváření pěny v odpadních vodách. Pěnění způsobovaly hlavně tenzidy s rozvětvenými řetězci (rozvětvené alkybenzensulfonáty), proto byla jejich výroba v některých zemích zakázána. Od 60. let 20. století byly vyráběny spíše méně nebezpečné lineární alkybenzensulfonáty. S rozvojem petrochemické výroby se jako produkt při výrobě začaly používat etylenoxydy a oxyethylované alkyfenoly, které byly i lépe biologicky odbouratelné [4].

2.2.2 Charakteristika tenzidů

Specifické vlastnosti tenzidů, jako například ovlivnění energetických poměrů na rozhraní, jsou dány asymetrickým bipolárním charakterem s výrazným dipólovým momentem. Molekuly tenzidů vždy obsahují hydrofilní a hydrofobní část. Hydrofobní skupina tvoří nepolární část molekuly, hydrofilní naopak polární. Hydrofil silně ovlivňuje celkovou polaritu a rozdělení elektrického náboje. Tenzidy v roztocích mohou difundovat na povrch rozpouštědla, kde se absorbují na fázovém rozhraní a tvoří monomolekulární vrstvu povrchového filmu nebo, při překročení kritické koncentrace, vznikají útvary označované jako micely. Během působení tenzidů vzniká povrchový film a povrchové napětí se na rozhraní fází snižuje [4].

2.2.3 Povrchové jevy

Povrchové jevy mají důležitou úlohu při procesech jako adsorpce, flokulace, tvorba suspenze, emulze, pěny, smáčení, praní čištění. Jako fáze se označuje homogenní část, oddělená od okolí fázovým rozhraním s velmi dynamickou změnou vlastností. Molekuly uvnitř kapaliny jsou ovlivněny přitažlivými silami. Molekuly na povrchu jsou v jiných energetických stavech, než molekuly ve vnitřních vrstvách. Povrchové molekuly jsou díky silám vtahovány dovnitř. Povrchové napětí kapaliny je síla, která působí kolmo na 1 m délky silou 1 Newtona [4].

2.2.4 Chemická struktura tenzidů

Vhodné kritérium pro posouzení aplikací tenzidů je právě chemická struktura. Z hlediska iontovosti je určující polární skupina. Pokud ve vodném roztoku disociuje je účinnou složkou tenzidu kationt, aniont nebo se chová jako amfolyt. Pokud polární skupina nedisociuje, jde o neiontový tenzid. Hydrofilní část obsahuje elektronegativní atomy. Hydrofobní část je tvořena uhlovodíkovými zbytky (od C₈ výše), aromatické sloučeniny nebo alkylované aromatické sloučeniny. Strukturu tenzidů je možné vyjádřit takto:

R-F

R-X-F

R-R'-F

R-X-R'-F

R-X-R'-X-R''-F

R je hydrofobní zbytek, X je nedisociovaná funkční skupina (O, SO₂NH), R' a R'' je krátký uhlovodíkový řetězec, F je polární hydrofilní skupina (COOH, SO₃H, OH) [4].

2.2.5 Klasifikace tenzidů

Druhů tenzidů je celá řada a jejich vývoj není zdaleka ukončen. K dispozici jsou tenzidy s určitou dominující vlastností nebo dispergační účinností. Výrobci se stále snaží najít nové tenzidy splňující specifické požadavky z hlediska aplikace i biologické rozložitelnosti [2].

Nomenklatura tenzidů vychází z jejich fyzikálněchemických vlastností. V současnosti se také používá název povrchově aktivní látky (PAL). Název „*tenzid*“ se používá asi od roku 1960 a navrhl ho profesor Hans Götte[4].

Tenzidy jsou klasifikovány z těchto hledisekna základě:

- hydrofobní složky
- iontového charakteru
- číselné hodnoty HLB
- jejich aplikačního použití
- biologické degradability
- systematiky organických sloučenin [4]

2.2.5.1 Klasifikace na základě hydrofobní složky

Hydrofobní složku tenzidů tvoří zbytky uhlovodíků a jejich kyslíkových derivátů, které jsou rozděleny takto:

1. Alifatické uhlovodíky s řetězcem $C_8 - C_{20}$
2. Alicyklické uhlovodíky
3. Aromatické uhlovodíky
4. Polymerní aromatické uhlovodíky
5. Alkylované aromatické sloučeniny
6. Polymerní lineární makromolekulární sloučeniny
7. Ostatní hydrofobní zbytky [4]

2.2.5.2 Klasifikace na základě iontového charakteru

Podle iontovosti polární skupiny rozdělujeme tenzidy na iontové a neiontové. Funkční skupiny iontových tenzidů ve vodném roztoku disociují za vzniku nabitých iontů. Náboj závisí na pH prostředí. Iontové tenzidy se dále dělí na aniontové, kationové a amfolytické.

Aniontové tenzidy

Mezi aniontové tenzidy patří mýdlo, alkylsulfáty, alkansulfonany, alkensulfonany, alkylbenzensulfonany, sulfatované neiontové enzymy a další. Zvláštní skupinu tvoří ligninsulfonany [2].

Anton Blažej a kol. v knize Tenzidy dělí aniontové tenzidy na monofunkční (mýdla, sulfáty vyšších mastných alkoholů, alkylarylsulfonany), bifunkční (dvě polární funkční skupiny), polyfunkční tenzidy (více polárních skupin) a na oligomerní polyfunkční tenzidy polyelektronového charakteru. Tento poslední typ tenzidů dále rozděluje podle druhu ionizované funkční skupiny na karboxylové kyseliny a soli, sulfáty, sulfonany s alifatickým nebo aromatickým řetězcem a na sloučeniny s jinými hydrofilními skupinami [4].

Struktura mýdel je obecně $R.COONa$ nebo $R.COOK$. Jsou to soli vyšších mastných kyselin přírodního původu s přímým řetězcem [2]. Ve vodném roztoku disociují na povrchově aktivní anionty mastných kyselin a povrchově neaktivní kationty. Mýdlo se získává alkalickou hydrolyzou tuků za varu s roztokem $NaOH$. Uvařené mýdlo se vysoluje a bělí. V průmyslu se používají mýdla ve směsi s organickými rozpouštědly. Nevýhodou mýdel je nestabilita v tvrdé vodě a srážení solí mastných kyselin, které jsou ve vodě nerozpustné [6].

Alkylsulfáty se vyrábějí sulfatací vyšších mastných alkoholů C_{10} až C_{18} za vzniku sloučenin obecného vzorce $R-CH_2-O-SO_3$. Sulfátovou skupinu mají postavenou na konci řetězce. Pokud je alkyl lineární, podléhá tato skupina tenzidů snadnému biologickému rozkladu [2].

Alkylsulfonany a alkensulfonany obsahují v molekule charakteristickou vazbu $-C-S-$, která nepodléhá hydrolyze. Sulfonací vyšších alkanů a alkenů vznikají sloučeniny $R_1-CH(SO_3Na)-R_2$ [2].

Alkylbenzensulfonany jsou tenzidy s aromatickým jádrem vázaným na sekundární uhlíkový atom $(R_1R_2)=CH-C_6H_4-SO_3Na$. Mohou mít rozvětvenou nebo lineární strukturu, více se ovšem vyrábí lineární kvůli přijatelnější biologické rozložitelnosti [2].

Aniontový charakter mají také sulfatované neiontové enzymy, především sulfatované dukty alkylpolyethylenglykoletherů $R-CH_2-O-(CH_2-CH_2-O)_n-CH_2-CH_2-O-SO_3Na$ [2].

Zvláštní skupina ligninsulfonanů vzniká při výrobě sulfitové celulosy. V molekule, která je příčinou jejich povrchové aktivity, je přítomno až 8 sulfoskupin. Biologicky jsou velmi rezistentní [2].

Kationtové tenzidy

Význam kationtových tenzidů spočívá v jejich desinfekčních a antiseptických účincích. Vytvářejí adsorpční vrstvy na buňkách mikroorganismů, což vede k jejich zániku [6]. Jejich další vlastností je změkčení, antistatické účinky na textila inhibice koroze [2].

Mezi nejpoužívanější patří kvarterní amoniové a pyridiniové sloučeniny obsahující v molekule hydrofobní řetězec [2]. Další, méně používané, jsou alkylaminy, acylpolyamidy, alkanaminestery, alkylethylenmočovina, alkylaminotriazoly a sulfoniové zásady [4].

Amfolytické tenzidy

Amfolytické tenzidy se vyznačují přítomností dvou hydrofilních skupin. Kyselé (karboxylové, sulfonové) a zásadité (aminové, amoniové). Díky těmto skupinám má molekula amfoterní charakter. V alkalickém prostředí se chovají jako aniontové tenzidy, v kyselém prostředí jako kationtové. V molekule obsahují alespoň jeden alifatický řetězec.

Hlavní typy jsou alkylbetainy, sulfobetainy a alkylaminokarboxylové kyseliny.

Mají velmi dobré prací a čistící schopnosti. Výhodou je, že se dají kombinovat se všemi ostatními typy tenzidů [2].

Neiontové tenzidy

Neiontové tenzidy ve vodném roztoku nedisociují. Rozpustnost ve vodě umožňuje přítomnost funkčních skupin v jejich molekule [4].

Mezi neiontové tenzidy patří především aduktyalkylenoxidů[2]. K tomuto druhu řadíme dále alkylpolyglykolethery, alkylarylpolyglykolethery, acylpolyglykolethery, acylované nebo alkylované alkanolaminopolyglykolethery, kopolymery ethylenoxidu a estery a ethery polyalkoholů [4].

2.2.5.3 Klasifikace podle hodnoty HLB

HLB hodnota vyjadřuje hydrofilněhydrofobní rovnováhu mezi polární a nepolární částí tenzidů. Tento poměr podmiňuje afinitu molekuly k vodě a k slabě polárním organickým rozpouštědlům. Tuto hodnotu definoval v roce 1949 William Griffin.

Hodnotu HLB tvoří bezrozměrné číslo, neiontovým tenzidům se přiřazují hodnoty 0 – 20 [4].

Tabulka č. 2: Hodnoty HLB hlavních skupin tenzidů[4]

Rozsah HLB	Skupina tenzidů
3 – 6	emulgátory <i>voda/olej</i>
7 – 9	smáčedla
8 – 18	emulgátory <i>olej/voda</i>
13 – 15	detergenty
15 – 18	solubilizátory

2.2.5.4 Klasifikace podle druhu aplikačního použití

Tenzidy můžeme rozdělovat podle druhu průmyslového odvětví, ve kterém se používají (farmacie, textil, papírenství, potravinářství, kosmetika, chemie), nebo podle charakteristické funkce (smáčedla, emulgátory, prací prostředky, aviváže atd.) kterou mají [4].

2.2.5.5 Klasifikace podle biologické degradability

Rozložitelnost tenzidů se posuzuje podle biologické spotřeby kyslíku nebo podle výsledku pokusu biologického rozkladu aktivovaným kalem a následné reakce s methylenovou modří. Podle výsledků těchto zkoušek se tenzidy rozdělují na:

1. Lehce biologicky odbouratelné (tzv. měkké, odbouratelné na 90-95 %)
2. Středně biologicky rozložitelné (rozklad je pomalý)
3. Těžce biologicky odbouratelné (tzv. tvrdé, odbouratelné na 35 % během 14 dnů) [4]

2.2.6 Fyzikálněchemické vlastnosti tenzidů

2.2.6.1 Adsorpce

Jednou z charakteristických vlastností tenzidů je jejich adsorpce z roztoku na rozhraní kapalina-plyn, kapalina-kapalina, kapalina-pevná látka. Tento jev se projeví změnou povrchového napětí. Na fázovém rozhraní vzniká monomolekulární vrstva, ve které se nepolární zbytek orientuje k nepolární fázi a polární zbytek k polárnímu rozpouštědлу. Mezi faktory ovlivňující adsorpci patří struktura tenzidu, vliv adsorbentu, pH roztoku, teplota [4].

2.2.6.2 Rozpustnost

Díky své amfipatické struktuře se tenzidy rozpouštějí v mnoha rozpouštědlech. Při rozpouštění ve vodě se hydrofilní skupina hydratuje a lipofilní část molekuly je vytlačována z roztoku. Rozpustnost tenzidů závisí na jejich chemické struktuře. Roli hraje délka řetězce a

výskyt dvojných vazeb. Se zvyšováním teploty se rozpustnost zvětšuje. Při překročení tzv. Krafftova bodu se roztoky tenzidů zakalí a vytvoří se dvě kapalné fáze [4].

2.2.6.3 Tvorba micel

Tento jev nastává s postupným zvyšováním koncentrace tenzidů, kdy jejich molekuly vytvářejí charakteristické shluky. Během shlukování jsou orientované polární části k vodě. Kritická koncentrace vzniku micel je určité množství povrchově aktivních látek v roztoku, ve které micely vznikají. Kritická micelární koncentrace se zvyšuje s hodnotou HLB. Obecně jsou vyšší kritické koncentrace iontových tenzidů. Struktura micel může být kulovitá, lamelární nebo tyčinková. Po vzniku micel v roztoku se mohou měnit jeho vlastnosti, například osmotický tlak. Roztok může být také zakalen. Zajímavé jsou také změny elektrické vodivosti a uvolnění tepla [4].

2.2.6.4 Smáčení

Smáčením se rozumí vytvoření nového fázového rozhraní pevné a kapalné fáze na místě původního rozhraní pevné a plynné fáze. Smáčení můžeme definovat také jako tendence kapaliny rozprostírat se na povrchu pevné fáze. Příkladem může být kapilára s kapalinou, kapalina v důsledku smáčení stěn kapiláry změni svou hladinu [4].

2.2.6.5 Suspenze

Suspenze jsou heterogenní soustavy, které obsahují jemné částičky pevné fáze rozptýlené v kapalině. Soustava se stane suspenzí, pokud jsou částičky větší než 500 nm. Tento děj může být také označován jako proces sedimentace. Mezi faktory ovlivňující stabilitu disperzních soustav patří rychlost sedimentace, tepelný pohyb, smáčení povrchu solvatovaných částic a působení elektrické dvojvrstvy [4].

2.2.6.6 Emulze

Emulze je disperzní soustava. Vzniká dispergováním malých kapek jedné kapaliny v druhé, které se vzájemně nemíchají. Podle velikosti kapek rozlišujeme koloidní nebo hrubě dispergování emulze. K vytvoření emulze je zapotřebí látky zvané jako emulgátor. Emulgátor se adsorbuje na povrchu kapek a obaluje je pružným filmem, čímž zabraňuje jejich spojení. Emulgátory jsou většinou povrchově aktivní látky snižující povrchové napětí. Emulze mohou být typu olej ve vodě, voda v oleji a emulze vyššího řádu [4].

2.2.6.7 Pěna

Pěna je soubor plynových komůrek oddělených od sebe jemnými vrstvičkami kapaliny, které vznikají shlukováním bublinek dispergovaného plynu. Povrchové napětí

působí proti vzniku povrchových filmů, a proto roztoky v přítomnosti tenzidů s nejnižším povrchovým napětím mají největší schopnost tvorby pěny [4]. Roztoky tenzidů mají tendenci k pěnění při koncentracích 0,5 – 3 mg/l. Pěnotvorná schopnost se poté zmenšuje, když se povrchově aktivní látka přidává v nadbytku. Pěnění bylo na biologických ČOV a na turbulentních místech toku problémem v 50. a 60. letech 20. století a vedlo k legislativním opatřením a započnutí výroby více biologicky rozložitelných tenzidů [2]. K omezení pěnivosti se používají látky, které se mohou rozprostřít na povrchu roztoku s pěnou a tím tvoří nasycenou vrstvu a brání dalším pěnění [4].

2.2.6.8 Solubilizace

Solubilizace je postup, který se zakládá na přípravě termodynamicky stálého roztoku z omezeně rozpustné látky přidáním amfifilních sloučenin. Solubilizátory jsou povrchově aktivní sloučeniny s hodnotou HLB vyšší než 16 [4]. Solubilizace velmi úzce souvisí s tvorbou micel. Solubilizace je způsob zvyšování koncentrace látek, které jsou běžně nerozpustné. Tyto procesy mají aplikační využití např. ve farmacii nebo při výrobě pesticidů [4].

2.2.6.9 Detergence

Detergence je proces odstraňování nečistoty ze substrátu v přítomnosti látek, které snižují přilnutí nečistoty k substrátu. Nečistoty poutá řada sil, například mechanické a kapilární, elektrostatické nebo van der Waalovy. Samotná detergence se skládá z rozpouštění látky, adsorpce na povrchu, emulgace, dispergace a stabilizace. V první části detergence se povrch smáčí, poté se nečistota oddělí od substrátu a v závěru čištění teprve dochází k emulgaci, dispergaci a stabilizaci. Nakonec se částičky tenzidu v roztoku stabilizují, aby se nečistota nemohla na předmětu znovu usadit. Detergence může probíhat i v nevodném prostředí, což má význam například ve strojním průmyslu, kde se nachází nečistoty ve vodě nerozpustné.

Šamponování je polosuchý způsob detergence. Během tohoto procesu vzniká díky snížení povrchového napětí a vytvoření ochranného obalu z bublin pěna. Obal zajišťuje stabilitu pěny [4].

2.2.7 Tenzidy a životní prostředí

Chemické prostředky na bázi tenzidů, určené k umývání, používá člověk prakticky denně po celý život. Bezprostředně po použití jsou splachovány do odpadní vody. Objem výroby těchto prostředků se stále zvyšuje. Podle směrnice Ministerstva životního prostředí z roku 2010 tvoří celková spotřeba tenzidů v ČR asi 30 – 35 tisíc tun ročně [7].

Vztah tenzidů k životnímu prostředí je velmi úzce spjatý. Je to samozřejmě dáno jejich masivním používáním v průmyslu i v domácnostech. Povrchově aktivní látky jsou odpovědné za výskyt pěny v řekách, hlavně v místech se zvýšenou turbulencí (ČOV, jezy) [8]. Pěna tvořící se na hladině zhoršuje prosvětlení vodních vrstev a brání přirozené výměně plynů mezi vodou a atmosférou. Nedostatkem kyslíku trpí vodní organismy [9]. Tenzidy se také vají do půdy a do sedimentu a mohou se dostat do podzemních vod. Díky určitým opatřením lze snížit negativní dopad tenzidů na člověka a životní prostředí. Patří k nim především snížení používání pěnotvorných tenzidů, výroba biologicky odbouratelných tenzidů a používání odpeňovačů. Velmi důležité je také biologické čištění městských odpadních vod [4]. Pomocí biologického čištění s aktivovaným kalem se odstraní až 95 – 99% tenzidů [8].

2.2.7.1 Biodegradace tenzidů

Biologická rozložitelnost (biodegradabilita) je schopnost organické látky podléhat biologickému rozkladu působením mikroorganismů. Úplný biologický rozklad je stupeň rozkladu, kdy je zkoušená látka zcela mineralizována mikroorganismy za vzniku oxidu uhličitého, vody, minerálních látek a nové biomasy. Úplný biologický rozklad je referenčním bodem pro hodnocení biologické rozložitelnosti dané látky. Vyjadřuje se obvykle v procentech rozpuštěného organického uhlíku (DOC) stanoveného při analýze vodných roztoků po okyselení. Dalším kritériem pro biologický rozklad je stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK) nebo stanovení produkce oxidu uhličitého. Biologická rozložitelnost každého aniontového, kationtového a neiontového typu tenzidu musí být nejméně 70 % DOC [7].

Mezi mechanismy biodegradace můžeme zařadit řadu rozkladných chemických reakcí katalyzovaných enzymy. Jsou to například β a ω -oxidace alkylu, oxidace aromatického jádra, hydrolýza, oxidace na mastné kyseliny, degradace pomocí bakterií *Escheria coli*. Asi nejlépe odbouratelná jsou mýdla, poté v závislosti na délce a větvení řetězce alifatické uhlovodíky [4].

2.2.7.2 Toxicita tenzidů

Byla prokázána toxicita tenzidů na mikroorganismy a vodní organismy. To se může projevit zhoršeným růstem fytoplanktonu a bakterií odbourávajících polysacharidy. Citlivé jsou i vodní řasy, z dalších živočichů také *Dafniamagna* a samozřejmě také ryby [4]. U ryb bylo prokázáno poškození dýchání a poruchy pohybových funkcí [8].

Obecně se dá říct, že kationtové povrchově aktivní látky jsou toxickejší než aniontové a aniontové povrchově aktivní látky více toxické než neiontové. Vysoká koncentrace tenzidů byla naměřena v kalech. Biologický rozklad povrchově aktivních látek v sedimentu je rizikový pro životní prostředí. Tenzidy mohou být degradovány za aerobních podmínek, nicméně některé z nich jsou perzistentní i za anaerobních. Například anaerobní degradaci alkylfenoethoxylátů vnikají alkylfenoly, které mají estrogení účinky na ryby [10].

V testech akutní toxicity na vodních organizmech musí prostředek s obsahem tenzidu splňovat následující kritéria:

- test na rybách LC_{50} (96 hod.) musí být větší než 100 mg.l^{-1}
- test na perloočkách EC_{50} (48 hod.) musí být větší než 100 mg.l^{-1}
- test na řasách IC_{50} (72 hod.) musí být větší než 100 mg.l^{-1} [7]

Podle vyhlášky Ministerstva životního prostředí č. 222/2004 Sb. jsou stanoveny tyto metody pro zjišťování fyzikálně-chemických vlastností chemických látek a chemických přípravků nebezpečných pro životní prostředí:

- ČSN EN ISO 8692: Jakost vod - Zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas
- ČSN EN ISO 6341: Jakost vod - Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna*
- ČSN EN ISO 7346-2: Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [7]

2.2.7.3 Eutrofizace vod

Eutrofizace je soubor procesů vedoucích ke zvyšování obsahu anorganických živin, zejména dusíku a fosforu, ve stojatých a tekoucích vodách. Eutrofizace je přírodní děj, jenž v důsledku lidské činnosti přesáhl přirozené meze. Přírodní eutrofizace je způsobena uvolňováním dusíku a fosforu, případně silikátů, z půdy, sedimentů a odumřelých vodních organismů. Umělá eutrofizace je způsobena zemědělstvím, zvýšenou produkcí komunálních odpadních vod a odpadů fekálního charakteru. Dále také používáním aktivačních přísad s obsahem polyfosforečnanů v tenzidech [11].

2.2.7.4 Rizikové limity tenzidů ve vodách

Výskyt aniontových tenzidů v podzemních vodách indikuje průnik odpadních, bakteriálně kontaminovaných vod do vod podzemních. Celková koncentrace větší než $0,25 \text{ mg/l}$ se posuzuje jako znečištění, které vyžaduje hodnocení rizika. Koncentrace $0,5 \text{ mg/l}$ představuje významné riziko ohrožení zdraví. Mezná hodnota aniontových tenzidů v pitné vodě je $0,2 \text{ mg/l}$, v balené stolní a kojenecké vodě je to $0,1 \text{ mg/l}$. Stupeň znečištění toku vody, při vypouštění odpadních vod do povrchových vod je $0,2 - 1,0 \text{ mg/l}$ aniontových tenzidů. Ve vodě vhodné pro závlahu by koncentrace neměla přestoupit $2,0 \text{ mg/l}$. Kationtové tenzidy tvoří

pouze nepatrný podíl z celkové produkce všech tenzidů, proto není jejich obsah ve vodách soustavně sledován [12].

2.2.8 Právní předpisy

Problematika povrchově aktivních látek byla v legislativě EU řešena od 70. let minulého století a postupně se stala předmětem značného množství předpisů. Za nejvýznamnější mezník může být považováno nařízení č. 648/2004 o detergencích, které vstoupilo v platnost v říjnu 2005. Toto nařízení změnilo posuzování biodegradability (místo primární se začala posuzovat úplná). Také se začala testovat biodegradabilita všech typů tenzidů a vznikly závazná pravidla pro uvádění složení, dávkování a dalších informací o detergentu na obalech. Dalším významným aktem se stalo v roce 2006 zřízení Evropské agentury pro chemické látky, tzv. nařízení REACH (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals), které se týká registrace, hodnocení a povolování chemikálií všeobecně, tedy i tenzidů [13].

V České republice vznikla v roce 1995 jako první legislativní úprava týkající se tenzidů dobrovolná dohoda mezi Českým sdružením výrobců mýdla, čisticích a pracích prostředků (CSDPA) a Ministerstvem životního prostředí. Nesla název "Dobrovolná dohoda o postupném snižování dopadů pracích prostředků na životní prostředí". Díky této dohodě byly uvedeny od roku 2005 na trh bezfosfátové prací prostředky. Po vstupu České republiky do EU došlo k implementaci příslušných směrnic do naší legislativy, veškerá nařízení Evropského parlamentu jsou právně závazná i v naší zemi [13].

Tenzidové mycí kosmetické prostředky musí splňovat požadavky bezpečnosti pro zdraví osob ve smyslu zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví. Musí také vyhovovat požadavkům prováděcího předpisu v platném znění - vyhlášky MZ č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky [7].

Mezi další zákony, které musí výrobci tenzidů dodržovat, patří:

- zákon č. 86/2002 Sb., o ochraně ovzduší, ve znění pozdějších předpisů
- zákon č. 254/2001 Sb., o vodách, ve znění pozdějších předpisů
- zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších předpisů
- zákon č. 356/2003 Sb., o chemických látkách a chemických přípravcích, ve znění pozdějších předpisů
- zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, ve znění pozdějších předpisů [7]

2.2.9 Stanovení tenzidů

Aniontové a neiontové tenzidy jsou běžnou součástí čisticích prostředků a díky masivnímu používání se dostávají v hojné míře do odpadních a splaškových vod [12]. Ve vodách se běžně sledují spíše koncentrace aniontových tenzidů, ostatní typy zůstávají opomíjeny.

Analytické stanovení tenzidů ve vodách je spojeno s mnoha problémy. Hlavním problémem je velmi široké spektrum výroby tenzidů. Za tímto účelem byly vypracovány metody pro tzv. skupinové stanovení. Výsledky těchto stanovení se udávají jako hmotnostní koncentrace zvoleného standardu [12]. Skupinové metody stanovení neiontových tenzidů jsou založeny například na vlastnostech polyoxyethylenového a polyoxyalkylenového řetězce. Stejnou reakci vykazují také kationtové tenzidy, třísloviny, alkaloidy a látky bílkovinného charakteru. Před samotným stanovením je nutná separace a konzervování kvůli nízké koncentraci stanovovaných látek a přítomnosti interferujících látek. Lze použít extrakci, chromatografické metody, pro potlačení vlivu ostatních tenzidů iontoměničce [14].

2.2.9.1 SKUPINOVÉ STANOVENÍ

Skupinové stanovení aniontových tenzidů

Pro rutinní stanovení se používá spektrofotometrická metoda s methylenovou modří podle Lohgwella a Maniece. Reakce je založena na principu reakce hydrofilního polyoxylalkylenovaného řetězce, kdy etherově vázané atomy kyslíku reagují jako polyoxoniované skupiny. Určitou nevýhodou může být nejednotnost preparátů methylenové modří a její snadná oxidovatelnost v alkalickém prostředí a následná demethylace. Hlavní nevýhodou spektrofotometrických stanovení aniontových tenzidů je použití trichlormetanu pro extrakci [12].

Skupinové stanovení neiontových tenzidů

Probíhá na stejném principu jako stanovení aniontových tenzidů. Jako srážecí anionty jsou používány heteropolykyseliny. Metody se od sebe liší způsobem provedení a použitou analytickou koncentrací. Citlivost metod závisí na počtu molekul v molekule tenzidu [12].

Dle technické ISO normy 7875-2 se neiontové tenzidy stanovují s Dragendorffovým činidlem v modifikaci tzv. Wickboldově metodě [12].

Skupinové stanovení kationtových tenzidů

Spektrofotometrické metody jsou založeny na reakci kationového tenzidu s aniontovým barvivem za tvorby barevného asociátu, který se extrahuje do trichlormethanu. Jsou vypracovány metody s bromfenolovou modří a s disulfidovou modří. Bohužel metodu ruší vliv aniontových tenzidů, které reagují s kationovými za vzniku komplexů a před

vlastním stanovením je nutné kationtové tenzidy odseparovat pomocí měniče iontů. Vzhledem k této obtížnosti se kationtové tenzidy těmito metodami příliš nestanovují [12].

2.2.9.2 Titrační metody

Ke stanovení aniontových tenzidů se používá dvojfázová titrace odměrným roztokem kationových tenzidů. Bod ekvivalence se indikuje změnou zbarvení iontových asociátů tenzidů s barvivem v dvojfázovém systému voda-organické rozpouštědlo (chloroform, hexan, dichlormetan). Lze také použít potenciometrickou indikaci bodu ekvivalence. Při stanovení aniontového tenzidu se titruje odměrným roztokem kationového tenzidu za přítomnosti kationových zásaditých nebo kyselých barviv. Titraci lze provádět i nepřímo přidáním nadbytku odměrného roztoku. Nevýhodou dvojfázových titračních metod je použití toxických rozpouštědel a také to, že přesnost a správnost metody ovlivňuje stabilita iontových asociátů, jejich rozpustnost, extrahovatelnost a intenzita zbarvení [15].

2.2.9.3 Fotometrické metody

Používají se metody se srážením tetrathiokyanatokobaltnatanem amonným nebo tetrajodobismutitanem draselným.

Při absorpční spektrofotometrii s tetrathiokyanatokobaltnatanem amonným se jako srážecí činidlo používá thiokyanatan amonný a dusičnan kobaltnatý, které tvoří modrý komplex. Vzniklé sloučeniny jsou extrahovány do organického rozpouštědla a poté stanoveny spektrofotometricky. Komplex je možné extrahovat do chloroformu, benzenu, dichlormethanu, 1,2-dichlorethanu. Nejlépe extrakce, a následné měření absorbance, probíhá do benzenu [14].

Při reakci neiontových tenzidů s tetrajodobismutitanem draselným vznikají žluté sloučeniny, jež se vyhodnocují turbidimetricky. Jako elektrolyt se používá chlorid vápenatý. Mezi další metody fotometrického stanovení tenzidů patří stanovení Dragendorffovým činidlem, Bürgerova metoda, Wickboldova metoda ze které vychází také ISO norma.

2.2.9.4 Polarografie

Tenzidy lze polarograficky detekovat jako skupinu díky jejich shromažďování na rozhraní voda-rtuť rtuťových kapek v polarografu a změně vlastností elektrody. Odezva je závislá více než na hmotnostní koncentraci, na molární koncentraci. Tenzidy reagují na polarografickou reakci spíše po převedení na reduktivní deriváty. Jandová a Schejbal [14] popisují tyto polarografické metody: nepřímé stanovení s následnou extrakcí do ethylacetátu a srážení vzorku Dragendorffovým činidlem po separaci do ethylacetátu a nepřímé stanovení [14].

2.2.9.5 Chromatografické metody

Chromatografie je rozdělovací metoda, která se zakládá na ustanovení rovnováhy analytické látky mezi dvěma fázemi- stacionární a mobilní [4]. Stacionární fáze může být tuhá látka nebo kapalina, mobilní fáze kapalina nebo plyn. Chromatografii lze dělit do skupin podle:

- mobilní fáze
- separačního principu
- uspořádání experimentu

Pokud je mobilní fáze plyn, jde o plynovou chromatografii (GC). Pokud je jí kapalina, jedná se o kapalinovou chromatografii [16].

Podle separačního principu se chromatografie dělí:

- adsorpční
- rozdělovací
- iontovou
- gelovou
- afinitní[16]

Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je účinná separační metoda, při použití analýzy tenzidů však limitována nárokem na těkavost analyzovaných sloučenin a překryvem píků jiných oligomerů. Lze stanovovat například ethoxylované neiontové tenzidy, jejichž těkavost je pro plynovou chromatografii hraniční. V případě velmi nízké těkavosti lze vzorky tenzidů derivatizovat a převést na těkavější sloučeniny[14].

Detekce se provádí plamenově ionizačním detektorem nebo pomocí hmotnostní spektrometrie. Možností stanovení neiontových tenzidů je rozštěpení molekuly pomocí HBr, vzniklé reakční produkty jsou poté separovány nezávisle na délce řetězce a detekovat lze pomocí plamenově ionizačního detektoru nebo detektoru elektronového záchytu[14].

Pomocí GC/MS lze stanovit například aniontové alkylbenzenové tenzidy s dlouhým řetězcem, a to lineární i rozvětvené. Aniontové alkylbenzensulfonáty lze stanovit pomocí GC až po přeměně na sulfonylfluoridové deriváty[15]. GC je vhodná i pro stanovení kationových tenzidů [17]. GC se může použít i pro stanovení neiontových tenzidů typu ethoxylátů na kolonkách z taveného křemene [15].

Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie poskytuje informace o rozložení délek řetězců neiontových tenzidů. Výhoda spočívá v zakoncentrování jednotlivých složek. Díky složení eluentu je lze od sebe separovat. Velmi rozšířená je také vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), kterou lze použít ke stanovení neiontových a kationtových tenzidů. V metodě HPLC se používají užší kolony, jemnější média, velmi přesné vysokotlaké pumpy, detektory pro okamžité sledování kapaliny vystupující z kolony.

Používané detektory jsou založené na principu refraktometrie, spektrofotometrie (absorpce UV záření, fluorescence). Nevýhodou refraktometrické detekce je malá citlivost, UV detekce je jen pro sloučeniny absorbující UV záření a fluorescence jen pro látky fluoreskující. Pokud některé molekuly nesplňují podmínky absorpce UV záření a fluorescence, je možné vnést do jejich struktury chromoforový kruh (např. pomocí reakce s fenylisokyanátem). Nejpoužívanějším detektorem je ovšem spojení s hmotnostním spektrometrem, díky kterému je usnadněna identifikace jednotlivých oligomerů [14].

Metodou HPLC lze dobře stanovovat aniontové, kationtové i neiontové tenzidy.

Tenkvrstevná chromatografie (TLC)

Výhodou této metody je identifikace složek tenzidů bez předchozí izolace[4]. Vzorky jsou zakoncentrovány, aby se ukládaly na jednom konci média, kde jsou posléze vysušeny. Velmi důležitým aspektem při této metodě je složení vyvíjecího činidla, používá se směs ethylacetátu, kyseliny octové a vody; směs butanolu a vody nebo směs chloroformu, methanolu a vody. Záleží také na volbě materiálu chromatografické desky, nejpoužívanější je i slika gel. Jako způsob detekce zviditelnění skvrny se používá Dragendorffovo činidlo, páry jodu nebo technika autoradiografie spočívající ve vystavení rentgenového filmu účinkům radioaktivních částic [14].

Pomocí TLC lze například stanovit aniontové alkylbenzeny a to v kombinaci s GC/MS a GLC. Kombinace TLC a GLC je výhodnější pro rutinní analýzy odpadních vod a detergentů obsahujících jen jeden nebo dva typy alkylbenzenů[15].

2.3 Elektromigrační metody

Elektroforetické separace jsou založeny na migraci elektricky nabitých částic v elektrickém poli. Kulovitá nabitá částice je hnána gradientem elektrického pole mezi dvěma elektrodami směrem k elektrodě s opačným nábojem[18]. V elektromigračních metodách se využívá elektrokinetického jevu elektroforézy a elektroosmózy [23].

2.3.1 Elektroforetická pohyblivost

Hlavní veličinou elektromigračních separačních metod je elektroforetická pohyblivost μ_e , kterou lze definovat jako rychlost pohybu nabitých částic v kapalném prostředí ve stejnosměrném elektrickém poli o intenzitě E

$$\mu_e = v / E \quad (\text{m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}), \quad (1)$$

kde v je rychlost pohybu v elektrickém poli a E intenzita elektrického pole. Intenzita pole v kapiláře je dána podílem napětí U na koncích kapiláry L .

Platí zde Ohmův zákon s prostředím o specifické vodivosti κ

$$E = U / L = i / \kappa. \quad (2)$$

Rovnoměrný pohyb iontů v roztoku je výsledkem působení dvou sil a to silou elektrického pole

$$F_e = q \cdot E \quad (3)$$

a frikční silou prostředí F_f , danou Stokesovým zákonem

$$F_f = -6 \pi \eta r v, \quad (4)$$

kde v je rychlost pohybu iontu a r je viskozita prostředí.

Z rovnosti těchto opačně orientovaných sil lze odvodit vztah pro elektroforetickou pohyblivost μ_e

$$\mu_e = v / E = q / 6\pi\eta r \quad [19]. \quad (5)$$

Pohyblivost iontu je přímo úměrná náboji a nepřímo úměrná jeho poloměru. Je kvalitativní charakteristikou ionogenních látek. U slabých elektrolytů je pohyblivost závislá na stupni jejich disociace, tedy pH [19].

U roztoků elektrolytů je výhodou možnost modifikovat průběh elektroforetických separací volbou separačního systému a experimentálních podmínek. Protože při analytických elektroforetických separacích pracujeme většinou s velmi malými koncentracemi látek, platí zde Kohlrauschův zákon o pohyblivosti iontů a v roztoku se ionty pravděpodobně budou ovlivňovat jen minimálně. Směr pohybu iontů při elektroforéze závisí na polaritě náboje a na směru elektrického pole. V tzv. katodické elektroforéze se ionty pohybují od anody ke katodě. Při opačném pohybu jde o anodickou elektroforézu [18].

2.3.2 Elektroosmotický tok (EOF)

Častým transportním jevem v kapilárách je elektroosmotický tok. Vzniká působením stejnosměrného elektrického pole na difuzní část elektrické dvojvrstvy na rozhraní pevné a kapalně fáze u vnitřní stěny kapiláry. Je důsledkem selektivní adsorpce jednoho druhu iontů na stěnu kapiláry, nebo při použití křemenných kapilár, disociací ionogenních skupin na

vnitřním povrchu kapiláry. Ionty vytváří na stěně část elektrické dvojvrstvy, která je imobilizovaná a směrem do roztoku zůstává přebytek náboje [18]. Díky tomuto jevu se vytvoří tzv. potenciálový rozdíl, zvaný jako elektrokinetický potenciál, čili ζ potenciál.

Působením stejnosměrného pole se uvede do pohybu difuzní část elektrické dvojvrstvy a také prostřednictvím vnitřního tření v kapalině všechny roztok v kapiláře [19]. Směr toku je určen polaritou nábojů ve dvojvrstvě, jeho rychlost je úměrná hodnotě ζ potenciálu, intenzitě vloženého elektrického pole a relativní permitivitě roztoku. Nepřímo úměrná je však viskozitě roztoku. Pro rychlost EOF platí

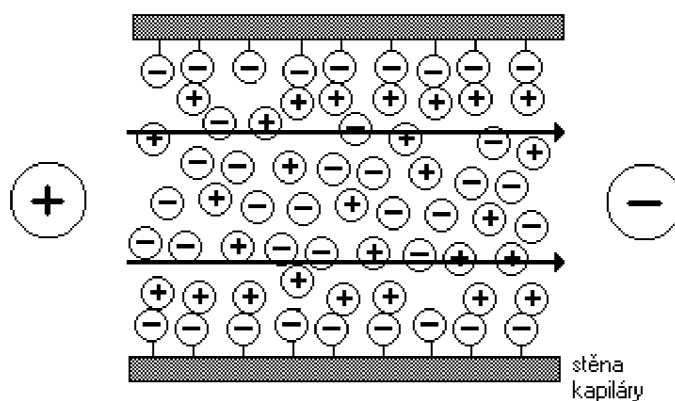
$$v_{\text{EOF}} = (\mathcal{E}\zeta / \eta) E. \quad (6)$$

Elektroosmotická pohyblivost je vyjádřena pomocí konstanty úměrnosti

$$\mu_{\text{EOF}} = (\mathcal{E}\zeta / \eta) [18]. \quad (7)$$

Elektrokinetický potenciál je určen povrchovou hustotou náboje na vnitřní stěně kapiláry. Rychlost EOF je také závislá na pH nosného elektrolytu, zejména v křemenných kapilárách. Například mezi pH 3-8 stoupá 4-5 krát pohyblivost toku a převyšuje elektroforetickou pohyblivost i rychlých malých iontů [19].

Elektroosmotický tok unáší všechny ionty stejnou rychlostí, ovlivňuje tak výslednou migrační rychlost analytů, účinnost separace a čas analýzy [19].



Obrázek. č. 1: Elektroosmotický tok [34]

Nabité částice mají za účasti elektroosmotického toku tzv. zdánlivou pohyblivost μ_Z , která je součtem elektroforetické pohyblivosti a pohyblivosti EOF

$$\mu_Z = \mu_e + \mu_{eo} [23]. \quad (8)$$

2.3.3 Kapilární elektromigrační metody

Kapilární elektromigrační metody jsou založeny na migraci iontů v elektrickém poli, separace se provádí v kapilárách s vnitřním průměrem několik desítek mikrometrů. K výhodám kapilárních metod patří malá spotřeba vzorku a činidel při separaci, velká účinnost, jednoduchá instrumentace a rychlost analýzy, která v některých případech může trvat jen několik minut [20].

První pokusy s migrací iontů v trubicích ve tvaru U, byly provedeny na začátku 19. století. Roku 1897 německý chemik Kohlrausch odvodil regulační funkci, popisující vztah mezi koncentrací a pohyblivostí iontů v elektrickém poli. Roku 1958 provedl švédský chemik Hjertén první elektroforézu v kapiláře i průměru 1 mm. V roce 1981 byly poprvé použity křemenné kapiláry o průměru 75 μm . První komerční přístroj pro kapilární elektromigrační metody se objevil na trhu v roce 1988 [18].

Ke kapilárním elektromigračním metodám patří:

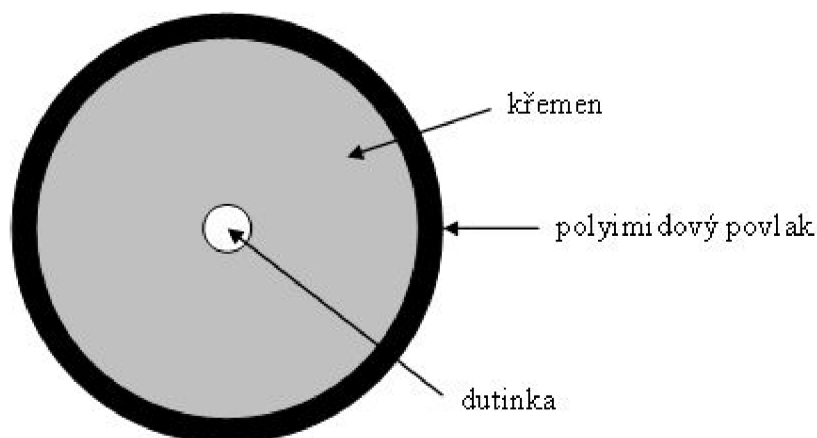
- kapilární zónová elektroforéza (CZE)
- kapilární gelová elektroforéza (CGE)
- micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MEKC)
- elektrochromatografie v kapilárách (EC)
- kapilární izoelektrická fokusace (CIEF)
- kapilární izotachoforéza (CITP)

2.3.3.1 Kapilární zónová elektroforéza (CZE)

Tato metoda je vhodná pro separaci a stanovení iontů lišící se svou molekulovou hmotností, tvarem a nábojem. Molekuly se dělí na základě rozdílných elektroforetických pohyblivostí. Elektroosmotický tok unáší ionty k detektoru, ionty navíc migrují svými rozdílnými elektroforetickými rychlostmi, a tím se vzájemně dělí [18]. Metodou CZE lze separovat nízkomolekulární i vysokomolekulární látky, i látky s různou délkou řetězce [17].

Úspěšné použití kapilární zónové elektroforézy pro stanovení tenzidů ukázalo, že může sloužit jako rutinní technika v mnoha reálných aplikacích. V současnosti jsou k dispozici robustní, validované metody pro kvantifikaci jednotlivých sloučenin, jako jsou například alkylbenzensulfonáty a dodecylsulfát sodný. Charakteristické vzory píkůmohou být použity pro identifikaci povrchově aktivních látek ve vícesložkových přípravcích (např. ethoxyláty a fosfáty) [24]. CZE byla použita k úspěšné analýze iontů z mořské vody, která se vyznačovala vysokou slaností, což bylo považováno za velmi šavlivý vliv [25].

Separace se provádí v kapiláře z taveného křemene o vnějším průměru 375 μm a vnitřím 25, 50, 75 nebo 100 μm . Kapilára je pokryta vrstvou polyimidu, což s kombinací s vrstvou křemene velmi zvyšuje pružnost kapiláry [18].



Obrázek. č. 2: Ukázka průřezu kapilárou[35]

Metoda kapilární elektroforézy využívá jako transportních jevů elektroforetickou pohyblivost a elektroosmotický tok. Vzorek tedy migruje v prostředí základního elektrolytu o konstantním složení a konstantní vodivosti [21].

Konstantní elektroforetická rychlost je přímo úměrná intenzitě elektrického pole a elektroforetické pohyblivosti neboli mobilitě iontu

$$v_{ef,i} = \mu_{ef,i} \cdot E. \quad (9)$$

Intenzita elektrického pole uvnitř kapiláry se dá vypočítat jako podíl napětí a celkové délky kapiláry

$$E = U / L_c. \quad (10)$$

Elektroforetické pohyblivosti jsou přímo úměrné celkovému náboji iontu a nepřímo úměrné poloměru iontu a viskozitě okolí

$$\mu_{ef,i} = Q_i / 6\pi\eta r_i. \quad (11)$$

Elektroosmotický tok neboli elektroosmóza je tok kapaliny kapilárou s vloženým elektrickým polem. Po naplnění křemenné kapiláry roztokem elektrolytu dojde na vnitřní stěně k hydrolyze siloxanových skupin za vzniku silanolových skupin a k jejich následné disociaci a tím pokrytí povrchu kapiláry disociovanými křemičitanovými skupinami, podle rovnice



Vnitřní povrch kapiláry získá negativní náboj, uvolňované protony vytváří pozitivně nabitou vrstvu v roztoku u vnitřní stěny kapiláry. Po vložení napětí dojde k pohybu vodíkových iontů směrem ke katodě. Protony obalené molekulami vody s sebou strhávají vše ke katodě a vzniká elektroosmotický tok [18].

Čím je pH uvnitř kapiláry vyšší, tím větší náboj je rozprostřen na vnitřní stěně kapiláry a tím je elektroosmotický tok rychlejší. Například když kapiláru naplníme 20 mmol/l roztokem tetraboritanu sodného o pH= 9,1, dosáhneme elektroosmotické rychlosti zhruba 3 mm/s, což je rychlost srovnatelná s lineární rychlostí mobilní fáze v HPLC. V kyselých či zásaditých roztocích bude rychlost EOF menší [18].

Na rychlost EOF má také vliv koncentrace separačního elektrolytu. Vyšší koncentrace snižuje ζ potenciál elektrické dvojvrstvy. Tlumivé roztoky o nižší koncentraci v tomto případě přispívají ke zvýšení EOF. Kapilární elektroforéza vykazuje oproti kapilární chromatografii vyšší účinnost separace. I přesto, že EOF je částečně ovlivňován tepelnými efekty uvnitř kapiláry v důsledku elektrického proudu. Elektrický výkon se mění na Joulovo teplo,

$$P = i^2 / K \cdot S^2, \quad (13)$$

kde P = výkon [W.m⁻³],

S = průřez [m²],

K = vodivost [$\Omega^{-1} \cdot m^{-1}$],

i = elektrický proud [A],

kteřé je vedeno přes stěnu kapiláry do okolí. Joulovo teplo ohřívá elektrolyt, což může mít za následek destrukci separovaných látek. Mohou také vznikat teplotní gradient, které mají vliv na pH, hustotu a mobilitu. Tepelným příkonem se v kapiláře ohřívá základní elektrolyt a vytváří se v něm parabolický teplotní gradient, což deformuje rovinný profil toku na mírně parabolický [19]. Teplo vzniká v celém objemu, je však odváděno jen na okrajích kapiláry. Proto musí být kapilára chlazena oběhem chladnější kapaliny nebo plynu [21]. Se změnou teploty o 1°C se mobilita iontů mění asi o 2%. Joulovo teplo lze snížit snížením vnitřního průměru kapiláry, snížením koncentrace základního elektrolytu nebo volbou složek elektrolytu s větší molekulovou hmotností a tím menší pohyblivostí. Lze snížit i vložené napětí, to ale vede ke zhoršení účinnosti analýzy a snížení dostatečného rozlišení zón [19].

2.3.3.2 *Uspořádání v kapilární elektroforéze*

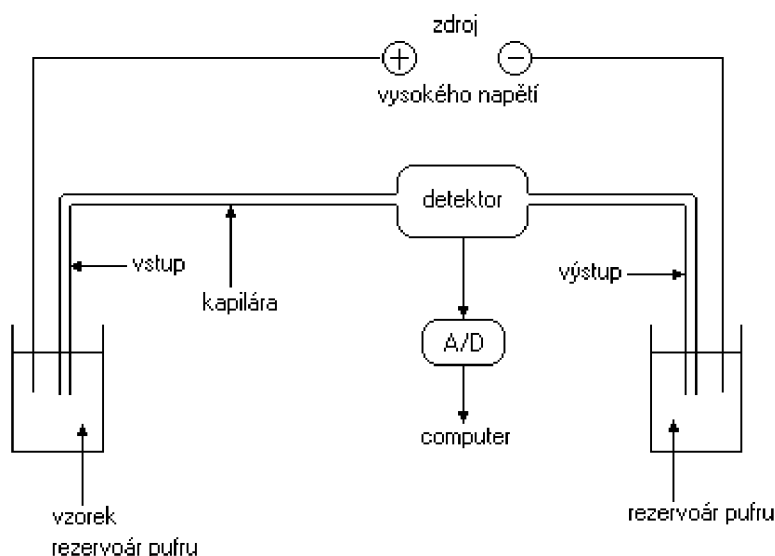
Kapilára je naplněna základním elektrolytem, který vede elektrický proud [22]. Výběr základního elektrolytu je velmi důležitý, může to mít vliv na selektivitu stanovení [25]. Konce kapiláry jsou umístěny v zásobníku s elektrolytem společně s platinovými elektrodami. Objem zásobníku je 1 - 20 ml. Materiálem kapilár je tavený křemen, který propouští světlo. Na povrchu kapiláry se nachází ochranný polyimidový povlak, který zvyšuje pružnost kapiláry. Délka kapiláry L je volena podle podmínek experiment- mezi 25 – 100 cm. Vnitřní

průměr kapiláry může být 20 – 100 μm , nejčastěji se však používá 50 – 75 μm , vnější 350 μm [22]. Protože vrstva polyimidu na povrchu kapiláry nepropuští světlo, musí být před započnutím analýzy polyimid odstraněn a tím vytvořeno tzv. detekční okénko pro průchod paprsku záření detektoru. Vzdálenost okénka od začátku kapiláry vymezuje efektivní délku kapiláry [22].

Prostředím kapilární elektroforézy je tlumivý roztok, neboli elektrolyt (označován jako BGE-“background”) a koncentraci 5 mol.l^{-1} – 100 mol.l^{-1} . Podle potřeby mohou být k elektrolytu přidávány další složky podle potřeb analýzy. Elektrolytem se plní jak kapilára, tak elektrodové prostory.

Mezi elektrody se vloží napětí 10 – 30kV a velmi malý objem vzorku (nl) se aplikuje na začátek kapiláry. Kapalina migruje kapilárou k detektoru [19].

Záznam závislosti odezvy detektoru na čase se nazývá elektroforeogram. Poloha píků určuje kvalitu, plocha a výška píků kvantitu látky ve vzorku [23].



Obrázek. č. 3: *Uspořádání CE [34]*

Tabulka č. 3: Elektrolyty používané v CZE [22]

Elektrolyt	pKa		
Fosfát	2,16 pK _{a1}	7,21 pK _{a2}	12,67 pK _{a3}
Citrát	3,15 pK _{a1}	4,77 pK _{a2}	6,40 pK _{a3}
Acetát	4,75		
MES	6,15		
PIPES	6,80		
ACES	6,90		
MOPSO	6,90		
MOPS	7,20		
HEPES	7,55		
TRIS	8,30		
Borát	9,24		
CHES	9,50		
CAPS	10,40		

2.3.3.3 Kapilára

Kapiláry jsou křemenné, protože křemen velmi dobře propouští UV záření. Kapiláru je před použitím nutné aktivovat, čímž aktivují silanolové skupiny. Před prvním použitím se kapilára promývá 30 - 60 min 1 mol·l⁻¹ NaOH, 15 - 30 min vodou a 30 - 60 min zvoleným elektrolytem.

Vnitřní povrch kapiláry může být chemicky modifikován navázáním různých látek, potom se jedná o tzv. pokrytou kapiláru. Pokrytí kapiláry má své výhody v rychlosti analýz a ve větší stabilitě kapiláry. Úprava povrchu se využívá např. pro snížení adsorpce vzorku [23].

Dávkování vzorku

Roztok vzorku se dávkuje na začátek kapiláry, který je vzdálenější od detektoru v množství zhruba 10 - 100 nl. Dávkování lze provést několika způsoby

- dávkování tlakem (konec kapiláry je ponořen do nádoby se vzorkem, zvýší se tlak)
- rozdílem hladin (metoda je založena na principu spojených nádob)
- elektrokineticky (konec kapiláry je ponořen do nádoby, zvýší se napětí) [23].

Při dávkování vzorku, který má menší elektrickou vodivost než elektrolyt, dochází k jeho zkoncentrování na rozhraní mezi vzorkem a elektrolytem. Zóna vzorku vyžaduje větší intenzitu elektrického pole, než je intenzita v separačním elektrolytu. Ionty uvnitř zóny poté migrují větší rychlostí, dokud nedosáhnou rozhraní mezi vzorkem a elektrolytem a nižší

intenzita elektrického pole ionty zpomalí a zakoncentruje. Kationty se zkoncentrují vepředu, anionty na zadním rozhraní [18].

Detekce

Nejpoužívanějším typem detekce v kapilární elektroforéze je optická detekce. Velmi používaný je absorpční fotometrický detektor pro ultrafialovou a viditelnou oblast. Tuto detekci lze použít buď přímo, nebo nepřímo.

Přímá fotometrická detekce

Jestliže nalezneme vlnovou délku pro detekci, při níž analyzované látky absorbují záření více než elektrolyt, v němž jsou rozpuštěny, jedná se o přímou absorpční detekci. Přímou detekci stanovujeme látky absorbující UV- VIS záření v rozmezí 200 – 800 nm. Při průchodu analytu detekčním okénkem odezva roste a v elektroforeogramu se objeví kladný pík.

Nepřímá fotometrická detekce

Pro analyty, které špatně absorbují záření v ultrafialové a viditelné oblasti, je vhodná nepřímá fotometrická detekce. Jedná se například o menší kationty a anionty (Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^+ , Cl^- , F^- , SO_4^{2-} , NO_3^-). Velmi důležité je zde pufování základního elektrolytu. Pro analýzu se poté používá tzv. ko-iont. Iont nesoucí náboj stejného znaménka a absorbující záření při vhodné vlnové délce. Detekce je založena na vytěsnění ko-iontů ze zóny neabsorbujícího analytu na základě zachování elektroneutality zóny. V elektroforeogramu se objeví záporný pík [18].

Mezi další detekční techniky patří fluorescenční detekce využívající laserem indukovanou fluorescenci, vhodnou zejména pro fluoreskující analyty. Vodivostní detekce je založená na měření vodivosti jednotlivých zón s bezkontaktním vodivostním detektorem výborným pro detekci malých anorganických iontů. Pro elektrochemicky aktivní analyty je možné použít elektrochemickou detekci s amprometrickým detektorem. Informace o struktuře látek poskytne detekce pomocí diodového pole a hmotnostního spektrometru [18].

Vyhodnocení záznamu

Elektroforeogram poskytuje kvalitativní a kvantitativní informace. Je obrazem zón analytů separovaných v kapiláře. Poloha píku udává migrační čas, z něhož lze vypočítat elektroforetickou pohyblivost. Pro výpočet platí

$$\mu_{exp} = v/E = (L \cdot l / U) \cdot (l / t_m) \quad (14)$$

kde L je celková délka kapiláry, l tzv. efektivní délka od detekčního okénka, ke konci kapiláry, U vložené napětí, t_m migrační čas.

Je-li v kapiláře přítomen elektroosmotický tok, potom mobilitu nazýváme zdánlivou mobilitou μ_{app} . Efektivní mobilita μ_{eff} je dána vztahem

$$\mu_{eff} = \mu_{app} - \mu_{eo} \quad (15)$$

kde μ_{eo} je rychlost pohybu elektroosmózy, která se zjistí experimentálně měřením neutrálního markeru, např. mesityloxydu.

Plocha píku v elektroforeogramu je přímo úměrná koncentraci analytu nadávkovaného do kapiláry.

Pro vyhodnocení elektroforeogramů lze použít metodu kalibrační přímky, vnitřního standardu nebo standardního přípravku. Kolísající rychlost EOF ovlivňuje reprodukovatelnost ploch píků, proto je lepší vyhodnocovat píky z tzv. korigované plochy píku. Což je plocha píku dělená migračním časem [18].

Účinnost separace v kapilární elektroforéze

Odpor vůči převodu hmoty

Elektroosmotický tok je po celé délce kapiláry rovnoměrný. Profil toku je pístový, všechny složky jsou tím pádem nesený kapilárou stejnou rychlostí bez rozšíření zóny. Oproti tomu laminární tok má parabolický profil a na okrajích se kolona pohybuje pomaleji. Laminární tok rozšiřuje píky, proto se v kapilární elektroforéze nepoužívá [23].

Molekulární difuze

Tento jev je hlavní příčinou rozšiřování zón složek při průchodu kapilárou. Difuze se projevuje zejména u větších molekul [23].

2.3.4 Stanovení tenzidů metodou kapilární elektroforézy

Dá se říci, že využití kapilární elektroforézy teprve hledá místo mezi ostatními separačními technikami, jako je třeba plynová nebo kapalinová chromatografie. Třídy tenzidů se působením elektrického pole separují jedna od druhé. Aniontové míří k zápornému pólu, kationtové ke kladnému. Neiontové tenzidy se nepohybují. Výhodou kapilární elektroforézy jsou malé nároky na spotřebu rozpouštědel [24], [26].

Přesto lze nalézt řadu odborných prací, které se touto problematikou zabývají. Jejich přehled je uveden v tabulce č. 4.

Tabulka č. 4: Příklady separačních podmínek tenzidů pro různé aplikace

Podmínky separace	Použití
15 mmol.l ⁻¹ naftalensulfonová kyselina, 15 mM triethylamin v ACN/MeOH 75/25	čisticí prostředky st. tenzidů C ₈ -C ₁₈ [27]
80 mmol.l⁻¹ Na₂B₄O₇ o pH=7-8,5	standardy tenzidů C₁₂-C₁₈[28]
50 mmol.l ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ o pH=4,5, H ₂ O/THF 50/50	N-benzyl-N-alkyl-N,N- dimethyl amonium chlorid[17]
15 a 5 mmol.l⁻¹ kyselina 3,5-dinitrobenzoová o pH=7,2 5 mmol.l⁻¹ kyselina 3,5-dinitrobenzoová o pH=9 10 mmol.l⁻¹ kyselina pikrová o pH=7,2	povrchová a odpadní voda, standardy tenzidů[29]
12,5 mol.l ⁻¹ C ₂ H ₃ NaO ₂ /2% CH ₃ COOH, ACN/MeOH, 80/20	průmyslové detergenty[30]
100 mmol.l⁻¹ Na₂HPO₄ o pH=6,8, 30% ACN 20 mmol.l⁻¹ kyselina salicylová, pH=6, 30% ACN 5 mmol.l⁻¹ dodecylbenzolsulfonát s 5 mM Na₂HPO₄, pH=6,8, 30% ACN 50 mmol.l⁻¹ Na₂HPO₄, pH=6,8, 55% THF 50 mmol.l⁻¹ Na₂HPO₄, pH= 6,8, 50% ACN	standardy lineárních alkylbenzensulfonátů, polyethoxylátů[31]
100 mmol.l ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ , pH=6,8, 30% ACN 10 mmol.l ⁻¹ p-toluensulfonová kyselina s 5 mM p-toluensulfonová kyselinou 5 mmol.l ⁻¹ SDBS s 5 mM Na ₂ HPO ₄ , pH=6,8, 30% ACN 20 mmol.l ⁻¹ kyselina salicylová, pH=6, 30% ACN	tenzidy z povrchových vod kosmetické mycí prostředky lineární tenzidy[24]
10 mmol.l⁻¹ Na₂HPO₄ s 40 mM SDS, pH=6,8, 30% ACN 100 mmol.l⁻¹ Na₂B₄O₇, pH=8 250 mmol.l⁻¹ Na₂B₄O₇, pH=8, 30% ACN	prací prostředky povrchová voda odpadní voda[26]
20 mmol.l ⁻¹ Na ₂ B ₄ O ₇ , pH=9, 30% ACN	standardy tenzidů[32]

2.3.4.1 Stanovení lineárních alkylbenzensulfonátů

Lineární alkylbenzensulfonáty (LAS) patří mezi nejběžnější aniontové tenzidy používané v čisticích prostředcích. Jedná se o směs homologů C₁₀ – C₁₄, kdy každý homolog obsahuje 4 - 6 izomerů v různých pozicích na benzenovém kruhu, který je navázán na lineární alkylový řetězec [26]. Co se týče rizika pro životní prostředí, LAS mohou přispívat k eutrofizaci. Interagují také s buněčnými membránami, proteiny a enzymy buněk akvatických organismů, což se může projevit poškozením jejich organismů. Toxicitu LAS ovlivňuje délka řetězce a poloha na benzenovém jádře [26].

Z hlediska stanovení metodou CZE lze určit celkový obsah LAS ve vzorku, kdy se při výběru vhodného pufru s přísadkou organického rozpouštědla všechny homology separují jako jediný pík v krátkém čase [24], [26].

Pokud je třeba separovat jednotlivé izomery tenzidů, které mají velmi podobné elektroforetické mobility, zvyšuje se podíl organického rozpouštědla v elektrolytu, nebo se k elektrolytu přidává některý z tenzidů separované třídy. Například u aniontových tenzidů je to dodecylsulfát sodný (SDS). Díky organickému rozpouštědлу nebo SDS v roztoku pufru se vytvoří micely a dojde k separaci izomerů. Vliv na separaci má délka řetězce a poloha na benzenovém jádře. Více hydrofobní složky s SDS interagují méně silně a analyt má tendenci migrovat spíše k anodě. Homology s delšími řetězci migrují pomaleji a s SDS interagují silněji [26].

LAS obsahující benzenový kruh absorbují UV záření a lze je tedy stanovovat přímou detekcí. Tenzidy s lineárním řetězcem, které neobsahují skupinu absorbující UV záření, je nutné stanovovat nepřímou přidáním standardu tenzidu absorbující UV záření do roztoku základního elektrolytu. Tyto tenzidy se pak na elektroforeogramu objeví jako negativní pík. Takto tenzidy separovali například Heinig, Vogt a Werner [31].

2.3.4.2 Kapilární elektroforéza v nevodném prostředí

Pro hydrofobní analyty, které se špatně rozpouštějí v elektrolytech zředěných vodou, je vhodná elektroforéza v nevodném prostředí. Jak píše Heinig a Vogt je tato metoda vhodná i pro jednoduché tenzidy s lineárním řetězcem [24]. Příkladem nevodných elektrolytů může být kyselina octová nebo 2-naftalensulfonová v methanolu nebo v methanolu s acetonitrilem. Lze použít také tetrabutylamonium hydroxid v methanolu s acetonitrilem. Protože jde zejména o lineární řetězce, které neabsorbují UV záření, používá se nepřímá detekce. Díky organickým rozpouštědlům je elektroosmotický tok redukován a analyty mají tendenci směřovat spíše k anodě. LAS lze za těchto podmínek separovat již ve čtvrté minutě [24].

2.3.4.3 Zvýšení citlivosti kapilární elektroforézy

Citlivost metody lze zvýšit přidáním speciálních látek. U látek s benzenovým jádrem Heinig a Vogt použili například α -cyclodextrin. Tato látka s analytem vytvořila komplex a výsledné píky byly užší. Analýza také trvala kratší dobu. Autoři uvádí změnu rychlosti z původních 30 minut bez α -cyclodextrinu na 6 minut s α -cyclodextrinem [24]. Při separaci složitějších směsí lze do základního pufru přidávat SDS jak je popsáno v kapitole 2.2.12.1.

Mezi další metody jak zvýšit citlivost analýzy patří optimalizace jednotlivých parametrů metody. Tyto úpravy zahrnují nastavení doby nástřiku, teploty, napětí, koncentrace základního elektrolytu, poměr organického rozpouštědla v elektrolytu atd. Těmto bodům bude věnována pozornost v kapitole výsledky a diskuze.

V tabulce č. 5 jsou shrnuty podmínky separace por aniontové tenzidy.

Tabulka č. 5: Podmínky separace pro aniontové tenzidy

Podmínky separace		Použití
15 mmol.l ⁻¹ naftalensulfonová kyselina, 15 mmol.l ⁻¹ triethylamin v ACN/MeOH 75/25	napětí 20kV, detekce 220nm l= 48,5 cm, ID=50 μm	čisticí prostředky st. tenzidů C ₈ -C ₁₈ [27]
100 mmol.l⁻¹Na₂HPO₄ o pH=6,8, 30% ACN 20 mmol.l⁻¹ kyselina salicylová, pH=6, 30% ACN 5 mmol.l⁻¹ ¹dodecylbenzolsulfonát s 5 mmol.l⁻¹Na₂HPO₄, pH=6,8, 30% CAN	napětí 20kV detekce 200–214nm l= 57 cm ID=75μm	standardy lineárních alkylbenzensulfonátů, polyethoxylátů[31]
100 mmol.l ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ , pH=6,8, 30% CAN	napětí 20kV detekce 200nm l= 57 cm ID=75μm	tenzidy z povrchových vod kosmetické mycí prostředky lineární tenzidy[24]
10 mmol.l⁻¹Na₂HPO₄ s 40 mM SDS, pH=6,8, 30% ACN 100 mmol.l⁻¹ Na₂B₄O₇, pH=8 250 mmol.l⁻¹ Na₂B₄O₇, pH=8, 30% ACN	napětí 25kV detekce 200nm l= 47-57 cm ID=50-75μm	prací prostředky povrchová voda odpadní voda[26]
20 mmol.l ⁻¹ Na ₂ B ₄ O ₇ , pH=9, 30% ACN	napětí 20kV detekce 200nm l= 50 cm ID=50μm	standardy tenzidů[32]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístroje, základní elektrolyty a standardy

3.1.1 Přístroje

K měření byly použity tyto přístroje: ³D kapilární elektroforéza Agilent CE, Agilent Technologies (Waldbronn, Německo) model GF1600A doplněný detektorem Agilent 35900E s diodovým polem, který pracuje v rozmezí vlnových délek 190 - 600 nm; křemenná kapilára pro kapilární elektroforézu, ID=75 μm (MicroSolvTechnology Corporation, Eatontown, USA); pH metr inoLab 730 (Weiiheim, Německo, WTW GmbH), který byl kalibrován standardními pufrů 10,01 ± 0,02 a 7,00 ± 0,01 (HamiltonBonaduz AG, Švýcarsko); analytické váhy HR-120-EC (A&D Instruments Ltd, Japonsko); 0,45 μm PTFE filtr (LABICOM, Olomouc, Česká republika).

3.1.2 Chemikálie

Standardy aniontových tenzidů: dodecylsulfát sodný, Sigma ultra, minimum 99% GC, CAS 151-21-3 (Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Německo); oktylsulfát sodný, approx. 95%, CAS 142-31-4 (Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Německo); dodecylbenzensulfonát sodný, technical grade, CAS 25155-30-0 (Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Německo).

Další použité chemikálie: acetonitril (Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Německo); fosforečnan sodný kyselý, P.A. (Lachema, Brno, Česká republika); miliQ voda (Millipore, Academic); hydroxid sodný, P.A. (Lachema, Brno, Česká republika); kyselina salicylová, P.A., 99% (Lachema, Brno, Česká republika), mesityloxid (Sigma Aldrich chemie, Steinheim, Německo).

3.1.3 Použité elektrolyty

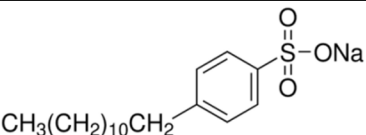
Elektrolyty byly připraveny z výše uvedených chemikálií. Pro přípravu fosfátového pufru byla navážka fosforečnanu sodného rozpuštěna ve směsi vody s acetonitrilem (70/ 30) a poté bylo upraveno pH na 6,8. Kyselina salicylová pro elektrolyt byla rozpuštěna ve vodě a až poté byl přidán acetonitril a nastaveno pH. Po přípravě byly elektrolyty uchovávány v zásobních skleněných lahvích při 4 °C. Elektrolyty byly takto skladovány dva měsíce. Byly použity následující elektrolyty:

- 20 mmol.l⁻¹ kyselina salicylová rozpuštěná ve směsi voda/acetonitril (70/ 30), nastavená na pH 6 roztokem 1 mol.l⁻¹ NaOH
- 5 mmol.l⁻¹ fosfát rozpuštěný ve směsi voda/acetonitril (70/ 30), nastavený na pH 6,8 roztokem 1 mol.l⁻¹ NaOH
- 10 mmol.l⁻¹ fosfát rozpuštěný ve směsi voda/acetonitril (70/30), nastavený na pH 6,8 roztokem 1 mol.l⁻¹ NaOH
- 50 mmol.l⁻¹ fosfát rozpuštěný ve směsi voda/acetonitril (70/30), nastavený na pH 6,8 roztokem 1 mol.l⁻¹ NaOH

3.1.4 Standardy aniontových tenzidů

Jako standardy aniontových tenzidů byly použity komerčně vyráběné tenzidy ze skupiny sulfátů a sulfonátů. Tyto látky jsou běžně součástí pracích a čisticích prostředků.

Tabulka č. 6: Standardy aniontových tenzidů [33]

Název	Vzorec	Molární hmotnost
SOS <i>oktylsulfát sodný</i>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-\text{ONa}$	232,28
SDS <i>dodecylsulfát sodný</i>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-\text{ONa}$	288,38
SDBS <i>dodecylbenzensulfonát sodný</i>	 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-\text{ONa}$	348,48

Byly připraveny zásobní roztoky standardů tenzidů o koncentraci 50 mmol.l⁻¹. Při analýzách byly tyto roztoky ředěny základním elektrolytem, který byl rozpuštěn ve směsi voda/acetonitril (70/ 30) na 5 mmol.l⁻¹až 15 mmol.l⁻¹.

Pro nepřímou detekci byl k základnímu roztoku fosfátového pufru přidáván 1 ml 50 mmol.l⁻¹ SDDBS do celkového objemu 5 ml BGE. Tento elektrolyt byl připravován na začátku každého dne měření vždy nový, protože po 6 - 8 hodinách se zakaloval, což mohlo zkreslovat výsledky analýz.

3.1.5 Vzorky čisticích a pracích prostředků

Po optimalizaci metody byla přítomnost tenzidů testována ve vzorcích běžných čisticích a pracích prostředků. Vždy byl porovnáván běžný prostředek a prostředek, který nesl označení „ekologický šetrný“.

Jednalo se o tyto přípravky:

- **JAR**- prostředek na ruční mytí nádobí, Procter&Gamble, Rakovník, kde výrobce deklaruje 5-15 % aniontových PAL a méně než 5 % neiontových PAL
- **Celestina koncentrát**- ekologicky šetrný prostředek na ruční mytí nádobí, MISSIVA s.r.o., Ústí nad Labem, výrobce uvádí 15-30 % aniontových PAL, 5-15 % neiontových PAL, 5-15 % amfoterních PAL
- **Persil expert color**- prací prostředek, Henkel CEE GmbH, Rakousko, výrobce uvádí 5-15 % aniontových a neiontových PAL
- **Wash and feel eco color laundry gel**- ekologicky šetrný prací gel, FOSFA a.s., Břeclav, který obsahuje dle výrobce 5-15 % neiontových a aniontových PAL
- **Finish powerball**- prostředek na mytí nádobí v myčce, Calgonit, Reckitt Benckiser, EU, prášek obsahuje 5 % aniontových PAL
- **Celestina automatic**- přípravek pro mytí nádobí v myčkách, MISSIVA s.r.o., Ústí nad Labem, výrobce deklaruje 5-15 % aniontových PAL.

K analýze bylo naváženo 0,1g vzorků čisticích, které byly posléze rozpuštěny v 10 ml 10 mmol.l⁻¹ fosfátového pufru, který obsahoval 70 % vody a 30 % acetonitrilu.

3.1.6 Vzorky povrchových vod

Na závěr měření byla přítomnost tenzidů testována ve vzorcích povrchové vody. Vzorky byly odebrány 9. 3. 2014 z řeky Moravy v lokalitě Veselí nad Moravou. Odebrány byly dva vzorky- první nad jezem (48°57'19.959"N, 17°22'43.119"E) a druhý na výpusti z ČOV (48°57'0.806"N, 17°22'2.717"E).

Vzorky byly odebrány do vymytých skleněných lahví o objemu 1l. Po odběru byly do 24 hodin dopraveny do laboratoře a uskladněny v lednici při teplotě 4 °C tři týdny až do doby analýzy. Před analýzou byla voda přefiltrována přes 0,45 µm PTFE filtr a ihned zanalyzována.

3.2 Podmínky separace

Pro analýzy byla použita nepokrytá kapilára o celkové délce 58,7 cm. Efektivní délka činila 50 cm, ID=75 µm. Před prvním použitím byla kapilára vždy promývána 60 minut 1 mol·l⁻¹ NaOH, 30 minut vodou a 60-120 minut zvoleným elektrolytem.

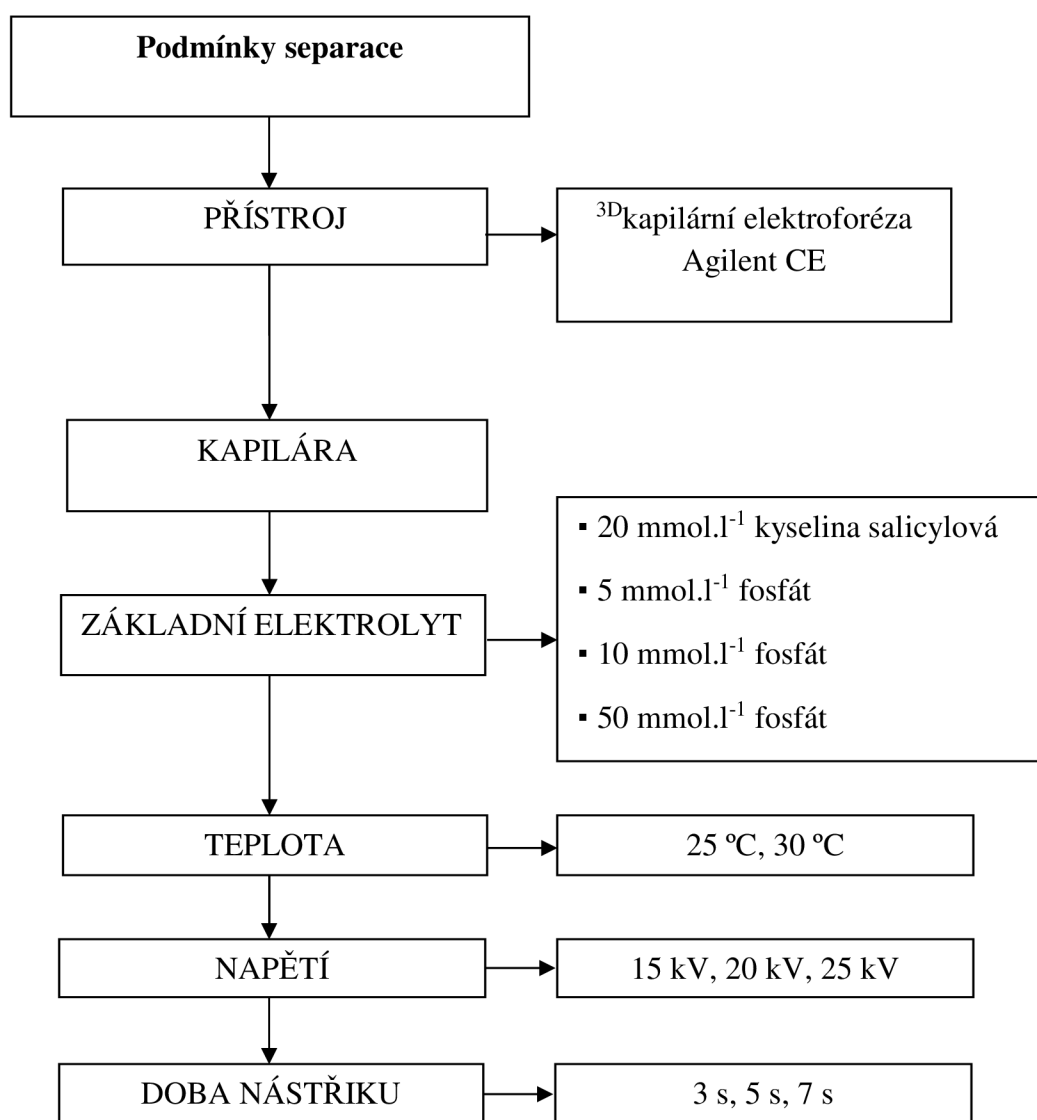
Mezi jednotlivými analýzami byla kapilára promývána 2 minuty vodou, 1 minutu 0,1 mol·l⁻¹NaOH, 1 minutu vodou a 3 minuty základním elektrolytem.

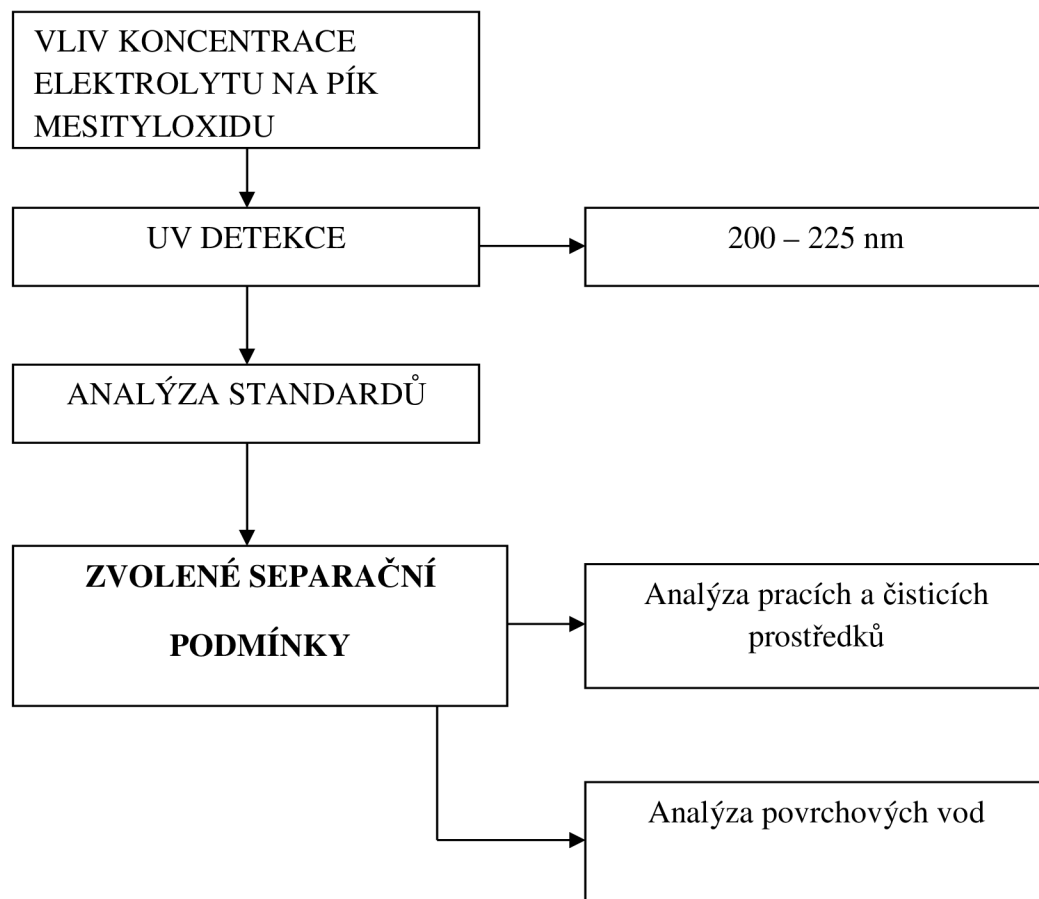
Jako marker elektroosmotického toku byl použit mesilyloxid.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Vývoj separačních podmínek pro analýzu tenzidů

Nutným krokem před započnutím samotných měření vzorků bylo sestavit optimální podmínky pro analýzu. V obrázku č. 4 je znázorněn postup kroků optimalizace.





Obrázek. č. 4: Schéma vývoje separačních podmínek

4.1.1 Kapilára

Jak je popsáno v tabulce číslo 5 [26, 27, 31, 32], k separaci neiontových LAS autoři studií používali délku kapilár 47-57 cm. Proto byla k experimentům zvolena délka v tomto rozmezí. Efektivní délka kapiláry, kterou jsem používala, byla 50 cm, detekční okénko bylo vzdáleno 8,7 cm od konce kapiláry. Celková délka kapiláry činila 58,7 cm. Během měření bylo zjištěno, že kapiláru je možné použít jen asi na 100 analýz a pak je ji nutné vyměnit.

4.1.2 Volba základního elektrolytu

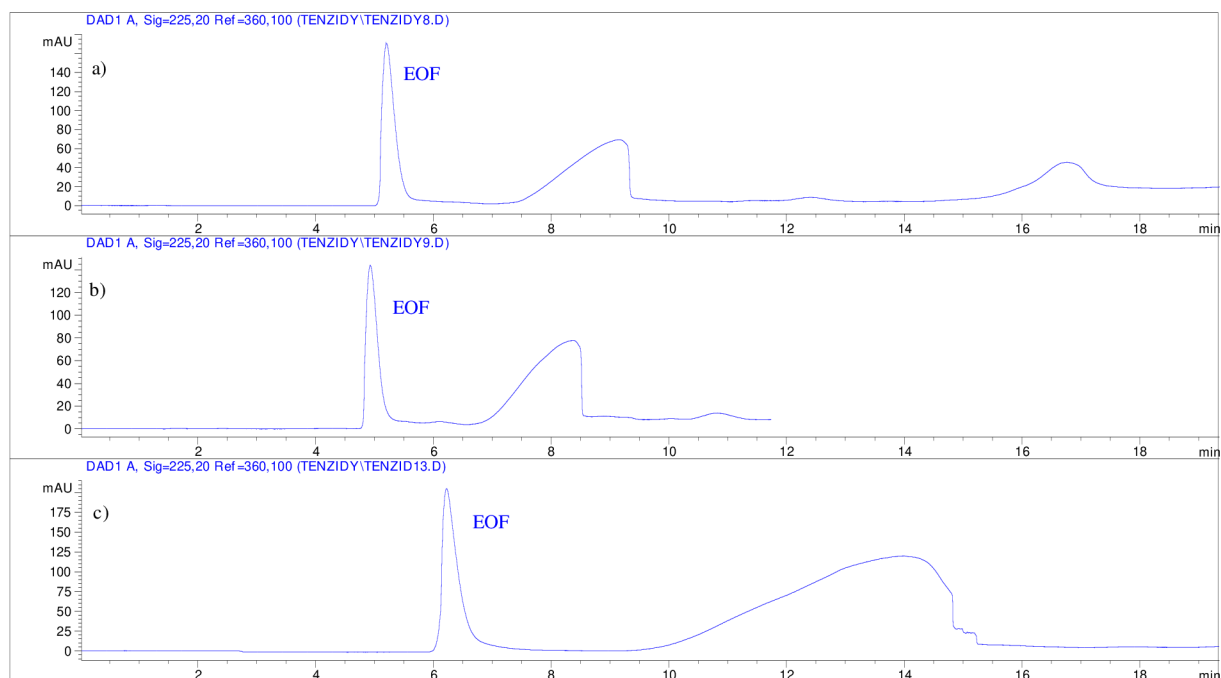
Jak vyplynulo z literární rešerše [26, 31], lze pro analýzu LAS použít fosfátový či borátový pufr, kyselinu salicylovou nebo 2-naftalensulfonovou. Vždy ve směsi ACN/voda nebo MeOH/voda. Lze separovat i v nevodném prostředí ve směsi ACN/MeOH [27]. Přídavek organického rozpouštědla k základnímu elektrolytu zamezuje tvorbě micel a slouží tak jako rozpouštědlo pro tenzidy, které se vodě hůře rozpouštějí.

Pro úvodní experimenty byl použit jako základní elektrolyt (tj. BGE – background electrolyte) 20 mmol.l⁻¹ kyselina salicylová. Jako vhodný elektrolyt se však bohužel neosvědčil. Měření s

kyselinou salicylovou dávalo natolik nestabilní základní linii, že výsledky nebylo možné vyhodnotit. Jako další elektrolyt byl vybrán fosfátový pufr. Dle publikace [26] a [31] byly pokusy provedeny s 5 mmol.l⁻¹, 10 mmol.l⁻¹ a 50 mmol.l⁻¹ BGE a ve směsi voda/ACN (70/30), pH bylo nastaveno na 6,8. Pro testování elektrolytu byly vybrány standardy aniontových tenzidů, které se běžně vyskytují v čisticích a pracích přípravcích. Jednalo se o oktylsulfát sodný, dodecylsulfát sodný a dodecylbenzensulfonát sodný, které mají různou délku řetězce. Byly připraveny 50 mmol.l⁻¹ zásobní roztoky těchto standardů, který byly rozpuštěny ve směsi voda/ACN (70/30). K vzorkům bylo přidáváno 2,5 μl mesitylsoxidu jako markeru elektroosmotického toku a takto byly vzorky nastříkány do kapiláry. Výsledná mobilita byla vypočítána podle vztahů (14) a (15). Mobility standardů v 5, 10 a 50 mmol.l⁻¹ BGE jsou uvedeny v tabulce 7. Nejříve byla testována analýza s přímou detekcí se standardem SDBS, který absorbuje v rozmezí 190-225 nm.

Tabulka č.7: Mobility 50 mmol.l⁻¹ standardu SDBS v fosfátovém BGE o pH 6,8 a koncentracích 5, 10, 50 mmol.l⁻¹

	$\mu_{\text{eff}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$		
	5 mmol.l ⁻¹	10 mmol.l ⁻¹	50 mmol.l ⁻¹
SDBS <i>dodecylbenzensulfonát sodný</i>	- 17,96	- 12,63	- 10,44



Obrázek č. 5: Srovnání jednotlivých základních elektrolytů s 50 mmol.l^{-1} SDBS a přidavkem mesityloxiidu, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), $\text{pH}=6,8$. **a)** 5 mmol.l^{-1} BGE **b)** 10 mmol.l^{-1} BGE **c)** 50 mmol.l^{-1} BGE. Separáční podmínky: napětí 20kV, detekční vlnová délka 225 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7 \text{ cm}$, $l=50 \text{ cm}$, vzorek SDBS ve směsi voda/ACN (70/30).

Jak je vidět na obrázku 5, jevil se jako nejvhodnější 5 mmol.l^{-1} , případně 10 mmol.l^{-1} fosfátový elektrolyt. Jak je také na obrázku vidět, marker elektroosmotického toku mesityloxiid, dával odezvu vždy v rozmezí páté až šesté minuty. Tento čas byl u přímé detekce vždy zahrnut do výpočtu elektroosmotické mobility.

4.1.3 Teplota

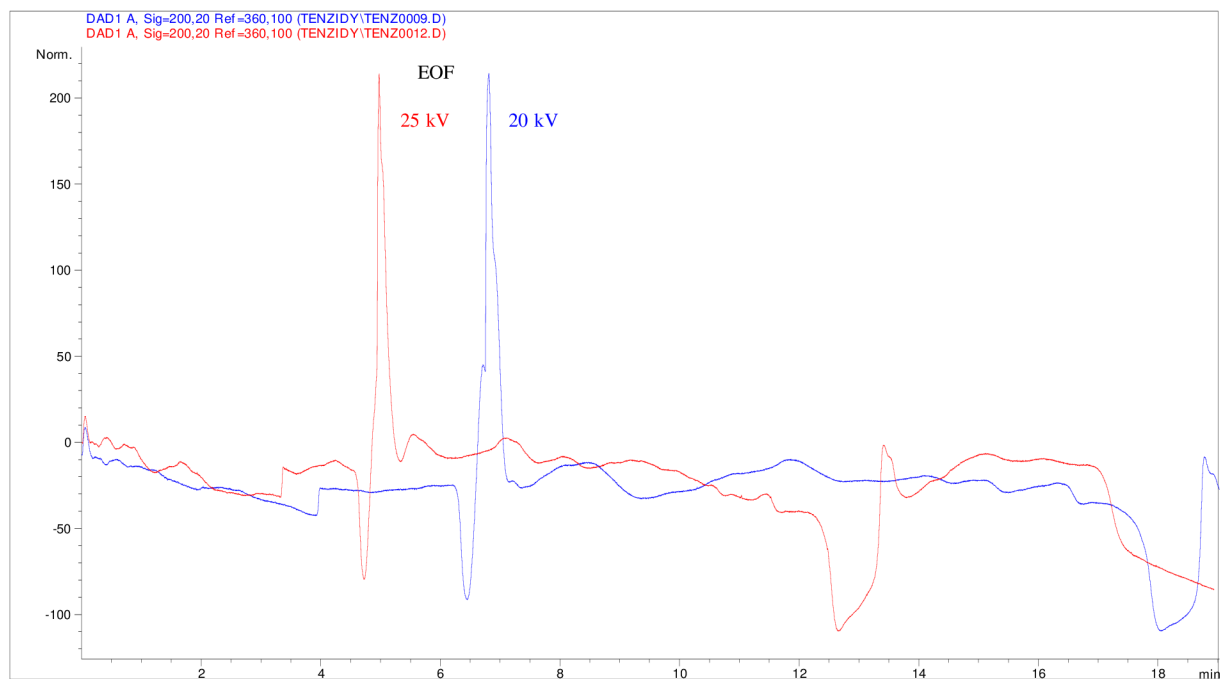
Autoři většiny článků zabývajících se separací LAS uvádějí, že analýzy by se měly provádět za běžné laboratorní teploty $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Při vyšších teplotách by elektrolyt nebo vzorky mohly podléhat chemickým přeměnám. Při analýzách se musel brát v úvahu vznik Joulova tepla, které působí negativně na rozšíření píků. Přístroj Agilent CE se také během množství analýz zahřívá, a proto byla teplota nastavena na $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Bylo však zjištěno, že analýzy mohou úspěšně probíhat i při teplotě $30 \text{ }^\circ\text{C}$ bez větších změn odezvy.

4.1.4 Vložené napětí

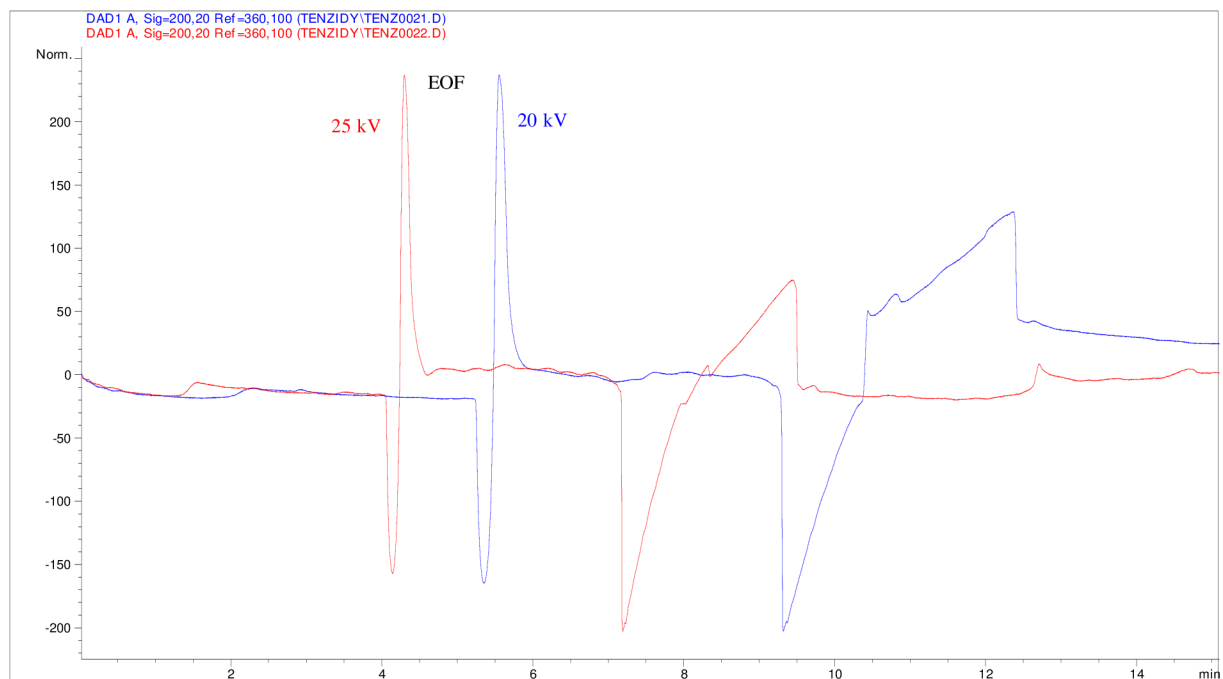
Bylo testováno vložené napětí 15, 20 a 25 kV u vybraného 5 mol.l^{-1} fosfátového elektrolytu. Po analýzách s 15 kV bylo rozhodnuto pokračovat jen v testování 20 a 25 kV. Měření bylo prováděno vždy s přidavkem jednoho standardu do základního elektrolytu.

Detekční vlnová délka byla 200 nm. Na obrázku 7 jsou znázorněny analýzy s napětím 20 a 25 kV.

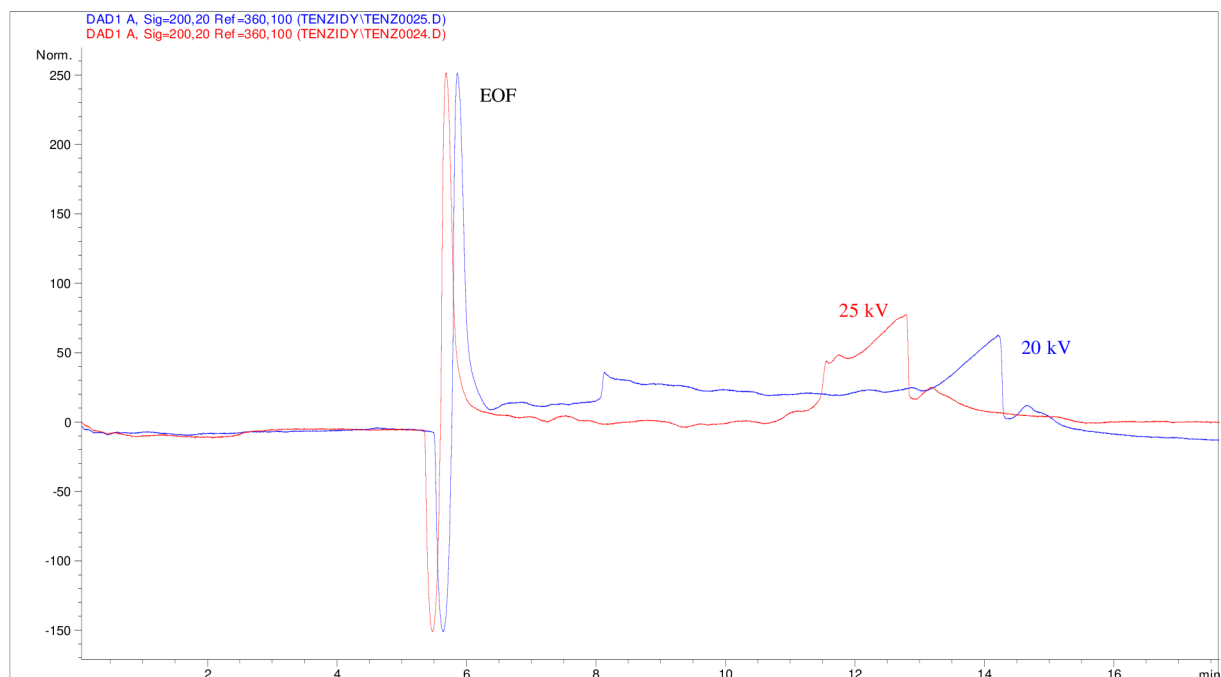
7a)



7b)



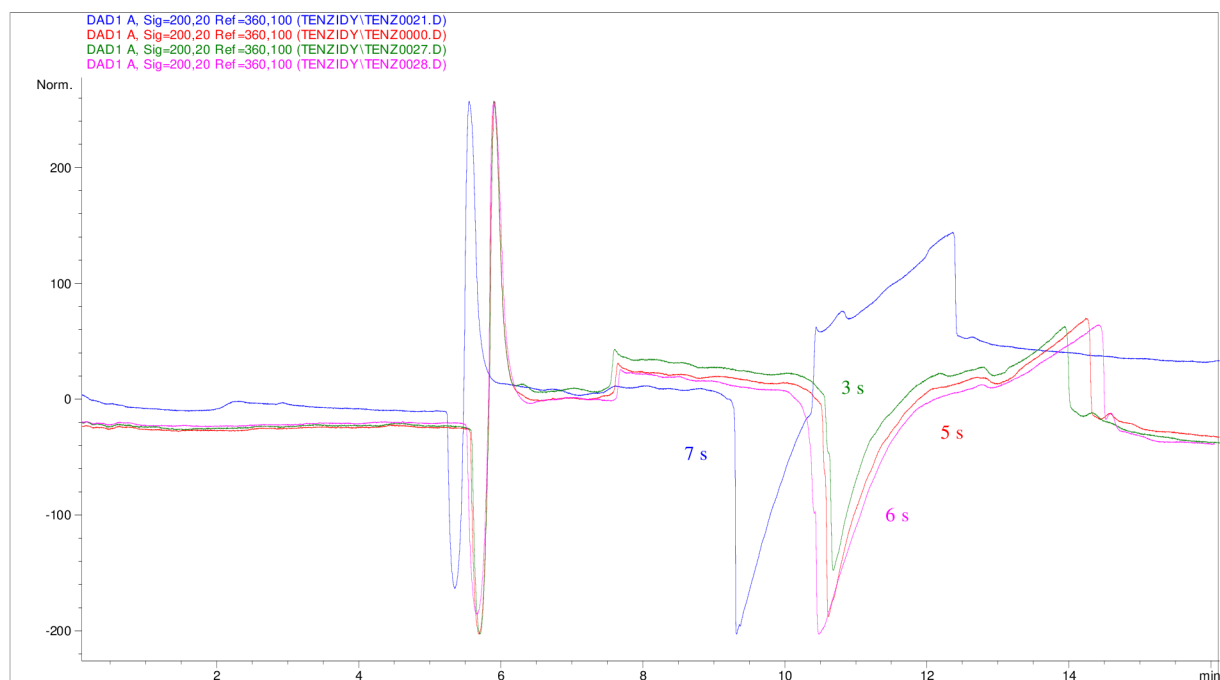
7c)



Obrázek č. 7: Srovnání analýz vloženého napětí, 5 mmol.l^{-1} fosfátový BGE s přidavkem 50 mmol.l^{-1} SDBS pro nepřímou detekci, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), $\text{pH}=6,8$, **a)** BGE s SOS, **b)** BGE s SDS, **c)** BGE s SDBS. Separáční podmínky: detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7 \text{ cm}$, $l=50 \text{ cm}$, vzorek tenzidu ve směsi voda/ACN (70/30).

4.1.5 Doba nástřiku

Je známo, že prodloužení doby nástřiku může zlepšit tvar výsledných píků, zvláště pokud se jedná o velmi zředěné vzorky. V pokusu byla testována doba nástřiku 3, 5, 6 a 7 sekund. Měření bylo provedeno s jedním standardem tenzidu, a to SDS. Detekční vlnová délka při nepřímé detekci byla 200 nm. Jako nejvhodnější byla po provedení dalších analýz vybrána doba nástřiku 7 s.

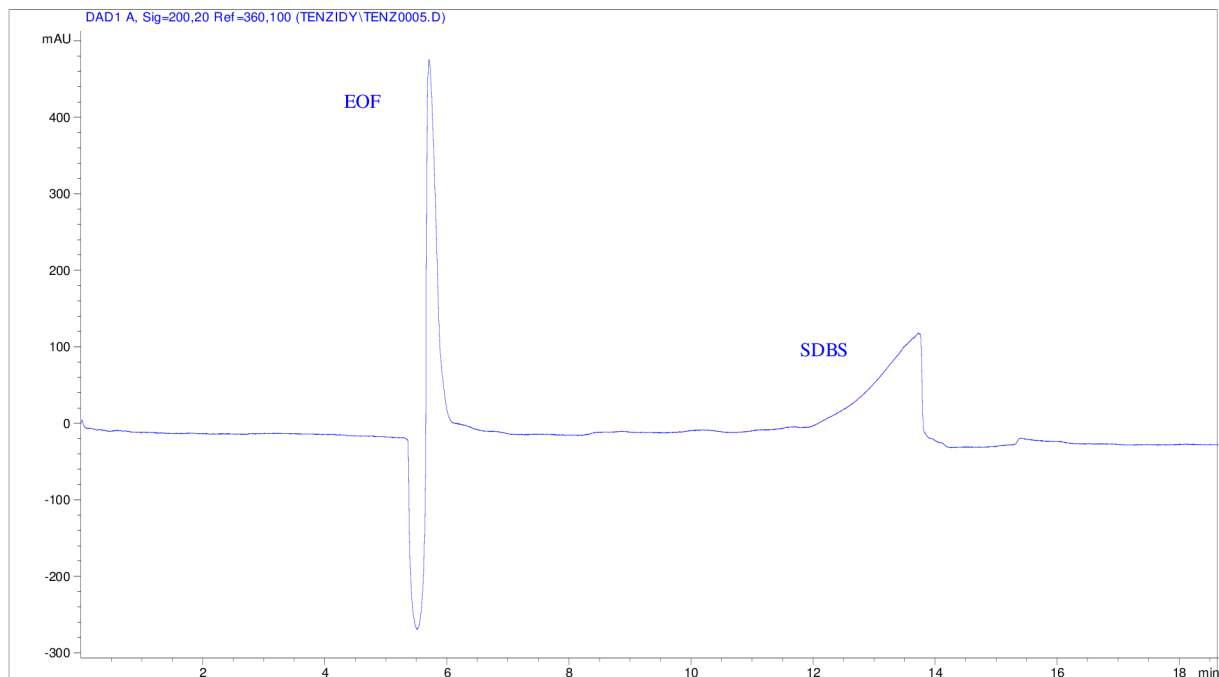


Obrázek č. 8: Srovnání doby nástřiku vzorku, 5 mmol.l^{-1} fosfátový BGE s přidavkem 50 mmol.l^{-1} SDBS pro nepřímou detekci, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), $\text{pH}=6, 8$. Separační podmínky: detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58, 7 \text{ cm}$, $l=50 \text{ cm}$, vzorek standard SDS ve směsi voda/ACN (70/30).

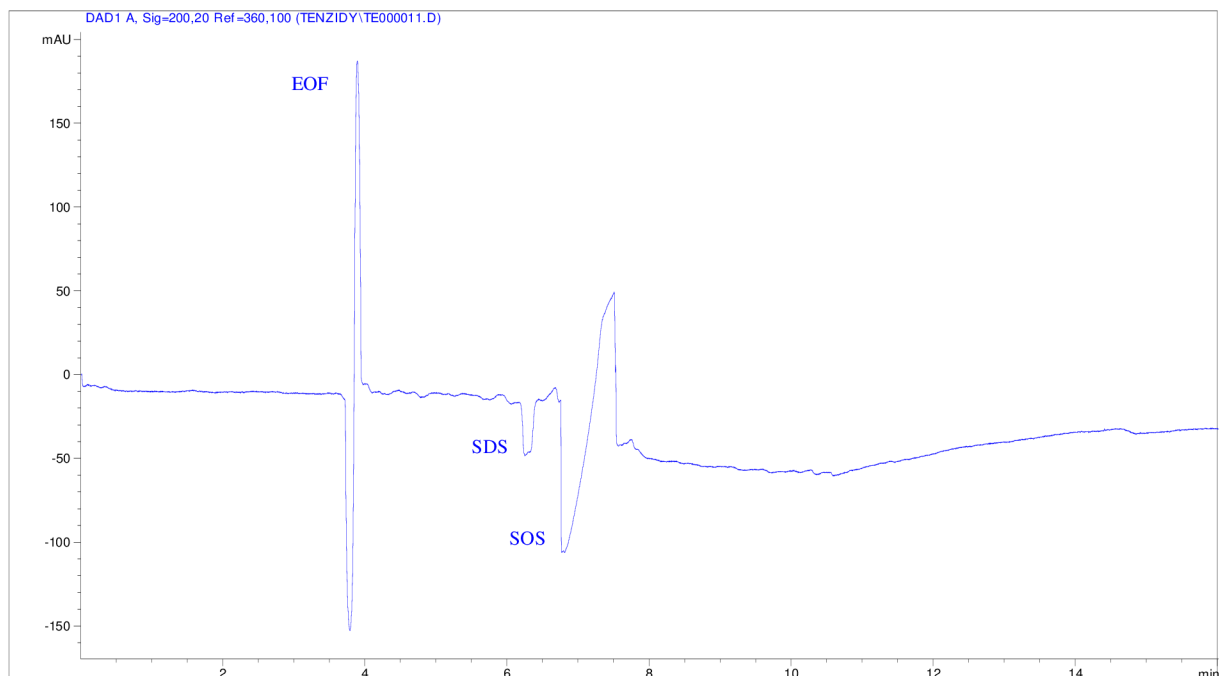
4.1.6 Vliv koncentrace základního elektrolytu na elektroosmotický tok

Během optimalizace metody byl použit jako marker elektroosmotického toku mesityloxid. Pík této přídavné látky vycházel vždy v čase 4 - 6 min v závislosti na koncentraci použitého základního elektrolytu. Mobilita mesityloxidu se snižovala se zvyšující se koncentrací fosfátového elektrolytu.

Během elektroforetických analýz s nepřímou detekcí již mesityloxid jako marker nebyl přidáván, přesto v kapiláře elektroosmotický tok vznikl, což je v nepokrytých kapilárách běžný jev (viz. obrázek č. 9 a 10). Elektroosmotický tok byl vždy zahrnut do výpočtu výsledné mobility.



Obrázek č. 9: BGE s přidavkem SDBS pro nepřímou detekci s výskytem elektroosmotického toku bez přidavku mesityloxiu, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. Separční podmínky: detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm.



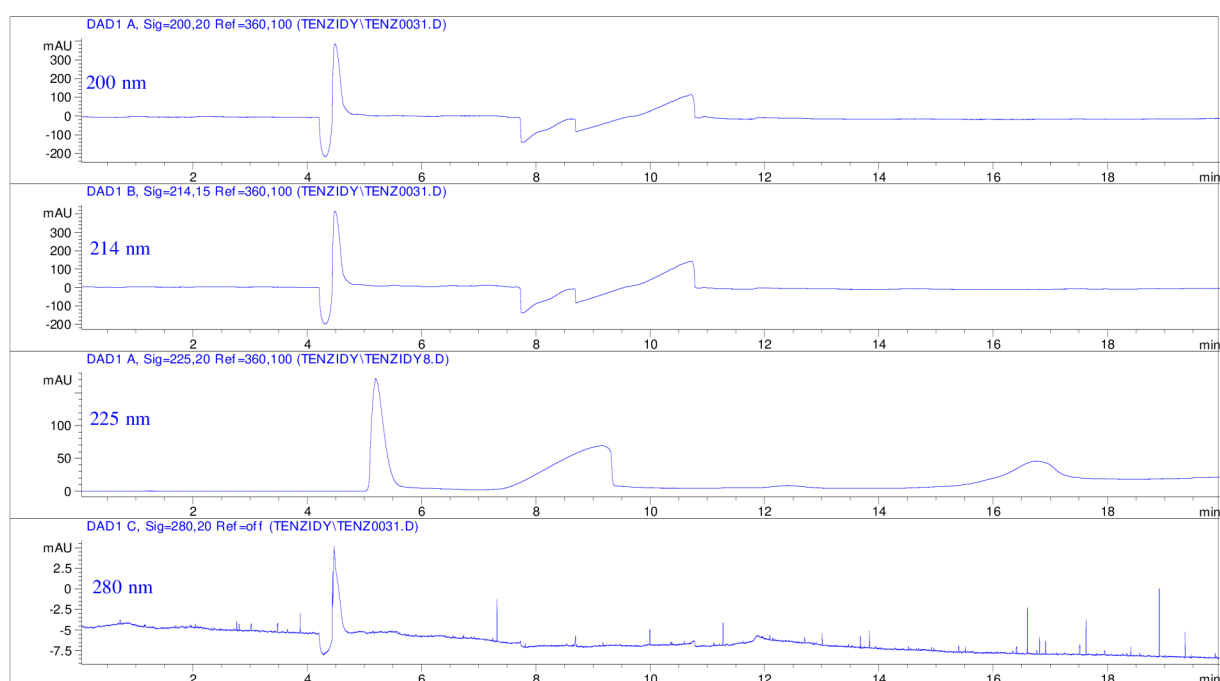
Obrázek č. 10: EOF při nepřímé detekci, BGE s přidavkem SDBS pro nepřímou detekci, fosfátový BGE je zředěn ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** SDS **b)** SOS. Separční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek standardů tenzidů (SOS, SDS) ve směsi voda/ACN (70/30).

4.1.7 Vlnová délka pro UV detekci

Na základě literární rešerše [24, 26, 27, 31, 32] byla předpokládána vlnová délka pro detekci v rozmezí 190 - 225 nm. Po proměření standardů na spektrometru bylo zjištěno, že dva standardy UV záření vůbec neabsorbují díky svému lineárnímu řetězci. Jednalo se o SOS a SDS. Tyto standardy byly později stanovovány nepřímou detekcí. SDBS absorbuje UV záření v oblasti 190 - 225 nm. Vlnová délka 280 nm byla zvolena pro kontrolu. Pro detekci byla použita nejčastěji vlnová délka 200 nm.

Na obrázku 12 je porovnání vlnových délek pro nepřímou detekci směsi standardů tenzidů.

V příloze 1 je přiloženo absorpční spektrum SDBS.

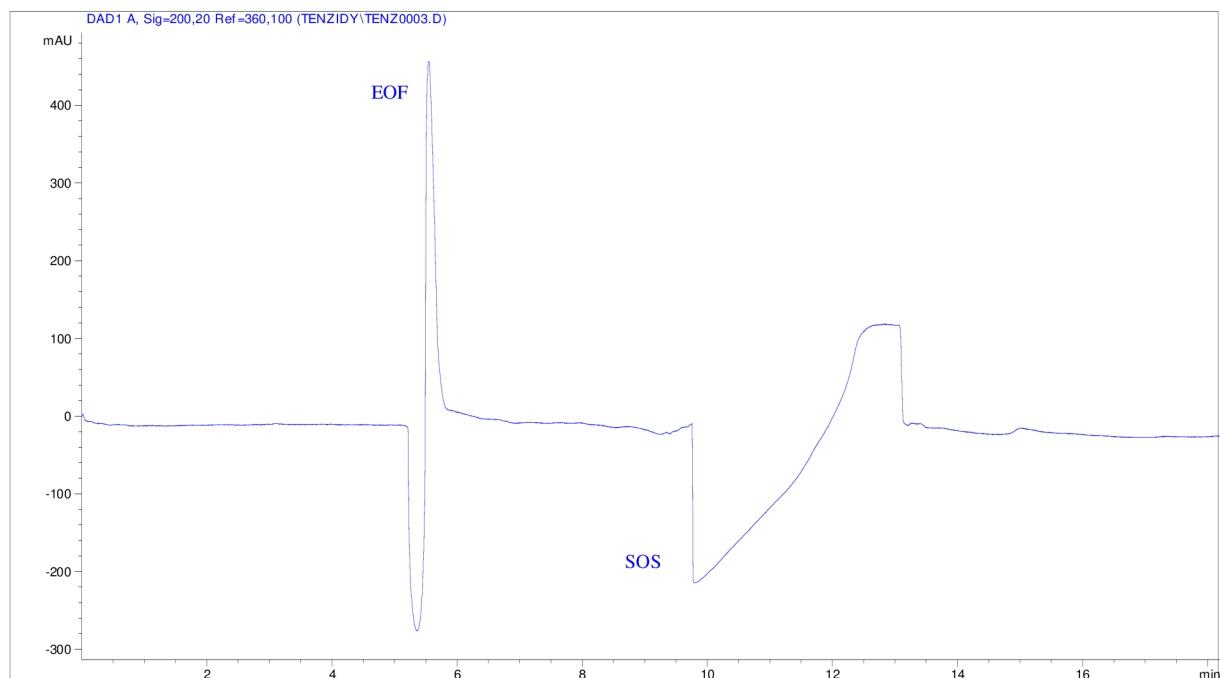


Obrázek č. 11: Srovnání jednotlivých vlnových délek pro detekci, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. Separční podmínky: napětí 20 kV, detekční vlnová délka 200, 214, 225, 280 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek směs standardů tenzidů ve směsi voda/ACN (70/30).

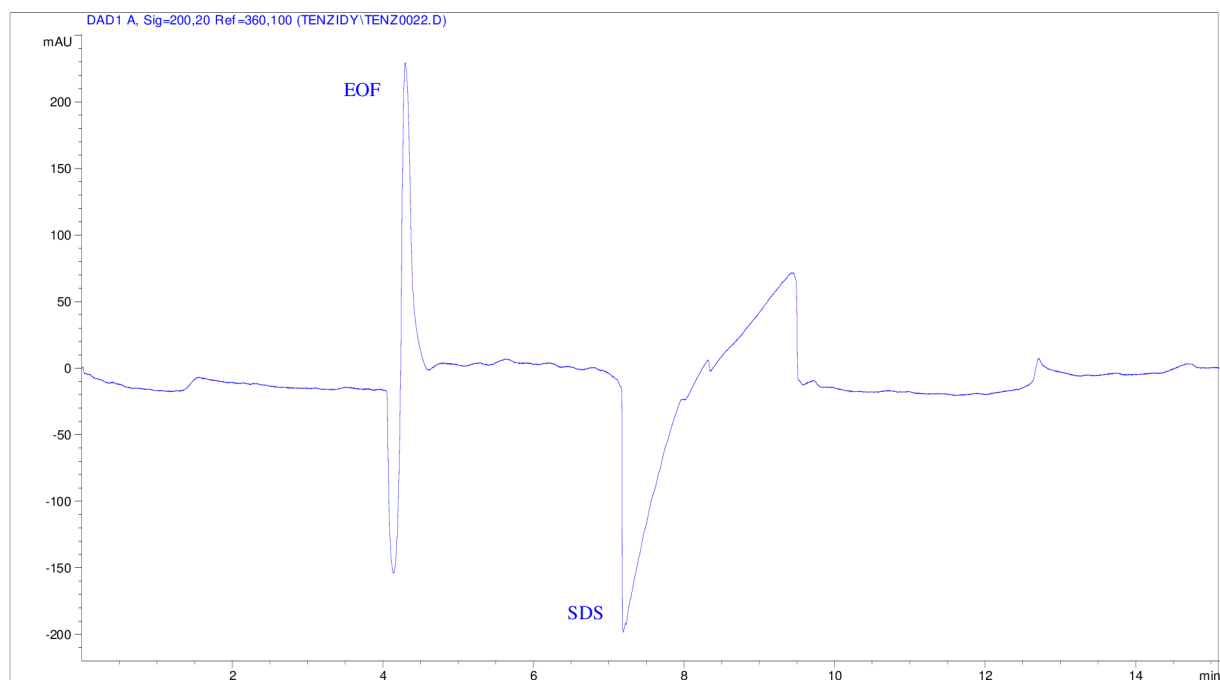
4.1.8 Analýza standardů nepřímou detekcí

Jako absorbující složka základního elektrolytu potřebná pro nepřímou detekci byl zvolen dodecylbenzylsulfát sodný, který absorbuje UV záření v rozmezí 190-225 nm. Přítomnost neabsorbujících lineárních řetězců ve vzorku se projeví poklesem signálu, což se na elektroforeogramu projeví jako negativní pík.

Nepřímou detekcí byly detekovány standardy tenzidů jednotlivě i ve směsi. Byly měřeny standardy oktylsulfátu sodného a dodecylsulfátu sodného.

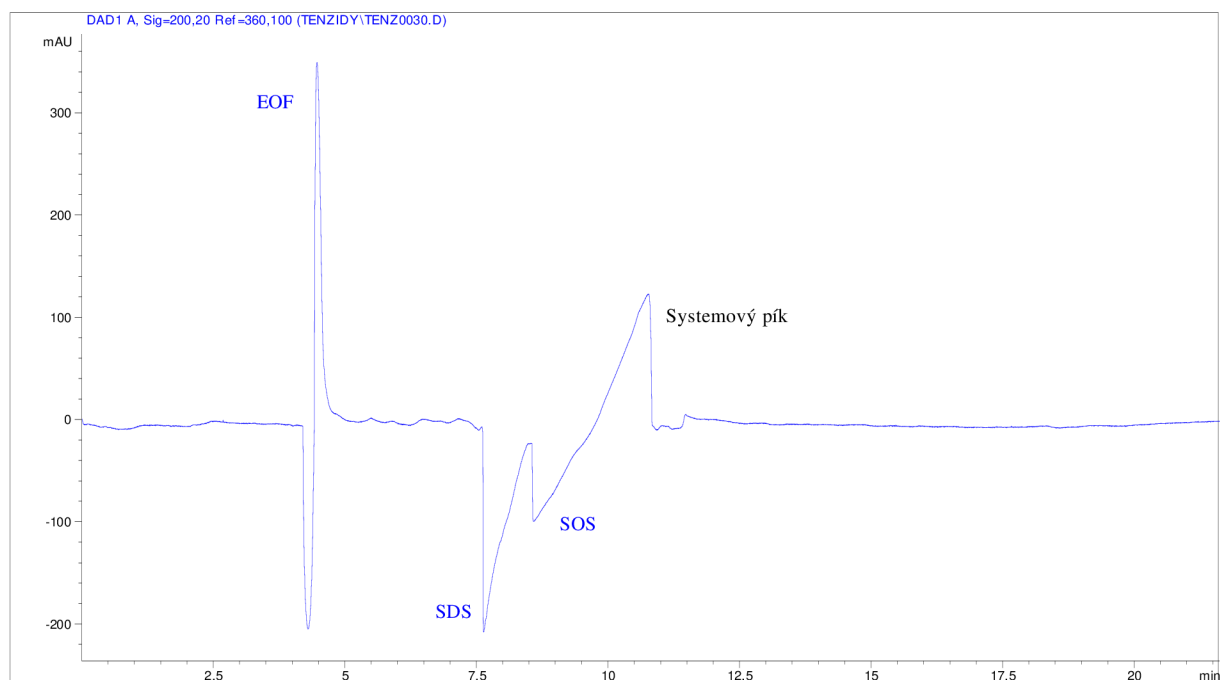


Obrázek č. 12: 5 mmol.l⁻¹ BGE s přidavkem SDBS pro nepřímou detekci se standardem SOS, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek standardu SOS ve směsi voda/ACN (70/30).



Obrázek č. 13: 5 mmol.l⁻¹BGE s přidavkem SDBS pro nepřímou detekci se standardem SDS, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek standardu SDS ve směsi voda/ACN (70/30).

Na závěr kroků optimalizace byla analyzována směs standardů SDS a SOS. Oba standardy se od sebe podařilo oddělit a separovat v relativně krátkém čase. V tabulce č. 8 jsou uvedeny mobility standardů ve směsi a samostatně v elektrolytu.



Obrázek č. 14: 5 mmol.l⁻¹ BGE s přidavkem SDBS pro nepřímou detekci se standardem SDS a SOS, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. Separální podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek standardů SDS a SOS ve směsi voda/ACN (70/30).

Tabulka č. 8: Mobility 50 mmol.l⁻¹ standardů SDS, SOS stanovené nepřímou detekcí

	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	ve směsi standardů	samostatně v BGE
SOS	- 21,52	- 17,21
SDS	- 24,68	- 26,67

4.1.9 Parametry optimalizované metody

Po dokončení optimalizace metody byly vybrány následující parametry k analýze reálných vzorků:

- nepokrytá kapilára o celkové délce 58,7 cm, efektivní délce 50 cm, ID=75 μm
- základní 5 mmol.l^{-1} (10 mmol.l^{-1}) fosfátový elektrolyt, zředěný ve směsi voda/ ACN (70/ 30) a nastavený na pH 6,8 roztokem 1 mol.l^{-1} NaOH
- UV detekce při 200 nm, lze použít i 214 a 225 nm
- teplota 20 - 25 $^{\circ}\text{C}$
- vložené napětí 25 kV
- doba nástřiku 7 s
- přidavek 50 mmol.l^{-1} SDBS k BGE pro nepřímou detekci

Analýzy pracích a čisticích prostředků a povrchové vody byly provedeny za výše zmíněných podmínek.

4.2 Analýza pracích a čisticích prostředků

Poznatky z optimalizace metody byly využity pro kvalitativní a kvantitativní stanovení aniontových tenzidů ve vzorcích pracích a čisticích přípravků.

Pro vyhodnocení kvalitativního stanovení byly srovnávány elektroosmotické mobility vzorků a standardů tenzidů v měřeném systému. K vyhodnocení kvantitativního stanovení byla použita metoda standardního přídatku.

Testován byl vždy běžný přípravek a přípravek označený jako „ekologicky šetrný“. Přímou detekcí byl stanovován tenzid SDBS, nepřímou tenzidy SDS a SOS.

4.2.1 Prostředek naruční mytí nádobí

Pro analýzu byl vybrán prostředek JAR od společnosti Procter&Gamble, kde výrobce uvádí 5-15 % aniontových PAL a méně než 5 % neiontových PAL. Jako ekologicky šetrný prostředek byl vybrán Celestina koncentrát od firmy MISSIVA, který obsahuje 15-30 % aniontových PAL, 5-15 % neiontových PAL a 5-15 % amfoterních PAL.

Jako základní elektrolyt byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. Navážka 0,1 g prostředku na mytí nádobí byla zředěna v 10 ml BGE.

4.2.1.1 Přímá detekce

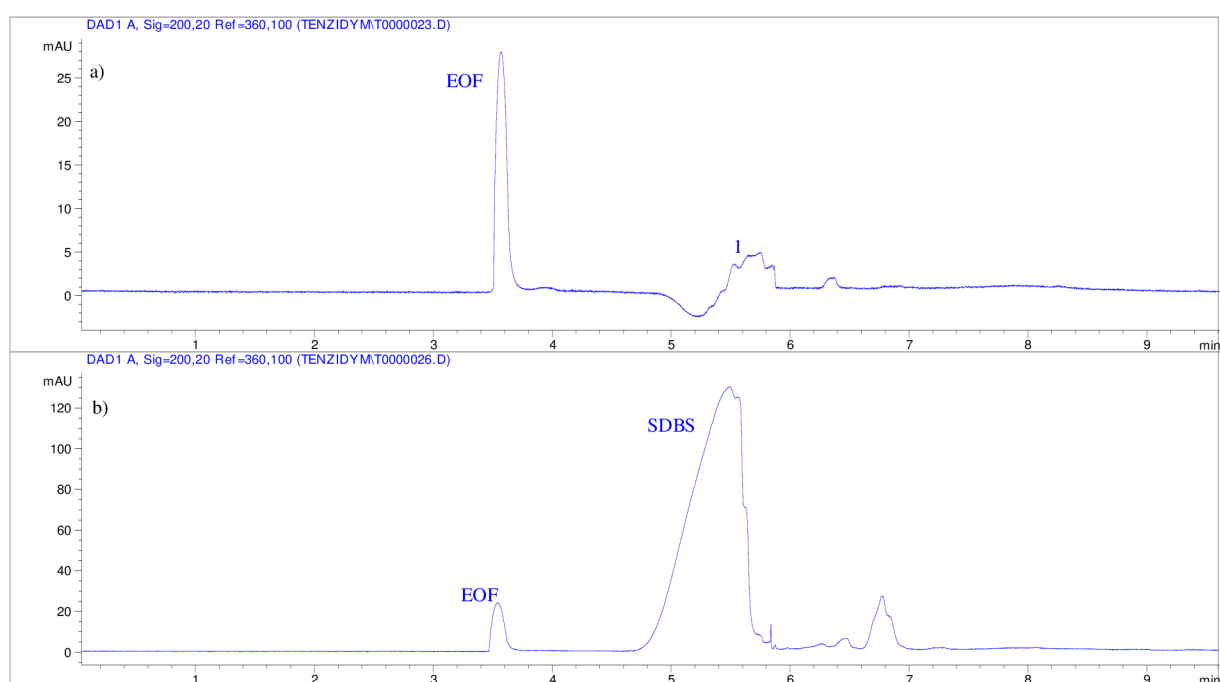
Pro přímou detekci byl použit pouze 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. S využitím tohoto pufru byl stanoven obsah SDBS ve vzorku.

Tabulka č. 8: Porovnání mobilit přípravku JAR a Celestina o koncentraci 0,1 g v 5ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 µl standardu SDBS přidaného ke vzorku, měřeno přímou detekcí

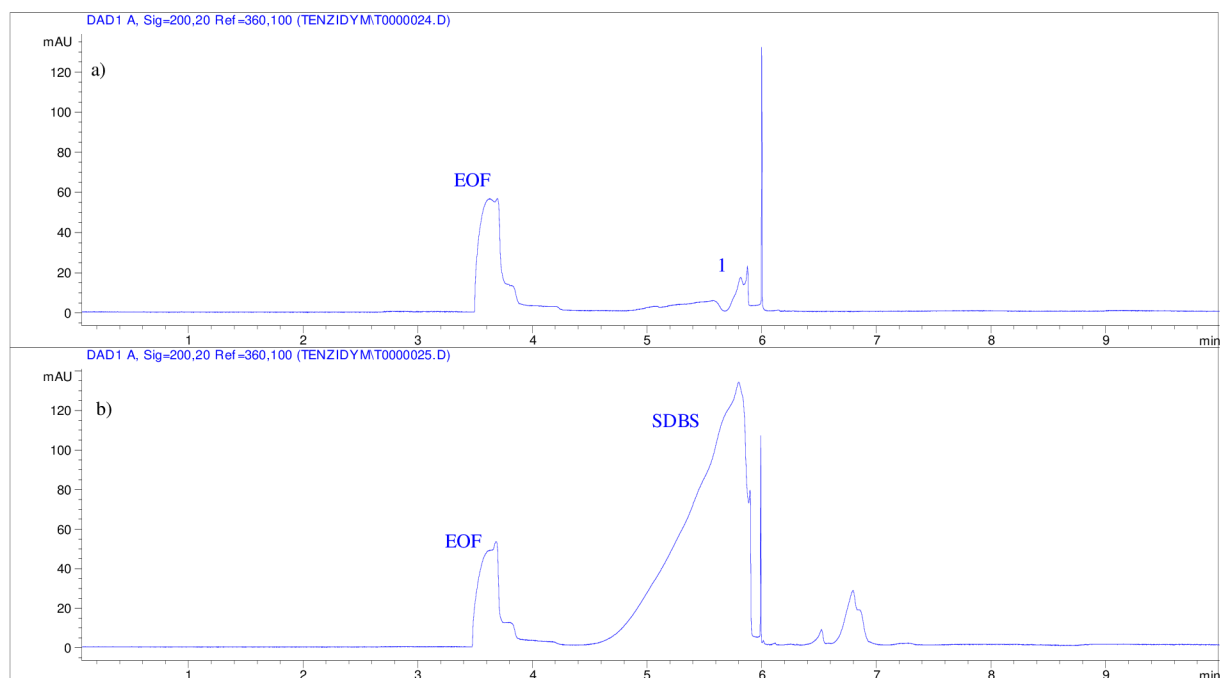
	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9}(\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	JAR	CELESTINA
1. pík	- 35,14	- 34,13
Standard SDBS	- 36,95	- 34,62

Tabulka č. 9: Kvantitativní stanovení obsahu SDBS ve vzorku metodou standardního přidavku, měřeno přímou detekcí

	Stanovené množství SDBS ve vzorku [mg/l]
JAR	0,068
CELESTINA	0,072



Obrázek č. 15: Srovnání analýz přípravku JAR v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** JAR v BGE **b)** vzorek JARU s přidavkem 200 µl standardu SDBS. Separční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1g JARU.



Obrázek č. 16: Srovnání analýz přípravku Celestina v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** Celestina v BGE **b)** vzorek Celestina s přidavkem 200 μ l standardu SDBS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 0,1g Celestiny v 10 ml BGE.

4.2.1.2 Nepřímá detekce

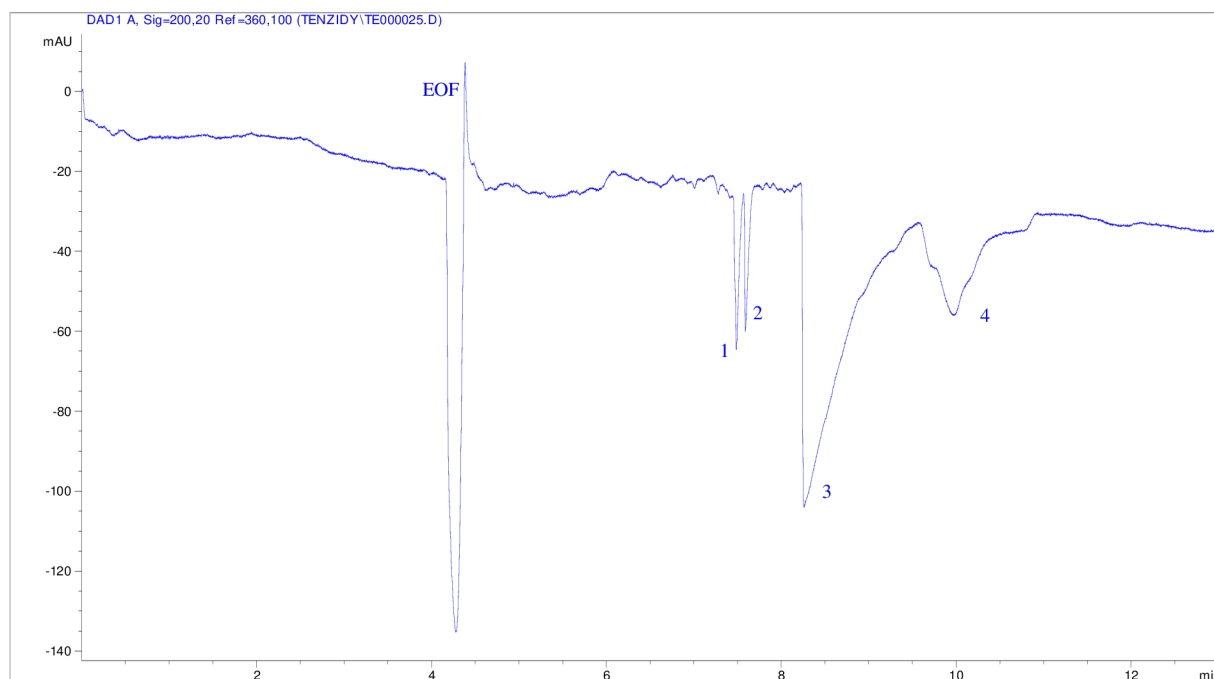
Pro nepřímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8 s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹ standardu SDBS. S tímto pufrem byly stanovovány tenzidy SDS a SOS.

Tabulka č. 10: Porovnání mobilit přípravku JAR a Celestina o koncentraci 0,1 g v 5ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 μ l standardů SDS a SOS přidávaných ke vzorku, měřeno nepřímou detekcí

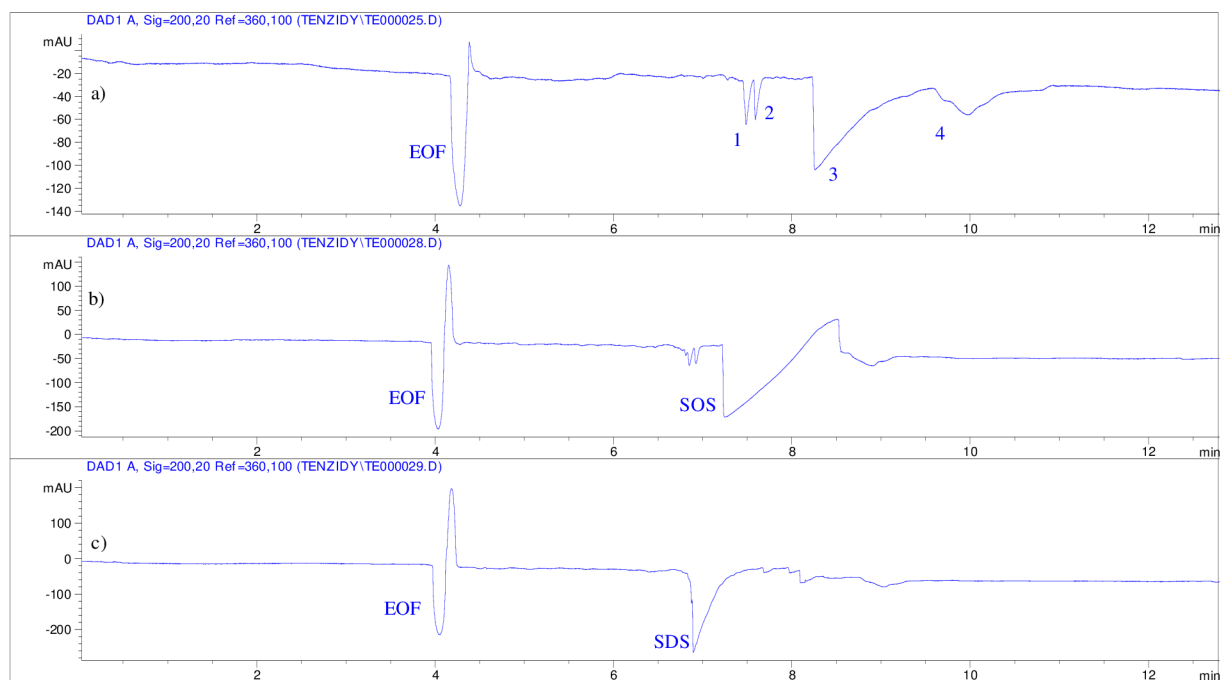
	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	JAR	CELESTINA
1. pík	- 25,36	- 29,02
2. pík	- 24,93	- 27,91
3. pík	- 22,56	- 25,10
4. pík	- 17,30	- 21,30
Standard SDS	- 28,08	- 27,90
Standard SOS	- 26,57	- 24,48

Tabulka č. 11: Kvantitativní stanovení obsahu SOS a SDS ve vzorku metodou standardního přídávku, měřeno nepřímou detekcí

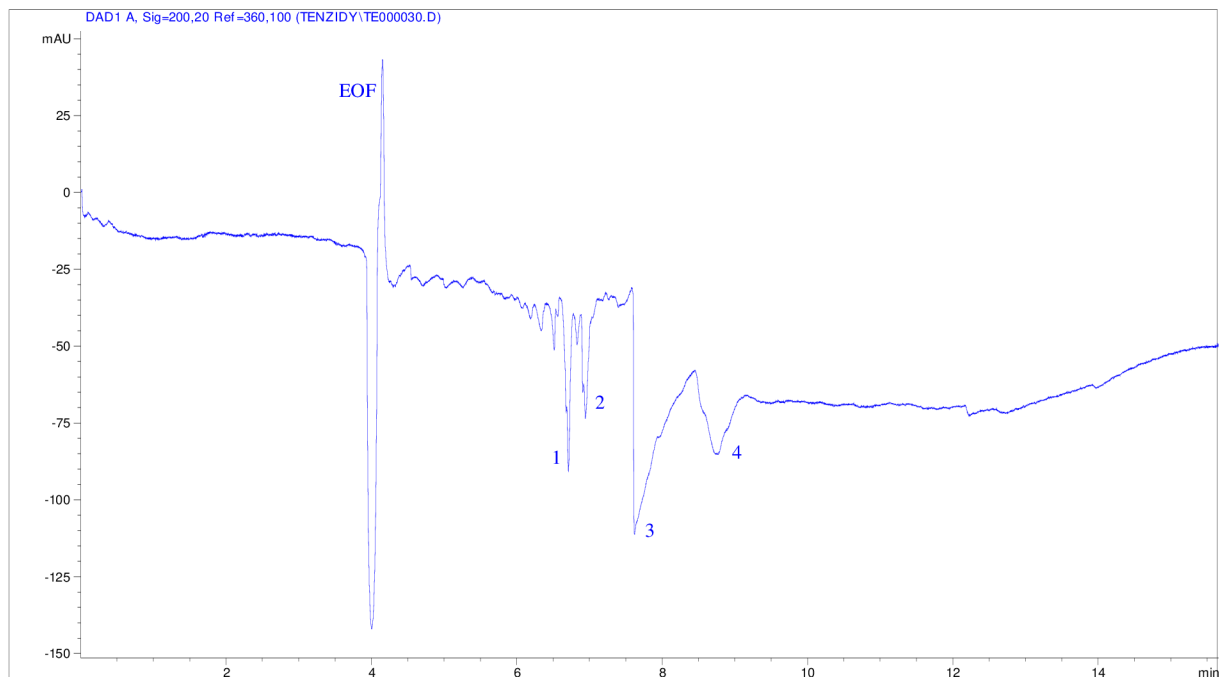
	Stanovené množství SOS ve vzorku [mg/l]	Stanovené množství SDS ve vzorku [mg/l]
JAR	1,294	0,137
CELESTINA	0,8536	0,212



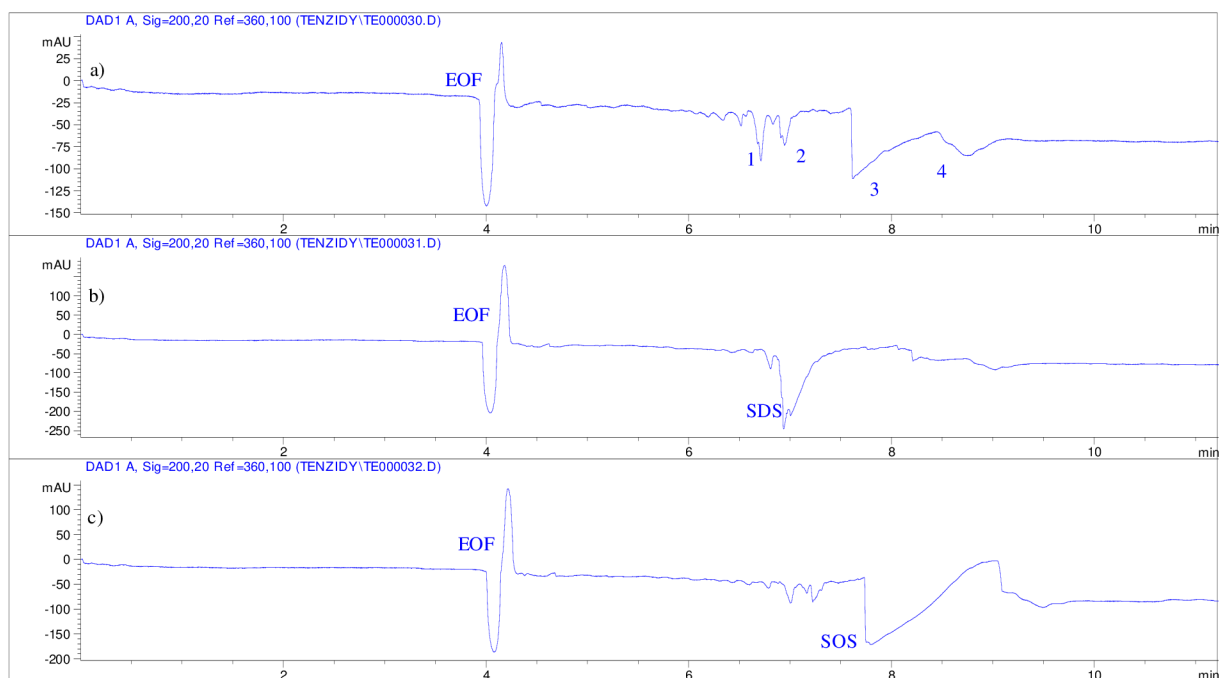
Obrázek č. 17: JAR v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přídávkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek JAR v BGE ve směsi voda/ACN (70/30).



Obrázek č. 18: Srovnání analýz přípravku JAR v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** JAR v BGE **b)** JARs přidavkem 200 µl standardu SOS **c)** JAR s přidavkem 200 µl standardu SDS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1g JARu v 10 ml BGE



Obrázek č. 19: Celestina v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separální podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58, 7 cm, l=50 cm, vzorek JAR v BGE ve směsi voda/ ACN (70/ 30).



Obrázek č. 20: Srovnání analýz přípravku Celestina v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** Celestina v BGE **b)** Celestina s přidavkem 200 μl standardu SDS **c)** Celestina s přidavkem 200 μl standardu SOS. Separální podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58, 7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1 g Celestiny v 10 ml BGE.

4.2.2 Prostředek na mytí nádobí v automatických myčkách

K analýze byl vybrán běžně dostupný a hojně užívaný mycí prostředek Calgonit, finisch powerball od společnosti Reckitt Benckiser. Dle výrobce prostředek obsahuje 5 % aniontových PAL. Jako ekologicky šetrný přípravek pro mytí v myčkách byl vybrán Celestina automatic od firmy MISSIVA, který obsahuje 5-15 % aniontových PAL.

Jako základní elektrolyt byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. Navážka 0,1 g prostředku na mytí nádobí v myčkách byla zředěna v 10 ml BGE.

4.2.2.1 Přímá detekce

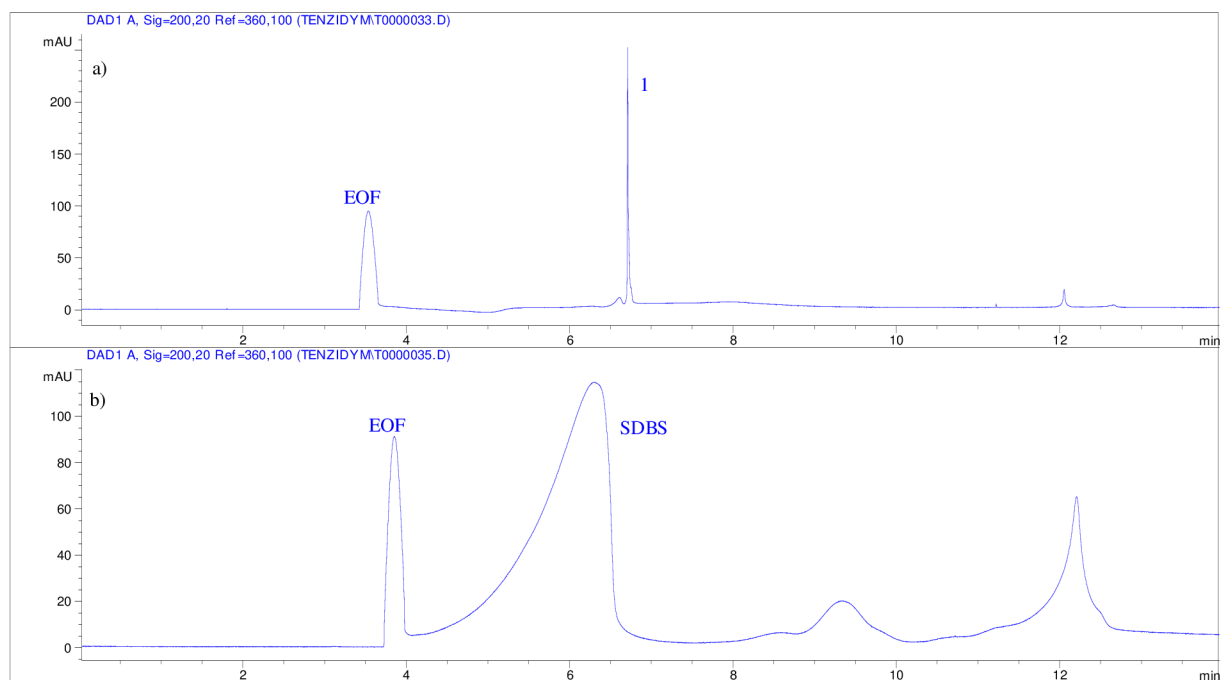
Pro přímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. S využitím tohoto pufru byl stanoven obsah SDBS ve vzorku.

Tabulka č. 12: Porovnání mobilit přípravku Calgonit a Celestina automatic o koncentraci 0,1 g v 5 ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 µl standardu SDBS přidaného ke vzorku, měřeno přímou detekcí

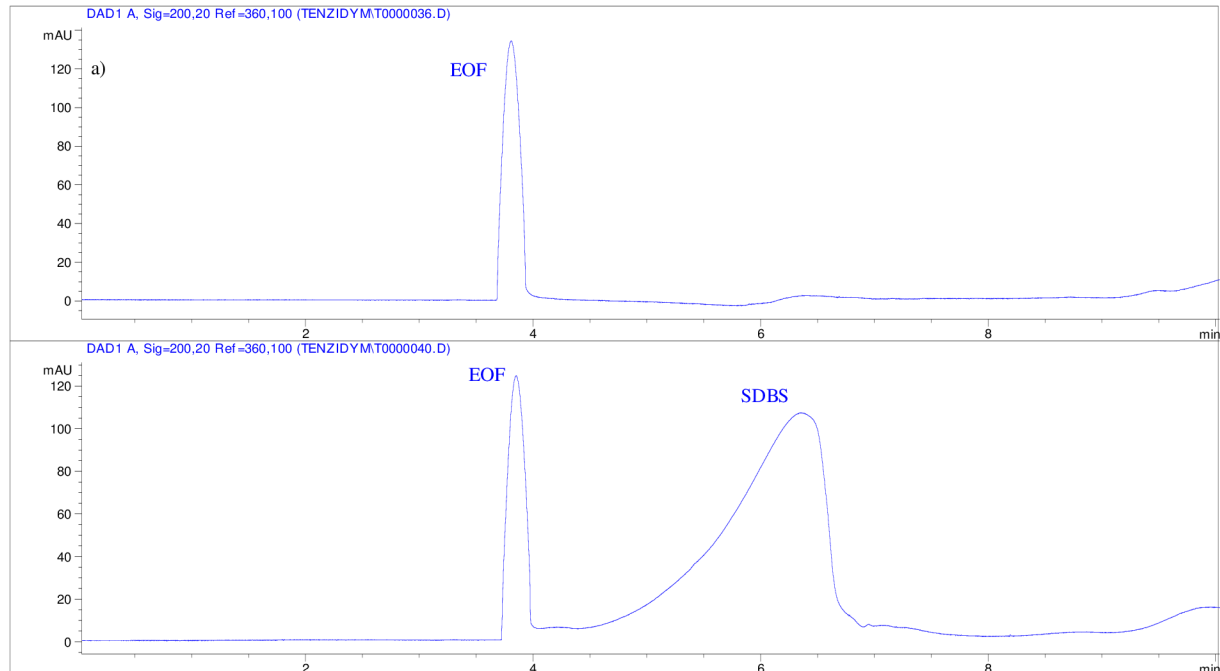
	$\mu_{\text{eff}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	CALGONIT	CELESTINA AUTOMATIC
1. pík	- 42,23	-
Standard SDBS	- 31,83	- 31,11

Tabulka č. 13: Kvantitativní stanovení obsahu SDBS ve vzorku metodou standardního přídatku, měřeno přímou detekcí

	Stanovené množství SDBS ve vzorku [mg/l]
CALGONIT	0,1394
CELESTINA AUTOMATIC	-



Obrázek č. 21: Srovnání analýz přípravku Calgonit v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** Calgonit v BGE **b)** Calgonit s přidavkem 200 μ l standardu SDBS. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokryt  kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 0,1 g Calgonitu v 10 ml BGE.



Obrázek č. 22: Srovnání analýz přípravku Celestina automatic v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** Celestina automatic v BGE **b)** Celestina automatic s přidavkem 200 μ l standardu SDBS. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokryt  kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 0,1 g Celestina automatic v 10 ml BGE.

4.2.2.2 Nepřímá detekce

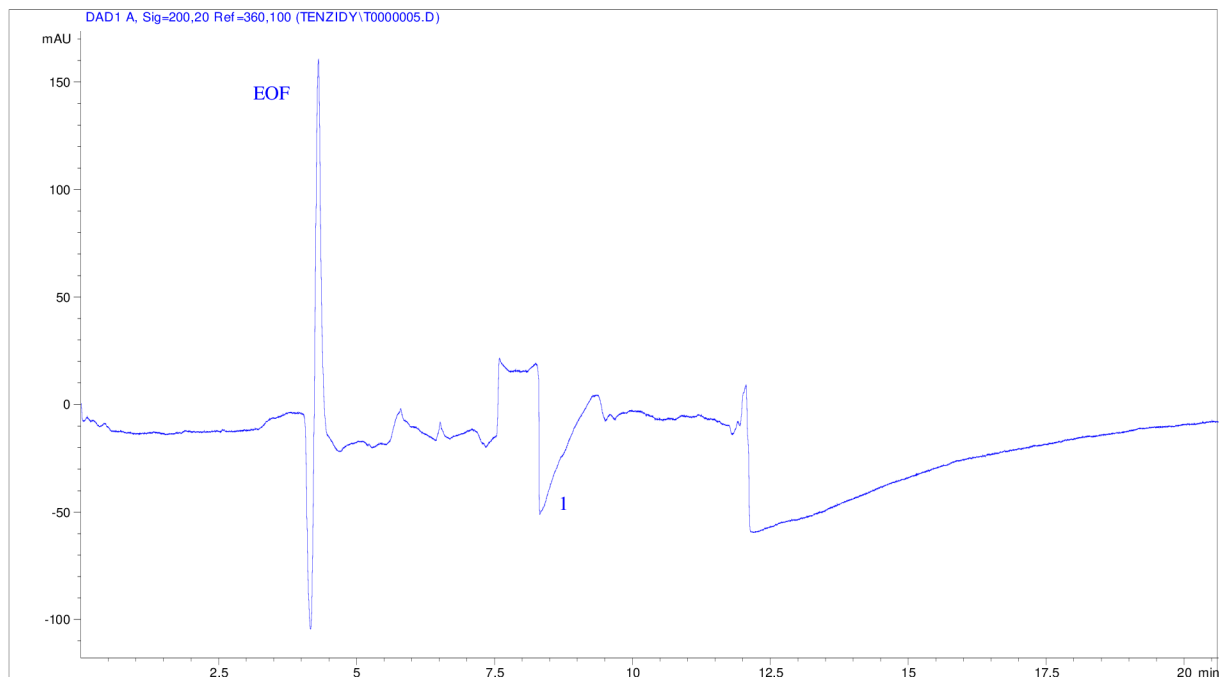
Pro nepřímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8 s přídatkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹ standardu SDBS na výslednou koncentraci 10 mmol.l⁻¹ SDBS v BGE. S tímto pufrům byly stanoveny tenzidy SDS a SOS.

Tabulka č. 14: Porovnání mobilit přípravku Calgonit a Celestina automatic o koncentraci 0,1 g v 5ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 µl standardů SOS a SDS přidaných ke vzorku, měřeno s nepřímou detekcí

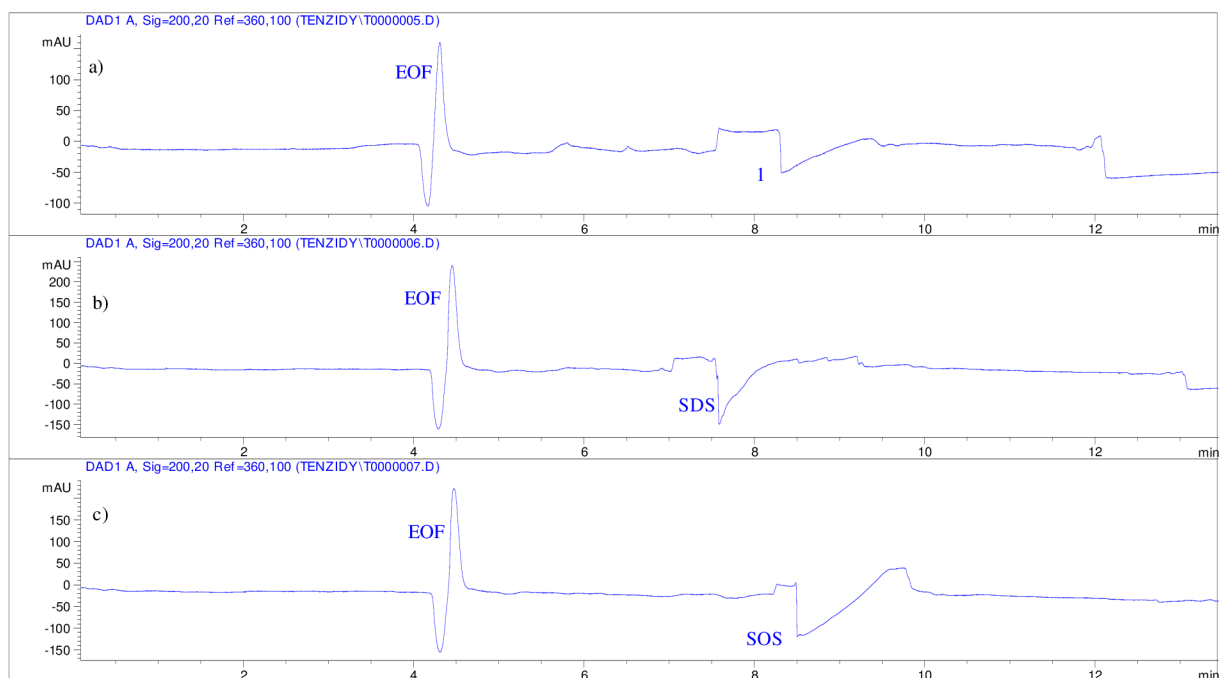
	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	CALGONIT	CELESTINA automatic
1. pík	- 22,45	- 19,59
Standard SDS	- 24,89	- 21,28
Standard SOS	- 21,72	- 24,37

Tabulka č. 15: Kvantitativní stanovení obsahu SOS a SDS ve vzorku metodou standardního přídatku, měřeno nepřímou detekcí

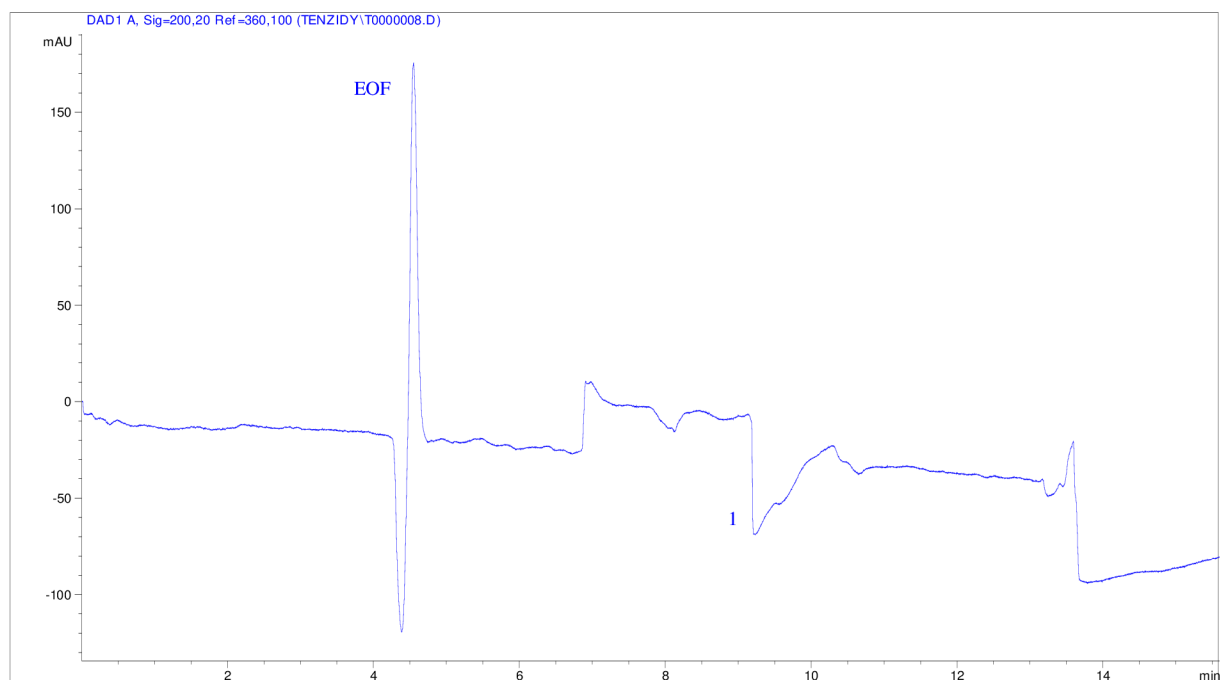
	Stanovené množství SOS ve vzorku [mg/l]	Stanovené množství SDS ve vzorku [mg/l]
CALGONIT	2,328	-
CELESTINA AUTOMATIC	-	1,848



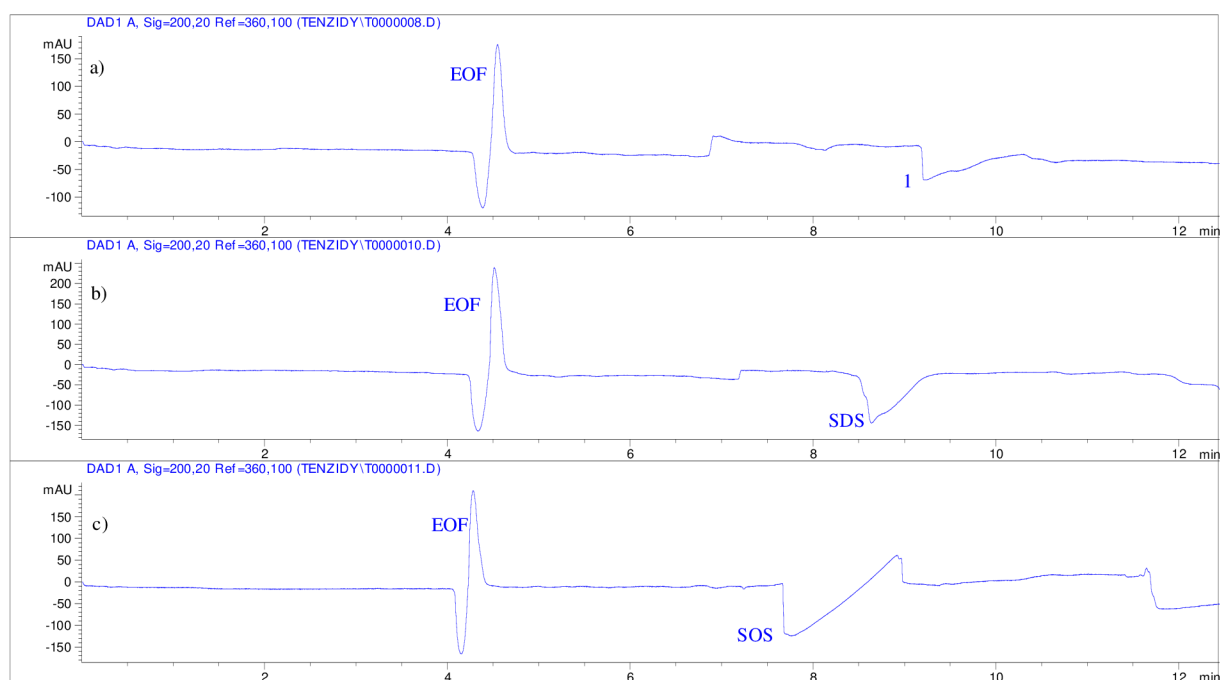
Obrázek č. 23: Calgonit v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58, 7 cm, l=50 cm, vzorek Calgonitu v BGE ve směsi voda/ACN (70/30).



Obrázek č. 23: Srovnání analýz přípravku Calgonit v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** Calgonit v BGE **b)** Calgonit s přidavkem 200 µl standardu SDS **c)** Calgonit s přidavkem 200 µl standardu SOS. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58, 7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1g Calgonitu v 10 ml BGE.



Obrázek č. 24: Celestina automatic v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek Celestina automatic v BGE ve směsi voda/ACN (70/30).



Obrázek č. 25: Srovnání analýz přípravku Celestina automatic v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** Celestina automatic v BGE **b)** Celestina automatic s přidavkem 200 µl standardu SDS **c)** Celestina automatic s přidavkem 200 µl standardu SOS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1 g Calgonituv 10 ml BGE

4.2.3 Prací gel

Pro analýzu byl vybrán zástupce běžně užívaného prostředku Persil expert color od společnosti Henkel a jako ekologicky šetrný prací gel Wash and feel eco color laundry gel, který vyrábí společnost FOSFA a.s. U obou výrobků výrobce deklaruje obsah aniontových a neiontových PAL 5-15 %.

Jako základní elektrolyt byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. Navážka 0,1 g prostředku na mytí nádobív myčkách byla zředěna v 10 ml BGE.

4.2.3.1 Přímá detekce

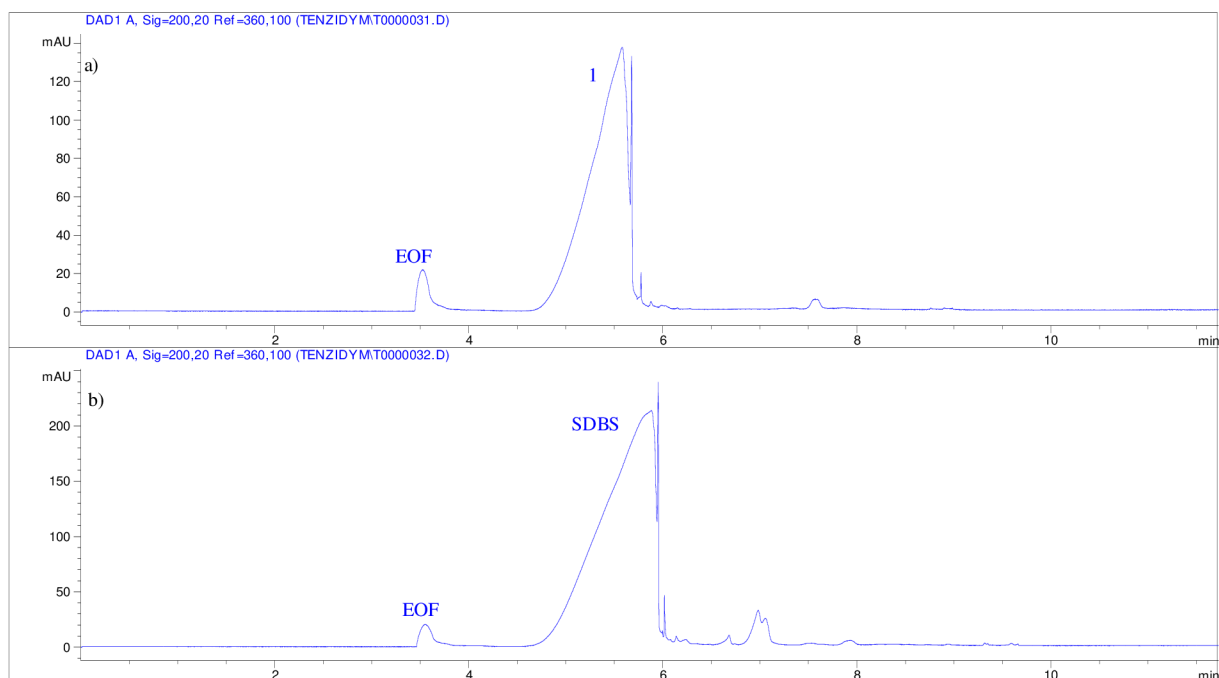
Pro přímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6, 8. S využitím tohoto pufru byl měřen obsah SDBS ve vzorku.

Tabulka č. 16: Porovnání mobilit přípravku Persil a Wash and feel eco o koncentraci 0,1 g v 5ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 µl standardu SDBS přidaného ke vzorku, měřeno přímou detekcí

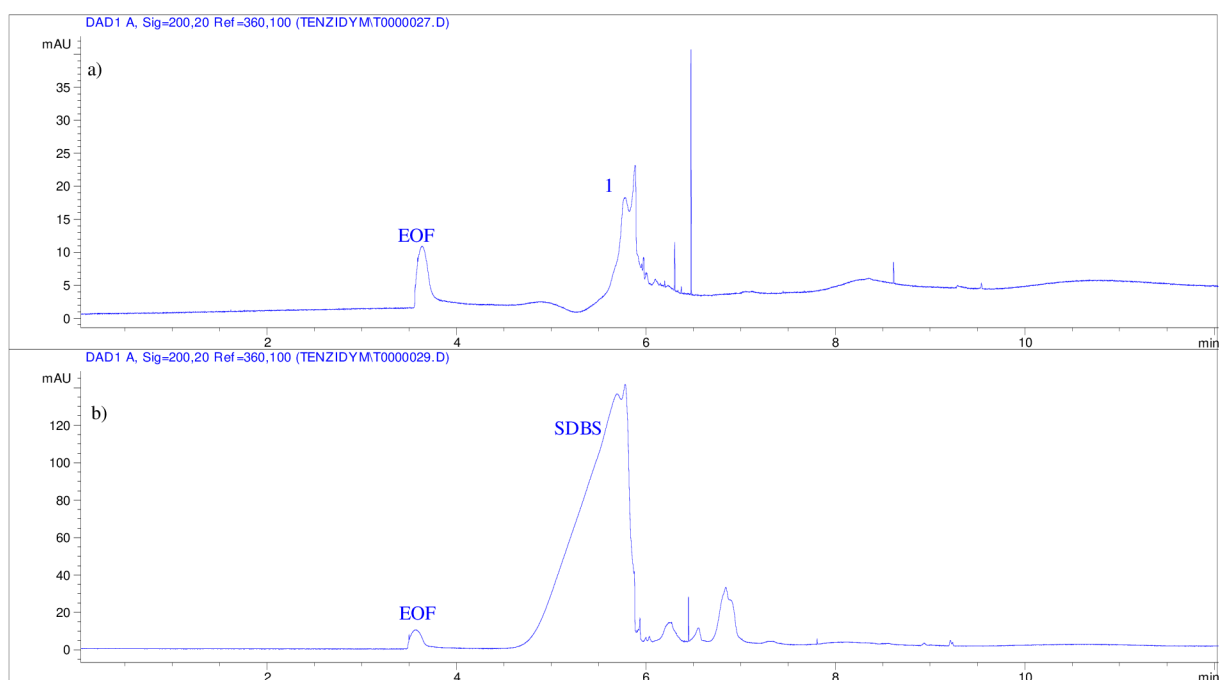
	$\mu_{\text{eff}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \text{s}^{-1})$	
	PERSIL	WASH AND FELL ECO
1. pík	- 36,28	- 34,11
Standard SDBS	- 36,18	- 34,87

Tabulka č. 17: Kvantitativní stanovení obsahu SDBS ve vzorku metodou standardního přídávku, měřeno přímou detekcí

	Stanovené množství SDBS ve vzorku [mg/l]
PERSIL	1,554
WASH AND FEEL ECO	0,073



Obrázek č. 26: Srovnání analýz přípravku Persil v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6, 8. **a)** Persil v BGE **b)** Persil s přidavkem 200 μ l standardu SDBS. SeparáčnÍ podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 0,1g Persilu v 10 ml BGE.



Obrázek č. 27: Srovnání analýz přípravku Wash and feel eco v BGE s přidáním standardu SDBS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6, 8. **a)** Wash and feel eco v BGE **b)** Wash and feel eco s přidavkem 200 μ l standardu SDBS. SeparáčnÍ podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 0,1 g Wash and feel eco v 10 ml BGE.

4.2.3.2 Nepřímá detekce

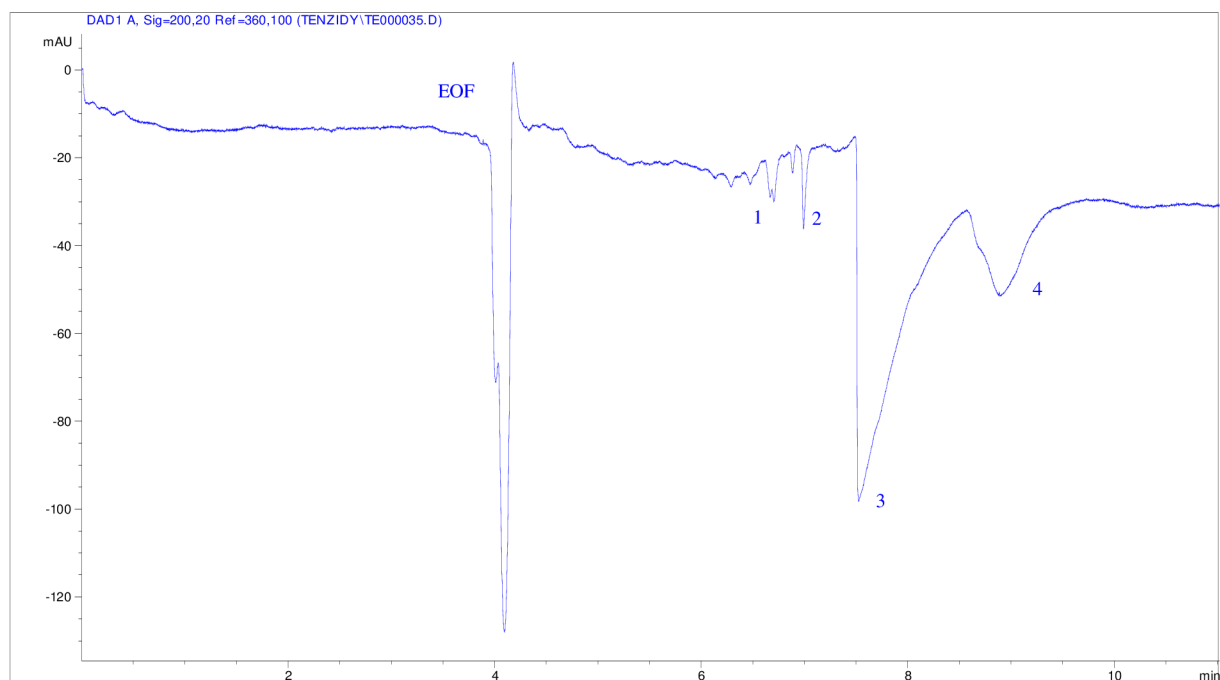
Pro nepřímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8 s přídatkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹ standardu SDBS. S tímto pufrém byly stanoveny tenzidy SDS a SOS.

Tabulka č. 18: Porovnání mobilit přípravku Persil expert color a Wash and feel eco o koncentraci 0,1 g v 5 ml BGE zředěného vodou/ ACN (70/ 30) a 200 µl standardů SOS a SDS přidaných ke vzorku, měřeno s nepřímou detekcí

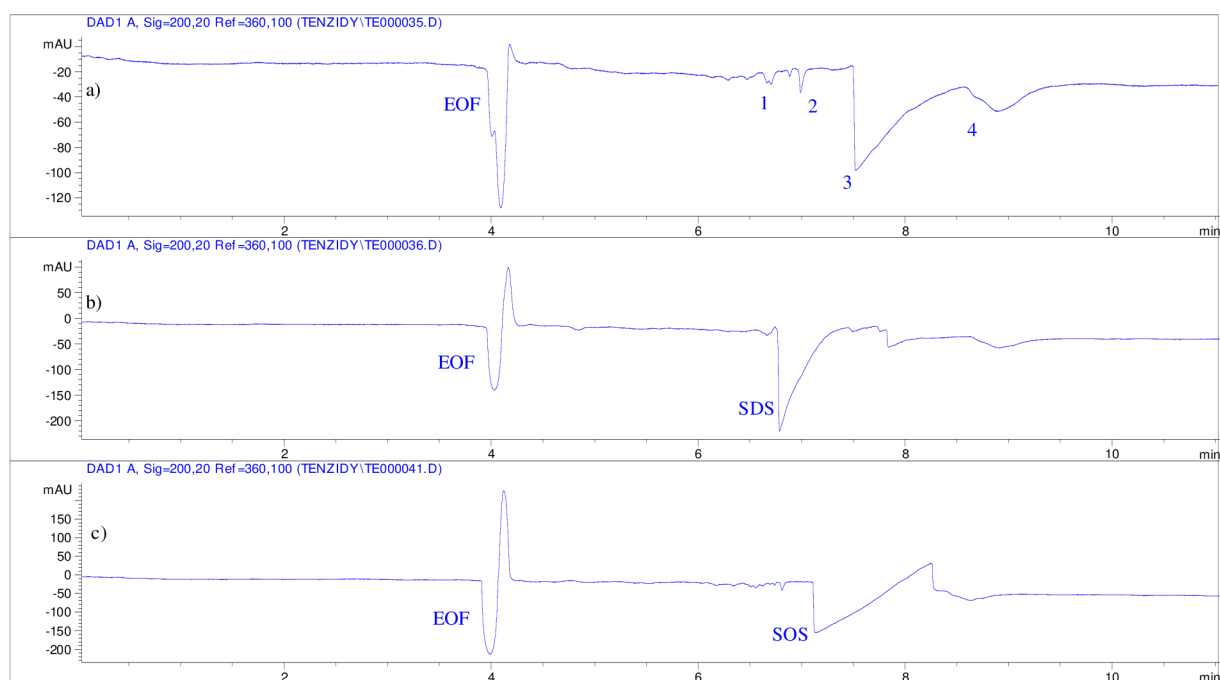
	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	PERSIL	WASH AND FEEL ECO
1. pík	- 28,10	- 25,21
2. pík	- 28,13	- 20,85
3. pík	- 27,63	- 16,83
4. pík	- 20,83	-
Standard SDS	- 25,55	- 26,89
Standard SOS	- 27,07	- 24,02

Tabulka č. 19: Kvantitativní stanovení obsahu SOS a SDS ve vzorku metodou standardního přídatku, měřeno nepřímou detekcí

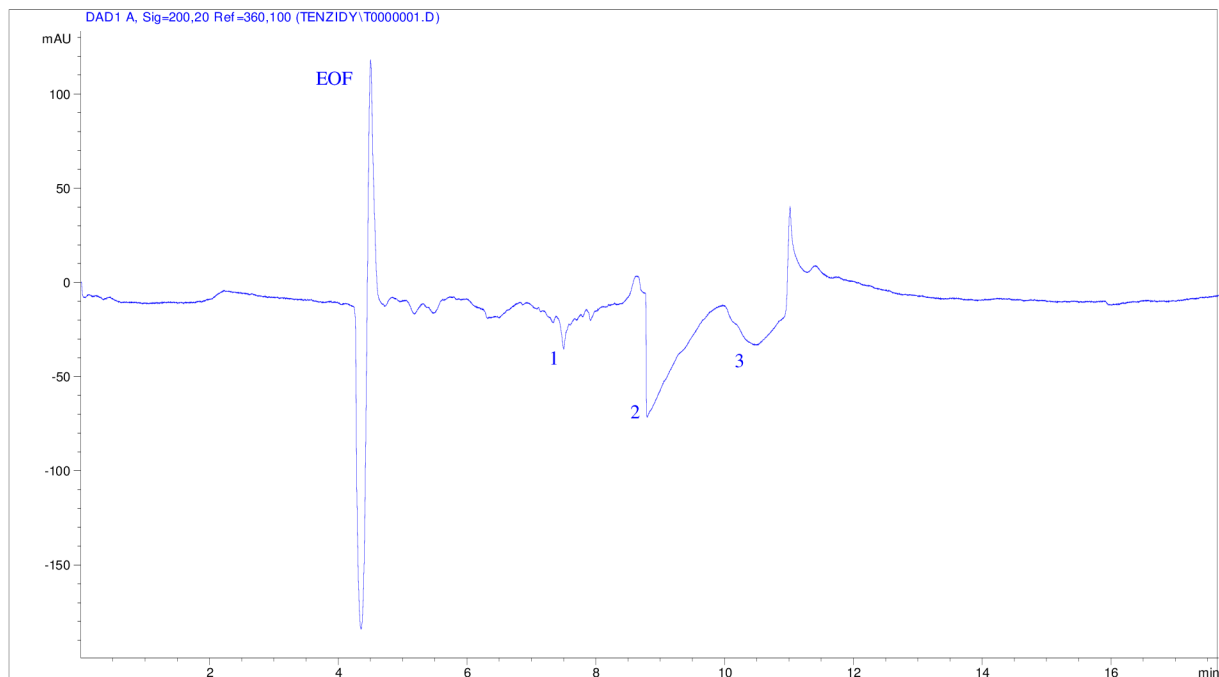
	Stanovené množství SOS ve vzorku [mg/l]	Stanovené množství SDS ve vzorku [mg/l]
PERSIL	1,321	0,041
WASH AND FEEL ECO	1,330	0,077



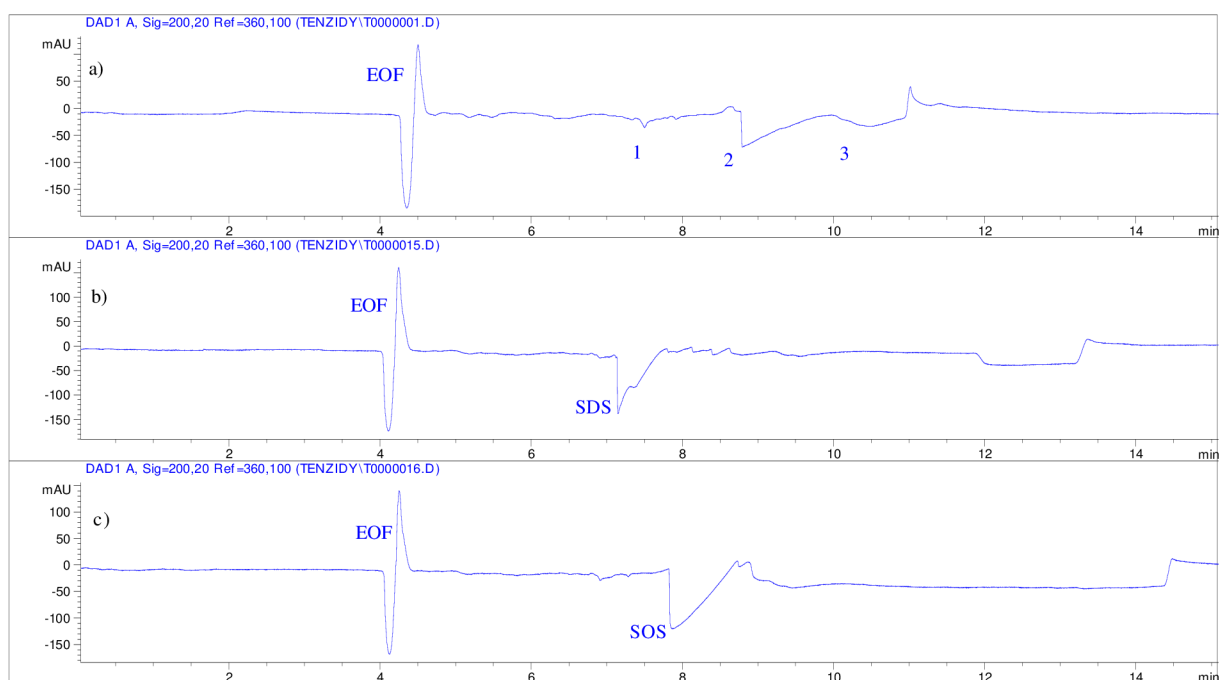
Obrázek č. 28: Persil v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek Persilu v BGE ve směsi voda/ ACN (70/ 30).



Obrázek č. 29: Srovnání analýz přípravku Persil v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** Persil v BGE **b)** Persil s přidavkem 200 µl standardu SDS **c)** Persil s přidavkem 200 µl standardu SOS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1g Persiluv 10 ml BGE.



Obrázek č. 30: Wash and feel eco v BGE, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek Wash and feel eco v BGE ve směsi voda/ACN (70/30).



Obrázek č. 31: Srovnání analýz přípravku Wash and feel eco v BGE s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** Wash and feel eco v BGE **b)** Wash and feel eco s přidavkem 200 μ l standardu SDS **c)** Wash and feel eco s přidavkem 200 μ l standardu SOS. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek 0,1 g Wash and feel ecov 10 ml BGE.

4.3 Analýza povrchové vody z řeky Moravy

Na závěr byly v systému základního fosfátového elektrolytu pro přímou i nepřímou detekci testovány vzorky povrchové vody. Před měřením nebyly vzorky zakoncentrovány. Před analýzou také nebyly smíchány se základním elektrolytem, pouze byly před nastříknutím do kapiláry přefiltrovány přes 0,45 μm PTFE filtr.

Pro analýzu byly odebrány dva vzorky z řeky Moravy v lokalitě Veselí nad Moravou. První vzorek byl odebrán nad jezem. Druhý na výpusti z ČOV.

Byly posouzeny elektroforetické mobility ke kvalitativní analýze. Kvalitativně i kvantitativně bylo možno posoudit pouze přítomnost tenzidů SDBS a SDS ve vzorku „nad jezem“. Ostatní píky byly nevyhodnotitelné nebo vůbec neodpovídaly elektroforetickým mobilitám standardů.

4.3.1 Přímá detekce

Pro přímou detekci byl použit 10 mmol.l^{-1} fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8. S využitím tohoto pufru byl měřen obsah SDBS ve vzorku.

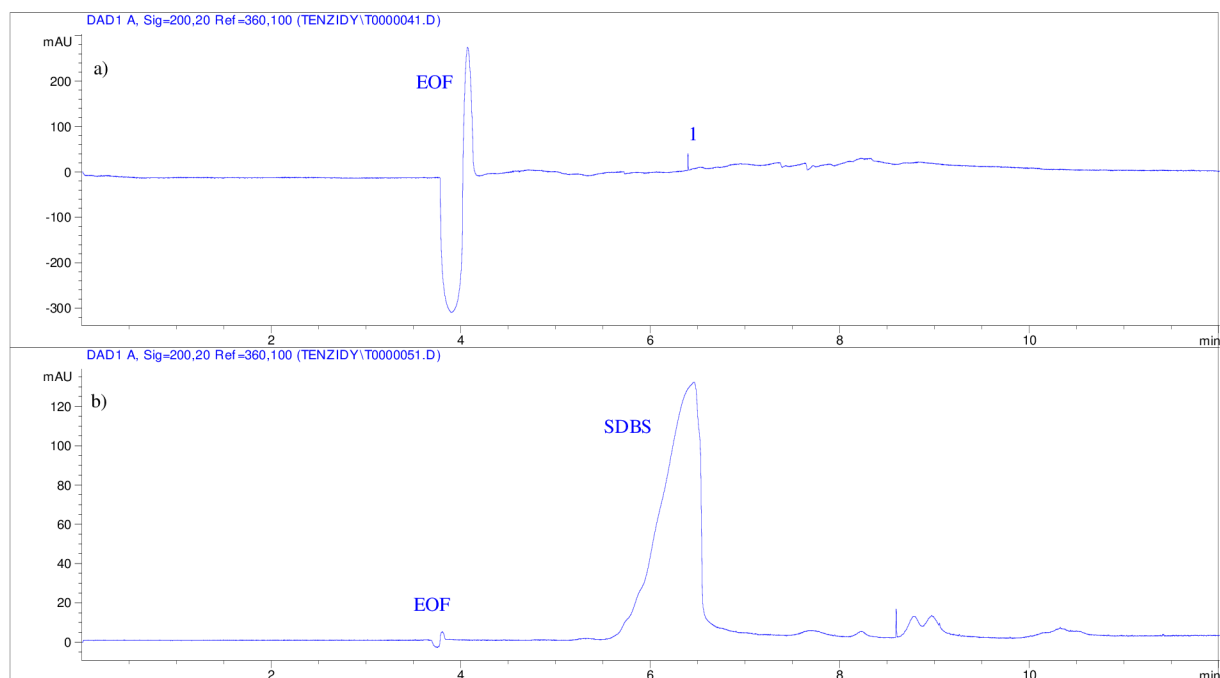
V tabulce č. 20 jsou uvedeny mobility povrchové vody v lokalitě „nad jezem“ a na „výpusti z ČOV“.

Tabulka č. 20: Mobility povrchové vody „nad jezem“ a na „výpusti z ČOV“

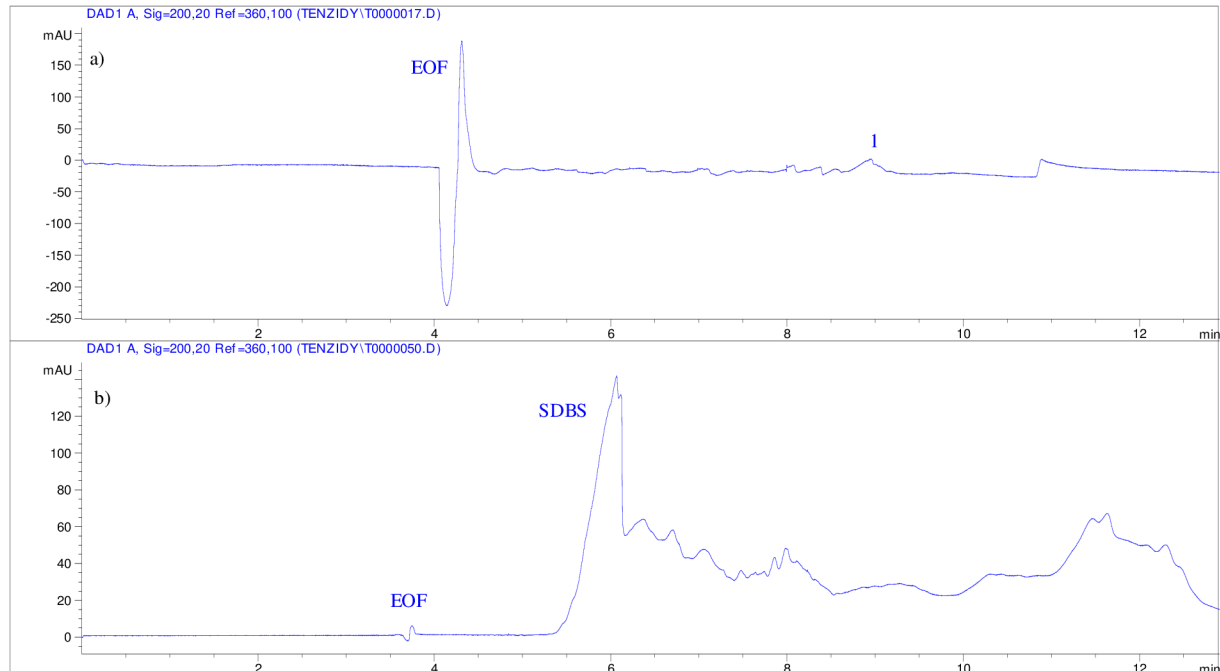
	$\mu_{\text{eff.}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	NAD JEZEM	VÝPUSŤ Z ČOV
1. pík	- 30,73	- 20,50
Standard SDBS	- 32,34	- 33,74

Tabulka č. 21: Kvantitativní stanovení obsahu SDBS ve vzorku metodou standardního přídatku, měřeno přímou detekcí

	Stanovené množství SDBS ve vzorku [mg/l]
NAD JEZEM	0,009
VÝPUSŤ Z ČOV	-



Obrázek č. 32: Srovnání analýz povrchové vody „nad jezem“ stejného vzorku s přidáním standardu SDBS, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** „nad jezem“ **b)** „nad jezem“ s přidavkem 100 μl 50 mmol.l^{-1} SDBS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 900 μl povrchové vody.



Obrázek č. 33: Srovnání analýz povrchové vody „na výpusti z ČOV“ a stejného vzorku s přidáním standardu SDBS, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30), pH=6,8. **a)** „výpusť z ČOV“ **b)** „výpusť z ČOV“ s přidavkem 100 μl 50 mmol.l^{-1} SDBS. Separační podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o $L=58,7$ cm, $l=50$ cm, vzorek 900 μl povrchové vody.

Výsledky analýzy povrchové vody z lokality „nad jezem“ byly porovnávány s výsledky analýz standardů aniontových tenzidů. Vizuálním porovnáním lze zjistit, že pík 1 a SDBS ve vzorku „nad jezem“ mají velmi blízkou mobilitu, což je také uvedeno v tabulce č. 20. Lze tedy předpokládat, že se jedná o dodecylbenzensulfonát sodný.

4.3.2 Nepřímá detekce

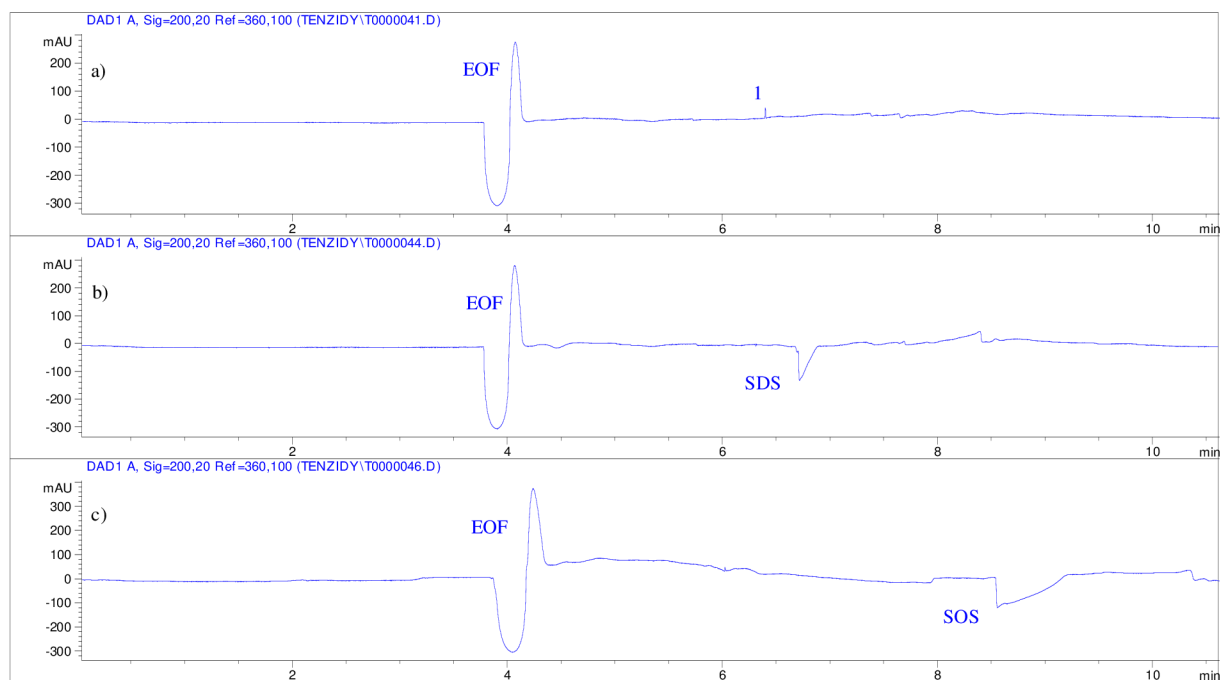
Pro nepřímou detekci byl použit 10 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr ve směsi voda/ ACN (70/ 30) nastavený na pH 6,8 s přídavkem 1 ml 50 mol.l⁻¹ standardu SDBS. S využitím tohoto pufru byly stanovovány tenzidy SDS a SOS.

Tabulka č. 22: Porovnání mobilit povrchové vody „nad jezem“ a 100 µl standardů SOS a SDS přidávaných ke vzorku

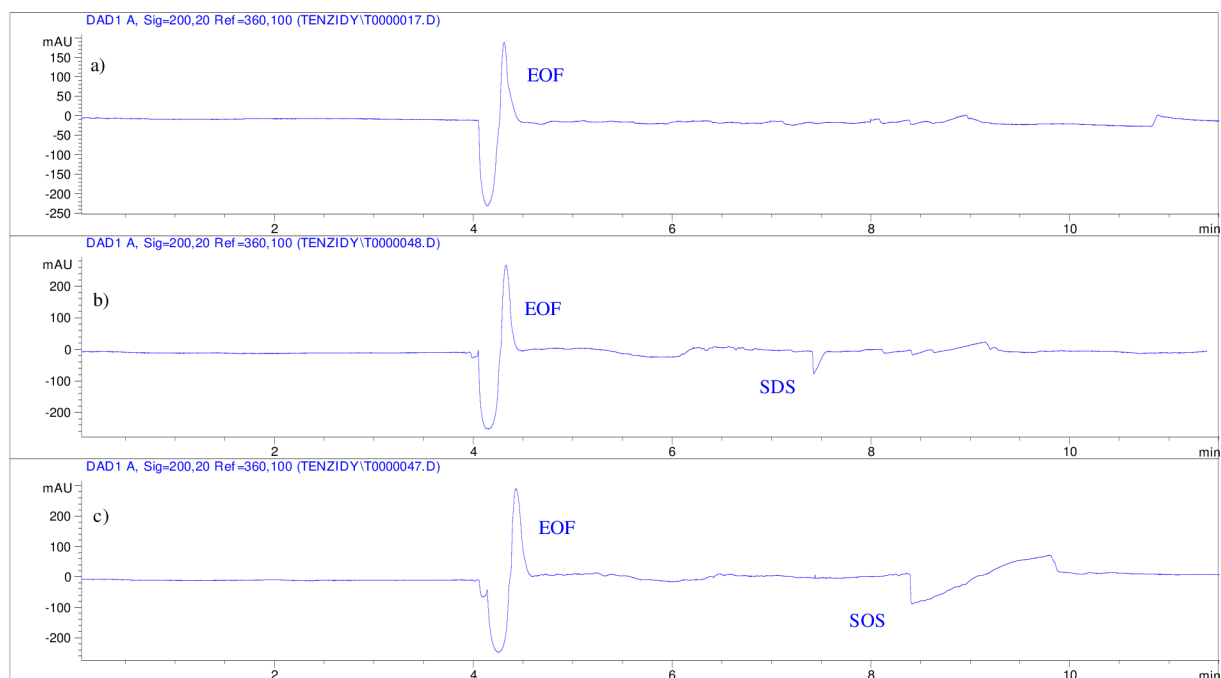
	$\mu_{\text{eff}} \cdot 10^{-9} (\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	
	NAD JEZEM	VÝPUSŤ Z ČOV
1. pík	- 30,73	-
Standard SDS	- 29,07	- 25,67
Standard SOS	- 21,90	- 21,26

Tabulka č. 23: Kvantitativní stanovení obsahu SOS a SDS ve vzorku metodou standardního přídavku, měřeno nepřímou detekcí

	Stanovené množství SOS ve vzorku [mg/l]	Stanovené množství SDS ve vzorku [mg/l]
NAD JEZEM	-	0,132
VÝPUSŤ Z ČOV	-	-



Obrázek č. 34: Srovnání povrchové vody „nad jezem“ s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** povrchová voda **b)** povrchová voda s přidavkem 200 μl standardu SDS **c)** povrchová voda s přidavkem 200 μl standardu SOS. Separáční podmínky: napětí 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek povrchové vody.



Obrázek č. 35: Srovnání povrchové vody „z výpusti z ČOV“ s přidáním standardů SDS a SOS ke vzorku, fosfátový BGE ve směsi voda/ACN (70/30) s přidavkem 1 ml 50 mmol.l⁻¹SDBS, nepřímá detekce, pH=6,8. **a)** povrchová voda **b)** povrchová voda s přidavkem 200 μl standardu SDS **c)** povrchová voda s přidavkem 200 μl standardu SOS. Separáčn \acute{y} podnapět \acute{y} 25 kV, detekční vlnová délka 200 nm, nepokrytá kapilára o L=58,7 cm, l=50 cm, vzorek povrchové vody.

Lze říci, že systém základního elektrolytu s fosfátovým pufrem pro přímou fotometrickou detekci a s přidavkem SDBS pro nepřímou fotometrickou detekci je vhodný pro stanovení aniontových tenzidů ve vodách. Je však nutné podmínky dále optimalizovat a nalézt vhodné metody prekoncentrace vzorku.

5 ZÁVĚR

V předložené diplomové práci byla zpracována kompletní rešerše na téma stanovení tenzidů se zaměřením na metodu kapilární zónové elektroforézy.

Byly vybrány aniontové tenzidy ze skupiny sulfátů a sulfonátů, které se nejčastěji vyskytují v pracích a čisticích přípravcích. Jako standardy byly vybrány oktylsulfát sodný, dodecylsulfát sodný a dodecylbenzensulfonát sodný.

V první části experimentů byly optimalizovány podmínky pro separaci vybraných standardů tenzidů za použití nepokryté křemenné kapiláry s vnitřním průměrem 75 μm . V rámci optimalizace metody byl testován vhodný základní elektrolyt, jeho koncentrace, vložené napětí, doba nástřiku vzorku, přídavek markeru elektroosmotického toku a vlnová délka pro UV detekci. Standard dodecylbenzensulfonát sodný, který absorboval UV záření, byl stanovován přímou detekcí. Zbývající dva standardy oktylsulfát sodný a dodecylsulfát sodný se svými lineárními řetězci UV záření neabsorbovaly, byly proto stanovovány nepřímou detekcí. Oba standardy se od sebe podařilo oddělit a separovat v relativně krátkém čase.

Získané výsledky ukázaly, že optimalizované parametry metody lze použít pro účely této práce, a to pro stanovení vybraných aniontových tenzidů přímou i nepřímou detekcí. Pro stanovení byl jako základní elektrolyt vybrán 5 mol.l^{-1} případně 10 mmol.l^{-1} fosfát rozpuštěný ve směsi voda/ acetonitril (70/ 30) nastavený pomocí 1 mol.l^{-1} NaOH na pH 6,8. S využitím tohoto pufru byl stanovován tenzid dodecylbenzensulfonát sodný. Pro nepřímou detekci byl do tohoto elektrolytu přidáván 50 mmol.l^{-1} dodecylbenzensulfonát sodný jako absorbující složka. S využitím tohoto pufru byly stanovovány tenzidy oktylsulfát sodný a dodecylsulfát sodný.

Systém základního fosfátového elektrolytu byl v následujících experimentech použit pro kvalitativní i kvantitativní stanovení aniontových tenzidů ve vzorcích pracích a čisticích prostředků. Testován byl vždy běžný přípravek a přípravek označený jako „ekologicky šetrný“. Ve všech testovaných přípravcích, krom „ekologicky šetrného“ přípravku na automatické mytí nádobí (Celestina automatic), byl stanoven obsah dodecylbenzensulfonátu sodného. Nepřímou detekcí byl obsah oktylsulfátu sodného a dodecylsulfátu sodného stanoven ve všech testovaných prostředcích na ruční mytí nádobí a v pracích gelech. V testovaných přípravcích na mytí nádobí v myčkách byl stanoven obsah oktylsulfátu sodného (v Calgonitu) a dodecylsulfátu sodného (v „ekologicky šetrném“ Celestina automatic). „Ekologicky šetrné“ přípravky obsahovaly zhruba stejné množství vybraných tenzidů jako přípravky bez tohoto označení.

Na závěr experimentů byly v systému základního fosfátového elektrolytu pro přímou i nepřímou detekci testovány vzorky povrchové vody. Byly odebrány dva vzorky z řeky Moravy v lokalitě Veselí nad Moravou. První vzorek byl odebrán nad jezem. Druhý na výpusti z čistírny odpadních vod. Kvalitativně i kvantitativně bylo možno posoudit pouze

přítomnost tenzidů dodecylbenzensulfonátu sodného a dodecylsulfátu sodného ve vzorku “nad jezem”.

Prezentované stanovení aniontových tenzidů v reálných vzorcích ukázalo, že vybraný systém základního fosfátového elektrolytu je vhodným systémem pro jejich stanovení přímou i nepřímou detekcí. Pro pokračování v dalším výzkumu může být přínosné nalézt vhodné metody na úpravu a zakoncentrování vzorku před analýzou.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] MALÝ, Josef a Jitka MALÁ. Chemie a technologie vody. 1. vyd. Brno: Noel 2000, 1996, 197 s. ISBN 80-860-2013-4.
- [2] PITTER, Pavel. Hydrochemie. 3. přepr. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 568 s. ISBN 80-708-0340-1.
- [3] ŠMIDRKAL, Jan. Tenzidy a detergenty dnes. Chemické listy [online]. 1999, č. 93, 421-427 [cit. 2013-12-31]. Dostupné <http://chemikalie.upol.cz/skripta/hs/Smidrkal.pdf>.
- [4] BLAŽEJ, Anton a kol. Tenzidy. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1977. 481 s. ISBN 661.185.
- [5] MYERS, Drew. Surfactant science and technology. 3rd ed. Hoboken, N.J.: J. Wiley, 2006, xvi, 380 p. ISBN 04-716-8024-9.
- [6] KIZLINK, Juraj. Technologie chemických látek: chemický průmysl, koroze, konstrukční materiály, technické plyny, anorganické a organické produkty, dřevo, zpracování uhlí, výroba paliv, petrochemie, pesticidy, tenzidy, plasty a kaučuk, různé přísady, katalyzátory, výbušniny, biotechnologie, doprava. 3. přeprac. a dopl. vyd. Brno: Vysoké učení technické, 2005. ISBN 80-214-2913-5.
- [7] Technická směrnice č. 17- 2009, kterou se stanovují požadavky a environmentální kritéria pro propůjčení ochranné známky. Ministerstvo životního prostředí ČR, 2009.
- [8] MUNGRAY, Arvin Kumar a Kumar PRADEEP. Occurrence of anionic surfactants in treated sewage: Risk assessment to aquatic environment. Journal of Hazardous Materials [online]. 2008, č. 160, 362–370 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/jhazmat
- [9] ŠÍMA, Jan. Odbourávání anionických a neionických tenzidů v umělém mokřadu. Chemické listy [online]. 2011, č. 105, 531- 537 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/>
- [10] YING, Guang-Guo. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. Environment International [online]. 2006, č. 32, 417 – 431 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: www.sciencedirect.com.
- [11] KOČÍ, Vladimír, Jiří BURKHARD a Blahoslav MARŠÁLEK. EUTROFIZACE NA PŘELOMU TISÍČILETÍ. In: Sborník ze semináře Eutrofizace 2000, Ústav chemie ochrany prostředí VŠCHT [online]. 2000, 2013 [cit. 2014-01-04]. Dostupné z: <http://ekotoxikologie.sweb.cz/>.
- [12] HORÁKOVÁ, Marta. Analytika vody. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000, 335 s. ISBN 80-708-0391-6.

- [13] KUJALOVÁ, HANA, MARTINA HEJNICOVÁ a VLADIMÍR SÝKORA. PRÁVNÍ PŘEDPISY O TENZIDECH A DETERGENTECH. Chemické listy [online].2011, č. 105, 445- 451 [cit. 2014-01-04].Dostupné z: www.chemicke-listy.cz.
- [14] JANDOVÁ, Jana a Petr SCHEJBAL. Přehled metod stanovení neiontových tenzidů v povrchových odpadních vodách. Chemické listy [online].2001, č. 95, 387- 391 [cit. 2014-01-05].Dostupné z: www.chemické-listy.cz.
- [15] KALAVSKÁ, Dagmar.Analýzavôd. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1989, 264 s. ISBN 80-050-0065-0.
- [16] GARAJ, Ján, Dušan BUSTIN a Zdeněk HLADKÝ. Analytická chémia. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1987. Edice Chemické literatury.
- [17] PIERA, E., P. ERRA a M.R. INFANTE. Analysis of cationic surfactants by capillary electrophoresis.Journal of Chromatography A [online]. 1997, č. 757, s. 275-280 [cit. 2014-01-06]. Dostupné z: www.sciencedirect.com.
- [18] Analytické separační metody. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [19] KAŠIČKA, Václav. TEORETICKÉ ZÁKLADY A SEPARAČNÍ PRINCIPY KAPILÁRNÍCH ELEKTROMIGRAČNÍCH METOD. Chemické listy [online]. 1997, č. 91, 320 - 329 [cit. 2014-01-07]. Dostupné z: www.chemicke-listy.cz.
- [20] OEHRLE, Stuart A., Roger D. BLANCHARD, Chris L. STUMPF a Debra L. WULFECK. Environmental monitoring of wastewater using capillary ion electrophoresis.Journal of Chromatography A [online]. 1994, č. 680, s. 645-652 [cit. 2014-01-08]. Dostupné z: <http://www.elsevier.com/journals/>.
- [21] CHURÁČEK, Jaroslav a kol. Pokroky v teorii a instrumentaci moderních analytických metod. 1. vyd. Pardubice: Vysoká škola chemicko-technologická v Pardubicích, 1985.
- [22] E-learning – oficiální výukové stránky Přírodovědecké fakulty, Masarykovy university, Brno. Kapilární elektromigrační metody, ZdeněkGlatz [online]. 2013 [cit. 8.1. 2014].
- [23] KLOUDA, Pavel. Moderníanalytickémetody.2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: PavelKlouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [24] K., Heinig a Vogt C. Determination of surfactants by capillary electrophoresis.Electrophoresis [online]. 1999, č. 20, s. 3311-28 [cit. 2014-01-06]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
- [25] IMERBAEV, Andrei R. a Keiichi FUKUSHI. Analysis of seawater and different highly saline natural waters by capillary zone electrophoresis.Marine chemistry [online]. 2003, č. 82, 221– 238 [cit. 2014-01-09]. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/marchem.

- [26] HEINIG, Katja, Carla VOGT a Gerhard WERNER. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in industrial and environmental samples by capillary electrophoresis. *The Analyst* [online]. 1998, č. 123, 349 - 353 [cit. 2014-02-17].
- [27] E-learning – oficiální výukové stránky Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého, Olomouc. Analýza aniontových tenzidů v čisticích prostředcích kapilární elektroforézou [online]. 2013 [cit. 6.4. 2014].
- [28] HERRERO-MARTÍNEZ, J. M., E. F. SIMÓ-ALFONZO, C. MONGAY-FERNÁNDEZ a G. RAMIS-RAMOS. Determination of cationic surfactants by *capillary zone electrophoresis and micellarelectrokinetic chromatography with deoxycholate micelles* in the presence of large organic solvent concentrations. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, č. 895, s. 227-235 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/chroma.
- [29] LANGOVÁ, Lenka. *Využití kapilární elektroforézy pro stanovení tenzidů ve vodách*. Brno, 2009 Diplomová práce. VUT, FCH. Vedoucí práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
- [30] A. BABAY, Paola, Raquel T. GETTAR, María F. SILVA, Björn THIELE a Daniel A. BATISTONI. Separation of nonylphenoethoxylates and nonylphenol by non-aqueous capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, č. 1116, s. 277-285 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: www.sciencedirect.com.
- [31] HEINIG, Katja, Carla VOGT a Gerhard WERNER. Separation of ionic and neutral surfactants by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 1996, č. 745, s. 281-292 [cit. 2014-04-06]. Dostupné z: www.elsevier.com/locate/chroma.
- [32] HSIEN-DING, Wang a Chi-Hung LIU. Analysis of LAS by capillary zone electrophoresis with large-volume sample stacking. *Journal of chromatography A*. 2001, č. 929, s. 143-150. Dostupné z: www.elsevier.com.
- [33] Sigma-Aldrich: Produktový katalog online. Sigma-Aldrich [online]. 2014 [cit. 2014 04 09]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com>.
- [34] Biochemical Page: Biochemie.sweb [online]. 2014 [cit. 2014-04-27]. Dostupné z: <http://biochemie.sweb.cz/>.
- [35] Pragolab: 2014 Pragolab s.r.o. Publikační- systém WebGet [online]. 2014 [cit. 2014-04-27]. Dostupné z: <http://www.pragolab.cz/>.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACES- 2-(carbamoylmethylamino)ethansulfonová kyselina

ACN- acetonitril

BSK- biochemická spotřeba kyslíku

CAPS- 3-(cyklohexylamino)-1-propansulfonová kyselina

ČOV- čistírna odpadních vod

DOC- rozpuštěný organický uhlík

EC₅₀- efektivní koncentrace

EOF- elektroosmotický tok

EU- evropská unie

GC- plynová chromatografie

GLC- plynová rozdělovací chromatografie

HEPES- 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethansulfonová kyselina

CHES- 2-(cyklohexylamino)ethansulfonová kyselina

IC₅₀- inhibiční koncentrace

ID- vnitřní průměr kapiláry

LAS- lineární alkylbenzensulfonáty

LC- kapalinová chromatografie

LC₅₀- letální koncentrace

MeOH- metanol

MES- morfolinethansulfonová kyselina

MOPS- 4-morfolinopropansulfonová kyselina

MOPSO- 3-morfolino-2-hydroxypropansulfonová kyselina

MS- hmotnostní spektrometrie

NMR- nukleární magnetická rezonance

PAL- povrchově aktivní látky

PIPES- 1,4-piperazinediethanesulfonová kyselina

SDS- sodium dodecylsulfát

SDBS- sodium dodecylbenzylsulfát

SOS- sodium octylsulfát

THF- tetrahydrofuran

TLC- tenkovrstevná chromatografie

TRIS- 2-amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol

UV- ultrafialové záření

VIS- viditelné záření

8 PŘÍLOHY

Příloha 1

